

α -Synuclein 与多巴胺在帕金森病发病中的相互作用

赵鹏¹ 综述 李洁², 张本恕¹ 审校

1. 天津医科大学总医院神经内科, 天津市 300052

2. 天津医科大学基础医学院, 天津市 300070

摘 要: α -Synuclein 和多巴胺是帕金森病病理学中的核心要素。 α -Synuclein 异常聚集导致细胞内游离多巴胺含量明显升高, 加剧氧化应激; 而细胞内游离多巴胺反之又促进 α -Synuclein 单体的异常聚集, 并抑制细胞毒性作用较强的 α -Synuclein 寡聚体/原纤维向无细胞毒性的成熟纤维转化。二者形成恶性循环, 在帕金森病发病中发挥重要的作用, 进一步探讨二者之间的相互作用机制有可能成为阐明帕金森病发病机制的新线索。

关键词: α -Synuclein; 多巴胺; 氧化应激; 发病机制; 帕金森病

帕金森病 (Parkinson's disease, PD) 最重要的病理特征为中脑黑质致密部选择性多巴胺能神经元丢失及残存神经元胞浆内形成以 α -Synuclein 为主要成分的路易体。 α -Synuclein 是一种位于突触前膜及神经元胞浆内的蛋白, 其基因突变与家族性 PD 密切相关, 其病理性异常聚集将对突触功能和信号传递产生负性影响, 推动神经元变性; 而多巴胺 (dopamine, DA) 在神经元内自身氧化会产生大量自由基, 从而加重细胞氧化应激负荷, 加速细胞凋亡。由此推测, α -Synuclein 和 DA 在 PD 发病中都发挥着重要的作用, 深入探讨二者之间的相互作用机制有可能成为阐明 PD 发病机制的新线索。

1 α -Synuclein 异常聚集造成细胞内游离 DA 含量明显升高

1.1 α -Synuclein 与 DA 的合成

在 DA 的合成过程中, 酪氨酸羟化酶 (tyrosine hydroxylase, TH) 使酪氨酸转化为左旋多巴, 而只有磷酸化的 TH 才具有反应活性, 所以 TH 磷酸化与否决定着 DA 合成的速度和产量。14-3-3 蛋白和 α -Synuclein 同时影响着 TH 的磷酸化, 但作用相反。14-3-3 蛋白促进 TH 磷酸化, 延长细胞内活性 TH 的半衰期; 而 α -Synuclein 抑制 TH 磷酸化, 减少 DA 的生成^[1], 二者在某种程度上达到平衡, 共同维持着 DA 合成的稳态。当 α -Synuclein 异常聚集使细胞内发挥正常生理功能的单体 α -Synuclein 减少时, 上述 α -Synuclein 与 14-3-3 蛋白建立的平衡将被打破, 14-3-3 蛋白对 DA 合成的正向调控作用凸显, 造

成 TH 活性增强, DA 合成加速, 产量增加, 相对于数目恒定的突触囊泡, 这将造成未能进入突触囊泡存储而游离于胞浆内的 DA 含量上升^[2, 3]。

1.2 α -Synuclein 与 DA 的存储和释放

在非应激状态下, 绝大多数 DA 被储存在突触囊泡中, 当接受外界刺激时, 从突触囊泡中被释放, 发挥正常的生理功能, 可见突触囊泡对于 DA 的存储、释放及发挥突触后效应具有极为重要的作用; 同时突触囊泡将高浓度的 DA 进行隔离, 使神经元免受因 DA 自身氧化所致的损害, 而 α -Synuclein 主要通过参与突触囊泡的再循环而间接影响 DA 的存储和释放。

生理条件下, 突触囊泡的再循环主要通过笼形蛋白介导的胞膜内陷作用实现, 其与磷脂酶 D2 参与的磷脂水解过程有关, 磷脂酶 D2 主要定位于胞膜, 能将中性的磷酸卵磷脂水解为磷脂酸, 而后者作为细胞内信使, 能够加速突触囊泡的生成^[4]。 α -Synuclein 通过改变自身 N 端二级结构 (形成 α 螺旋) 结合到胞膜磷脂上, 对磷脂酶 D2 发挥负性调节作用, 在非应激状态下减少磷脂酸的产量, 适度抑制突触囊泡的再生; 当接受外界长时程、高强度刺激时, 细胞内的一些激酶活性增加, 在多位点磷酸化 α -Synuclein, 使其与胞膜结合力变小, 对磷脂酶 D2 抑制作用减弱, 磷脂酸生成增多, 突触囊泡生成速度加快以适应因外界刺激而合成增多的 DA^[5]。而 α -Synuclein 一旦异常聚集, 则造成自身磷酸化受阻, 对磷脂酶 D2 调节失控, 面对外界长

基金项目: 国家自然科学基金 (30600201); 天津市应用基础研究计划项目 (07JCYBJC09900)

收稿日期: 2012-11-01; 修回日期: 2013-01-14

作者简介: 赵鹏 (1978-), 男, 博士, 主治医师, 主要从事帕金森病的基础与临床研究。

时程、高强度刺激时,不能加速突触囊泡的生成,这不仅造成 DA 释放减少,无法产生足够强度的突触后效应以满足生理需要,同时细胞内游离 DA 增多,氧化应激增强,加剧毒性作用^[6-9]。

突触囊泡富含脂肪酸,胞膜内陷区域脂肪酸的含量直接影响突触囊泡的再生,而脂肪酸的转运主要受脂肪酸结合蛋白的调控,后者能够将脂肪酸从水溶性环境转运到不同的细胞内目的地。研究发现,单体 α -Synuclein 不仅与脂肪酸结合蛋白大小类似,而且两者在 N 末端和 C 末端分别拥有高达 55% 和 67% 的氨基酸序列同源性^[10],推测 α -Synuclein 同样拥有转送脂肪酸的特性,参与调控突触囊泡再循环。另外,作为脂质伴侣分子, α -Synuclein 还调控多不饱和脂肪酸酰基化家族的循环和局部浓度,而后者同样参与笼形蛋白介导的突触囊泡再循环^[11]。当 α -Synuclein 异常聚集时,上述特性减弱或消失,在脂肪酸代谢途径阻碍可容纳游离 DA 的突触囊泡的再生。

1.3 α -Synuclein 与 DA 的重吸收

DA 被释放到突触间隙后,有如下代谢途径:被神经末梢及突触囊泡重吸收;作用于突触前膜进行自身释放的突触前调节;作用于突触后膜产生生物效应或信息传递;进入去甲肾上腺素储存囊泡,经多巴胺- β -羟化酶的作用生成去甲肾上腺素;经单胺氧化酶和儿茶酚-氧位-甲基转移酶进行降解。其中约有 3/4 的 DA 通过位于突触前膜的多巴胺转运体(dopamine transporter, DAT)重新转运至细胞内,进入胞浆的 DA 再由突触囊泡上的囊泡单胺转运体 2 转运至突触囊泡内,以待重新利用。最近的研究发现一些激酶通过磷酸化 DAT 而增强后者活性,而 α -Synuclein 则通过抑制这些激酶从而间接调控 DAT 对 DA 的重吸收;此外, α -Synuclein 还可与 DAT 直接形成蛋白-蛋白杂合体,从而抑制后者活性^[12]。所以生理条件下,单体 α -Synuclein 通过抑制 DAT 来减少 DA 的重吸收,从而降低胞内游离 DA 的浓度。体外实验表明 α -Synuclein 对 DAT 的负性调节作用可减少高达 30% ~ 50% 的 DA 重吸收^[13]。但当 α -Synuclein 异常聚集时,神经保护作用逆转为毒性作用,细胞内游离 DA 明显增多,氧化应激骤然增强^[14]。

1.4 α -Synuclein 寡聚体/原纤维透化突触囊泡,导致 DA 外漏

α -Synuclein 寡聚体/原纤维是其自身异常聚集

过程中的中间产物,体外实验发现当 α -Synuclein 寡聚体/原纤维与从鼠脑中提纯的突触囊泡共培养时,突触囊泡会出现直径为 18 ~ 28 nm 的小孔,导致其内的 DA 外漏,胞浆内游离 DA 增多,而 α -Synuclein 单体及成熟纤维则无此作用^[15]。

α -Synuclein 几乎参与调控了 DA 循环代谢的全过程,其异常聚集最终导致被释放入突触间隙中产生突触后效应的 DA 减少,而胞浆内产生氧化应激毒性的游离 DA 增多,后者反之继续作用于 α -Synuclein 的聚集过程,形成恶性循环。

2 细胞内游离 DA 促进 α -Synuclein 的异常聚集

2.1 DA 及其代谢产物加速 α -Synuclein 寡聚化,并抑制 α -Synuclein 寡聚体/原纤维向成熟纤维转化

二羟苯乙醛、多巴醌分别是细胞内游离 DA 经单胺氧化酶代谢或自身氧化的中间产物之一,和其它代谢产物相比,它们能够明显促进单体 α -Synuclein 异常聚集,形成具有细胞毒性的寡聚体/原纤维^[16, 17]。实验表明将 1.5 μ M 的二羟苯乙醛与多巴胺能 SH-SY5Y 细胞共培养 2 h 即可导致 α -Synuclein 的聚集。和二羟苯乙醛伴随生成的还有过氧化氢,二者再相互作用生成羟基,后者不仅同样可导致 α -Synuclein 的聚集,还影响线粒体复合物 I 的功能,进而降低了烟酰胺腺嘌呤二核苷酸的活性,后者是二羟苯乙醛向无毒的二羟苯乙酸转化过程中关键酶乙醛脱氢酶的辅酶,其活性降低造成二羟苯乙醛持续存在, α -Synuclein 不断聚集^[18]。

越来越多的研究发现在 α -Synuclein 异常聚集形成的不同形态体中,寡聚体/原纤维具有最大的细胞毒性,而 DA 在体内外均已证实能够抑制 α -Synuclein 寡聚体/原纤维向成熟纤维转化,从而持续保持 α -Synuclein 聚集物的毒性^[19, 20]。进一步的实验表明 DA 对 α -Synuclein 的此种作用是通过二者直接结合而实现的,且 α -Synuclein 的 C 末端和中心区域第 83 位的谷氨酸对二者结合至关重要^[21]。

2.2 DA 修饰后的 α -Synuclein 能够阻断伴侣分子介导的自体吞噬

α -Synuclein 通过溶酶体和泛素-蛋白酶体系统两种方式被降解清除,前者为主要方式。溶酶体降解 α -Synuclein 主要通过伴侣分子介导的自体吞噬(chaperone-mediated autophagy, CMA)来实现。不同的 α -Synuclein 翻译后修饰方式对 CMA 的影响亦不同:经氧化或硝酸化修饰的 α -Synuclein 对 CMA 影响甚微;而 DA 修饰后的 α -Synuclein 则不能再通

过 CMA 途径被清除,从而造成细胞内单体浓度明显升高而易于聚集。更为重要的是,CMA 被 DA 修饰的 α -Synuclein 阻断后不仅造成 α -Synuclein 自身难以被清除,还影响其它通过 CMA 途径降解的蛋白,这样造成多种蛋白分子异常积聚,产生更大的细胞毒性^[22]。

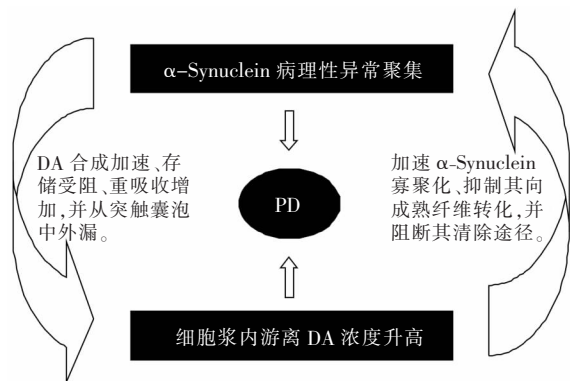


图 1 α -Synuclein 和 DA 在 PD 发病中的相互作用机制模式图。

综上所述,细胞内游离 DA 通过多途径作用于 α -Synuclein 的聚集过程,阻断 α -Synuclein 单体降解通路,促进其异常聚集,并阻止 α -Synuclein 寡聚体/原纤维向成熟纤维转化,使毒性作用很强的 α -Synuclein 寡聚体/原纤维在细胞内持续存在;同时,异常聚集的 α -Synuclein 打破了 DA 在细胞内循环代谢的稳态,最终导致胞浆内产生氧化应激毒性的游离 DA 增多,而释放到突触间隙中产生正常突触后效应的 DA 减少。由此可以推断 α -Synuclein 异常聚集、细胞内游离 DA 含量升高及氧化应激加剧三者形成恶性循环,逐渐导致细胞死亡、PD 发生,见图 1。当然目前此假说基于的证据多集中于体外实验,今后有待于更多高质量的体内研究以进一步证实。

参 考 文 献

- [1] Toska K, Kleppe R, Armstrong CG, et al. Regulation of tyrosine hydroxylase by stress-activated protein kinases. *J Neurochem*, 2002, 83 (4): 775-783.
- [2] Venda LL, Cragg SJ, Buchman VL, et al. Alpha-Synuclein and dopamine at the crossroads of Parkinson's disease. *Trends Neurosci*, 2010, 33 (12): 559-568.
- [3] Cao P, Yuan Y, Pehek EA, et al. Alpha-synuclein disrupted dopamine homeostasis leads to dopaminergic neuron degeneration in *Caenorhabditis elegans*. *PLOS ONE*, 2010, 5 (2): e9312.

- [4] Cockcroft S. Signalling roles of mammalian phospholipase D1 and D2. *Cell Mol Life Sci*, 2001, 58 (11): 1674-1687.
- [5] Cheng F, Li X, Li Y, et al. Alpha-Synuclein promotes clathrin-mediated NMDA receptor endocytosis and attenuates NMDA-induced dopaminergic cell death. *J Neurochem*, 2011, 119 (4): 815-825.
- [6] Chadchankar H, Yavich L. Sub-regional differences and mechanisms of the short-term plasticity of dopamine overflow in striatum in mice lacking alpha-synuclein. *Brain Res*, 2011, 1423: 67-76.
- [7] Lundblad M, Decressac M, Mattsson B, et al. Impaired neurotransmission caused by overexpression of alpha-synuclein in nigral dopamine neurons. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2012, 109 (9): 3213-3219.
- [8] Bisaglia M, Greggio E, Maric D, et al. Alpha-synuclein overexpression increases dopamine toxicity in BE2-M17 cells. *BMC Neurosci*, 2010, 11: 41.
- [9] Ulusoy A, Bjorklund T, Buck K, et al. Dysregulated dopamine storage increases the vulnerability to alpha-synuclein in nigral neurons. *Neurobiol Dis*, 2012, 47 (3): 367-377.
- [10] Sharon R, Goldberg MS, Bar-Josef I, et al. Alpha-Synuclein occurs in lipid-rich high molecular weight complexes, binds fatty acids, and shows homology to the fatty acid-binding proteins. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2001, 98 (16): 9110-9115.
- [11] Verstreken P, Kjaerulff O, Lloyd TE, et al. Endophilin mutations block clathrin-mediated endocytosis but not neurotransmitter release. *Cell*, 2002, 109 (1): 101-112.
- [12] Moszczynska A, Saleh J, Zhang H, et al. Parkin disrupts the alpha-synuclein/dopamine transporter interaction: consequences toward dopamine-induced toxicity. *J Mol Neurosci*, 2007, 32 (3): 217-227.
- [13] Swant J, Goodwin JS, North A, et al. Alpha-Synuclein stimulates a dopamine transporter-dependent chloride current and modulates the activity of the transporter. *J Biol Chem*, 2011, 286 (51): 43933-43943.
- [14] Lam HA, Wu N, Cely I, et al. Elevated tonic extracellular dopamine concentration and altered dopamine modulation of synaptic activity precede dopamine loss in the striatum of mice overexpressing human alpha-synuclein. *J Neurosci Res*, 2011, 89 (7): 1091-1102.
- [15] Ding TT, Lee SJ, Rochet JC, et al. Annular alpha-synuclein protofibrils are produced when spherical protofibrils are incubated in solution or bound to brain-derived membranes. *Biochemistry*, 2002, 41 (32): 10209-10217.
- [16] Jethva PN, Kardani JR, Roy I. Modulation of alpha-synuclein aggregation by dopamine in the presence of MPTP and its metabolite. *FEBS J*, 2011, 278 (10): 1688-1698.

- [17] Bisaglia M, Tosatto L, Munari F, et al. Dopamine quinones interact with alpha-synuclein to form unstructured adducts. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010, 394(2): 424-428.
- [18] Yamakawa K, Izumi Y, Takeuchi H, et al. Dopamine facilitates alpha-synuclein oligomerization in human neuroblastoma SH-SY5Y cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010, 391(1): 129-134.
- [19] Lee HJ, Baek SM, Ho DH, et al. Dopamine promotes formation and secretion of non-fibrillar alpha-synuclein oligomers. *Exp Mol Med*, 2011, 43(4): 216-222.
- [20] Rekas A, Knott RB, Sokolova A, et al. The structure of dopamine induced alpha-synuclein oligomers. *Eur Biophys J*, 2010, 39(10): 1407-1419.
- [21] Herrera FE, Chesi A, Paleologou KE, et al. Inhibition of alpha-synuclein fibrillization by dopamine is mediated by interactions with five C-terminal residues and with E83 in the NAC region. *PLOS ONE*, 2008, 3(10): e3394.
- [22] Martinez-Vicente M, Tallozy Z, Kaushik S, et al. Dopamine-modified alpha-synuclein blocks chaperone-mediated autophagy. *J Clin Invest*, 2008, 118(2): 777-788.

抗癫痫药物致畸性的研究进展及应对策略

位坤坤 韩涛 综述 刘学伍 审校

山东大学齐鲁医院神经内科, 山东省济南市 250012

摘要: 大部分女性癫痫患者妊娠期仍需要接受抗癫痫药物(AEDs)治疗, 各种药物的对癫痫发作的控制率不同, 对胎儿致畸形影响率也不同。传统药物, 如丙戊酸在控制癫痫发作方面仍然具有其自身优势, 但是致畸性风险也相对较高; 相对而言, 新型药物, 如拉莫三嗪的妊娠安全性比较高, 虽然在控制发作上稍逊于丙戊酸等传统药物。妊娠期按照个体化选择合适的AEDs, 补充叶酸以及进行必要的监测, 可以有效地降低胎儿严重畸形的发生。

关键词: 抗癫痫药物; 妊娠; 致畸性; 发病机制; 血药浓度; 监测; 预防

女性癫痫患者(women with epilepsy, WWEs)是癫痫患者中的特殊群体。目前, 药物治疗仍是癫痫治疗的主要手段, 育龄期女性患者同样如此。癫痫患者及家属最关心的是抗癫痫药物(AEDs)是否可以有效地控制妊娠女性癫痫发作以及是否会导致胎儿畸形。多数AEDs具有致畸性^[1]。一项大样本回顾性研究结果显示, 普通人群先天性畸形率是5.41‰^[2], 而女性癫痫患者孕期服用AEDs其胎儿畸变率比未用AEDs治疗者或未患癫痫者的胎儿畸变率均明显增高^[3]。但是, 妊娠期继续AEDs治疗以控制癫痫发作仍是十分必要的, 因为无论是全身强直阵挛发作还是部分性发作均会对胎儿造成不同程度的危害, 甚至是流产, 也会给孕妇带来严重痛苦。妊娠期抗癫痫治疗的最终目的是有效控制患者癫痫发作, 但同时必须充分衡量AEDs的获益和不良反应。现就各种AEDs致畸性及应对策略做一综述。

1 AEDs与妊娠期癫痫发作

1.1 AEDs控制妊娠期癫痫发作情况

妊娠期癫痫患者发作的控制情况因选择的抗癫痫药物而不同。Hernández-Díaz等^[3]研究发现, 服用丙戊酸的妊娠期患者癫痫发作的比例是23%, 服用卡马西平者是27.3%, 服用苯妥英钠者是27.2%, 服用氯硝西洋者是26.3%, 服用拉莫三嗪者是31%, 服用奥卡西平者是43.6%, 服用左乙拉西坦者是31.9%, 服用托吡酯者是33.1%, 服用唑尼沙胺者是23.6%。这一定程度上反映了传统抗癫痫药物在控制孕期患者癫痫发作中具有部分优势。但同时研究显示, 癫痫发作频率较高的孕妇胎儿发生严重畸形的风险却相对较低。仅丙戊酸钠和苯巴比妥两组患者, 女性在怀孕期间尽管癫痫发作没有增加(7.3%和2.5%), 但胎儿发生畸形的风险却明显增高(分别为9.3%和5.5%)^[4], AEDs剂量不能解

收稿日期: 2012-10-29; 修回日期: 2012-11-30

作者简介: 位坤坤(1987-), 女, 在读研究生, 主要从事癫痫、脑血管病及神经遗传性疾病研究。

通讯作者: 刘学伍(1966-), 教授, 博导, 主任医师, 主要从事癫痫、脑血管病及神经遗传性疾病研究。E-mail: snlxw1966@yahoo.com.cn。