

CREB——长时记忆的介导因子

左巍 沈政

(北京大学心理学系, 北京 100871)

摘要 综述了 CREB 的研究进展和该领域中需深入研究和注意的问题。CREB 作为一种转录因子参与短时记忆向长时记忆的转化, 它具有激活型和抑制型两种形式, 籍此可以更加精细地调节记忆的转化, 这在不同种属动物中已经得到证实, 且其基因序列存在着高度的保守性。

关键词 CREB, 短时记忆, 长时记忆, 基因表达, 蛋白质合成

学科分类号 Q338

探索学习记忆的分子机制是神经生物学的一个重要领域。早已发现 cAMP 等第二信号系统在学习记忆过程中起重要作用。近年, 来自海兔、果蝇和小鼠的研究鉴别了参与记忆巩固机制的部分基因, 其中最引人注目的是作为转录因子的 cAMP 反应序列结合蛋白 (cAMP-responsive element binding protein, CREB) 和 CRE-调节基因 (cAMP-responsive element modulatory gene)。长时记忆的编码从非脊椎动物到哺乳动物可能涉及到相似的机制。有关 CREB 及其家族与转录调节的关系另有专文介绍^[1], 在此不再赘述。

1 来自低等动物的证据

1.1 海兔

CREB 可能在记忆中起作用的最初线索来自海兔。重复多次施加于海兔尾部的电刺激可使参与其缩尾反射的感觉和运动神经元之间形成突触连接的长时程易化, 这也可通过向体外培养的感觉和运动神经元中间隔一定时间重复加入 5-HT (该反射过程中所释放的一种神经递质) 而产生, 并且也可持续数天; 与之相对的是单次刺激引起的持续时间很短的短时程易化。近年研究发现, 这种操作可通过引起 cAMP 增加来介导 CREB 样转录因子磷酸化, 进而诱导有关基因表达, 最终导致感觉神经元中产生依赖于蛋白质合成的结构改变^[2]。Kaang^[3]已经报道重复间隔施加 5-HT 或 cAMP 类似物可引起启动子中含有 CREB 结合位点的报道基因的激活; 含有不能在 ser-133 位点上被磷酸化的突变 CREB 蛋白的神经元中的报道基因则不能被激活, 表明 CREB 的磷酸化修饰在信号事件中起主要作用。这种最先发现的可被激活的 CREB 称作 ApCREB1

(Ap 意指海兔)。

1995 年, Bartsh^[4]发现了另一种表达于海兔感觉神经元中的 CREB (称 ApCREB2), 可抑制 ApCREB1 介导的转录, 与上面所述的 CREB 在功能上是相反的。接着, Bartsh 又提出: 干扰 CREB 抑制型的活动是否可以促进长时程突触易化。结果发现, 向细胞中注入 ApCREB2 抗血清与施加五羟色胺相配对时, 仅一次就产生了长时程 (24 h) 突触易化。并且, 此种情况下产生的长时程易化需要 RNA 和蛋白质合成; 可见, ApCREB2 的抑制可使正常情况下产生短时易化的单次五羟色胺引起了神经元的长时程功能和结构的变化。

1.2 果蝇

通过使果蝇学会将特殊气味与电击联系起来的方法鉴定了几个学习缺陷的突变体^[5]: dunce 突变型, 是由于 cAMP 磷酸二酯酶的缺陷所致; rutabaga 突变型具有钙/钙调素-反应的腺苷酸环化酶缺陷。这两种酶, 一种是分解 cAMP, 另一种是产生 cAMP, 任一种的缺乏都可导致严重的学习和记忆缺陷; 而 DCO 突变型是由编码蛋白激酶 A 的催化亚基基因缺陷所致。可见 cAMP 信号系统在此类学习中是很重要的。

果蝇的联想学习亦可分为两个阶段: 不依赖蛋白质合成的短期成分和依赖蛋白质合成的长期成分^[6]。前者可通过集中训练 (训练之间无间隔) 产生, 又称为抗麻醉记忆 (anesthesia resistant memory, ARM), 不受冷休克麻醉或蛋白质合成抑制剂存在的影响。与之相反, 分散训练 (训练之间有一定的休息时间) 可形成至少持续 7 d 的长时记忆 (long-term memory, LTM), 并可被蛋白质合

成抑制剂放线菌酮抑制。采用不同的突变型果蝇可将 ARM 和 LTM 分离开^[7], Yin^[8] 研究发现, 含有表达果蝇 CREB 家族等位基因负成员的可诱导的转基因突变种果蝇的 LTM 可被特异性地完全抑制, 而 ARM 则正常, 所以说, LTM 需要 CREB 介导的从头开始的基因表达。此外, 他们^[9] 还研究了不同训练期和不同休息间隔对产生嗅觉条件反射的长时记忆的影响, 发现给予果蝇间隔 10 min、10 个训练期的训练对于产生依赖于蛋白质合成的长时记忆是必需的。该时间可能是基因激活、转录及有关蛋白质合成所必需的。

1.3 哺乳动物

Bourtchuladze 等^[10] 对 CREB 转基因小鼠的学习记忆进行了研究。虽然这些小鼠仍能表达某一特别的 CREB 片段, 但缺乏 α 和 δ 同构体。采用声音与电击相结合训练动物建立巴甫洛夫经典条件反射, 经训练的正常动物应该对声音表现出惊恐反应。突变型小鼠在其他行为方面如运动和姿势以及对声音和电击的反应基本正常, 听觉和运动控制未受到损害并能够学会条件反射。训练后 30 min 或 60 min, 和对照组均呈现同样的惊恐反应, 但训练后 2 h 再进行测试, 突变小鼠几乎无惊恐反应。

在一系列相关实验中, 野生型小鼠一放到与它们最初接受电击相类似的环境中就表现出惊恐反应, 在突变型小鼠中, 训练后 30 min 时, 这种情境条件反射基本正常, 但在 60 min 时, 则较对照组大大下降, 并且这种缺陷不能由增加训练来克服。此外, 突变小鼠在空间学习中受损。电生理研究显示突变小鼠海马区的突触传递易化形式正常, 但不能持续很长时间, 90 min 时即衰减至基线水平 (而对照组可持续 2 h 以上), 所以 CREB 突变小鼠不仅表现出学习和记忆的行为缺陷而且海马功能也受损。

CREB 在记忆中的作用已经在上述三种不同的动物中得到证实。CREB 可通过调节其抑制或激活型的活动来阻断或加强长时记忆, 而短期记忆不受其影响。作为其细胞基础的突触强度长时程易化亦受到影响而短时程易化基本正常。所以, CREB 很可能在依赖于蛋白质合成的脑长期变化中起着重要的高度保守的作用。

2 机制探讨

2.1 cAMP、Ca²⁺ 和 CREB

cAMP 反应序列 (CRE) 是位于 cAMP 所诱导

转录的真核基因启动子周围的近乎一致的回文序列 5'-TGACGTCA-3', 是基因识别 cAMP 信号的重要部位。

长时记忆过程中伴有 cAMP 的改变, 和随之触发的新的基因转录。在该通路中, 神经递质激活腺苷酸环化酶 (AC) 导致细胞内 cAMP 的产生。cAMP 然后与 PKA 的调节亚基结合, 导致催化亚基的释放并转位至细胞核使 CREB 在 Ser133 磷酸化^[11], 此位点的磷酸化促使 CREB 与另一个蛋白, CREB 结合蛋白相结合^[11]。这两个过程促进了 CRE 序列的转录并调节位于其下游的大量基因如即刻早基因 (IEGs) *c-fos* *h-zif/268* 和编码突触素 I、K⁺ 通道、Ca²⁺ / 钙调素-依赖性蛋白激酶 II 的基因^[12, 13] 的表达。

至于 CREB 的磷酸化是否可携带有关突触强度变化的信息, 以及 CREB 通路在神经元接受或提供输出时是否被同等的激活或 CREB 如何介导突触至核的信息传递, 目前还不清楚。激活 CREB 磷酸化的刺激也并非仅限于那些可引起突触强度增强或减低的刺激; 另一方面, 高频动作电位发放不能单独引发 CREB 磷酸化; 该过程是依赖于 Ca²⁺ ^[14]。位于 Ca²⁺ - 门之下的 Ca²⁺ 传感器的激活似乎在通过钙调素和 Ca²⁺ / 钙调素-依赖性蛋白激酶启动和 CREB 磷酸化中起重要作用^[3]。

2.2 突触可塑性、即早基因与 CREB

某些磷酸化的 CREBs 可能促进 IEGs 转录和表达。某些 IEGs 本身也是转录因子并可引起慢反应基因的激活, 它们的产物可参与 LTM 所引起的结构和功能改变^[15]。在海兔中, 通过向感觉神经元核内注入抗 ApC/EPB (一种可被 cAMP 或 CREB 激活的 IEG) 抗体, 可阻断长时程突触易化, 而对短时程无影响。在果蝇中的实验亦发现了类似的结果。

通常认为记忆是储存在神经环路中的, 至少部分是通过依赖于使用引起的突触传递权重的变化而储存。由使用引起的突触权重增加即长时程突触增强或易化效应 (long term potentiation), 是记忆巩固在细胞水平上的表现, 它的建立需要一系列基因的表达和新蛋白质的合成^[16, 17]。同样, 在作为运动学习基础的长时程突触抑制 (long term depression) 现象中也发现存在这样一个依赖于突触后蛋白质合成的晚时相过程^[19]。离体实验中已经证明了这一点。

2.3 抑制型和激活型 CREB 的相互作用

在低等动物中的研究已经证实了 CREB 可通过

其两种形式的相互作用来调节长时记忆过程中有关基因的表达。

在果蝇中, CREB1 的抑制形式 (dCREB2-b) 的过度表达可阻止转基因果蝇的长时记忆的形成^[8]。而 CREB1 的激活形式 (dCREB2-a)^[9] 的过度表达则大大减少形成长时记忆所需的训练次数, 甚至单次训练就可产生正常情况下需多次分散训练才能产生的长时记忆。

在海兔^[3]中, ApCREB1 和 ApCREB2 共存于感觉神经元中, 二者可能在 CRE 上直接相互作用。ApCREB2 也可能直接与 CREB1 或另外的激活子形成异源性二聚体来中介其抑制作用。离体实验已经证实多次给予 5-HT 可通过对 ApCREB2 的共价修饰而解除它对 ApCREB1 的抑制作用。实验还发现, CREB2 的生理作用具有双重性: 首先它的存在阻止单次 5-HT 暴露即可引起长时记忆形式; 再就是通过整合来自其他第二信使通路的信号和 PKA 引起的 ApCREB1 激活来调整突触变化的幅度。

Bartsch 及其同事^[4]提出了一个 ApCREB2 抑制功能的工作模型, 他们认为在通常情况下 ApCREB2 可抑制 ApCREB1 的功能, 当重复给予 5-HT 可激活激酶或磷酸化酶, 对 ApCREB2 进行磷酸化修饰, 就解除了它对 ApCREB1 的抑制作用, 使之发挥作用, 最终引起 ApCREB1 诱导的基因转录。

Yin^[9]认为训练可同时诱导这两种 CREB, 刚训练完时, 大量的抑制型 CREB 可阻断长时记忆所必需的由 CREB 诱导的分子事件发生。分散训练较集中训练更有效的原因可能是前者允许 ApCREB1 的激活作用和 ApCREB2 的抑制作用相互协调。假设 CREB 抑制型的失活比活化型更快, 那么功能激活的净量就会在分散训练间积聚 (即激活型与抑制型的差值); 集中训练不起作用是由于快速出现的下一次训练使抑制型 CREB 很快又被活化, 所以抑制型和激活型之间的差值就为零。

3 初步结论

诸多研究表明蛋白质合成的确涉及到短时记忆向长时记忆的转化过程。这些一致的数据就导致了记忆的基因表达理论的提出, 简单的说, 假设是这样的: 记忆是编码感觉、反应和行为的适当表征的神经元群体得到修饰后的长时间持续。在突触水平上, 这种修饰体现在蛋白质分子上, 而长时储存必

须克服这些蛋白质的有限寿命。一种很吸引人的可能性是经验调节的记忆表达可提供避免这些分子翻转的突触修饰。引起长时记忆的刺激可对启动调节 IEGs 表达的基因进行调节, 从而可控制慢反应基因表达的开或关。药理学实验表明, 训练后头一小时抑制 RNA 和蛋白质合成可阻断记忆的巩固是因为 IEGs 的转录和翻译被阻断了; 一旦这一反应启动, 抑制就无效。

在不同种属动物中克隆到的 CREB 在结构上有一定的相似性, 如 ApCREB1 与小鼠 CREB1 具有 42% 的同源性, 其中基本的亮氨酸拉链区 (bZIP) 和磷酸化区的同源性分别达 96% 和 90%。它们均可与 CRE 结合且是 PKA-依赖性转录因子^[4]。看上去, CREB 有望成为一种较为保守的记忆介导因子, 对长时记忆过程中的结构改变的形成和维持是很重要的。所以, 在海兔、果蝇、小鼠, 甚至人类中, CREB 可介导短时记忆向长时记忆的转变。

然而需要注意的是, 虽然基因表达的理论框架本身在神经科学中得到了成功地建立和研究, 但还没有摆脱重大的困难。例如, 在核内基因表达仅被几个突触调节后, 突触变化的特异性是如何在分支丰富的神经元中保存的; 基因组中对外界刺激的大量反应中有多少涉及到被修饰的环路中的内部表征改变。

4 闪光灯记忆——另一种条件下的长时记忆

逐渐巩固是生物体学习的一个重要特征, 它可允许系统在大量的输入信息中更好地进行选择, 保证了系统更好地整理那些零碎的感知信息。因此该方式在进化中得到保留和发展。

有些时候, 具有强烈感情色彩的单一事件也可引起长久的记忆, 称之为闪光灯记忆。Bartsch 推测, 感情刺激可通过募集脑内众多调节性递质系统, 其中一部分可解除 CREB2 样抑制, 这就可以启动记忆系统作用从而使单次事件能够直接进入涉及编码长时记忆的处理机制。

总之, 研究参与学习和记忆的有关基因不仅可在分子水平上理解这些基因的结构、调节、演化等功能, 而且在细胞水平上, 可以研究这些基因的产物是如何形成改变神经元在学习过程中的生理状态及其相互作用的网络的。

参 考 文 献

- 1 田今华, 王晓民, 韩济生 (Tian J H, Wang X M, Han J S).

- cAMP 反应序列蛋白及其家族的转录调节. 生理科学进展 (Progress in Physiological Sciences), 1996, **27** (3): 227~ 232
- 2 Ghirardi M, Braha U, Hochner B, *et al.* Roles of PKC in facilitation of evoked and spontaneous transmitter release at depressed and nondepressed synapse in Aplysia sensory neurons. *Neuron*, 1993, **9** (3): 479~ 489
 - 3 Kaang B K, Kandel E R, Grant S G N. Activation of cAMP-responsive genes by stimuli that produce long-term facilitation in Aplysia sensory neurons. *Neuron*, 1993, **10** (3): 427~ 435
 - 4 Bartsch D, Ghirardi M, Skehel P A, *et al.* Aplysia CREB2 repressed long-term facilitation: relief of repression converts transient facilitation into long-term functional and structural change. *Cell*, 1995, **83** (4): 979~ 992
 - 5 Levin L R, Han P L, Hwang P M, *et al.* The Drosophila learning and memory gene rutabaga encodes a Ca^{2+} /calmodulin responsive adenylyl cyclase. *Cell*, 1992, **68** (2): 479~ 489
 - 6 Foulkes N S, Schlotter F, Pevet P, *et al.* pituitary hormone FSH directs the CREM functional switch during spermatogenesis. *Nature*, 1993, **362** (6417): 264~ 267
 - 7 Tully T, Preat T, Boynton S C, *et al.* Genetic dissection of consolidated of consolidated memory in Drosophila. *Cell*, 1994, **79** (1): 35~ 47
 - 8 Yin J C P, Wallach J S, Del Vecchio M, *et al.* Induction of a dominant negative CREB transgene specifically blocks long-term memory in Drosophila. *Cell*, 1994, **79** (1): 49~ 58
 - 9 Yin J C P, Del Vecchio M, Zhou H, *et al.* CREB as a memory modulator: induced expression of a dCREB2 activator isoform enhances long-term memory in Drosophila. *Cell*, 1995, **81** (1): 107~ 115
 - 10 Bourchouladze R, Frenguelli B, Blendy J, *et al.* Inefficient long-term memory in mice with a targeted mutation of the cAMP-response element-binding protein. *Cell*, 1994, **79** (1): 59~ 68
 - 11 Chirivia J C, Kwork R P S, Lamb N, *et al.* Phosphorylated CREB binds specifically to the nuclear protein. *Nature*, 1993, **365** (6449): 855~ 859
 - 12 Deisseroth K, Bito H, Tsier R W. Signaling from synapse to nucleus postsynaptic CREB phosphorylation during multiple forms of hippocampal synaptic plasticity. *Neuron*, 1996, **16** (1): 89~ 101
 - 13 Kwok R P A, Lundblad J R, Chirivia J C, *et al.* Nuclear protein CBP is a coactivator for the transcription factor CREB. *Nature*, 1994, **370** (6486): 223~ 226
 - 14 Ginty D D. Calcium regulation of gene expression: isn't that spatial? *Neuron*, 1997, **18** (2): 183~ 186
 - 15 Frank D A, Greenberg M E. CREB: a mediator of long-term memory from mollusks to mammals. *Cell*, 1994, **79** (1): 55~ 58
 - 16 Frey U, Frey S, Schollmeyer F, *et al.* Asymptotic hippocampal long-term potentiation in rats does not preclude additional potentiation at later phases. *Neuroscience*, 1995, **67** (4): 799~ 807
 - 17 Frey U, Frey S, Schollmeyer F, *et al.* Influence of action mycin D, a RNA synthesis inhibitor, on long-term potentiation in rat hippocampal neurons *in vivo* and *in vitro*. *J Physiol (Lond.)*, 1996, **490** (2): 703~ 711
 - 18 Linden D J. Phospholipase A2 controls the induction of short term versus long-term depression in the cerebellar Purkinje neuron in culture. *Neuron*, 1995, **15** (6): 1393~ 1401

CREB: the Mediator of Long Term Memory. ZUO Wei, SHEN Zheng (Psychology Department, Peking University, Beijing 100871, China).

Abstract As a translator factor, CREB takes part in the transformation process from short term memory to long term memory, which has been evidenced in several different kinds of animals. In addition, its two forms as both activator and inhibitor with high conservation in their gene structures can mediate this transformation process in a more precise manner. Researches having been conducted so far and the recent progressed in this field were reviewed; the issues to be researched and addressed in future were also pointed out.

Key words CREB, long-term memory, gene expression, protein synthesis

骨形态发生蛋白的受体及其信号传递过程*

陈 棣 叶伟胜¹⁾ 蔡 芳

(天津医科大学内分泌研究所, 天津 300070)

摘要 近年来已克隆出几种 I 型和 II 型 BMP 受体. BMP 受体属于 TGF β 受体超家族的成员, 具有丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶活性. I 型与 II 型 BMP 受体均可与 BMP 配基结合, 但若执行传递信号功能, 两受体需首先形成复合物. 删除突变和基因剔除研究证明, I A 型 BMP 受体对动物的中胚层发育至关重要. 而 I B 型 BMP 受体在软骨细胞形成、成骨细胞分化以及程序化细胞死亡方面起主要作用. BMP 受体信号传递分子 Smad 1 和 Smad 5 也已被克隆和鉴定, 它们在 BMP 受体介导的功能中起重要作用.

关键词 骨形态发生蛋白 (BMP), 受体, 丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶, 信号传递

学科分类号 R34, R341

* 天津市自然科学基金资助项目. ¹⁾ 天津医院骨科, 天津 300211.

收稿日期: 1997-12-23, 修回日期: 1998-05-18