

NMDAR 和 DR 在重金属致学习记忆损伤中的研究进展

张卓, 邓宇*

中国医科大学公共卫生学院环境卫生学教研室, 辽宁 沈阳 110001

摘要:学习和记忆作为大脑的高级功能, 其生物学机制十分复杂。而重金属作为污染环境的重要物质, 由其中毒引起的以学习记忆损伤为主要表现的认知障碍等相关疾病的发病率在不断增长, 形势不容乐观。有研究表明, 在由重金属引起的学习记忆受损的过程中, N-甲基-D 天冬氨酸受体 (N-methyl-D-aspartate receptor, NMDAR) 和多巴胺受体 (Dopamine receptor, DR) 发挥了重要作用。该文就 NMDAR 和 DR 在重金属致学习记忆损伤中的研究进展作一综述。

关键词:学习记忆; 多巴胺受体; N-甲基-D 天冬氨酸受体; 重金属

Research advances in the effects of heavy metal on learning and memory through dopamine receptor and NMDA receptor
Zhang Zhuo, Deng Yu

Department of environmental health, School of Public Health, China Medical University, Shenyang 110001, People's Republic of China

Abstract:As the brain's higher functions, learning and memory have very complex biological mechanisms. Nowadays, people suffering from heavy metal exposure have an increased risk of cognitive disorders, so the situation is not optimistic. Studies have shown that multiple neurotransmitter systems participate in the pathophysiological process of cognitive dysfunction. Dopamine receptor and N-methyl-D-aspartate receptor (NMDAR) play important roles in learning and memory through mediating nervous activities. The effects of heavy metal on learning and memory through dopamine receptor and NMDA receptor are reviewed in this paper.

Key words: Learning; Study; Dopamine receptor; NMDAR; Heavy metal

学习是获取新信息和新知识的神经过程, 而记忆则是对所获取的信息保存和读出的神经过程。关于环境中重金属致学习记忆损伤机制的研究已成为近年来一个研究热点。重金属原义是指比重大于 5 的金属。重金属在人体中累积达到一定程度, 会造成慢性中毒, 影响人体正常的生命活动, 诱发疾病甚至导致死亡。重金属可以通过皮肤、呼吸道和消化道等多种途径进入人体后, 通过血液循环进入到相应的靶器官或者靶组织^[1-2]。以脑为靶器官的重金属离子多属亲脂性, 当沉积到一定浓度时, 重金属离子可以突破血脑屏障, 对神经系统造成损害; 另一方面, 重金属离子还可通过嗅觉通路直接入脑影响神经系统机能, 从而造成学习记忆、情绪认知等多种大脑功能的异常病变^[3-4]。流行病学研究显示, 血铅值与儿童的智商 (IQ) 成负相关^[5]; 血铅每上升 100 $\mu\text{g/L}$ 或牙铅每上升 5 $\mu\text{g/L}$, 将会导致儿童总 IQ 水平下降 1-2 分^[6]; 饮用水中锰含量和智力总评分、行为评分以及语言评分成反比, 并呈剂量相关性^[7]; 长期种暴露会使青少年的图象记忆力和转换注意力等认知能力下降^[8]。研究表明, 学习和记忆过程的神经基础是突触的可塑性 (synaptic plasticity)^[9]。记忆过程的理想模型被认为是突触传递的长时程增强 (long term potentiation, LTP), N-甲基-D 天冬氨酸受体 (N-methyl-D-aspartate receptor, NMDAR) 是通过调节 Ca^{2+} 内流而保持神经元正常的生理功能, 在 LTP 诱导和维持过程中起重要作用^[10]。另有报道显示, 多巴胺 D1 和 D5 受体也可使海马早期 LTP 的幅度得到提升^[11]。目前, NMDAR 和多巴胺受体 (Dopamine receptor, DR) 在重金属致学习记忆损伤中的作用及其机制已引起国内外学者的广泛关注。

1. NMDAR 提高学习记忆能力研究

首先, NMDAR 属于谷氨酸离子型受体, 是电压依赖性的配体门控离子通道。主要分布于中枢神经系统如大脑、脊髓等的突触后膜。静息状态时镁离子结合在通道内, 引起配体门控性离子通道构象改变, 阻止 Ca^{2+} 内流。给予高频刺激后, NMDAR 偶联通道内 Mg^{2+} 移出, 通道开放, Ca^{2+} 大量内流进入突触后膜, 诱导 LTP 形成, 同时 LTP 的增加可使 cAMP 反应元件蛋白 (cAMP response element-binding protein, CREB)、钙/钙调素依赖性蛋白激酶 II (Calcium-calmodulin dependent protein kinase II, CaMK II) 和有丝分裂原活化蛋白激酶¹ (Mitogen activated protein kinase, MAPK) 发生磷酸化, 这些物质的磷酸化均可具有增强学习与记忆的功能。

同时, NMDA 受体由 7 种亚基构成: NR1、NR2A、NR2B、NR2C、NR2D、NR3A (NR3s) 和 NR3B (NR3I)。NR1 为受体结构所必须的功能亚基, 是必须组成成分。有研究表明, 在生长发育期, NMDA NR1 受体的基因表达随着受体内、外环境的变化而呈动态性变化。实验显示, 选择性敲除小鼠海马锥体细胞的

NR1 亚单位, 其 NMDA 受体诱导的 LTP 被破坏, 最终发现, NR1 受体的缺失可导致小鼠空间和非空间学习记忆障碍, 小鼠对新事物的探究能力下降^[12]。NR2 为受体复合物的调节亚基, 起修饰作用。其中 NR2A 与 NR2B 是 NMDA 受体的两个重要亚基, 在学习记忆的形成过程中均有参与。并且 NMDAR 受体的生理功能及药理特性很大程度上是由 NR2B 亚基决定。研究表明, 谷氨酸 (glutamate, Glu) 是与 NR2B 结合后导致细胞膜去极化, 从而使 NMDAR 的离子通道开放。近期实验发现, 若小鼠 NR2B 基因过度表达, 则其海马的 NR2B 蛋白含量为普通小鼠的 2 倍, 其学习和记忆能力显著增强^[13]; 反之, 敲除海马 NR2B 基因的幼年大鼠则 NMDAR 反应性下降, NMDAR 依赖的 LTP 丧失, 空间学习能力降低。因此, NR2B 亚基的高水平表达可使 NMDAR 的反应性增强, 从而促进 CREB 的活化, 产生更强、更稳定的 LTP, LTP 的形成又可以促进 NR2B 亚基的表达, 形成良性循环, 进而增强学习记忆功能。

2. DR 提高学习记忆能力研究

多巴胺 (dopamine, DA) 是中枢神经系统中重要的儿茶酚胺类神经递质, 它参与认知、情绪、运动和内分泌等多种生理功能的调控过程。DA 通过特异受体发挥作用, 其受体为七个跨膜区域(7-GM)组成的 G 白耦联受体家族。目前已知的五种 DR 亚型根据其生物化学和药理学性质, 分为 D1 和 D2 两大类受体。D1 类受体包括 D1 和 D5 受体(在大鼠也称 D1A 受体和 D1B 受体, D1A 受体即为 D1 受体, D1B 受体即为 D5 受体)。D2 类受体包括 D2、D3 和 D4 受体。大量研究显示, 多巴胺 D1 受体和 D2 受体通过调节 DA 从而影响动物的学习与记忆能力。

许多实验表明多巴胺提高人类记忆能力是通过 D1 受体调控前额叶皮层 (prefrontal cortex, PFC) 神经元的活动和工作记忆过程^[14]。国外学者对猴子进行动眼延迟反射训练后, 将 DA 受体激动剂 sulpiride 注入到猴子的 PFC 背外侧, 发现 DA 受体激活对于视觉空间工作记忆过程中的 PFC 神经元起易化作用。反之, 注入拮抗剂 SCH23390 后作用相反; Dreher 等通过分别注入多巴胺 D1 受体激动剂及拮抗剂后发现, DA 受体激活后能够使猴子延迟交替作业中的记忆更持久, 进一步说明多巴胺 D1 受体的激活对前额叶皮层工作记忆具有调节作用; 且有研究发现通过在大鼠的前额叶皮层注入 D1 受体拮抗剂, 还可降低大鼠快速延迟空间选择任务训练的作业成绩。但, 将 D1 拮抗剂注入到大鼠中额叶皮层后发现, 大鼠 Y 迷宫延迟作业成绩亦下降。且国内有学者先用免疫组织化学方法观察多巴胺受体 D1A 在纹状体边缘区的分布, 再向纹状体边缘区内立体定位微量注射多巴胺受体 D1 拮抗剂 SCH-23390 或等量的生理盐水, 通过检测大鼠注射通过前后迷宫结果的变化后发现大鼠的长期学习记忆能力降低, 不仅证明大鼠脑纹状体边缘区神经元内存在 D1A, 更证实了 D1A 参与了成年 SD 大鼠的长期学习记忆功能。国外学者通过将多巴胺 D1 受体拮抗剂 SCH-23390 注入进行过条件性味觉回避学习训练后的大鼠伏隔核内发现, 大鼠此种记忆能力的获得受损; 另外, 分别用多巴胺 D1 受体基因敲除鼠(D1-/-)、野生鼠(D1+/+)和杂合鼠(D1+/-)进行 Morris 水迷宫训练, 发现基因敲除鼠的潜伏期明显延长, 在探索阶段缺乏空间偏倚, 说明多巴胺 D1 受体基因敲除鼠没有视觉和空间运动障碍但存在空间学习障碍^[15]。前文提到, 目前 LTP 普遍被认为是学习与记忆的实验模型。报道也显示^[16], 多巴胺 D1 和 D5 受体可使海马早期 LTP 的幅度得到提升; 通过研究人工培养的大脑皮层纹状体细胞脑片也发现皮层纹状体通路的 LTP 的诱导是离不开多巴胺 D1/D5 的激活的。

国外研究报道将 D2-R 拮抗剂注入大鼠海马实验研究中, 通过检测回避性 14 单位 T 迷宫结果的变化, 发现大鼠学习能力受损; 将多巴胺 D2 受体拮抗剂注入杏仁核后, 通过检测大鼠条件性恐惧的获得, 证明杏仁核中多巴胺 D2 受体调节恐惧性联合学习的形成和保持; 将 D2-R 阻断剂注入生前孕鼠体内后, 利用放射臂迷宫检测空间学习和短期记忆能力的变化, 发现两种能力均不同程度受损; 腹侧海马注入 D2-R 激动剂会使大鼠工作记忆的成绩明显上升, 反之, 注入 D2-R 受体拮抗剂作用相反; 通过对 D2L-/-基因敲除鼠进行三种联合性学习任务训练, 发现 D2L-R 可调控特定形式下前后刺激联合引起的学习获得和记忆的保存^[17]。

另外, 在研究对 LTP 的影响时, Manahan-Vaughan 将慢性纪录电极植入至大鼠海马齿状回颗粒细胞层内, 将刺激电极植入至中前通路, 同时将套管植入同侧脑室进行给药, 发现预先给予 D2 受体阻滞剂会对海马 LTP 的形成产生抑制作用, 说明 D2 受体有可能是通过调节体内海马 LTP 的形成和去极化过程从而影响学习记忆。

3. 重金属通过干扰 DR 及 NMDAR 降低学习记忆能力研究

有研究发现^[18]: 锰中毒可导致大鼠脑纹状体 NR1、NR2A 和 NR2B 的 mRNA 和蛋白表达均不同程度的减少, 并且 NR2A 亚单位对锰的抑制作用最敏感。这也正是锰产生神经毒作用的原因之一, NR2A 和 NR2B 亚基与不同的细胞内信号通路相偶联, 在成熟的神经元, 含 NR2A 的神经元主要位于突触内, 介导生长和存活信号。NR2B 除了位于突触内之外, 是突触外 NMDA 受体的主要亚基, 主导性的细胞死亡信号。由于与促存活信号相偶联的 NR2A 亚单位表达被锰抑制, 可能是导致锰神经毒性的主要原因。已有国外研究表明^[19], NMDA 受体不仅可以通过长时程增强 (LTP) 增强学习记忆, 亦可以通过其介导的兴奋性氨基酸毒性作用导致神经元损害和神经功能受损, 引起学习记忆障碍, 其具体机制主要与 NMDA 受体 NR2B 亚基激活后导致的 Ca^{2+} 超载诱发的神经元的凋亡有关。另有研究显示^[20], DA 能神经系统是锰最重要的毒作用靶点, 给予小鼠不同浓度的 MnCl_2 染毒两周后发

现,小鼠脑黑质内 DA 含量出现了不同程度的降低,DA 能神经元的特异性标志物 TH 的阳性表达亦出现减少。Mn 的神经毒性效应主要作用于 D2 受体。实验表明处于发育阶段的小鼠中毒之后,纹状体中 D2 受体水平会下降,分子水平研究的大鼠脑切片,发现 Mn 提高了多巴胺能系统对突触前 D2 受体介导的皮质纹状体兴奋性传递过程的抑制作用,从而导致了 Mn 中毒的早期临床表现^[21]。多巴胺通过 DA 受体发挥作用,由此不难推测,当 DA 受体受损后,多巴胺将无法再调控认知、情绪等多种生理功能,从而学习记忆能力受损;有实验已证明^[22-23]:慢性铝暴露引起大鼠行为学发生的改变,引起 PKC 和 MAPK/ERK2 活性降低,ERK2 和 CaMK II 的蛋白含量表达降低,NMDA 受体表达降低。海马 CA1 区在高频刺激后,使 LTP 下降。由于受铝的影响,引起钙浓度降低,干扰这些酶的正常功能,并影响各其所在的信号转导途径传递作用,从而抑制 LTP 的形成,导致学习记忆的功能下降;铅可通过降低大脑海马 CA1、CA2、CA3 区神经元 NMDAR 中甘氨酸等位点的活性,进而影响 NMDAR 蛋白的通透性,且 Pb²⁺对 NMDA 通道蛋白影响具有浓度依赖性。此外,铅还可以减少 NMDA 通道蛋白开放的频率^[24]。由此可以推论,铅可以通过对 NMDAR 的作用而影响 LTP 的诱导和维持,最终会损坏学习、记忆产生过程。

4. NMDA 受体与多巴胺受体的交互作用影响重金属导致的学习记忆受损研究

海马存在多巴胺能和谷氨酸能神经元的共同投射。脑内灌注多巴胺 D1 受体激动剂 sulpiride 可以降低前额叶细胞外的谷氨酸和 γ -氨基丁酸的含量。离体海马组织用多巴胺 D1 受体激动剂 sulpiride 处理后,可以检测 NMDA 受体 (NR1-Ser897, NR2B-Tyr1472) 和 AMPA 受体 (GluR1-ser831, ser845) 的磷酸化,用膜片钳全细胞记录法可检测到 AMPA 受体、NMDA 受体介导的兴奋性突触后电位 (excitatory postsynaptic potential, EPSP) 分别增强。另外,多巴胺 D1 受体激活可以和 NMDA 受体协同影响 AMPA 受体在突触表面的分布。而在 LTP 维持期,突触反应的增强主要依靠 AMPA 受体的功能上调。由上述可见,多巴胺 D1 受体与谷氨酸及其离子型受体的功能活动密切相关,并且可通过调节 LTP 的诱导和维持从而影响学习记忆。

Frank J.S. Lee 等^[25]在近期出版的《细胞》(Cell)杂志上报告多巴胺 D1 受体与 NMDA 受体之间的相互作用关系。该研究小组发现了多巴胺 D1 受体与 NMDA 受体之间的相互作用关系,即多巴胺 D1 受体的两个部分会直接与 NMDA 受体中的 NR1-1a、NR2a 两个亚单元发生交互作用。一部分会抑制 NMDA 受体门控系统介导的电流,另一部分则通过 PI-3 激酶通路减弱 NMDA 受体介导的兴奋性毒性。当 D1 类受体被 DA 兴奋后,通过与膜上异三聚体的 GTP-结合蛋白相互作用产生多种作用,它可以正性调控环磷酸腺苷(cAMP)的水平,进一步激活蛋白激酶 A(PKA),PKA 磷酸化细胞浆和细胞核因子,导致 CREB 的磷酸化,CREB 以活化形式磷酸化的 CREB(phosphorylated CREB, pCREB)调节包括 c-fos 等即刻早期基因在内的多种下游基因的转录^[26-27],不但是长期记忆形成过程所必需的一种关键分子,而且包括 NMDA 受体和多巴胺受体信号通路在内的多种细胞内信号级联均会聚于此^[28]。研究显示,多巴胺 D1R 通过对 NMDA 受体亚单位 NR1 的 Ser897 磷酸化来激活 NMDAR,使 NMDA 通道开放,胞浆中 Ca²⁺升高,参与 CREB 的磷酸化过程^[29],从而影响学习与记忆。

5. 结语

NMDAR 及 DAR 与大脑学习记忆功能密切相关,二者影响学习记忆的机制也十分复杂,不仅和受体的各个亚基及受体的不同性质有关,还牵涉各种级联反应、酶促反应,甚至参与基因转录的调节。目前,不同重金属通过 NMDAR 及 DAR 引起学习记忆受损仍是当今研究的一大热点,其中对 NMDAR 机制的研究较为深入,而对 DAR 的具体研究还有待探讨。随着日前工业的迅速发展,由重金属引起的学习记忆损伤的相关认知疾病的发病率必然不断上升,因此,进一步阐明重金属通过 NMDAR 及 DAR 致学习记忆损伤的作用机制,不仅可以帮助我们清楚地了解到疾病的发病机理,同时对认知性神经疾病的潜在治疗靶点的发现也具有重要作用。

参考文献:

- [1] 闫赖赖,陈曦,王京宇,等.四城市成人血液中主要重金属含量分析[J].卫生研究,2012,41(5):840-843.
- [2] 张田勘.重金属如何进入人体[J].中华养生保健,2011,(9):36-37.
- [3] 李存江.重视重金属中毒对神经系统的损害[J].中华内科杂志,2011,50(11):908-909.
- [4] 黄蕾,曲常胜,陈凯,等.重金属污染的健康风险评估与调控研究[C].//2011年重金属污染防治技术及风险评估研讨会论文集.2011:264-267.
- [5] 范珍,魏小平,张萱,等.重庆市铜梁地区重金属污染对2岁幼儿神经心理发育的影响[J].第三军医大学学报,2012,34(14):1446-1449.
- [6] 李廷玉,张萱,魏小平,等.出生时抗氧化维生素及重金属水平对两岁幼儿智力发育影响的相关分析[J].中华儿科杂志,2011,49(6):439-444.
- [7] 曲亚斌,林立丰,张建鹏,等.广东省十城市饮用水中部分元素健康风险评价[J].环境与健康杂志,2012,29(5):434-437.

- [8] Song Yen Tsai, Hung Yi Chou, He Men, et al. The effects of chronic arsenic exposure from drinking water on the neurobehavioral development in adolescence [J]. *Neuro Toxicology*, 2003, 24(4-5):747-753.
- [9] Naoko Tachibana, Takashi Shirakawa, Keiko Ishii, et al. Expression of Various Glutamate Receptors Including N-Methyl-D-Aspartate Receptor (NMDAR) in an Ovarian Teratoma Removed from a Young Woman with Anti-NMDAR Encephalitis [J]. *Internal medicine*, 2011, 49(19):2167-2173.
- [10] Tomas E, Barlett N J, Bannister V J, et al. Differential roles of NR2A and NR2B-containing NMDA receptors in LTP and LTD in the CA1 region of two-week old rat hippocampus [J]. *Neuropharmacology*, 2007; 52(1): 60-70.
- [11] 温晓飒. 慢性睡眠剥夺对大鼠前额皮质多巴胺 D1 受体信号通路的影响[D]. 第二军医大学, 2013.
- [12] 姚志刚, 张玲, 刘羽, 等. 小鼠海马内 HDAC2 的表达及其与 NMDA 受体、PSD-95 的共定位[J]. *中国比较医学杂志*, 2012, 22(4):1-4, 后插 1.
- [13] 李志军, 何丽琳, 易陈菊, 等. 成年新生神经元 NMDA 受体 NR2B 亚型基因条件性敲除模型建立[J]. *神经损伤与功能重建*, 2013, 8(1):1-6.
- [14] 栾文杰. 前额叶皮层突触前 Sigma-1 受体对 D1 受体的协同作用及机制[D]. 复旦大学, 2011.
- [15] 荣霏. 前额皮质多巴胺 D1 受体对慢性睡眠剥夺大鼠学习记忆影响的机制研究[D]. 第二军医大学, 2012.
- [16] 周莹, 蔡业峰, 李东风, 等. 大鼠纹状体边缘区的多巴胺受体 D1A 参与了学习记忆功能[J]. *神经解剖学杂志*, 2012, 28(1):23-27.
- [17] Fazio L, Blasi G, Taurisano P, et al. D2 receptor genotype and striatal dopamine signaling predict motor cortical activity and behavior in humans. [J]. *NeuroImage*, 2011, 54(4):2915-2921.
- [18] 徐斌, 徐兆发, 邓宇, 等. MK-801 对锰中毒大鼠纹状体 NMDA 受体亚单位表达的影响[J]. *实用预防医学*, 2009, 16(3): 635-638
- [19] Martel MA, Wyllie DJ, Hardingham GE. In developing hippocampal neurons, NR2B-containing N-methyl-D-aspartate receptors (NMDARs) can mediate signaling to neuronal survival and synaptic potentiation, as well as neuronal death. *Neuroscience*, 2009, 158(1):334-343.
- [20] 邓宇, 王飞, 徐斌, 等. 锰对小鼠黑质多巴胺转运体和受体表达影响的研究[J]. *实用预防医学*, 2014, 21(3): 257-260
- [21] CALABRESI P, AMMASSARI-TEULE M, GUBELLINI P, et al. A synaptic mechanism underlying the behavioral abnormalities induced by manganese intoxication [J], 2001, 8(3): 419-432.
- [22] 张玲, 潘宝龙, 吉俊伟, 等. 慢性铝暴露对小鼠认知能力影响及与 β -APP 关系[J]. *中国公共卫生*, 2011, 27(4):461-462.
- [23] 李静, 卢豪, 杨红澎, 等. 亚慢性铝暴露对大鼠学习记忆能力及抗氧化功能的影响[J]. *现代预防医学*, 2011, 38(11):2015-2017.
- [24] 罗云云. DAMGO 和 Galantamine 对铅暴露大鼠海马 DG 区突触可塑性的影响和修复作用[D]. 中国科学技术大学, 2012.
- [25] Frank J.S. Lee, et al. Dual Regulation of NMDA Receptor Functions by Direct Protein-Protein Interactions with the Dopamine D1 Receptor. *Cell*, October 18, 2002, Vol. 111, 219-230.
- [26] 王凌霄, 彭代辉, 黄建华, 等. CREB 磷酸化水平在慢性应激模型大鼠中表达研究[J]. *中国神经精神疾病杂志*, 2014, (1):26-30.
- [27] 杨璐, 赵晓勇, 孙美艳, 等. CREB 磷酸化蛋白水平对 δ 阿片受体激动剂后处理脑保护作用的影响[J]. *临床麻醉学杂志*, 2013, 29(5):484-487.
- [28] 程芙蓉. α -突触核蛋白对 MES23.5 多巴胺能神经细胞表面 NMDA 受体的调控作用及其机制的研究[D]. 首都医科大学, 2011.
- [29] Dudman JT, Eaton ME, Rajadhyaksha A, et al. Dopamine D1 receptors mediate CREB phosphorylation via phosphorylation of the NMDA receptor at Ser897-NR1. *J Neurochem*. 2003 Nov; 87(4): 922-34.