

N-甲基 D-天冬氨酸受体 NR2B 亚基与学习记忆关系研究进展

何焰鹏¹ 综述 刘国荣² 王宝军² 梁芙茹² 邹春燕¹ 审校

1. 内蒙古科技大学包头医学院, 内蒙古包头市 014040

2. 包头市中心医院, 内蒙古包头市 014040

摘要: 中枢神经系统 N-甲基 D-天冬氨酸受体 (NMDAR) 主要分布于中枢神经系统突触后膜等部位, 对学习记忆的发生发展起着重要作用。其中, NMDA 受体 NR2B 亚基在记忆的产生与维持及对记忆障碍的治疗有着深刻的意义。研究发现, NR2B 亚基既可通过参与长时程增强 (LTP) 对学习记忆产生促进作用, 亦可通过介导兴奋性氨基酸毒性作用导致神经功能损害, 引起学习记忆障碍。故本文就 NMDA 受体 NR2B 亚基的分布、结构、功能及其与学习记忆的关系做一综述。

关键词: N-甲基-D-天冬氨酸受体; NR2B 亚基; 学习记忆

近年来研究发现, 以学习记忆受损为主要表现的认知功能障碍发病率较高^[1], 2010 年世界上 35 亿人患有认知功能障碍, 65 ~ 85 岁之间老人每 5 年患病率增加 1 倍^[2], 老年人认知功能障碍给患者的家庭及整个社会带来沉重的负担, 故认知功能障碍的高患病率和发病率是值得人们关注的社会健康问题。大量研究表明, 许多神经递质系统参与认知功能障碍的病理生理过程, N-甲基-D-天冬氨酸受体 (N-methyl-D-aspartate receptor, NMDAR) 介导的神经传递为其机制之一。NMDA 受体是一种离子通道型谷氨酸受体, 主要分布于中枢神经系统突触后膜, 可结合兴奋性神经递质-L 型谷氨酸, 进而参与神经元发育、突触可塑性, 以及学习、记忆、神经退行性变等多种生理和病理过程^[3]。目前已明确, NMDA 受体存在 3 类同源性亚基, 即 NR1、NR2 (A、B、C、D)、NR3 (A、B)^[4]。其中, NR1 为受体结构所必须的功能亚基; NR2 为具有调节受体通道动力学作用的调节亚基; NR3 亚基不能单独存在, 需与 NR1 和 (或) NR2 亚基形成异构体发挥作用。NR2B 亚基在很大程度上决定了 NMDA 受体的生理功能及药理特性^[5], 且在神经元凋亡中起着重要作用^[6]。目前国内外对 NMDA 受体亚基的研究主要集中于 NR2B 亚基的结构和功能方面^[7], 故本文就 NMDA 受体 NR2B 亚基的分布、结构、功能及其与学习记忆的关系做一综述。

1 NMDA 受体 NR2B 亚基概述

1.1 NR2B 亚基的分布

数据显示 NR2B 主要分布于中枢神经系统。Sun 等^[8]应用 RT-PCR 技术检测成年期大鼠嗅球、视皮质和运动区等部位的 NMDA 受体 NR1、NR2 (A-D) 及 NR3 (A、B) 表达研究发现, NR2B 亚基主要分布于前脑, 尤其局限分布于皮层区域。易传安等^[9]通过原位杂交技术, 从基因分子水平亦发现 NR2B 在丘脑前核、海马 CA1、CA3 区及齿状回密度最大。

1.2 NR2B 亚基的结构

目前已知, NR2B 亚基由 1456 个氨基酸残基组成, 分子量大约在 170 ~ 180 kDa^[10]。研究发现^[11], NMDA 受体 NR2B 亚基由以下部分组成: 即胞内 C 端保守氨基酸序列以及膜外的 N 端受调节区、M1-M4 跨膜区域、激动剂或联合激动剂结合区。其中位于 N 末端的 M2 跨膜区域为一面向胞质内的反折膜襻区, 形成离子通道, 决定着 NMDA 受体对 Ca^{2+} 的通透性^[12], 参与 NMDA 受体通道开放的 Ca^{2+} 内流。进一步研究发现^[13], NR2B 亚基的胞内 C 末端为一个由约 600 个氨基酸组成的保守序列, 与 NMDA 受体功能密切相关, NR2B 亚基胞外成分又可分为氨基酸末端区域 (amino-terminal domain, ATD) 和配体结合区域 (ligand-binding domain, LBD), 前者主要由位于 N 末端的 400 左右氨基酸组成, 该区域存在如 Zn^{2+} 、多巴胺等调节剂的结合位点, 具有调节离子通道活性的作用; 后者

收稿日期: 2013-05-23; 修回日期: 2013-07-29

作者简介: 何焰鹏 (1986-) 男, 住院医师, 硕士研究生在读, 主要从事脑血管病和认知功能障碍的研究。

通讯作者: 刘国荣 院长, 主任医师, 教授。E-mail: guorongliu@vip.163.com。

主要有 150 个左右氨基酸组成,其上存在如甘氨酸和谷氨酸等配体结构和位点,主要参与配体的结合。

2 NR2B 亚基的生物功能及在学习记忆中的作用

2.1 NR2B 亚基的生物功能

研究发现^[4],单一的 NR2B 亚基无生物功能,NMDA 受体要发挥功能必须以 NR1 亚基为基础,并与 NR2 或 NR3 中一个调节亚基组成复杂的异源四聚体离子通道(NR1-NR2 或 NR1-NR3)。此外,NMDA 受体 NR2B 亚基与各种蛋白结合在 NMDA 受体功能中发挥着至关重要作用^[14]。研究表明,谷氨酸与 NR2B 亚基上的谷氨酸受体结合,使细胞膜发生去极化,从而开放 NMDA 受体的离子通道^[15]。甘氨酸通过与 NR1 或 NR3 亚基上的甘氨酸受体结合,增强谷氨酸对 NMDA 受体的亲和力,使 NMDA 受体通道的开放频率增加 5 倍左右,开放的 NMDA 受体离子通道使阳离子如 Ca^{2+} 、 K^{+} 、 Na^{+} 通透性出现亢进现象,从而出现兴奋性突触后电位,使体内生理和生化反应出现一系列变化。不仅 NR2B 亚基胞外结构参与生理功能,而且 NR2B 亚基胞内 C 末端区域与突触后致密体 95 (postsynaptic density, PSD-95) 结合,参与 NMDA 受体数量的调节^[16],进而对突触发育、突触稳定性及突触可塑性产生影响。

2.2 NMDA 受体 NR2B 亚基在学习记忆中的作用

大量研究已经证实,与学习记忆相关的神经突触可塑性的生物学基础为长时程增强(long-term potentiation, LTP)^[17],而 NMDA 受体在 LTP 形成中起着主要调控作用^[18],故 NMDA 受体与学习记忆的关系已引起科学工作者的广泛关注。在 NMDA 受体各亚基研究中,Bliss^[19]将 NR2B 亚基称为“聪明基因”,并提出该基因为记忆基因的论点。近年来研究发现,NR2B 亚基过度表达的小鼠学习记忆能力增强^[20],海马组织 NR2B 基因敲出的小鼠出现空间或非空间的记忆缺陷^[21]。近期有研究发现,阿尔兹海默病(Alzheimer disease, AD)患者脑组织中纹状体富集酪氨酸(STEP)表达增加,作为脑组织特有成分其对神经元生存发展及突触可塑性具有重要的调节作用,STEP 水平及活性的增加使 NR2B 亚基去磷酸化增加,进而使 NMDA 受体突触表达减少,电活动降低,最终 LTP 受影响,这可能为 AD 患者学习记忆降低的发生机制^[22-24]。上述研

究均证实 NR2B 亚基在学习记忆起着不可替代的作用。

3 NR2B 亚基参与学习记忆的具体机制

3.1 NR2B 亚基参与 LTP 对学习记忆的促进

LTP 为突触可塑性的主要形式,为学习记忆的神经生物学基础。LTP 的建立一般分为诱导和表达两个阶段^[25],首先,LTP 的诱导主要以突触后膜的改变为主,高频刺激作用于突触前膜细胞,使突触前膜去极化,进而释放大量神经递质,神经递质通过与突触后膜上的 α -氨基羟甲基恶唑丙酸受体(α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole propionic acid receptor, AMPAR)结合并使其激活,引起突触后膜去极化;然后进入 LTP 的表达阶段,去极化达到一定程度后突触后膜上起阻滞作用的 Mg^{2+} 被移除,此时,大量 NMDA 受体激活及其蛋白构像改变,离子通道开放,大量 Ca^{2+} 内流,最终引起基因转录、蛋白表达和突触后膜功能改变,从而建立 LTP,最后逆行信使向突触前膜释放,如此循环使 LTP 作用得以长时间维持,继而保证学习记忆的长期储存和巩固^[26]。需要指出的是,大部分 NMDA 受体复合物是由 NR1 和 NR2 按一定比例结合。有研究发现,NR2B 亚基高水平表达可引起更大量的 NMDA 受体激活效应,促进 cAMP 反应元件结合蛋白的活化,产生更强、更稳定的 LTP,LTP 的形成又可以促进 NR2B 亚基的表达,形成良性循环,进而增强学习记忆功能^[27]。

3.2 NR2B 亚基参与兴奋性毒性作用

NMDA 受体不仅可以通过长时程增强(LTP)增强学习记忆,亦可以通过其介导的兴奋性氨基酸毒性作用导致神经元损害和神经功能受损,引起学习记忆障碍。其具体机制主要与 NMDA 受体 NR2B 亚基激活后导致的 Ca^{2+} 超载诱发的神经元的凋亡有关^[28]。正常情况下,细胞外兴奋性氨基酸的浓度受神经元和胶质细胞的高摄取控制,不会积累到损伤神经元的浓度。但在缺血、缺氧和持续性癫痫等病理条件刺激下,NMDA 受体过度激活, Ca^{2+} 内流增加,致胞内 Ca^{2+} 浓度持续增高,触发一系列毒性反应,激活各种降解酶,特别是磷脂酶 C、 Ca^{2+} 激活神经元蛋白酶 II、PKC、NO 合酶等,最终导致神经元脂质膜、蛋白骨架破坏等,使神经元逐步凋亡^[29],最终影响信息传递导致学习记忆障碍。

4 结语

当前,NMDA 受体 NR2B 亚基在学习记忆中作

用为研究热点,大部分学者认为 NMDA 受体 NR2B 亚基在学习记忆形成中起至关重要作用,但对学习记忆是促进作用还是抑制作用的具体机制尚未明确。NR2B 亚基已成为学习记忆障碍靶向治疗的新靶点及开发新药的新方向,但目前关于学习记忆的具体分子生物学机制尚未完善,NMDA 受体在学习记忆中的神经突触活性如何调控、NR2B 亚基在兴奋性毒性及 LTP 中如何进行角色转换等均有待于进一步探讨。

参 考 文 献

- [1] Thies W, Bleiler L. 2013 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimers Dement*, 2013, 9(2): 208-245.
- [2] Brodaty H, Breteler MM, Dekosky ST, et al. The world of dementia beyond 2020. *J Am Geriatr Soc*, 2011, 59(5): 923-927.
- [3] Hardingham GE, Bading H. Synaptic versus extrasynaptic NMDA receptor signaling: implications for neurodegenerative disorders. *Nat Rev Neurosci*, 2010, 11(10): 682-696.
- [4] Schüler T, Mesic I, Madry C, et al. Formation of NR1/NR2 and NR1/NR3 heterodimers constitutes the initial step in N-methyl-D-aspartate receptor assembly. *J Biol Chem*, 2008, 283(1): 37-46.
- [5] Gielen M, Siegler Retchless B, Mony L, et al. Mechanism of differential control of NMDA receptor activity by NR2 subunits. *Nature*, 2009, 459(7247): 703-707.
- [6] TU W, XU X, PENG L, et al. DAPK1 interaction with NMDA receptor NR2B subunits mediates brain damage in stroke. *Cell*, 2010, 140(2): 222-234.
- [7] Zhang XH, Liu SS, Yi F, et al. Delay-dependent impairment of spatial working memory with inhibition of NR2B-containing NMDA receptors in hippocampal CA1 region of rats. *Mol Brain*, 2013, 6: 13.
- [8] Sun L, Shipley MT, Lidow MS. Expression of NR1, NR2A-D and NR3 subunits of the NMDA receptor in the cerebral cortex and olfactory bulb adult rat. *Synapse*, 2000, 35(3): 212-221.
- [9] 易传安,何绘敏,胡祥上,等. NMDA 受体 NR1、NR2A/B 在丘脑前区-海马 CA1、CA3 脑区和齿状回的分布与表达. *中国老年医学杂志*, 2011, 31(4): 1152-1155.
- [10] Loftis JM, Janowsky A. The N-methyl-D-aspartate receptor subunit NR2B: localization, functional properties, regulation, and clinical implications. *Pharmacol Ther*, 2003, 97(1): 55-85.
- [11] Tikhonova IG, Palyulin VA, Zefirov NS, et al. Structural basis for understanding structure-activity relationships for the glutamate binding site of the NMDA receptor. *J Med Chem*, 2002, 45(18): 3836-3843.
- [12] Mayer ML. Glutamate receptors at atomic resolution. *Nature*, 2006, 404(7083): 456-462.
- [13] Xu YL, Zhu YP. Allosteric effect among sites of the NR2B subunits of the NMDA receptors. *Acta Biophysica Sinica*, 2011, 27(7): 596-607.
- [14] Kash TL, Baucum AJ 2nd, Conrad KL, et al. Alcohol exposure alters NMDAR function in the bed nucleus of stria terminalis. *Neuropsychopharmacology*, 2009, 34(11): 2420-2429.
- [15] Tan PH, Yang LC, Shih HC, et al. Gene knockdown with intrathecal siRNA of NMDA receptor NR2B subunit reduces formalin-induced nociception in the rat. *Gene Ther*, 2005, 12(1): 59-66.
- [16] 杨巍,罗建红. NR2B 亚单位 C 末端调控 NMDA 受体运输和膜表达的分子机制. 杭州: 浙江大学, 2008.
- [17] Howland JG, Wang YT. Synaptic plasticity in learning and memory: stress effects in the hippocampus. *Frog Brain Res*, 2008, 169(17): 145-158.
- [18] Baez MW, Oberholzer MV, Cercato MC, et al. NMDA receptor subunits in the adult rat hippocampus undergo similar changes after 5 minutes in an open field and after LTP induction. *PLoS One*, 2013, 8(2): e55244.
- [19] Bliss TV. Young receptors make smart mice. *Nature*, 1999, 401(6748): 25-27.
- [20] Li C, Dong S, Wang H, et al. Microarray analysis of gene expression changes in the brains of NR2B-induced memory-enhanced mice. *Neuroscience*, 2011, 197: 121-131.
- [21] Von Enghardt J, Doganci B, Jensen V, et al. Contribution of hippocampal and extra-hippocampal NR2B-containing NMDA receptors to performance on spatial learning tasks. *Neuron*, 2008, 60(5): 846-860.
- [22] Baum ML, Kurup P, Xu J, et al. A STEP forward in neural function and degeneration. *Commun Integr Biol*, 2010, 3(5): 419-422.
- [23] Paul S, Connor JA. NR2B-NMDA receptor mediated increases in intracellular Ca^{2+} concentration regulate the tyrosine phosphatase, STEP, and ERK MAP kinase signaling. *J Neurochem*, 2010, 114(4): 1107-1118.
- [24] Ronicke R, Mikhaylova M, Ronicke S, et al. Early neuronal dysfunction by amyloid beta oligomers depends on activation of NR2B-containing NMDA receptors. *Neurobiol Aging*, 2011, 32(12): 2219-2228.
- [25] Sacktor TC. PKMzeta, LTP maintenance, and the dynamic molecular biology of memory storage. *Prog Brain Res*, 2008, 169: 27-40.
- [26] 吴鹏飞. 含硫氨基酸残基翻译后修饰在突触可塑性和神经细胞氧化性损伤中的作用机制. 武汉: 华中科技大学

大学, 2012.

- [27] Yin X, Takei Y, Kido MA, et al. Molecular motor KIF17 is fundamental for memory and learning via differential support of synaptic NR2A/2B levels, 2011, 70(2): 310-325.
- [28] Martel MA, Wyllie DJ, Hardingham GE. In developing hippocampal neurons, NR2B-containing N-methyl-D-aspartate receptors (NMDARs) can mediate signaling to neuronal survival and synaptic potentiation, as well as neuronal death. Neuroscience, 2009, 158(1): 334-343.

- [29] Biondi O, Branch U, Sanchez G, et al. In vivo NMDA receptor activation accelerates motor unit maturation, protects spinal motor neurons, and enhanced SMN2 gene expression in severe spinal muscular atrophy mice. J Neurosci, 2010, 30(34): 11288-11299.

调节性 T 细胞缓解帕金森病中多巴胺神经元炎性损伤

毕涌 洪娟 李佳 综述 张旭 审校

温州医学院附属第一医院神经内科 浙江省温州市 325000

摘要: 免疫炎症可能是引起帕金森病病理机制级联反应最终导致多巴胺神经元变性缺失的主要因素, 黑质纹状体多巴胺神经元变性与小胶质细胞激活和 T 淋巴细胞浸润相关。调节性 T 细胞可调控小胶质细胞的激活反应, 缓解 Th17 细胞介导的神经炎症。因此, 针对调节性 T 细胞在其天然免疫和适应性免疫中的相互作用, 通过硝基化 α -突触核蛋白疫苗、格拉默醋酸盐和骨髓间充质干细胞等方法调控调节性 T 细胞的数量和功能, 清除积聚的错误折叠蛋白, 可为帕金森病神经保护治疗提供新的策略。

关键词: 帕金森病; 多巴胺神经元; 炎症; 小胶质细胞; 调节性 T 细胞

帕金森病 (Parkinson's disease, PD) 是第二常见的神经系统退行性疾病, 临床表现为静止性震颤、肌强直、运动迟缓和姿势异常等症状。PD 的病理改变主要表现为中脑黑质多巴胺能 (dopaminergic, DA) 神经元进行性变性、缺失, 纹状体内多巴胺含量减少, 残存的 DA 神经元内形成以 α -突触核蛋白 (α -synuclein, α -syn) 为主要成分的嗜酸性包涵体。氧化应激、线粒体功能障碍、泛素蛋白酶体系统功能障碍和细胞凋亡等学说均从不同角度解释了上述现象。免疫炎症则可能是引起上述病理机制级联反应最终导致多巴胺神经元变性缺失的主要因素^[1]。

1 小胶质细胞介导 DA 神经元炎性损伤

1.1 小胶质细胞与 α -syn 的相互作用

小胶质细胞 (microglial, MG) 是脑内主要的固有免疫细胞, 分泌抑炎因子和神经营养因子, 与星形胶质细胞和神经元一起维持组织的稳态。MG

可被致病原或组织损伤激活, 促进炎症反应并进一步激活免疫系统, 诱导组织修复。最初认为, α -syn 聚集形成寡聚体的中间状态结构可引起神经元死亡, α -syn 相关的神经病理改变是由其寡聚体在细胞内作用引起神经元死亡所致^[2]。近来研究显示, 释放至细胞外间隙的蛋白聚集体对神经元变性具有重要作用, 胞外 α -syn 被 MG 吞噬, 聚集、硝化和氧化后诱导 MG 激活, 释放促炎因子, 激活 NADPH 氧化酶促进 ROS 的产生, 介导神经毒性作用^[2-4]。体外研究显示, α -syn 过表达可激活 MG, 促进花生四烯酸代谢酶、NO、TNF- α 和 IL-6 等细胞因子的分泌, 吞噬功能受损^[5]。

1.2 小胶质细胞与效应 T 细胞的相互作用

释放至细胞外间隙的蛋白聚集体, 不仅激活 MG 分泌 ROS、TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 等促炎因子调节神经元的凋亡; 还可通过脑脊液引流至淋巴结, 激活抗原提呈细胞, 在主要组织相容性复合体-II

基金项目: 浙江省高校“十二五”神经生物学重点学科 (204-071006); 浙江省自然科学基金 (Y2101091)

收稿日期: 2013-03-08; 修回日期: 2013-05-31

作者简介: 毕涌 (1981-), 男, 硕士, 主治医师, 主要从事神经免疫学和神经变性病相关方面研究。

通讯作者: 张旭 (1963-), 男, 主任医师, 教授, 硕士生导师, 主要从事神经病学与神经免疫学研究。