

蛋白激酶 C 对学习记忆能力的影响

刘志娟¹ 综述 吕佩源^{1,2} 审校

1. 河北医科大学研究生学院, 河北省石家庄市 050017

2. 河北省人民医院, 河北省石家庄市 050051

摘要: 蛋白激酶 C (PKC) 是一类丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶家族, 在学习记忆中有着极其重要的作用, 也被叫做“记忆激酶”家族。可参与多种信号转导通路, 调控突触的传递, 突触可塑性及海马神经元的凋亡等与记忆相关的机制。因此, PKC 功能障碍参与了包括阿尔茨海默病和血管性痴呆在内的多种形式的记忆损害。随着对 PKC 家族的深入研究, PKC 药理学可能成为治疗学习和记忆疾病具有吸引力的领域。本文就 PKC 对学习记忆能力的影响做一综述。

关键词: 蛋白激酶 C; 学习记忆; 阿尔茨海默病; 血管性痴呆

随着社会老龄化的加重及脑血管病发病率的增高, 阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD)、血管性痴呆 (vascular dementia, VD) 等以学习记忆能力减退为主的疾病也日益增多, 在严重危害人类生活质量的同时也给社会和家庭带来了极大的负担。因此探索此类疾病的发病机制, 寻找早诊断、早预防、早治疗的有效办法具有重要的社会和医学意义。蛋白激酶 C (protein kinase C, PKC) 是 1977 年日本学者 Nishizuka 等首次发现, 是一类由多种同工酶组成的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶家族, 其广泛存在于动物的各种组织细胞中, 是信号转导通路的中心分子之一, 参与调节细胞增殖、分化等多种生物代谢的功能。其中枢神经系统中起重要作用, 尤其是对大脑学习和记忆功能产生重要的影响。有研究显示, PKC 信号通路的缺失是 AD 和其他脑缺血卒中后记忆障碍患者大脑最早的变化之一^[1]。因此可以推测, PKC 信号通路障碍可能是学习和记忆障碍形成的病理基础。由于目前对于学习记忆障碍疾病缺乏有效的治疗手段, 对于 PKC 信号通路的研究可能为此类疾病的治疗开辟一条新径。

1 PKC 生物学特性

1.1 PKC 的分类及其分布

目前在哺乳动物中已分离出 12 种 PKC 亚型。根据对激动剂的同源性和敏感性, 通常将其分为 3 个亚组: 经典型 PKC (classical PKCs, cPKC): 包含 α 、 β I、 β II 和 γ 亚型, 这些亚型依赖于 Ca^{2+} 、二酰

甘油 (diacylglycerol, DAG) 的激活; 新型 PKC (novel PKCs, nPKC): 包括 δ 、 ϵ 、 ϵ' 、 η 、 θ 和 μ 亚型, 这些只需要 DAG 就能被激活; 以及非典型 PKC (atypical PKCs, aPKC): 包含 λ 、 ζ 亚型, 这些不需要 Ca^{2+} 、DAG 就能被激活。

关于 PKC 亚型的分布可概述如下: PKC α 和 PKC δ 在所有组织中均可表达, 特别是在大脑中表达最多。PKC ζ 在大多数组织可见, 尤其在肺, 其次为脑和肝脏。其他的亚型多为组织特异性表达: PKC γ 为脑和脊髓所特有; PKC ϵ 主要在大脑中表达; PKC β I 在脾脏; PKC β II 在脾脏和脑; PKC η 表达在角蛋白细胞; PKC θ 表达在骨骼肌肉、T 细胞和表皮。

1.2 PKC 的结构

PKC 是一个由多基因家族编码的多肽类物质, 由 737 ~ 872 个氨基酸残基构成的一条单多肽链。PKC 含有调节结构域 (C1 和 C2) 和催化结构域 (C3 和 C4), 由同工酶特异性可变区隔开。其中 C1 是膜结合区, 与激动剂结合; C2 区与酶对钙的敏感性有关; C3 区包含酶催化位点和 ATP 结合位点; C4 区包含着底物结合位点^[2]。cPKC 亚组成员含有四个同源结构域 (C1、C2、C3 和 C4), 因此其激活依赖于 Ca^{2+} 、DAG。而 nPKC 亚组成员缺少 C2 区域, 使得 nPKCs 与 Ca^{2+} 亲和力较低, 且不是 nPKCs 激活所必备的。aPKC 亚组成员缺少 C2 域 Ca^{2+} 结合位点和 C1 同源域, 因此对 Ca^{2+} 、DAG、佛波醇和一些其他的 PKC 激动剂不敏感。

基金项目: 河北省自然科学基金 (H2013307046); 河北省重大医学科研课题项目 (zd2013005)

收稿日期: 2015-06-17; 修回日期: 2015-10-21

作者简介: 刘志娟 (1989-), 女, 在读研究生, 主要从事血管性认知功能障碍相关研究。

通讯作者: 吕佩源 (1962-), 男, 医学博士, 博士生导师, 主任医师, 教授, 主要从事神经内科临床及血管性认知功能障碍研究工作。

1.3 PKC 的激活

PKC 通常以无活性的形式存在于细胞中,磷酸肌醇信号通路是激活 PKC 亚型主要的级联反应之一。细胞外信号分子与 G 蛋白偶联受体结合,兴奋磷脂酶 C (PLC) 和水解磷脂酰肌醇-4,5-二磷酸 (PIP2),形成三磷酸肌醇 (IP3) 和 DAG。IP3 与细胞内受体结合,引起 Ca^{2+} 从内质网释放,细胞质 Ca^{2+} 浓度升高, Ca^{2+} 和 DAG 同时兴奋 cPKC 亚型,而 DAG 本身可激活 nPKC 亚型。

此外,PKC 的激活还需要与细胞膜结合及易位。其中,PKC 亚型活化的一大特点是从胞质迅速易位至浆膜/细胞膜或细胞骨架。激活的 PKC 可磷酸化多种蛋白和酶类,并且能改变其特性和活性,从而调节突触的功能,影响神经元凋亡,在改善学习记忆方面具有十分重要的作用。

2 PKC 与学习和记忆相关机制和作用

2.1 PKC 与突触传递

突触之间神经递质的传递参与学习和记忆过程的调节是早已为人们所熟知的事实。例如,中枢胆碱能释放的乙酰胆碱 (acetylcholine, Ach) 被认为是参与学习记忆功能的重要神经递质。此外,去甲肾上腺素能、 γ -氨基丁酸能 (γ -GABA)、多巴胺能和谷氨酸能系统的神经递质释放都与学习记忆相关^[3]。

突触传递在大脑学习记忆过程中发挥着重要作用。而 PKC 是尽人皆知的突触功能调节器,包括调节突触合成、囊泡充填及多种神经递质的释放。据文献报道,胆碱能系统功能缺陷是 AD 患者中最早期探及的异常神经递质^[4]。而活化的 PKC 能增加海马乙酰胆碱的释放^[5]。此外,PKC 的活化还能增强乙酰胆碱转移酶活性,导致乙酰胆碱形成增多,进而参与学习记忆的形成过程。在长时程增强 (long-term potentiation, LTP) 期间,可通过 PKC 磷酸化谷氨酸受体 1 (glutamate receptor 1, GluR1) 丝氨酸 818 位点,将包含 AMPA 受体整合在突触。突触后抑制 PKC 活性使 AMPARs 保持在突触前结构,使得 LTP 和棘突不稳定扩张^[6]。 γ -GABA 是中枢神经系统内重要的抑制性递质,它对学习和记忆也有重要的调节作用。PKC 通过磷酸化个别的 GABA 受体亚基的胞内域,从而改变 GABA 受体功能和其变构效应的调节。另外,有报道显示,敲除了 PKC ϵ 的小鼠,多巴胺的释放也相应减少,可能与下调中脑和纹状体 $\alpha 6$ nAChR 亚基 mRNA 有关^[7]。总之,

越来越多的证据证实了 PKC 在突触传递方面的作用。

2.2 PKC 与突触可塑性

学习和记忆过程的神经基础是神经元之间的连结,即突触的形态和功能上的改变,这种改变称为突触可塑性,是多种学习形式的基础。

哺乳动物中研究最广泛的突触可塑性形式是 LTP。LTP 作为学习与记忆的电生理学细胞模型,已受到广大医务研究人员的重视。据文献报道,激活 PKCs 可促进 LTP 的形成^[8]。PKM ζ (protein kinase M ζ) 是 PKC ζ 独立催化作用的结构域,由于缺少调节域,一直处于激活状态,是维持海马晚期 LTP 的充分必要条件^[9]。此外,PKMs 通过参与抑制细胞吐作用的过程,增加突触后致密物蛋白 95 (PSD-95) 和 AMPAR GluA2 亚基的聚集。突触后 PSD-95 蛋白可参与调节神经递质的分泌、集聚及相应受体的生物功能,在突触可塑性中有十分重要的作用。

突触再生修复是神经可塑性的重要组成部分。业已证明,PKC 亚型可参与神经突和突触结构及功能的调节^[2]。PKC ϵ 被各种刺激激活后,通过与肌丝和富含肌动蛋白结合序列的 C1 域相互作用,诱导神经突的生长。除此之外,PKC ϵ 还能防止成熟啮齿类动物大脑损伤相关的突触缺失^[10]。PKC ϵ 活化后诱导脑源性神经营养因子 (brain-derived neurotrophic factor, BDNF) 表达增高,激活修改/修复突触结构和功能的复杂信号通路^[11],促使轴突延伸,树突末端棘突数量和体积的增加。而使用 PKC 抑制剂可阻断视网膜轴突、背根神经节神经元、交感神经元、和海马组织培养的神经突生长。

2.3 PKC 与海马神经元存活

目前认为,海马结构特别是 CA1 区与空间辨别及学习记忆关系最为密切,并认为是认知功能相关的重要脑区,直接参与信息的贮存和处理。海马 CA1 区神经元的存活数量直接影响神经元突触的可塑性及海马对信息的处理和传递,从而影响学习和记忆过程。Zhu 等^[12]通过抑制 VD 大鼠模型海马 CA1 区 p53 及其下游效应器 Noxa 的表达,抑制了细胞凋亡,从而提高了大鼠学习及记忆能力。证实了海马细胞凋亡与学习记忆的关系。

活化 PKC 能够减少海马 CA1, CA2, CA3 区凋亡细胞的数量^[13]。PKC 亚型可影响神经突生长过程或神经元的凋亡过程。在细胞凋亡中通常表现出促进凋亡和抗凋亡两个方面:一般来说,PKC α 、

PKC β 、PKC ϵ 和PKC ζ 具有抗凋亡作用,而PKC δ 和PKC θ 具有促凋亡作用。激活PKC β 1可诱导细胞存活和神经突再生长及挽救脊柱神经节神经元^[14]。大鼠电针预处理研究显示,引起PKC ϵ 激活可介导抗凋亡和对局部脑缺血快速耐受^[15]。PKC ζ 可调控NF- κ B活性,PKC- ζ 可使I κ B磷酸化,活化的I κ B从NF- κ B复合体解离,NF- κ B发生核易位,参与细胞凋亡作用^[16]。而脑缺血激活的PKC δ 导致细胞色素C从线粒体释放和细胞凋亡^[17]。选择性PKC δ 肽抑制剂能减少缺血模型大鼠海马细胞损伤。活化的PKC δ 对caspase3抑制剂敏感,认为其能介导NMDA诱导的皮质死亡。以上均证实PKC在神经节神经元细胞的存活中起重要作用。

3 PKC与多种学习记忆

PKC亚型在多种学习和记忆获得过程中起着十分重要的作用。例如,啮齿类动物空间学习记忆、躲避学习、瞬时学习、嗅觉辨别学习、情景恐惧记忆和药物相关奖赏记忆。有研究显示,学习记忆任务与海马神经元PKC免疫活性相关。敲除PKC γ 基因的小鼠可出现学习和记忆功能的缺陷。年老大鼠表现出较低的空间学习记忆能力,与海马CA1区锥体细胞树突末端棘突和突触密度减少密切相关。在训练期间连续使用PKC激动剂苔藓菌素-1可以使年老大鼠树突棘密度和记忆恢复到年轻大鼠的状态^[18]。另有报道提出,持续活化PKM ζ 是长期记忆的分子机制^[19]。过度表达PKM ζ 增加了苍蝇属和啮齿类动物的记忆^[20]。而局部阻断PKM ζ 即可快速清除长时期记忆,包括空间长期记忆,海马追踪记忆,果蝇的嗅觉回避学习记忆,底外侧杏仁核主动记忆,伏隔核食欲记忆,背侧纹状体的习惯性记忆,和最基本的联想等。另一项在海蜗牛的研究显示,PKC激活后诱导蛋白质的从头合成是后续长期记忆巩固和记忆增强所必要的条件。

4 PKC与学习记忆障碍相关疾病

4.1 PKC与AD

AD是老年期痴呆最常见的一种类型,主要表现为逐渐进展的记忆和认知功能下降,并伴有行为和人格的改变,已经成为65岁以上人群死亡的最主要原因之一。病因尚不明确,老年斑、神经纤维缠结、神经元丢失被认为是AD的主要病理学特征。老年斑主要由淀粉样蛋白前体水解产物 β -淀粉样蛋白(*amyloid β -protein*, A β)组成,神经纤维缠结是高度磷酸化的Tau蛋白构成。

已发现AD患者PKC的功能障碍或受到抑制。A β 的沉积抑制了多种PKC亚型,减少了钙释放通道兰尼碱受体2(*ryanodine receptor*, RyR2)的表达,阻断了海马BDNF诱导的RyR依赖的树突棘重塑^[21]。在APP转基因小鼠研究中发现,PKC活化减少了A β 40在脑的沉积。另一项APP转基因小鼠的研究显示,过度表达PKC ϵ 可选择性增加内皮转移膜的活性,可以降解包括海马细胞在内的几种神经元沉积的A β 。

Tau是微管相关蛋白,在神经元轴突可发现,并且参与微管合成和生长轴突的稳定性。Tau蛋白过度磷酸化在AD的形成中起了关键作用。大量的蛋白激酶和蛋白磷酸化参与Tau高度磷酸化,其中包括糖原合成激酶3 β (*GSK-3 β*),而活化的PKC可抑制GSK3激酶,进而减少Tau蛋白磷酸化。

4.2 PKC与VD

VD是指因多次脑卒中或长期慢性脑缺血等脑血管病变引起的脑损害所致的痴呆,主要表现为学习记忆、认知能力减退及行为障碍等。国内鲁东^[22]发现复方血栓通胶囊可能通过促使cPKC γ 蛋白表达而起到减轻脑缺血再灌注后脑水肿的作用,从而有效改善小鼠神经功能。因此,可以推测PKC可能改善卒中后的痴呆。国内吕佩源课题组^[23]观察到VD小鼠海马组织CA1区PKC表达量减少,且与学习、记忆成绩降低相一致。此外,国外Ohno等在脑缺血再灌注模型中应用PKC和Ca²⁺拮抗剂能有效地预防脑缺血后的工作记忆障碍。另有,Le等^[24]发现假马齿苋皂苷I可通过PKC信号通路改善脑缺血小鼠的认知功能。因此,恰当的激活PKC同工酶及相应的PKC激动剂可能是卒中/缺血-再灌注损伤和相关记忆损害有效的治疗方法。

5 结语

PKC家族是一种多功能蛋白激酶,在细胞膜信号转导中起关键作用,调节突触传递,突触可塑性及神经元的存活,参与学习记忆的获得和维持,成为临床治疗AD、VD等认知功能障碍疾病的一个新靶点。虽然本文阐述了PKC在学习和记忆过程中的相关机制,然而,到现在为止PKC蛋白家族各成员在学习和记忆形成过程中扮演的角色并不十分清楚,且学习和记忆是动物非常复杂的神经活动过程,积极明确学习记忆过程中的细胞分子机制也是目前最亟待解决的问题。

参 考 文 献

- [1] Lucke-Wold BP, Turner RC, Logsdon AF, et al. Common mechanisms of Alzheimer's disease and ischemic stroke: the role of protein kinase C in the progression of age-related neurodegeneration. *J Alzheimers Dis*, 2015, 43(3): 711-724.
- [2] Sun MK, Nelson TJ, Alkon DL. Towards universal therapeutics for memory disorders. *Trends Pharmacol Sci*, 2015, 36(6): 384-394.
- [3] Sun MK, Alkon DL. The "memory kinases": roles of PKC isoforms in signal processing and memory formation. *Prog Mol Biol Transl Sci*, 2014, 122: 31-59.
- [4] Sun MK, Alkon DL. Activation of protein kinase C isozymes for the treatment of dementias. *Adv Pharmacol*, 2012, 64: 273-302.
- [5] Obis T, Besalduch N, Hurtado E, et al. The novel protein kinase C epsilon isoform at the adult neuromuscular synapse: location, regulation by synaptic activity-dependent muscle contraction through TrkB signaling and coupling to ACh release. *Mol Brain*, 2015, 8: 8.
- [6] Yang Y, Wang XB, Zhou Q. Perisynaptic GluR2-lacking AMPA receptors control the reversibility of synaptic and spines modifications. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010, 107(26): 11999-12004.
- [7] Exley R, Clements MA, Hartung H, et al. Alpha6-containing nicotinic acetylcholine receptors dominate the nicotine control of dopamine neurotransmission in nucleus accumbens. *Neuropsychopharmacology*, 2008, 33(9): 2158-2166.
- [8] Kim H, Han SH, Quan HY, et al. Bryostatin-1 promotes long-term potentiation via activation of PKC alpha and PKC epsilon in the hippocampus. *Neuroscience*, 2012, 226: 348-355.
- [9] Song MJ, Jang JK, Kim WY, et al. Inhibition of PKM zeta in the nucleus accumbens core blocks the expression of locomotor sensitization induced by amphetamine. *Behav Brain Res*, 2013, 241: 139-143.
- [10] Sun MK, Hongpaisan J, Alkon DL. Postischemic PKC activation rescues retrograde and anterograde long-term memory. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2009, 106(34): 14676-14680.
- [11] Adasme T, Haeger P, Paula-Lima AC, et al. Involvement of ryanodine receptors in neurotrophin-induced hippocampal synaptic plasticity and spatial memory formation. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2011, 108(7): 3029-3034.
- [12] Zhu Y, Zeng Y. Electroacupuncture protected pyramidal cells in hippocampal CA1 region of vascular dementia rats by inhibiting the expression of p53 and Noxa. *CNS Neurosci Ther*, 2011, 17(6): 599-604.
- [13] Yesilirmak DC, Kumral A, Tugyan K, et al. Effects of activated protein C on neonatal hypoxic ischemic brain injury. *Brain Res*, 2008, 1210: 56-62.
- [14] Lallemand F, Hadjab S, Hans G, et al. Activation of protein kinase C beta I constitutes a new neurotrophic pathway for deafferented spiral ganglion neurons. *J Cell Sci*, 2005, 118(Pt 19): 4511-4525.
- [15] Wang Q, Li X, Chen Y, et al. Activation of epsilon protein kinase C-mediated anti-apoptosis is involved in rapid tolerance induced by electroacupuncture pretreatment through cannabinoid receptor type 1. *Stroke*, 2011, 42(2): 389-396.
- [16] Martin AG, San-Antonio B, Fresno M. Regulation of nuclear factor kappa B transactivation. Implication of phosphatidylinositol 3-kinase and protein kinase C zeta in c-Rel activation by tumor necrosis factor alpha. *J Biol Chem*, 2001, 276(19): 15840-15849.
- [17] Khadra N, Bresson-Bepoldin L, Penna A, et al. CD95 triggers Orai1-mediated localized Ca²⁺ entry, regulates recruitment of protein kinase C (PKC) beta2, and prevents death-inducing signaling complex formation. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2011, 108(47): 19072-19077.
- [18] Hongpaisan J, Xu C, Sen A, et al. PKC activation during training restores mushroom spine synapses and memory in the aged rat. *Neurobiol Dis*, 2013, 55: 44-62.
- [19] Sacktor TC. Memory maintenance by PKM zeta—an evolutionary perspective. *Mol Brain*, 2012, 5: 31.
- [20] Shema R, Haramati S, Ron S, et al. Enhancement of consolidated long-term memory by overexpression of protein kinase M zeta in the neocortex. *Science*, 2011, 331(6021): 1207-1210.
- [21] Pascale A, Amadio M, Govoni S, et al. The aging brain, a key target for the future: the protein kinase C involvement. *Pharmacol Res*, 2007, 55(6): 560-569.
- [22] 鲁东. 复方血栓通胶囊对动脉阻塞致缺血性脑卒中小鼠 cPKCγ 表达水平及神经功能损伤程度的影响. *国际神经病学神经外科学杂志*, 2015, 42(2): 109-112.
- [23] 陈玲, 王宁娟, 宋春风, 等. 血管性痴呆小鼠海马神经元蛋白激酶 C 表达特征. *疑难病杂志*, 2008, 7(5): 259-261.
- [24] Le XT, Nguyet PHT, Van Nguyen T, et al. Protective effects of Bacopa monnieri on ischemia-induced cognitive deficits in mice: the possible contribution of bacopaside I and underlying mechanism. *J Ethnopharmacol*, 2015, 164: 37-45.