DOI:10.16016/j.1000-5404.2004.03.032

综述

文章编号:1000-5404(2004)03-0266-03

N-甲基-D-天门冬氨酸受体在学习记忆中的作用研究进展

Advances in the roles of NMDA receptor in learning and memory

张彦文 综述,余争平 审校 (第三军医大学预防医学系劳动卫生学教研室,重庆 400038)

N-甲基-D-天门冬氨酸受体(N-Methyl-D-aspartate receptor, NMDAR)是兴奋性氨基酸特异性受体的一种。近年来的研究表明,NMDA受体在学习记忆、神经发育、神经系统发病中起着重要作用。本研究就近年来关于NMDA受体在学习记忆中的作用研究进展作一介绍。

1 NMDA受体的生物学特征

兴奋性氨基酸(excitatory amino acids, EEAs)受体是中枢神经系统主要的兴奋性神经递质受体。依据其电生理特征和药理学特征,可分为NMDA受体、非NMDA受体和代谢型受体。近年来对谷氨酸受体(GluRs)分子克隆的研究发现,NMDA受体是由NR_1、NR_2、NR_3组成的异聚体,NR_1亚基又有8种剪接变体,NR_2有NR_{2A}、NR_{2B}、NR_{2C}、NR_{2D}亚型,NR_3目前有NR_{3A}亚型(NR-L或X1)。其中NR_1亚基是该受体的功能亚基,分子量约为105×10^3,由938个氨基酸组成,人、鼠的序列同源性很高。NR_2亚基是该受体的调节亚基,有NR_{2A}-NR_{2D}4种亚型,分别由不同的基因编码,NR_{2A}和NR_{2B}蛋白分子量约为180×10^4左右。目前NR_1、NR_{2A}、NR_{2B}、NR_{2C}基因已定位于特定的染色体上,NR_1在9q34.3,NR_{2A}在16p13,NR_{2B}在12p12,NR_{2C}在17q25。NMDA受体至少由2~3个NR_1亚基和2~3个NR_2亚基组成的异聚体,分子量在$(605\sim850)\times10^3$之间。

NMDA受体是一种具有许多不同变构调控位点的配体门控离子通道,主要对Ca^{2+}高度通透。在正常生理条件下,由于Mg^{2+}对其通道的阻断作用,其通道并不开放,突触后神经元静息膜电位的维持主要依赖于突触后膜上的其他离子通道,如AMPA受体等;在各种刺激作用使突触后膜发生去极化时,Mg^{2+}对其的阻断作用去除,Ca^{2+}、Na^+等离子经该受体通道进入细胞内,使胞内游离钙升高,介导胞内一系列生化反应[1]。

2 NMDA受体与LTP

在海马和其它脑区,兴奋性突触经短暂的重复激活,即可导致该突触强度持续的增强,此种现象被称为长时程增强(long-term potentiation, LTP)。近年来大量文献认为,LTP是学习记忆的细胞突触模式,LTP的形成和维持需要NMDA受体的参与,NMDA受体特异性拮抗剂APV(2-amino-5-phosphonovaleric acid)能阻断此LTP的形成,并且NR_{2B}亚基在LTP的维持和记忆形成中起关键作用[2]。

最近,Shimizu等[3]利用第3代基因敲除技术培育成可诱导的、可逆的、海马CA_1区特定的NR_1基因敲除小鼠来研究NMDA受体在记忆巩固阶段的作用。此动物模型海马CA_1区NR_1基因是敲除的,但又转染了CA_1区特异的、四环素调控表达的NR_1-GPF基因。给该鼠饲以含强力霉素的饮水,可关闭转染的NR_1-GPF的表达,该小鼠就是NR_1基因敲除小鼠;如去除饮水中的强力霉素,5 d之内则该鼠CA_1区又可表达NR_1基因。作者研究发现,饲以含强力霉素饮水的小鼠,其海马CA_1区NMDA兴奋性突触后电位消失,无LTP的产生,并且在隐藏平台水迷宫试验中逃跑潜伏期明显延长。说明海马CA_1区空间学习记忆需要NMDA受体的参与,并且由短时记忆到长时记忆的巩固,需在开始学习后几周内NMDA受体的再激活。

虽然在大多数脑区,LTP的产生需要NMDA受体的参与,但在海马脑区存在着两种截然不同的LTP。一种是依赖于NMDA受体的,另一种LTP的产生则不依赖于该受体。依赖于NMDA受体的LTP诱导主要在海马CA_1区的舍费尔旁路突触(Schaffer collateral commissural synapses),其产生需要经该受体流入的突触后神经元游离钙的增加;而在海马CA_3区的苔藓纤维(mossy fibres)突触,即在该突触的终止带(透明层),NMDA受体的受体结合活性很弱,LTP的诱导不需要NMDA受体的激活,其突触后Ca^{2+}的升高并非经NMDA受体通道,而是经电压依赖的Ca^{2+}通道(VDCC),或代谢型谷氨酸受体,或Ca^{2+}通透的非NMDA受体,并且该LTP的诱导并不依赖于突触后Ca^{2+}的升高,而是与突触前Ca^{2+}升高有关,也就是说该LTP发生在突触前神经元。

2.1 NMDA受体NR_1亚基在学习记忆中的作用

NR_1亚基广泛分布于脑内各区,完整的有功能的NMDA受体必须有NR_1亚基组成,因此NR_1亚基与学习记忆关系非常密切。Shimizu等[3]利用基因敲除技术研究发现,NR_1基因敲除小鼠其海马CA_1区NMDA兴奋性突触后电位消失,LTP诱导产生障碍,水迷宫试验中逃跑潜伏期明显延长,说明其由短时记忆到长时记忆的巩固过程受阻。将NR_1的反义寡脱氧核苷酸注入大鼠前脑内,可损害其视觉注意操作(visual attentional performance)[4]。NR_1蛋白第598位天冬酰胺的点突变可使小鼠表现为生长迟缓以及翻正反射受损,并且死于断奶前[5]。多数文献还表明,多种因素引起的学习记忆等神经行为的改变与NR_1亚基变化有关。铅暴露(大脑的认知功能损害)可使培养的海马

作者简介:张彦文(1968-),男,山西省和顺县人,博士,副教授,主要从事物理因素与健康方面的研究,发表论文20多篇。电话:(023)68752289

收稿日期:2003-03-15;修回日期:2003-09-12

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

神经元和海马 DG 区 NR_1 mRNA 和蛋白表达明显降低[6]。老年大鼠海马 NR_1 亚基 C2 剪接体的表达缺失与老年大鼠 LTP 和学习记忆功能降低有关[7]。此外，Alzheimer 疾病患者其海马 NR_1 蛋白表达下降可达 53%[8]。NR_1 亚基表达水平只有正常的 5% 的小鼠，其行为改变与精神分裂症有关[9]。脑创伤后 6 h 和 12 h，大鼠海马 NR_1 蛋白表达明显下降[10]。子宫内缺血缺氧的幼鼠其海马 NR_1 亚基 mRNA 表达明显降低[11]。

2.2　NMDA 受体 NR_2 亚基在学习记忆中的作用

NR_2 亚基有 NR_{2A}、NR_{2B}、NR_{2C} 和 NR_{2D} 四种亚型，分别由不同的基因编码，完整的有功能的 NMDA 受体必须至少有一个 NR_2 亚基参与组成。由不同的 NR_2 亚基参与组成的 NMDA 受体具有不同的组织分布特异性和电生理特征，因而在学习记忆功能中的作用也不一样。

NR_{2A} 亚基在脑内分布广泛，其中以海马、皮层和小脑最丰富。由 NR_{2A} 参与组成的 NMDA 受体其离子通道的电导以 50 pS 和 40 pS 为主。在 LTP 形成过程中，NR_{2A} 的 C 末端（S1389-V1464）介导 α-CaMPKⅡ与 PSD-95 的结合[12]。NR_{2A} 基因敲除可降低海马 CA_3 区突触的 EPSCs[13]，明显降低海马 CA_1 区 NMDA 受体电流和 LTP，损害空间学习能力。同时 NR_{2A} 基因突变小鼠还表现为在新环境中自发运动动能增强和潜在学习能力降低，因此此小鼠还可用来作为研究精神病的动物模型[14]。此外 NR_{2A} 基因缺失小鼠其眼睑条件反射损害，运动学习能力降低。NR_{2A} 的定点突变（F637A），使由其组成的 MNDA 受体无功能[15]。NR_{2B} 亚基主要分布在前脑和海马脑区，蛋白分子量约为 180×10^3，其通道功能同 NR_{2A}。NR_{2B} 转基因动物表现为海马 LTP 增强、超强的学习记忆能力[16]，以及海马 NMDA 受体通道长久开放[17]。Thomas 等在自由活动大鼠海马 DG 区诱导出 LTP 后，其 NR_{2B} mRNA 表达明显升高，在 48 h 时达到峰值，96 h 后恢复至基线水平，说明 NR_{2B} 在 LTP 的维持中起重要作用。用 NR_{2B} 选择性拮抗剂艾芬地尔（ifenprodil）阻断杏仁核内的 NR_{2B} 后，动物表现为剂量依赖的情绪学习能力的损害[18]。此外用（methylazoxymethanol）处理的大鼠（表现为海马损伤和 LTP 诱导障碍），NR_{2B} 亚基的磷酸化作用较低[19]。由 NR_{2C} 或 NR_{2D} 调节亚基组成的 NMDA 受体通道电导以 36 pS 和 19 pS 为主，且与谷氨酸等受体激动剂的亲和力较弱，对 MK801 和 Mg^{2+} 的阻断反应较低。NR_{2D} 转基因小鼠表现为海马 CA_1 区突触可塑性年龄依赖的缺失，NR_{2D} 基因敲除小鼠表现为 3H-MK801 结合力下降，经 NMDA 受体的 Ca^{2+} 摄取减少，对新环境自发运动能力降低，对复杂的迷宫、被动游泳试验等应激敏感性降低[20]。

Sprengel 等利用基因打靶技术去除 NR_{2A} 的 C 末端（NR_{2A} deltaC/deltaC），小鼠虽能存活，但其突触可塑性和上下文联系记忆（contextual memory）功能降低；去除 NR_{2B} 的 C 末端（NR_{2B} delta C/delta C），小鼠在围产期死亡；去除 NR_{2C} 的 C 末端（NR_{2C} deltaC/deltaC），小鼠表现为运动协调功能减弱。在一些病理情况下（大脑学习记忆等高级脑功能均不同程度受损），NR_2 亚基的改变也非常明显。铅暴露可以使发育中的大鼠 NR_{2A} 蛋白表达明显降低[21]，海马 NR_{2B} mRNA 表达下降[6]，从而损害 LTP 和空间学习记忆。Alzheimer 病人其内嗅皮质 NR_{2A}、NR_{2B} 蛋白和其磷酸化蛋白表达下降[8]。脑外伤后 NR_{2A} 和 NR_{2B} 蛋白表达也下降[10]。

3　NMDA 受体介导 LTP 形成的信号转导通路

突触后膜致密体（postsynaptic density，PSD）是主要存在于兴奋性突触后膜内的一种盘样结构，约 30～40 nm 厚，数百 nm 宽。NMDA 受体是位于 PSD 中的一个蛋白分子。与 NMDA 受体介导的 LTP 形成和维持或学习记忆功能相关的蛋白质主要是 PSD-95（postsynaptic density-95），它位于 PSD 的中心区域，是细胞骨架相关蛋白，因其分子量为 95KDa 而得名。PSD-95 有 3 个 PDZ 区域（PSD-95，Disc-large，ZO-1）、一个 SH3 区域和一个鸟苷酸激酶样序列，因此也称为 MAGUK（membrane-associated guanylate kinase）或 PDZ 蛋白。PSD-95 通过其第 1、2 个 PDZ 结构域与 NMDA 受体的 NR_2 亚基 C 末端（最后 4 个氨基酸-ESDV）结合，对该受体在突触后膜的丛集、稳定以及胞内信号转导起重要作用。Cheung 等[22]研究认为 Src 家族酪氨酸激酶（Src 和 Fyn）对 NMDA 受体 NR_2 亚基的磷酸化，必须通过其 SH2 结合区与 PSD-95 结合才能启动磷酸化过程。PSD-95 基因敲除小鼠表现为空间学习记忆能力的严重受损。PSD-95 转基因动物可以促进海马神经元谷氨酸能突触的成熟，促进突触后谷氨酸受体的丛集和活性，增加树突棘的数量和大小，因而表明 PSD-95 对突触的发育、突触稳定和突触可塑性方面起重要作用[23]。NMDA 受体的内翻与 NR_{2B} 的 C 末端的内翻结构（YEKL）有关，PSD-95 通过与 NR_{2B} 的 C 末端结合可抑制由 NR_{2B} 介导的受体内翻，NR_{2B} C 末端 PDZ 结合域缺失可增强受体的内翻，表明 PSD-95 可参与调节 NMDA 受体的数量[24]。在一些病理情况下（如暂时性脑缺血），PSD-95 与 NR_{2A} 和 NR_{2B} 的结合特性也明显降低[25]。

CaMPKⅡ在海马 NMDA 受体介导的 LTP 的形成、维持和学习记忆中起非常重要的作用[12]。它通过与 NMDA 受体的 NR_2 亚基的胞内 C 末端结合，使其催化结构域靠近受体通道，随时感知通道 Ca^{2+} 的流动[26]。在无刺激情况下，通过其自动抑制序列与催化结构域的结合保持无活性状态；当有刺激激活 NMDA 受体时，Ca^{2+} 经受体通道内流，与 CaM 结合，Ca^{2+}/CaM 复合物结合于自动抑制序列的临近序列，去除后者与 CaMPKⅡ的催化结构域的结合，使 CaMPKⅡ Thr286 发生自身磷酸化，活化后的 CaMPKⅡ变为不依赖于 Ca^{2+}/CaM 的形式，并且移位于 PSD 内，使 NMDA 受体 NR_{2B} 亚基和 PSD 内多种蛋白质发生磷酸化，最终使 LTP 形成[27]。CaMPKⅡ基因敲除、基因点突变（Thr286→Ala 或 Thr286→Asp）小鼠虽不影响正常的突触传递和 Ca^{2+}/CaM 依赖的活性，但其不能进入自动活化状态，海马 CA_1 区由 NMDA 受体介导的 LTP 诱导受抑，Morris 水迷宫空间学习能力损害[28]。由此进一步证明海马内 CaMPKⅡ在 NMDA 受体介导的学习记忆过程中的重要作用。

SynGAP 是近年来发现的哺乳类动物 ras-GAP 蛋白，在海马兴奋性突触丰度最高，通过与 PSD-95 的 PDZ 结构域结合，固定于 PSD 内，参与突触可逆性的调节。SynGAP 可刺激（加速）Ras 的 GTP 酶活性，负调节兴奋性突触 Ras 活性。外来刺激激活

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

NMDA受体，Ca^{2+} 内流激活 CaMPK Ⅱ，CaMPK Ⅱ 通过对 SynGAP 的磷酸化作用强烈抑制其 rasGTP 酶活性，激活其下游 MAPK (ERK1 和 ERK2)活性，从而诱导 LTP 的产生，参与调节突触可逆性[29]。SynGAP 基因敲除小鼠表现为 EK 和 MAPK 磷酸化作用增强，LTP 诱导减弱[30]。

总之，NMDA 受体在学习记忆中的作用被神经科学界高度重视。随着分子克隆技术，转基因技术和基因突变技术等的发展和应用，对 NMDA 受体及其信号转导通路与 LTP 的关系将进一步深入，对解读学习记忆的神经机制具有重要意义。

关键词：**MD** 受体；学习记忆；**LIP**

中图法分类号：**R**338.64；**R**392.11　　文献标识码：**A**

参考文献：

[1] Malenka R C, Nicoll R A. Long-term potentiation-A decade of progress [J]. Science, 1999, 285(5435): 1870 - 1874.

[2] Tang Y P, Shimizu E, Dube G R, *et al*. Genetic enhancement of learning and memory in mice[J]. Nature, 1999, 401(6748): 63 - 69.

[3] Shimizu E, Tang Y P, Rampon C, *et al*. NMDA receptor-dependent synaptic reinforcement as a crucial process for memory consolidation[J]. Science, 2000, 290(5494): 1170 - 1174.

[4] Turchi J, Sarter M. Antisense oligodeoxynucleotide-induced suppression of basal forebrain NMDA-NR_1 subunits selectively impairs visual attentional performance in rats[J]. Eur J Neurosci, 2001, 14(1): 103 - 117.

[5] Single F N, Rozov A, Burnashev N, *et al*. Dysfunctions in mice by NMDA receptor point mutations NR_1(N598Q) and NR_1(N598R) [J]. J Neurosci, 2000, 20(7): 2558 - 2566.

[6] Lan W K, Yeung C W, Lui P W, *et al*. Different trends in modulation of NMDAR1 and NMDAR2B gene expression in cultured cortical and hippocampal neurons after lead exposure[J]. Brain Res, 2002, 932(1-2): 10 - 24.

[7] Clayton D A, Grosshans D R, Browning M D. Aging and surface expression of hippocampal NMDA receptor[J]. J Biol Chem, 2002, 277(17): 14367 - 14369.

[8] Sze C, Bi H, Kleinschmidt-DeMasters B K, *et al*. N-Methyl-D-aspartate receptor subunit proteins and their phosphorylation status are altered selectively in Alzheimer's disease[J]. J Neurol Sci, 2001, 182(2): 151 - 159.

[9] Mohn A R, Gainetdinov R R, Caron M G, *et al*. Mice with reduced NMDA receptor expression display behaviors related to schizophrenia[J]. Cell, 1999, 98(4): 427 - 436.

[10] Kumar A, Zou L, Yuan X, *et al*. N-methyl-D-aspartate receptors: Transient loss of $NR_1/NR_{2A}/NR_{2B}$ subunits after traumatic brain injury in a rodent model[J]. J Neurosci Res, 2002, 67(6): 781 - 786.

[11] Cai Z, Rhodes P G. Intrauterine hypoxia-ischemia alters expression of the NMDA receptor in the young rat brain[J]. Neurochem Res, 2001, 26(5): 487 - 495.

[12] Gardoni F, Schrama L H, Kamal A, *et al*. Hippocampal synaptic plasticity involves competition between Ca^{2+}/calmodulin-depedent protein kinase II and postsynaptic density 95 for binding to the NR_{2A} subunit of the NMDA receptor[J]. J Neurosci, 2001, 21(5): 1501 - 1509.

[13] Ito I, Kawakami R, Sakimura K, *et al*. Input-specific targeting of NMDA receptor subtypes at mouse hippocampal CA_3 pyramidal neuron synapses [J]. Neuropharmacology, 2000, 39(6): 943 - 951.

[14] Miyamoto Y, Yamada K, Noda Y, *et al*. Hyperfunction of dopaminergic and serotonergic neuronal systems in mice lacking the NMDA receptor epsilon1 subunit[J]. J Neurosci, 2001, 21(2): 750 - 757.

[15] Ronald K M, Mirshahi T, Woodward J J. Ethanol inhibition of N-methyl-D-aspartate receptor is reduced by site-directed mutagenesis of a transmembrane domain phenylalanine residue[J]. J Biol Chem, 2001, 276(48): 44729 - 44735.

[16] Tang Y P, Wang H, Feng R, *et al*. Differential effects of enrichment on learning and memory function in NR_{2B} transgenic mice[J]. Neuropharmacology, 2001, 41(6): 779 - 790.

[17] Philpot B D, Weisberg M P, Ramos M S, *et al*. Effect of transgenic overexpression of NR_{2B} on NMDA receptor function and synaptic plasticity in visual cortex[J]. Neuropharmacology, 2001, 41(6): 762 - 770.

[18] Rodrigues S M, Schafe G E, LeDoux J E. Intra-amygdala blockade of the NR_{2B} subunit of the NMDA receptor disrupts the acquisition but not the expression of fear conditioning[J]. J Neurosci, 2001, 21(17): 6889 - 6896.

[19] Caputi A, Gardoni F, Cimino M, *et al*. CaMKII-dependent phosphorylation of NR_{2A} and NR_{2B} is decreased in animals characterized by hippocampal damage and impaired LTP[J]. Eur J Neurosci, 1999, 11(1): 141 - 148.

[20] Miyamoto Y, Yamada K, Noda Y, *et al*. Lower sensitivity to stress and altered monoaminergic neuronal function in mice lacking the NMDA receptor epsilon 4 subunit[J]. J Neurosci, 2002, 22(6): 2335 - 2342.

[21] Nihei M K, Guilarte T R. NMDA-2A subunit protein expression is reduced in the hippocampus of rats exposed to Pb2 during development[J]. Brain Res Mol Brain Res, 1999, 66(1-2): 42 - 49.

[22] Cheung H H, Gurd J W. Tyrosine phosphorylation of the N-methyl-D-aspartate receprtor by exogenous and postsynaptic density-ssociated Src-family kinases[J]. J Neurochem, 2001, 78(3): 524 - 534.

[23] ElHusseini A E, Schnell E, Chetkovich D M, *et al*. PSD-95 involvement in maturation of excitatory synapses[J]. Science, 2000, 290 (5495): 1364 - 1368.

[24] Roche K W, Standley S, McCallum J, *et al*. Molecular determinants of NMDA receptor internalization[J]. Nat Neurosci, 2001, 4(8): 794 - 802.

[25] Takaji N, Logan R, Teves L, *et al*. Altered interaction between PSD-95 and the NMDA receptor following transient global ischemia[J]. J Neurochem, 2000, 74(1): 169 - 178.

[26] Leonard A S, Lim I A, Hemsworth D E, *et al*. Calcium/calmodulin-dependent protein kinase II is associated with the N-methyl-D-aspartate receptor[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1999, 96 (6): 3239 - 3244.

[27] Bayer K U, DeKoninck P, Leonard A S, *et al*. Interaction with the NMDA receptor locks CaMKII in an active conformation[J]. Nature, 2001, 411(6839): 801 - 805.

[28] Fukunaga K, Miyamoto E. Current studies on a working model of CaM kinase II in hippocampal long-term potentiation and memory[J]. Jpn J Pharmacol, 1999, 79(1): 7 - 15.

[29] Kennedy M B. Signal-processing machines at the postsynaptic density[J]. Science, 2000, 290(5492): 750 - 754.

[30] Grant S G, O'Dell T J. Multiprotein complex signaling and the plasticity problem[J]. Curr Opin Neurobiol, 2001, 11(3): 363 - 368.

（编辑　王　红）

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net