

**Abstract** Apoptosis is a highly organized mechanism by which cells undergo programmed cell death. Apoptosis participates in many physiological and pathological processes. Recent experimental approaches suggest that sphingolipid metabolites

participate in key events of apoptosis. Being a lipid second messenger, sphingomyelin lysis product-ceramide play an important role in inducing and preventing apoptosis.

**Key words** apoptosis, sphingolipid, ceramide

## NMDA 受体和长时程增强

朱洪波 罗建红

(浙江大学医学院医学分子生物学实验室, 杭州 310031)

**摘要** 近年来, N-甲基-D-门冬氨酸 (NMDA) 受体在突触可塑性形式——长时程增强 (long-term potentiation, LTP) 中的作用及该受体被激活后的细胞内级联反应备受人们的关注。人们利用拮抗剂技术和基因敲除的方法, 对其进行了广泛的研究, 并且就 LTP 的诱导和维持方面获得了一些进展。已获得的这些研究结果为 LTP 的突触前及突触后机制提供了有力的证据。

**关键词** NMDA 受体, LTP,  $Ca^{2+}$ , 逆行信使

**学科分类号** R338

NMDA 受体是谷氨酸受体的一种亚型。近年来, 随着特异性拮抗剂技术的发展和基因敲除方法的运用, NMDA 受体在突触可塑性形式 LTP 中的作用已越来越受到人们的关注。LTP 作为学习和记忆的突触生理机制, 人们对其研究也主要集中于 NMDA 受体的特性及该受体被激活后的细胞内级联反应。随着研究的进一步深入, 人们获得了大量的实验资料, 为 NMDA 受体介导的 LTP 形成及调节机制提供了有力的证据。

### 1 NMDA 受体对 LTP 诱导的作用

自从 NMDA 受体被确定后, 人们发现兴奋性氨基酸可以通过 NMDA 受体参与中枢神经系统复杂的生理过程及突触可塑性变化, 包括 LTP 的诱导和维持。

#### 1.1 从拮抗剂来的证据

随着特异性拮抗剂的发展, 人们围绕 NMDA 受体和 LTP 作了大量的研究。众多的实验结果表明, NMDA 受体的激活在 LTP 的诱导中有着重要的作用。Murphy 和 Glanzman 在加利福尼亚海兔的隐鳃反射建立中, 发现运用 NMDA 受体的选择性抑制剂 AP5 (aminoo-5-phosphonovaleric acid), 可以抑制海兔的 LTP 诱导, 证实了 NMDA 受体的激活在 LTP 诱导中的作用<sup>[1]</sup>。Murphy 和 Reid 等<sup>[2]</sup>在

大鼠海马切片 CA1 区使用 D-AP5 也同样证实了在 LTP 的诱导中, NMDA 受体的激活是必要的。

#### 1.2 基因水平的证据

基因敲除方法是近年发展起来的一种新的实验方法。部分运用该法的实验也证实了 NMDA 受体在 LTP 中的作用。1995 年, 有人敲除了小鼠 CA1 区 NMDA 受体  $\epsilon 1$  亚单位基因。结果发现在基因敲除的小鼠当中, 通过 NMDA 受体通道的电流显著下降, 进而影响了小鼠海马区 LTP 的诱导<sup>[3]</sup>。后来, Tsien 等<sup>[4]</sup>发展了基因敲除的方法, 准确地敲除了小鼠 CA1 区 NMDA 受体 R1 基因, 发现突变后小鼠的 CA1 区缺失 LTP<sup>[5]</sup>, 从而进一步证实了 NMDA 受体在 LTP, 尤其是在海马区的 LTP 中有着至关重要的作用。

### 2 LTP 的诱导和维持

#### 2.1 NMDA 受体的激活特征

NMDA 受体的激活对 LTP 的诱导是必要的<sup>[2]</sup>。在突触传递的过程中, NMDA 受体的激活需要非 NMDA 亚型谷氨酸受体的参与, 其中主要是 AMPA 受体的参与。AMPA 受体在树突中的分布邻近于 NMDA 受体。在一般的突触传递中, 突触前膜释放的谷氨酸同时作用于 NMDA 和 AMPA

受体。但是由于 NMDA 受体通道有  $Mg^{2+}$  阻断, 处于非激活状态,  $Na^+$  和  $K^+$  只能通过 AMPA 受体通道而不能通过 NMDA 受体通道。当刺激达到一定强度时, 通过 AMPA 受体通道的离子流增强, 使得邻近 NMDA 受体的突触后膜局部去极化, 进而导致 NMDA 受体通道  $Mg^{2+}$  阻断的释放, 促进谷氨酸激活 NMDA 受体, 使得 NMDA 受体通道开放, 允许  $Ca^{2+}$  内流进入突触后膜细胞, 继而触发一系列反应诱导 LTP 的产生。

## 2.2 $Ca^{2+}$ 的作用

大量实验资料证明,  $Ca^{2+}$  内流进入突触后膜是 LTP 产生的触发因素, 突触后膜内游离  $Ca^{2+}$  浓度升高可以激活多种钙离子依赖酶包括钙蛋白酶、钙调磷酸酶和磷脂酶 C 等<sup>[6]</sup>。这些酶一方面可以引起细胞内钙贮存释放, 使得胞浆中  $Ca^{2+}$  浓度进一步升高, 进而激活 PKC 等蛋白激酶, 另一方面又可以通过磷酸化/去磷酸化, 改变受体特性, 诱发 LTP。最近已有人证明了钙-钙调蛋白依赖的蛋白激酶 II (CaMK II) 在 Thr286 位置上的自身磷酸化是 LTP 所要求的<sup>[7]</sup>。这也间接证明了  $Ca^{2+}$  在 LTP 中处于触发的地位。

## 2.3 通道特性的改变

在 LTP 中, 兴奋性突触后电位增强, 因而可以想象介导该电位的离子通道包括 AMPA 和 NMDA 受体通道都应该受到过化学修饰。只有这样, 才能引起受体传导性的改变, 致使突触后电位增强。现已清楚在 LTP 诱导过程中, NMDA 和 AMPA 受体对谷氨酸的敏感性增加<sup>[6]</sup>, 这一结果支持了上述观点。

NMDA 和 AMPA 受体敏感性增加, 与它们在色氨酸、苏氨酸和酪氨酸残基位点上发生磷酸化有关。多种蛋白激酶可以使受体发生磷酸化后, 如 PKC 可以使 NMDA 和 AMPA 受体均发生磷酸化<sup>[6]</sup>, CaMK II 可以对 NMDA 受体进行调节<sup>[8]</sup>。最近还发现酪氨酸激酶 Src 不但可以对 NMDA 受体进行磷酸化修饰, 而且 Src 本身和 NMDA 受体蛋白相偶联, 与之共沉淀<sup>[9]</sup>, 这一结果进一步支持了受体的磷酸化调节机制。

NMDA 和 AMPA 受体敏感性增加, 还与突触结构的改变有关。 $Ca^{2+}$  内流及其激活的级联反应, 特别是 PKC 和钙调蛋白之间的相互作用, 可以改变细胞骨架的成分, 导致突触结构发生改变, 使得突触头表面积增大, 突触后膜密度增加, 进而受体

的结合位点也会随之发生改变, 最终可导致通道特性发生改变, 以促进 LTP 诱导和维持。

## 2.4 突触前膜的调节因素——逆行信使

在突触后膜对谷氨酸的敏感性增加的同时, 突触前膜谷氨酸的释放也是增加的, 其突触囊泡数目、分布以及突触囊泡蛋白浓度也是升高的<sup>[10]</sup>。这就提示必然有某种分子担当从突触后膜向突触前膜传递信息的任务。时下人们将这种分子称为逆行信使。

逆行信使是突触后膜神经元对 NMDA 受体的激活作出反应而产生或释放的物质, 它们参与调节突触前膜的递质释放。大量实验资料表明, 突触后膜产生的花生四烯酸 (AA)<sup>[11]</sup>、 $NO$ <sup>[12]</sup>、 $CO$ <sup>[13]</sup> 以及血小板激活因子 (PAF)<sup>[14]</sup> 参与了这种信息传递。这些资料都为逆行信使的存在提供了证据。正是逆行信使的存在, LTP 的突触后机制才能同突触前机制联合起来, 才能激活突触前膜的 PKC 与  $Ca^{2+}$  激活酶, 促进 LTP 的产生。

## 2.5 早期诱导基因的表达

LTP 在产生过程中, 有新蛋白质的合成。这些蛋白质是 CNS 中早期诱导基因的表达产物, 它们作为第三信使, 把受体感受的信息与核内的靶基因联系起来, 是 LTP 能够维持数周乃至数月的物质基础。

早期诱导基因的表达与从突触到核的信使 (MSNs) 有关。MSNs 包括 I-kappa B 和 NF-kappa B 等物质, 能与其他转录因子一起诱导靶基因的表达。最近有人分离了 ves1 基因, 发现它编码的 VASP/Ena 家族相关蛋白参与了 LTP 中突触结构改变<sup>[15]</sup>, 这进一步支持了早期诱导基因表达在 LTP 中的作用。

## 3 结 语

综上所述, 在 LTP 形成的过程中, NMDA 受体的激活以及由其引起的细胞内级联反应有许多环节已经被了解清楚, 其具体流程图如图 1 所示。

但从图 1 中可以看出, 现在对一些环节还是不了解的, 比如逆行信使在什么情况下产生, 它又是通过什么途径作用于突触前神经元, 以达到调节目的, 另外在 MSNs 方面也有待于作进一步的探讨。当然一些新的实验技术的发展, 比如基因敲除方法的运用, 将更加有助于 LTP 形成机制的探讨。

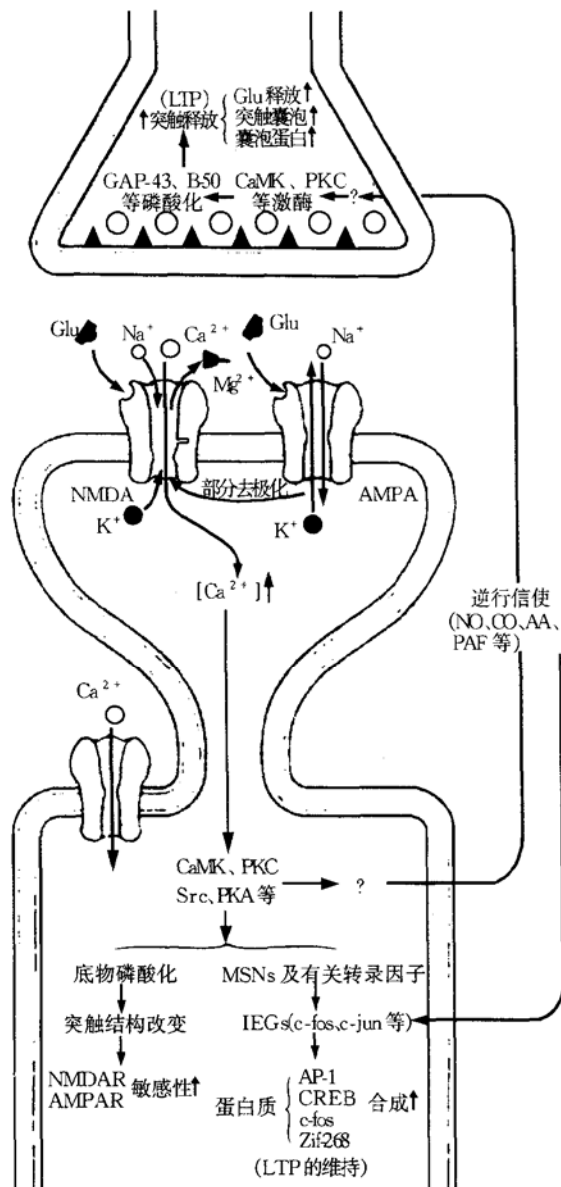


图1 NMDA受体介导的LTP模式图

MSNs: 从突触到核的信使; IEGs: 早期诱导基因; CaMK: 钙-钙调蛋白依赖的蛋白激酶; CREB: 转录因子 CRE 结合蛋白.

参 考 文 献

- 1 Murphy G G, Glanzman D L. Mediation of classical conditioning in Aplysia California by long-term potentiation of sensorimotor synapses. *Science*, 1997, **278** (5337): 467~ 471
- 2 Murphy K P S J, Reid G P, Trentham D R, *et al.* Activation of NMDA receptor is necessary for the induction of associative long-term potentiation in area CA1 of the rat hippocampal slice. *J Physiol Lond*, 1997, **504** (Pt2): 379~ 385
- 3 Sakimura K, Kutsuwada T, Ito I, *et al.* Reduced hippocampal LTP and spatial learning in lacking NMDA receptor  $\epsilon 1$  subunit. *Nature*, 1995, **373** (6510): 151~ 155
- 4 Tsien J Z, Chen D F, Gerber D, *et al.* Subregion- and type-restricted gene knockout in mouse brain. *Cell*, 1996, **87** (7):

- 1317~ 1326
- 5 Tsien J Z, Huerta J, Tonegawa S. The essential role of hippocampal CA1 NMDA receptor-dependent synaptic plasticity in spatial memory. *Cell*, 1996, **87** (7): 1327~ 1338
- 6 Rison R A, Stanton P K. Long-term potentiation and N-methyl-D-aspartate receptors: foundation of memory and neurologic disease? *Neurosci biobehav-rev*, 1995, **19** (4): 533~ 552
- 7 Giese K P, Fedorov N B, Filipkowski R K, *et al.* Autophosphorylation at Thr286 of the alpha calcium in LTP and learning. *Science*, 1998, **279** (5352): 807~ 813
- 8 Barria A, Muller D, Derkach V, *et al.* Regulatory phosphorylation of AMPA-type glutamate receptors by CaM-K II during long-term potentiation [see comments]. *Science*, 1997, **276** (5321): 2042~ 2045
- 9 Yu X M, Rand A, Gary J K, *et al.* NMDA channel regulation by channel-associated protein tyrosine kinase Src. *Science*, 1997, **275** (5300): 674~ 678
- 10 Lynch M A, Voss K L, Rodrigue Z J, *et al.* Increase in synaptic vesicle proteins accompanies long-term potentiation in dentate gyrus. *Neurosci*, 1994, **60** (1): 1~ 5
- 11 Luo Y, Vallano M L. Arachidonic acid, but not sodium nitroprusside, stimulates presynaptic protein kinase C and phosphorylation of GAP-43 in rat hippocampal slices and synaptosomes. *J Neurochem*, 1995, **64** (4): 1808~ 1818
- 12 Arancio O, Kiebler M, Lee C T, *et al.* Nitric oxide acts directly in the presynaptic neuron to produce long-term potentiation in cultured hippocampal neurons. *Cell*, 1996, **87** (6): 1025~ 1035
- 13 Bernabeu R, Princ F, de Stein M I, *et al.* Evidence for the involvement of hippocampal CO production in the acquisition and consolidation of inhibitory avoidance learning. *Neuroreport*, 1995, **6** (3): 516~ 518
- 14 Baza N G, Allan G. Platelet-activating factor in the modulation of excitatory amino acid neurotransmitter release and of gene expression. *J Lipid Mediat Cell Signal*, 1996, **14** (1-3): 321~ 330
- 15 Kato A, Ozawa F, Saitoh Y, *et al.* Vesl, a gene encoding VASP/Ena family related protein, is upregulated during seizure, long-term potentiation and synaptogenesis. *FEBS Lett*, 1997, **41** (1): 183~ 189

**NMDA Receptor and Long-term Potentiation.** ZHU Hong-Bo, LUO Jiar-Hong (*Zhejiang Provincial Laboratory of Molecular Biology in Medical Science, Zhejiang University, Hangzhou 310031, China*).

**Abstract** In recent years, the effects of the N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor on the long-term potentiation (LTP) and the intracellular cascade reaction after the activation of the NMDA receptor are emphasised widely by people through antagonists and gene knockout technique. These studies show the processing of induction and maintenance of the LTP. The results provide evidences for the pre- and post-synaptic mechanism of the LTP.

**Key words** NMDA receptor, LTP,  $Ca^{2+}$ , retrograde messenger