

中枢 N-甲基-D-天冬氨酸受体 在应激所致行为改变中的作用*

李欢欢 林文娟

(中国科学院心理研究所, 北京 100101)

摘要 应激所致行为效应的脑机制研究是目前生理心理学研究的热点领域。近年来, 对于参与应激所致行为效应的神经递质研究从 5-HT、多巴胺和去甲肾上腺素的范畴, 逐渐发展到关注脑内含量最为丰富的谷氨酸能神经元所产生的兴奋性递质, 包括谷氨酸、天冬氨酸及其相应受体 NMDAR 可能在应激性行为效应的中枢机制中的作用。近十年来的研究表明, 中枢 NMDAR 是学习记忆的关键物质, 在兴奋性突触传递、突触可塑性和脑发育过程中扮演重要的角色。不同类型的应激能导致动物的与行为密切相关脑区如杏仁核、海马的兴奋性氨基酸及 NMDAR 数量增多, 活性增高。突触间隙增多的兴奋性氨基酸与 NMDAR 结合后, 通过激活 NMDAR 促进糖皮质激素的相关性释放, 共同产生的兴奋毒性作用引起上述脑区的神经元细胞缺失和变性; 或干扰其他中枢神经递质在动物行为的脑内奖赏机制中的正常功能; 或通过持续激活 NMDAR, 导致细胞内 Ca^{2+} 超载, 损害其信号传导途径下游的蛋白激酶级联反应, 使其底物蛋白的磷酸化或去磷酸化作用发生改变, 影响突触可塑性和神经细胞间的信号传递, 导致动物出现相应的行为障碍。应激前给动物的上述脑区注射 NMDAR 阻滞剂, 可以减轻动物的应激性焦虑和抑郁行为。而 NMDAR 依赖性 LTP 下游途径的新信号分子, 神经颗粒素, 参与了脑内多种蛋白信号传导, 可能是应激性行为效应的另一重要中枢机制。

关键词 NMDAR, 应激, 行为, 神经颗粒素。

分类号 B845

急性应激能诱发动物明显的焦虑行为, 在多种慢性应激模型中, 动物表现出活动减少、呆滞和快感缺乏等类似于人类抑郁症的临床症状^[1], 某些严重应激如天敌应激所诱发的行为表现还能模拟人类创伤后应激障碍 (Posttraumatic stress disorder, PTSD), 并具有良好的生态效度^[2]。因此, 对

应激所致行为效应的脑机制研究成为目前生理心理学研究的热点领域, 以期为临床上的应激相关性疾病 (如 PTSD, 抑郁症) 等的治疗途径提供新的线索。中枢 N-甲基-D-天冬氨酸受体 (N-methyl-D-aspartate receptor, NMDAR) 是涉及情绪行为、学习记忆等脑功能的关键物质, 参与多种神经和精神疾病的脑内病理过程。应激后脑内 NMDAR 的活性和数量增加与应激性行为障碍密切相关。在应激前给予脑区灌注 NMDAR 阻滞剂能减轻动物的应激性焦虑和抑郁。提示中枢

收稿日期: 2005-01-10

* 国家自然科学基金资助项目 (NSF30370482); 中国科学院创新工程项目 (KSCX2-2-03)

通讯作者: 林文娟, E-mail: linwj@psych.ac.cn

NMDAR 在应激所致行为效应的脑机制中可能起着重要的作用,同时中枢 NMDAR 依赖性 LTP 下游的新信号分子,神经颗粒素,可能成为应激所致行为效应脑机制研究的新热点。本文对近年来这方面的研究进行综述。

1 应激性行为效应的脑机制研究现状

1.1 应激与中枢神经系统改变

国内外许多学者认为突触结构和功能可塑性的改变就是应激在中枢神经系统留下的生物学“痕迹”,它会引起脑功能和行为活动的改变。应激条件下,中枢神经系统的可塑性变化主要表现为:与应激相关的重要脑结构的形态学改变如海马、前额皮质的锥形神经元减少或缺失,树突棘萎缩,海马体积缩小等;中枢神经递质及其受体如兴奋性氨基酸 (excitatory amino acids, EAA)及 NMDAR、多巴胺(dopamine, DA)、阿片肽和去甲肾上腺素等释放增多,活性上调;糖皮质激素受体 (glucocorticosteroid receptor, GR) 水平下降;突触传递效能如长时程增强 (Long-term potentiation, LTP)、长时程抑制(Long-term depression, LTD)的改变等。研究表明,不同类型应激所导致的与行为相关脑区的中枢神经元形态改变和细胞缺失,或影响中枢神经元的功能活动如突触间信号传递可能是应激所致行为效应的中枢机制^[3,4]。

1.2 应激与中枢 NMDAR

中枢 NMDAR 在脑内含量丰富,功能复杂,并具有区域特异性分布,涉及到应激后突触可塑性改变的多个方面。在不同的应激条件下包括躯体和心理应激、急性和慢性应激,严重和轻微应激,中枢 EAA 均表现为释放增加,过多的 EAA 与 NMDAR 结合后

诱发 NMDAR 的持续激活。应激能特异性地增加海马 CA3 区 NMDAR 介导的兴奋性突触后电流 (excitatory postsynaptic currents, EPSCs),而不影响 α -氨基-3-羟-5-甲基-4-异恶唑丙酸受体所介导的 EPSCs^[5,6]。可见 NMDAR 过度激活引发持续的去极化,受体门控通道大量开放,引起神经细胞膜内外离子失衡导致神经细胞损伤和死亡,或 NMDAR 介导的兴奋性突触传递改变是应激后脑内病理变化的共同机制。

2 NMDAR 在应激性行为改变中的作用

有关 NMDAR 在应激所致行为效应中作用的研究,主要是考察应激时,与行为密切相关的脑区中 NMDAR 含量及活性的改变,以及 NMDAR 活性改变对中枢神经递质系统和应激性激素的调节作用,来探讨其可能的机制;或是通过药理学方法对中枢 NMDAR 进行阻断,观察受体阻滞对应激所致行为效应的影响,从而间接证实 NMDAR 参与应激所致行为效应的中枢机制。

2.1 NMDAR 与应激相关性脑结构

海马富含 NMDAR,对应激反应十分敏感,并且与情绪行为和学习记忆密切相关。应激能导致海马 EAA 的水平增高,NMDAR 的表达增强,上调 NMDAR 通道的活性^[7]。海马区域的 NMDAR 活化对于动物应激后产生回避行为的记忆形成是必须的^[8]。应激时海马区 NMDAR 的活性改变是应激后行为障碍发生的重要中介因素,可能的机制是 NMDAR 持续激活导致海马锥形神经元受损,促发抑郁。关于这一假设获得了不少证据的支持^[9,10]。除海马外,杏仁核区域内 NMDAR 介导的 LTP 过程也有助于情绪性记忆的建立,在严重应激(天敌应激)诱导

的焦虑行为变化过程中具有重要的作用^[11]。这些研究表明,不同类型的应激能引起与行为密切相关海马和杏仁核区域 NMDAR 活性改变,可能通过 NMDAR 介导的突触结构和功能可塑性机制来影响动物的行为。

2.2 NMDA 与应激性激素

应激可以导致体内糖皮质激素 (glucocorticosteroids, GCs) 水平过高,高水平的 GCs 透过血脑屏障进入脑组织,选择性作用于海马,对海马的形态结构和功能产生不利影响,影响动物的学习记忆和行为。应激时 GCs 损害海马神经元可通过增强海马的谷氨酸能信号传导和/或对这些信号分子的易感性来介导。其可能的机制是 GCs 促进 EAA 释放,抑制海马神经元葡萄糖的摄入,当神经元能量储备耗竭时,大量的 NMDAR 级联反应加剧,其兴奋毒性作用导致海马神经元的损害^[12]。同时, NMDAR 还可激活下丘脑-垂体-肾上腺皮质轴 (Hypothalamus-pituitary-adrenal axis, HPA),进一步促进 GCs 的释放,并参与应激诱导的大鼠海马 GR 水平减少的机制,抑制应激时 HPA 轴的负反馈,加剧应激性脑损害。研究显示,应激诱发的动物抑郁模型中有皮层 NMDAR 复合物的参与^[13]。临床上部分抑郁症患者经 MRI 检查发现大脑和海马存在与慢性应激动物相似的形态变化,包括侧脑室扩大,海马体积缩小等^[14],由此可见,应激时由 EAA, NMDAR 和 GCs 共同介导的海马神经元损害导致动物行为障碍的发生,慢性应激可能通过 HPA-EAA-NMDAR 途径,损害海马等脑结构,诱发抑郁症。

2.3 NMDAR 与多巴胺、阿片肽递质系统

应激所致的行为改变与动物脑内的奖

赏机制密切相关。脑内奖赏系统由广泛的神经通路组成,介导动物的奖赏行为如愉悦和动机,使行为具有目标指向性^[15]。涉及脑内奖赏机制的中枢神经递质系统主要是 DA 和阿片肽。应激诱导的中央前额叶 DA 分泌具有焦虑源性作用,能诱发动物的焦虑和快感缺乏;中枢阿片肽的分泌增加则可降低动物对伤害感受的敏感性,从而表现出一系列的行为障碍,如痛觉缺失。近年来, EAA 和 NMDAR 在脑内奖赏系统中的作用逐渐受到关注^[16]。提出在应激过程中, EAA 及 NMDAR 是否与 DA、阿片肽系统产生交互作用,或 DA 和阿片肽的活动是否是 NMDAR 依赖性的这一问题,相关研究尚未得出一致结论。有学者提出,应激时 DA 和阿片肽信号通路被激活,在 NMDAR 的磷酸化水平上与 NMDAR 对话。DA 通过蛋白激酶 A (protein kinase A, PKA) 依赖的信号通路、 μ 阿片样物质通过激活蛋白激酶 C (protein kinase C, PKC) 来分别调节 NMDAR 的磷酸化,进而改变 NMDAR 配体门控通道的活性,影响细胞之间信息传递。而 PKA 和 PKC 的活化又可由 EAA 与 NMDAR 结合触发。在应激过程中,多种信号途径之间具有协同调节作用^[17,18]。但是,也有研究显示应激诱导的 DA 增高现象并非 EAA 所引发的,使用 NMDAR 阻滞剂不能阻断阿片肽介导的应激性痛觉缺失^[19,20],认为这些机制并不存在交互作用。可见, EAA、DA 和阿片肽系统均是涉及应激所致行为改变的脑内奖赏机制的重要神经递质, NMDAR 可能是这三种递质系统发生协同或交互作用的重要介质。在应激引起行为改变的过程中,三种递质系统发挥作用的模式可能随着应激源的性质和强度发生变化。但

是,它们之间的作用途径与机制尚需进一步的研究。

2.4 中枢 NMDAR 阻滞对应激性行为改变的影响

采用药理学方法在应激前给予大鼠脑区灌注 NMDAR 拮抗剂如 MK-801、2-氨基-7-磷酸庚酸,能明显改善大鼠的应激性焦虑和抑郁^[21,22],提示 NMDAR 拮抗剂具有抗抑郁剂的类似成分。可能的途径是改变 NMDAR 通道的活性,进一步调节 GCs 的水平,减轻应激所致的脑损伤。但距离临床应用尚需时日。

3 中枢 NMDAR 调节应激性行为效应的机制研究

3.1 NMDAR 依赖性 LTP

应激能非常显著地影响 LTP 和 LTD,主要表现为阻抑 LTP、易化 LTD^[23]。NMDAR 依赖性 LTP 是 LTP 的主要形式。应激时突触间隙中 EAA 释放增加,持续激活 NMDAR,通过它所介导的中枢神经系统尤其是海马区域的突触传递效能,即 LTP 的改变来影响人类和动物的行为。研究表明,急性应激对海马的形态结构没有明显影响,而慢性应激时,海马结构存在器质性改变^[24]。这提示急性应激所致行为改变的中枢机制可能只涉及到突触传递效能的可塑性变化,包括 LTP 和 LTD,而非中枢神经系统结构本身器质性改变所致。

由此我们推断,急性应激引起相应脑区中的 EAA 一过性释放,激活 NMDAR, NMDAR 与特异性配体结合后,直接使各个具不同通透性的离子通道开放,引起 Na^+ , K^+ 和 Ca^{2+} 流的改变。内流的 Ca^{2+} 激活胞内 Ca^{2+} 依赖性的蛋白激酶级联反应,使突触后膜上的 NMDAR 增敏。通过 NMDAR 介导

的 EPSCs,导致 NMDAR 依赖性 LTP 过程持续增加,突触传递效能长时间增强,一方面有助于情绪性记忆的形成和巩固,另一方面使动物行为存在持续维持的中枢机制。动物表现出活动增多,兴奋焦虑。而慢性应激时,随着应激时程的延长,过多的 EAA 释放导致 NMDAR 过度激活,引起神经元持续的去极化,导致离子渗透压和电学变化, Ca^{2+} 通过电压门控通道或 NMDAR 联结通道缓慢内流,造成细胞内 Ca^{2+} 超载,一方面损害了 Ca^{2+} 的胞内信号传导途径下游的蛋白激酶级联反应,使突触后膜的 NMDAR 活性下调。另一方面引起细胞坏死,导致海马神经元变性甚至缺失,两者均能对 NMDAR 依赖性 LTP 过程造成阻抑,使行为维持的中枢机制丧失,动物出现活动减少,抑郁。

3.2 NMDAR 依赖性 LTP 下游途径的新信号分子——神经颗粒素

众所周知,蛋白的磷酸化在突触可塑性和行为的许多方面起着重要的作用。应激过程中,NMDAR 激活后通过 NMDAR 依赖性 LTP 过程触发下游的蛋白激酶级联反应,包括 PKC、PKA 和钙调蛋白依赖性蛋白激酶 II,通过这些蛋白激酶使底物蛋白质磷酸化和去磷酸化来发挥生理作用,影响突触可塑性和行为,其中以 PKC 的作用最为重要。同时,NMDAR 还能被 PKC 介导的蛋白质磷酸化作用所调节^[25]。然而,对涉及 NMDAR 依赖性 LTP 下游途径的蛋白质分子及其作用机制知之甚少。神经颗粒素 (Neurogranin, NG) 是一种新近发现的神经元特异性、 Ca^{2+} 敏感性钙调蛋白结合蛋白,主要分布在海马,杏仁核和前额皮质等区域,是突触后 PKC 的底物^[26]。研究表明,NG 参与了在脑内多种蛋白信号传导途径、

LTP 和 LTD 等突触可塑性机制, 与学习记忆、行为关系密切^[27,28]。急性应激能使大鼠脑内的 NG 蛋白质含量及其磷酸化水平降低^[29]。NG 所分布的主要脑区均与行为密切相关, 且对应激反应敏感, 提示它可能是涉及应激性行为效应的重要物质。其机制可能通过自身磷酸化水平的变化来影响突触后膜的 NMDAR 的活性, 改变突触传递的效能, 引起相应的行为改变 (如学习、记忆的缺陷)。国外相关研究支持这一观点^[30,31]。

4 结语

综上所述, 中枢 NMDAR 在应激所致行为改变的脑机制中可能起着至关重要的作用。主要归纳为三个方面: 不同类型的应激能导致与行为密切相关脑区如杏仁核, 海马的 EAA 及 NMDAR 数量和活性的改变, 激活其信号传导途径的下游的蛋白激酶级联反应和第二信使系统, 继而对神经元中大量的底物蛋白质发挥磷酸化和去磷酸化的作用, 影响突触可塑性机制和中枢神经信息传递过程, 导致动物出现相应的行为改变; 或是在应激过程中, 中枢神经元释放的 EAA 增多, 持续激活 NMDAR, 进一步刺激 GCs 分泌, 并改变与行为相关的重要脑区如海马的 GR 密度, 干扰中枢对 HPA 轴活性的控制, 导致中枢神经元的变性和死亡, 促进行为障碍的发生; 应激过程中 EAA 与其它涉及行为的脑内奖赏机制的中枢神经递质系统在 NMDAR 的磷酸化水平上产生协同作用或交互作用, 干扰了动物行为的正常脑内奖赏机制, 引起相应的行为改变。然而, 目前获得的研究结果仅仅是开端, 要进一步阐明中枢 NMDAR 的作用途径和机制还需大量工作。通过对中枢 NMDAR 进行功能阻断, 观察应激后与行为密切相关脑区的突触

后不同蛋白质磷酸化水平的变化, 以及探讨这些物质改变与应激性行为效应之间的关系, 可能是应激相关性障碍的脑机制研究的一个新的方向。

参考文献

- [1] Palanza P. Animal model of anxiety and depression: How are females different? *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 2001, 25:219-223
- [2] Adamec R E, Burton P, Shallow T, et al. NMDA receptors mediate lasting increases in anxiety-like behavior produced by the stress of predator exposure--implications for anxiety associated with posttraumatic stress disorder. *Physiology & Behavior*, 1999, 65(4-5): 723-737
- [3] Lupien S J, Lepage M. Stress, memory and the hippocampus: can't live with it, can't live without it. *Behavioural Brain Research*, 2001, 127:137-158
- [4] 马强, 王静, 杨志华等. 慢性应激对大鼠学习记忆能力和海马 LTP 的影响. *中国应用生理学杂志*, 2000, 16 (4) : 318-320
- [5] Kole M H, Swan L, Fuchs E. The antidepressant tianeptine persistently modulates glutamate receptor currents of the hippocampal CA3 commissural associational synapse in chronically stressed rats. *The European Journal of Neurosci*, 2002, 16(5): 807-816
- [6] Sircar R, Mallinson K, Goldbloom LM, et al. Postnatal stress selectively upregulates striatal N-methyl-D-aspartate receptors in male rats. *Brain Research*, 2001, 904(1): 145-148
- [7] Popoli M, Gennarelli M, Racagni G. Modulation of synaptic plasticity by stress and antidepressants. *Bipolar Disorders*, 2002, 4(3): 166-182
- [8] Izquierdo I, Medina JH. Memory formation: the sequence of biochemical events in the hippocampus and its connection to activity in other brain structures. *Neurobiology of Learning and Memory*, 1997, 68(3): 285-316
- [9] Anand K J, Scalzo F M. Can adverse neonatal experiences alter brain development and subsequent behavior? *Biology of the Neonate*, 2000, 77(2): 69-82

- [10] Kohno H, Katayama S, Ohuchi Y, et al. Possible neural mechanisms involved in footshock stress-induced enhancement of exploratory behavior in mice. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 1999, 22(4): 418-421
- [11] Millan M J. The neurobiology and control of anxious states. *Progress in Neurobiology*, 2003, 70: 83-224
- [12] Gould E, Tanapat P. Stress and hippocampal neurogenesis. *Biological Psychiatry*, 1999, 46(11): 1472-1479
- [13] Nowak G, Ossowska G, Jopek R, et al. Strychnine-insensitive glycine/NMDA sites are altered in two stress models of depression. *Polish Journal of Pharmacology*. 1998, 50(4-5): 365-369
- [14] 张艳美. 慢性应激, 大脑损害和抑郁症. *国外医学精神病学分册*, 2001, 28 (2) : 105-109
- [15] Naranjo C A, Tremblay L K, Busto U E. The role of the brain reward system in depression. *Progress in Neuro-psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 2001, 25: 781-823
- [16] Duncko R, Schwendt M, Jezova D. Altered glutamate receptor and corticoliberin gene expression in brain regions related to hedonic behavior in rats. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 2003, 76: 9-16
- [17] Rendon R A, Shuster L, Dodman N H. The effect of the NMDA receptor blocker, dextromethorphan, on cribbing in horses. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 2001, 68(1): 49-51
- [18] 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. *The Journal of Neuroscience*, 2002, 22(6): 2335-2342
- [19] Keefe K A, Sved A F, Zigmond M J, et al. Stress-induced dopamine release in the neostriatum: evaluation of the role of action potentials in nigrostriatal dopamine neurons or local initiation by endogenous excitatory amino acids. *Journal of Neurochemistry*, 1993, 61(5): 1943-1952
- [20] Marek P, Mogil JS, Sternberg WF, et al. N-methyl-D-aspartic acid (NMDA) receptor antagonist MK-801 blocks non-opioid stress-induced analgesia. II. Comparison across three swim-stress paradigms in selectively bred mice. *Brain Research*, 1992, 578(1-2): 197-203
- [21] Vamvakides A. Effect of amantadine or 3-cyclopentyl adamantanamine on the immobility of adult or aged mice, in the forced swim test. *Annales Pharmaceutiques Francaises*, 2000, 58(6): 420-424
- [22] Adamec R E, Burton P, Shallow T, et al. Unilateral block of NMDA receptors in the amygdala prevents predator stress-induced lasting increases in anxiety-like behavior and unconditioned startle--effective hemisphere depends on the behavior. *Physiology & Behavior*, 1999, 65(4-5): 739-751
- [23] Xu L, Anwyl R, Rowan M J. Behavioural stress facilitates the induction of long-term depression in the hippocampus. *Nature*, 1997, 387: 487-490
- [24] McEwen B S. Effects of adverse experiences for brain structure and function. *Biological Psychiatry*, 2000, 48: 721-731
- [25] Li B, Chen N, Luo T, et al. Differential regulation of synaptic and extra-synaptic NMDA receptors. *Nature Neuroscience*, 2002, 5(9): 833-834
- [26] Houben M P, Lankhorst A J, van Dalen J J, et al. Pre- and postsynaptic localization of RC3/neurogranin in the adult rat spinal cord: an immunohistochemical study. *Journal of Neuroscience Research*, 2000, 59(6): 750-759
- [27] Slemmon J R, Feng B, Erhardt J A. Small proteins that modulate calmodulin-dependent signal transduction: effects of PEP-19, neuromodulin, and neurogranin on enzyme activation and cellular homeostasis. *Molecular Neurobiology*, 2000, 22(1-3): 99-113
- [28] Ramakers G M, Pasinelli P, van Beest M, et al. Activation of pre- and postsynaptic protein kinase C during tetraethylammonium-induced long-term potentiation in the CA1 field of the hippocampus. *Neuroscience Letters*, 2000, 286(1): 53-56
- [29] Neuner-Jehle M, Rhyner T A, Borbely A A. Sleep deprivation differentially alters the mRNA and protein levels of neurogranin in rat brain. *Brain Research*, 1995, 685(1-2): 143-153
- [30] Angenstein F, Hirschfelder M, Staak S. Activation of metabotropic glutamate receptors increases endogenous

- protein kinase C substrate phosphorylation in adult hippocampal slices. *Brain Research*, 1997, 16:44~54
- [31] Pak J H, Huang F L, Li J. Involvement of neurogranin in the modulation of calcium/calmodulin-dependent protein kinase II, synaptic plasticity, and spatial learning: a study with knockout mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2000, 7(21): 11232~11237

Involvement of N-methyl-D-aspartate Receptors in Stress-Induced Behavioral Changes

Li Huanhuan, Lin Wenjuan

(Institute of Psychology, The Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China)

Abstract: Studies in the physiological psychology field have been focused on the brain mechanisms underlying stress-induced behavioral changes. The role of NMDA receptor (NR) in mediating stress-induced behavioral changes has gained more and more attention. NR is important for synaptic plasticity, brain development, and learning and memory. It has been shown that different stressors up-regulate the level or activity of NR in some brain regions, such as hippocampus and amygdale. Injection of the NR antagonist into these regions prior to stress can reduce stress-induced anxiety and depression, suggesting that NR are important mediators of stress-induced behavioral changes. N-methyl-D-aspartate receptors are important substance related closely with stress response and participate the process of brain damage caused by stress. N-methyl-D-aspartate receptor antagonists may be useful for treatment of stress-related mental disorder, such as recurrent depression, posttraumatic stress disorder. Furthermore, studies on neurogranin, a downstream signal molecule in NR-dependant transduction pathway, provided further information about the mechanisms underlying the effects of stress on behavior.

Key words: N-methyl-D-aspartate receptor, neurogranin, stress, behavior.