

# 长时程增强效应与逆信使一氧化氮\*

孙立民 陈惟昌

(中日友好临床医学研究所生物物理研究室, 北京 100029)

## 提 要

长时程增强效应(LTP)是神经元可塑性的反映和记忆过程中神经元生理活动的指标,一氧化氮(NO)在LTP产生过程中,可能作为逆信使作用于突触前区,增加递质释放,维持LTP.

**关键词** 长时程增强效应, 一氧化氮, 逆信使

自 Bliss (1973年)<sup>[1]</sup>发现神经元的长时程增强效应(long-term potentiation, LTP)后,这种可兴奋细胞所特有的电生理现象成为神经生理学的研究热点. 有关LTP,目前比较一致的看法是:LTP是神经元可塑性的反映,是记忆过程中神经元生理活动的指标. 它的产生是一个复杂的生理过程,需要完整的突触接替,主要参与的神经递质为谷氨酸(glutamate, Glu),通过兴奋突触后 N-甲基 D-天门冬氨酸(N-methyl D-aspartate, NMDA)受体,导致钙离子内流而实现<sup>[2]</sup>.

1986年 Bliss 等发现突触前递质释放增加可能参与LTP的维持<sup>[3]</sup>. 以后 Bonhoeffer 和 Bekkers 等也分别证实了这一现象<sup>[4,5]</sup>. 1987年, Kaelin-Lang 发现LTP由两种成分组成,短时相:约持续半小时;长时相:约持续数小时或数天<sup>[6]</sup>. Davies 发现突触后 Glu 受体的敏感性半小时后才逐渐升高,且需激酶维持<sup>[7]</sup>. Malinow 发现,在抑制激酶以后,短时相LTP不受影响,而长时相则不能产生<sup>[8]</sup>. 基于上述现象及以前的研究结果, Stevens 于1989年提出了突触前和突触后共同参与LTP的模式<sup>[9]</sup>:

突触前释放 Glu → NMDA 受体激活 →  $\text{Ca}^{2+}$  内流 → 第三种信息物质从突触后膜释放

刺激突触进一步释放 Glu

第四种信息物质在轴突后释放 → 激活突触后细胞内激酶并维持其活性 → 进一步增强突触后膜 NMDA 受体的敏感性 → LTP

模式中的第三种信息物质,产生于突触后膜并释放至突触前膜起作用,称之为逆信使(retrograde messenger).

30年前, Thomas 和 Pearse 发现孤立激活神经元的黄递酶(diaphorase)活性很强,但一直到近几年,具有较高毒性的NO气体才得到重视. 因为一系列的研究发现,NO极可能是一种生理状态下细胞间的信息物质,代表一种新的神经递质. NO是由内皮细胞产生的血管平滑肌松弛因子(endothelium-derived relaxing factor, EDRF),由NO合成酶(钙/钙调蛋白

依赖)以L-精氨酸为底物合成. 目前这种酶已被提纯、克隆化和表达<sup>[10]</sup>.

1988年, Carhuarte 等报道用谷氨酸兴奋NMDA受体可导致一种EDRF样的可扩散性信息物质的释放,在神经系统中,这种物质可能起突触后调控突触前的作用<sup>[11]</sup>. Kiedrowski 也证实了谷氨酸受体激动剂在培养的小脑颗粒细胞中提高NO合成酶的活性<sup>[12]</sup>.

\*国家自然科学基金资助项目.

收稿日期: 1992-09-25 修回日期: 1992-12-25

1990年,Boehme最先报道了LTP与NO的关系<sup>[13]</sup>.他从大脑细胞NMDA受体激活能生成NO着手,发现用NO合成酶抑制剂( $N^G$ NLA)能阻断LTP的形成.Schuman(1991年)紧随其后得到了类似的结果.O'Dell受Stevens模式的启发,研究了NO作为逆信使的可能性<sup>[14]</sup>.他认为LTP机制中,逆信使需满足下列条件:a.必须由突触后产生;b.诱导LTP过程中必须随NMDA受体活化后释放;c.抑制了逆信使的合成应阻断LTP;d.必须有去除或降解活性信使的途径;e.外源性信使能模拟LTP;f.外源性信使的作用应不依赖于NMDA受体,因诱导LTP时内源性信使可能随NMDA受体活化而释放;g.逆信使的作用应是迅速的,因LTP产生后观察到的递质增加是迅速的;h.突触前其它类型的突触强化不应被逆信使所产生的强化阻断;i.逆信使应具有突触特异性,因LTP过程中强化只发生在突触前纤维被刺激的突触而不是其它的突触.Hawkins认为,这种特异性是通过空间扩散限制或行为依赖作用实现的<sup>[14]</sup>.

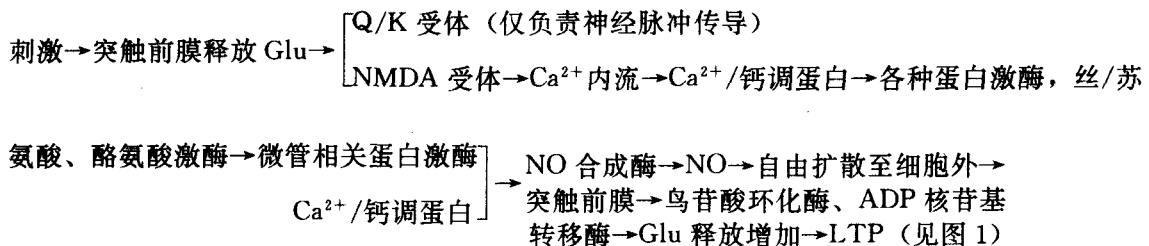
依据以上条件,O'Dell进行了一系列实验.他研究了两种可扩散物质作为逆信使的可能性:花生四烯酸(AA)和NO.这里重点介绍NO.首先,他用NO合成酶抑制剂(如 $N^G$ NLA)在离体条件下阻断了海马CA1锥体细胞LTP的产生,发现这种作用是通过阻断了NMDA受体激活而导致的cGMP水平升高来实现的.East也发现用 $N^G$ NLA阻断LTP的浓度与阻断因NMDA受体激活而导致的cGMP

水平升高的浓度相等.这种作用能被NO合成的底物L-精氨酸减弱<sup>[15]</sup>.其次,他向CA1锥体细胞内微量注射 $N^G$ NLA或 $N^G$ MLA(均为NO合成酶抑制剂),也成功地阻断了LTP.说明NO合成于突触后.然后用能与NO牢固结合并不能进入细胞内的血红蛋白在细胞外亦能阻断LTP,说明NO扩散到了细胞外,反向作用于突触前区.而甲基血红蛋白与NO亲和力低,不能阻断LTP.

O'Dell进一步研究了NO维持LTP的机理.Malgarodi等发现,微小的兴奋性突触后电流(miniature excitatory post synaptic currents, mEPSCs)与LTP很相似,它被NMDA受体阻断剂或突触后超极化阻断<sup>[14]</sup>.O'Dell证实了NO能增加自发性mEPSCs的频率,而mEPSCs频率的增加被认为是突触前递质释放增加的结果,因此间接说明了NO能增加突触前递质的释放,与前述的研究结果较为符合.

那么,NO是通过什么途径发挥效应的?目前认为,NO的结合靶为鸟苷酸环化酶,该酶在神经及血管中为NO受体,与NO结合转为激活态,导致cGMP水平增加,再通过各种蛋白酶、磷酸二酯酶等发挥生理效应,使递质释放增加<sup>[10]</sup>.同时,NO可能对ADP核苷基转移酶也有作用,此酶可将ADP的核苷基团,转移至线粒体蛋白与线粒体中酶蛋白的酸性氨基酸的羧基基团上,使蛋白有关构象改变而发生作用.

总结以上结果,O'Dell提出了LTP产生的生化模式,归纳了LTP与NO的关系:



以上假说仍有多处不明,如钙/钙调素如何激活NO合成酶,cGMP水平增加如何导致递

质释放增加,NO的突触特异性如何实现?Hawkins(1990年)认为,突触特异性可通过



- ceptor agonists stimulate nitric oxide synthase in primary cultures of cerebellar granule cells. *J Neurochem*, 1992; **58**(1):335-341
- 13 Beohme G A, Bon C, Stutzmann J M *et al*. Possible involvement of nitric oxide in long-term potentiation. *Eur J Pharmacol*, 1991; **199**(3):379-382
- 14 O'Dell T J, Robert D, Hawkins E *et al*. Test of the roles of two diffusible substances in long-term potentiation. Evidence for nitric oxide as a possible early retrograde messenger. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1991; **88**(12):11285-11289
- 15 East S J, Garthwaite J. NMDA receptor activation in rat hippocampus induces cyclic GMP formation through the L-arginine nitric oxide pathway. *Neurosci Lett*, 1991; **123**:17-19
- 16 Zalatsky R A, Nicoll R A. Comparison of two forms of long-term potentiation in single hippocampal neurons. *Science*, 1990; **248**:1619-1624
- 17 Williams J H, Errington M L, Lynch M A *et al*. Arachidonic acid induces a long-term activity-dependent enhancement of synaptic transmission in the hippocampus. *Nature*, 1989; **341**:739-742
- 18 Piomelli D, Volterra A, Dale N *et al*. Lipoxygenase metabolites of arachidonic acid as a second messengers for presynaptic inhibition of Aplysia sensory cells. *Nature*, 1987; **328**:38-43

## 体外构筑生物神经网络方法述评

朱扬明 韦 钰

(东南大学分子与生物分子电子学国家实验室, 南京 210018)

### 提 要

受人工神经网络研究的推动,也由于神经器件研究的需要,探索大脑思维机制的启发,人工控制生物神经网络形成的方法近年受到了人们的重视。下面综述体外控制生物神经网络形成的几种方法,并对它们的特点作适当评述。

**关键词** 生物神经网络,神经器件,细胞生长

电场对生物组织生长发育的影响早已被人们所认识<sup>[1-3]</sup>。有证据表明电场对细胞迁移有导向作用。一般情形下,细胞向负极的生长增强,向正极的生长减弱。非对称的钙离子流在这种趋电运动中起关键作用。用电刺激骨细胞的分裂增殖已用于临床骨折的治疗等等。神经系统在发育和适应过程中有一个普遍的现象,就是神经元电活动的变化先于其形态变化。这意味着在细胞培养时可以用电场或别的方法来影响神经元的电活动,从而使它的形态变化向着人们期望的方向发展。由此就可得到一种在体外引导神经细胞生长的方法,也是体外构筑生物神经网络(BNN)的可能途径。事实上,Aizawa等人就是用这样的方法在体外构筑

BNN的<sup>[4-6]</sup>。然而,神经细胞的生长发育是一个极其复杂的过程,它的机制还不很清楚,有一些因素还不为人们所知<sup>[7]</sup>,或者知其然而不知其所以然,这就不排除用其它途径来控制神经细胞生长的可能性。我们下面提到的方法有些就属于此类。

就我们目前掌握的资料来看,体外控制BNN形成的方法有以下几种:

### 1 用电极控制细胞的增殖及其生长方向

Aizawa等人用电极控制细胞增殖的工作