

# AMPA 受体在阿尔兹海默症中的研究进展

王晨旭 综述,于泳浩,谢克亮,王国林 审校  
(天津医科大学总医院麻醉科,天津 300052)

**摘要** AMPA 受体(AMPA receptors)是调节突触强度和可塑性的关键受体,其动态运输、活性和亚基组成受到严格的调控。神经退行性病变是困扰老龄化人口的主要问题之一,AMPA 受体的转运失调可能与大多数神经退行性疾病有关。了解 AMPA 受体在生理和病理认知衰退期间的调控机制,将有助于开发有效的方法来治疗神经退行性疾病。通过概述 AMPA 受体转运所涉及的分子机制,重点介绍目前已知的与衰老和疾病相关的变化过程。以阿尔茨海默病(AD)作为病理性老化的研究例子进行讨论,阐述  $\tau$  神经纤维缠结(NFT)和淀粉样- $\beta$  斑块(A $\beta$ )对 AMPA 受体的功能破坏。

**关键词** AMPA 受体;阿尔茨海默病;淀粉样蛋白; $\tau$  神经纤维缠结

**中图分类号** R742.8<sup>2</sup>

**文献标志码** A

AMPA 受体( $\alpha$ -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid receptors, AMPARs)的合成、膜转运、降解和翻译后修饰等过程受到严格调控。AMPA 受体最重要的功能包括支持突触可塑性,与学习和记忆的亚细胞改变有关<sup>[1]</sup>,同时也参与了中枢神经系统老化的过程。但是 AMPA 受体在自然衰老和神经退行性疾病中是如何变化的,目前尚不清楚。随着人口老龄化的进程,认知功能障碍性疾病的发病率也逐年上升,阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)等神经退行性疾病越来越多的受到人们关注。AD 痴呆最早的生物学表现之一就是突触 AMPA 受体的改变以及突触可塑性的损伤。在分子水平上,AD 的两种标志性病理代谢产物为淀粉样蛋白 A $\beta$  和神经纤维  $\tau$  链形成的斑块<sup>[2]</sup>。本综述简要概述了 AMPARs 转运模型,重点介绍了生理性衰老以及 AD 过程中 AMPARs 的变化。

## 1 AMPARs 在生理状态下的转运与调节

AMPA 受体是由 4 个亚基(GluA1-GluA4)组合的两个二聚体构成,其 80% 由 GluA1/GluA2 和 GluA2/GluA3 异质体组成。每个亚基都有一个可变的 C 末端,这是 AMPARs 转运的一个关键因素。GluA1 亚基的 C 末端是钙/钙调素依赖性蛋白激酶 II (calmodulin dependent protein kinase II, CaMK II)的主要靶标,突触后膜瞬时插入含 GluA1 的 AMPARs

是诱导长时程增强(long-term potentiation, LTP)的重要步骤。GluA2 和 GluA3 亚基的短 C 末端则存在与 PDZ 结构域相互作用的基序,介导 AMPA 受体与几个分子及邻近突触相互作用。

有假说提出,在 LTP 期间缺乏 GluA2 的 AMPARs 可能通过周围其他突触后膜转移而来,迅速插入突触。突触和突触外 AMPARs 可以通过外吞补充,提供了足够多的受体参与构成转运。随后,缺乏 GluA2 的 AMPARs 可逐步被含有 GluA2 的受体所取代,这些受体在基础转运和长时程抑制(long-term depression, LTD)期间更容易受到动态调节。然而,也有观点提出 AMPAR 亚基的组成并不是 LTP 的决定性因素<sup>[3]</sup>。

磷酸化是 AMPARs 转运和功能的一个关键决定因素。一般而言,导致 AMPARs 磷酸化的激酶活性与 LTP 有关,而磷酸酶活性和去磷酸化则与 LTD 有关。CaMK II 和蛋白激酶 C(protein kinase C, PKC)的一个重要磷酸化靶点是 GluA1 C 末端的丝氨酸 831(S 831),在突触可塑性和记忆保持过程中有潜在作用<sup>[4]</sup>。蛋白激酶 A(protein kinase A, PKA)使另一个 GluA1 残基(S 845)磷酸化,使 LTP 期间 AMPARs 更容易到达突触。

这些调控通路也可能相互汇合,进而影响 AMPARs 磷酸化。在正常状态下 AMPARs 磷酸化水平较低,受到神经元活动的调控时<sup>[4]</sup>,AMPARs 磷酸化的改变要比转运变化更为明显。强调了磷酸化的重要作用,当然还有其他转录后修饰在控制 AMPARs 转运和功能方面也发挥了重要作用。其中,泛素化和磷酸化可能是神经退行性疾病的特点,可溶性淀粉样- $\beta$  斑块(amyloid- $\beta$ , A $\beta$ )寡聚体增加了 AMPARs 泛素化

**基金项目** 天津医科大学总医院青年孵育基金(ZYYFY2015024);国家自然科学基金资助项目(81772043);天津市自然科学基金面上项目(17JCYBJC24800)

**作者简介** 王晨旭(1986-),女,主治医师,硕士在读,研究方向:麻醉药的器官保护与损伤;通信作者:王国林, E-mail: wang\_guolin@hotmail.com。

<sup>[5]</sup>,并减少了 GluA1 S 845 的磷酸化,同时使 AMPARs 细胞膜上的表达降低。

## 2 AMPARs 通路在生理性衰老中的变化

在深入研究 AD 的病理改变之前,更重要的是探讨正常衰老过程中 AMPARs 介导分子通路的变化。目前,生理性衰老的机制研究仅限于对突触可塑性的分析,即老年动物的 LTP 较弱,需要更强的刺激诱导。人们怀疑老年人的 AMPARs 总体功能低下,但尚不清楚这是突触稳定性降低还是电导率降低的结果。也可能是由于 AMPARs 减少或修饰受体增加而导致,因最近有研究表明,AMPARs 正变构调节剂的应用对恢复与年龄有关的记忆和突触增强缺陷有着有益的作用<sup>[6]</sup>。

其中,关于 AMPARs 的改变有两种假设比较主流。一种理论认为,衰老改变了突触前功能,减少了谷氨酸的释放,影响 AMPARs 与内源性激动剂的结合。第二种假设是修饰后的 AMPARs 增加,使其在突触上更不稳定。在这种情况下,AMPARs 兴奋剂的应用可以暂时缓解其功能的丧失。并且改变 AMPARs 的磷酸化和/或其亚基组成,可以引起不稳定性的增加和电导率的降低。Hara 等<sup>[7]</sup>的一项研究认为,AMPARs 亚基组成的改变可能与生理性认知能力下降有关,清除 GluA2 的机制将很大程度影响衰老大脑中的突触传递和可塑性。

## 3 AMPARs 在 AD 中的变化

### 3.1 A $\beta$ 对 AMPARs 的影响

3.1.1 A $\beta$  在突触可塑性中的作用 A $\beta$  通过改变突触的形态和组成来诱导突触畸变,从而导致树突棘的大量丧失,阻断 AMPARs 的内吞作用可防止由 A $\beta$  诱导的树突棘的丧失。A $\beta$  导致的 AMPARs 突触后膜移位与 LTD 有相似的信号通路,同样涉及到 N-甲基-D-天冬氨酸受体(N-methyl-D-aspartate receptor,NMDAR)的参与,但 A $\beta$  诱导的突触抑制也参与了其他的信号转导级联反应<sup>[8]</sup>。

A $\beta$  能还改变 CaMK II 的亚细胞分布,破坏突触 AMPARs,并阻碍突触增强。可溶性 A $\beta$  还可通过降低 NMDARs 的细胞膜表达,从而影响 LTP 过程。然而,表面 NMDARs 的减少又可能具有保护作用,表明 NMDARs 可能是 A $\beta$  的突触作用靶点。有实验指出,A $\beta$  能激活含 GluN2B 的 NMDARs,从而导致神经元过度活化并阻断 LTP<sup>[9]</sup>。另有实验表示,可溶性 A $\beta$  低聚物可通过改变 NMDARs 和 AMPARs 的转运和功能而导致突触的功能障碍<sup>[10]</sup>。

3.1.2 A $\beta$  对 AMPA 受体亚单位的作用 有观点提出,A $\beta$  斑的存在不一定导致神经变性,可能是 A $\beta$

诱导的神经毒性需要激活额外的配体,迄今为止,研究最广泛的配体是细胞朊病毒蛋白。其中有一种假设为 A $\beta$  本身就是一种可以自我繁殖的朊蛋白,能够诱发神经变性<sup>[11]</sup>。有研究用蛋白沉淀等实验方法鉴定脑脊液中与 A $\beta$  结合的内源性配体,目前已确定了大约 100 个参与脂质代谢、内稳态和免疫应答的分子<sup>[12]</sup>,这表明 A $\beta$  可能通过多种潜在的结合配体影响多种细胞功能。

同时,A $\beta$  低聚物也可以结合不同的 AMPARs 亚单位<sup>[13]</sup>。研究发现,A $\beta$  低聚物与 GluA2 形成复合物,从而影响 AMPARs 的转运及表达。由于含 GluA2 的 AMPARs 主要在生理性老化期间受到影响,表明 A $\beta$  可能通过天然存在的机制加重正在进行的突触老化。Reiners 等<sup>[13]</sup>指出,GluA3 缺乏小鼠的海马脑片 LTP 在外源性 A $\beta$  的作用下保持不变,而正常小鼠的 LTP 则明显降低。可能是 A $\beta$  低聚物有利地结合含有 GluA2/GluA3 的 AMPARs,从而触发这些受体从突触表面的向细胞内移动。其结合的潜在靶点是 PICK1(protein interaction with C-kinase 1),这一过程中表面含 GluA1 的 AMPAR 基本保持不变,但是缺乏 PICK1 的小鼠可以抵抗 A $\beta$  诱导的上述作用<sup>[14]</sup>,表明突触的损伤变化是 PICK1 与 GluA2/3 AMPAR 相互作用的结果。

3.1.3 AMPAR 亚基可能是治疗 AD 的新靶点 A $\beta$  通过诱导 GluA 2/3 的选择性内吞作用,触发突触抑制,降低突触稳定性。因此,降低含 GluA 2/3 的 AMPARs 可能减轻 A $\beta$  的损伤。事实上,最近对与轻度认知障碍相关的基因表达谱的筛选发现,GluA3 基因与神经变性呈负相关<sup>[15]</sup>。有人提出,含有 GluA1 的 AMPARs 主要是在 LTP 期间植入突触的<sup>[16]</sup>,因此在 LTP 过程中会产生 GluA2/3 水平较低的突触。然而,降低含 GluA2/3 的 AMPARs 而有提高 GluA1 的表达可能会产生意想不到的不良反应。虽然在一般情况下,可溶性 A $\beta$  促进突触抑制,阻碍突触增强,但在某些情况下,胞内 A $\beta$  也能增加含 GluA1 的 AMPARs 表达,进而引起钙依赖的兴奋性毒性<sup>[17]</sup>。因此招募含有 GluA1 的 AMPARs 增强突触强度,这一方法可能会产生一些不良反应。不过更为合理的假设是,保持智力活跃的生活方式可以防止 A $\beta$  斑块引发的一些分子改变,因为这些斑块通常也出现在自然老化的大脑中<sup>[18]</sup>。

3.2  $\tau$  神经纤维缠结(NFT)在 AMPAR 通路中的作用

3.2.1 NFT 在突触传递及可塑性中的作用 对寡聚体 A $\beta$  在 AMPARs 转运过程中的作用研究较少,

但是有大量证据表明,AMPA<sub>s</sub> 特别容易受到  $\tau$  蛋白病理的影响。有研究显示,在体外培养接受突变  $\tau$  蛋白处理的神经元以及  $\tau$  蛋白基因突变小鼠中均发现大量表面受体丢失,但也有少数研究报道指出突触密度或形态没有变化<sup>[19]</sup>。产生不同结果的原因可能为人类突变型和野生型异构体的不同,以及内源性  $\tau$  在体外和体内模型差异等。另外,NFT 在破坏神经元功能方面的效率可能不如可溶性  $\tau$  蛋白。因此, $\tau$  蛋白的病理损伤和突触毒性可能在很大程度上取决于聚集形式和游离形式之间的比例。然而,突触超微结构的重组可能不会引起突触密度的显著重塑。最近的一项研究结果表明,虽然突触密度保持不变,但 GluN1 和 GluA1 表达减少,二者均含有包括 PSD-95 (postsynaptic density protein 95) 在内的关键突触蛋白<sup>[20]</sup>。这些发现表明,暴露在异常  $\tau$  蛋白中的突触可能在超微结构水平上表现出微妙的变化,显著影响突触的功能。

$\tau$  蛋白异常的模型中突触强度发生了改变,突触可塑性似乎是由于异常  $\tau$  的表达而中断。在高频刺激下,老年的  $\tau$  转基因小鼠海马 CA1 区 LTP 的基础突触传递受到干扰,表明  $\tau$  蛋白依赖的分子信号能够干扰 AMPAR<sub>s</sub> 的转运和突触可塑性。有趣的是,重组人  $\tau$  寡聚体被证明可以阻止 LTP,并导致记忆障碍<sup>[21]</sup>,或是增强 LTD,而这一过程是独立于 A $\beta$  存在的。这一差异的产生可能是由于二者采用的转基因模型不同。尽管存在差异,越来越多的证据均表明  $\tau$  蛋白依赖的信号转导在调节突触结构和功能中起着至关重要的作用。

**3.2.2 NFT 介导的神经毒性**  $\tau$  蛋白不仅可以定位于轴突微管,也可以少量定位于突触后膜。并且,树突棘中如果积累了过度磷酸化的  $\tau$ ,就可以与一些关键信号分子一起调节 AMPAR<sub>s</sub> 的转运。 $\tau$  蛋白的错误定位引起的突触损伤可独立于神经变性而发生,这表明  $\tau$  可能在明显的认知缺陷出现之前就导致了突触功能障碍。除了中断 AMPAR<sub>s</sub> 的转运之外, $\tau$  蛋白还会对关键的信号通路产生破坏性影响。

虽然磷酸化的  $\tau$  蛋白通常被认为有潜在的神经毒性,但最近的证据表明,磷酸化  $\tau$  在维持正常突触传递和可塑性方面起着至关重要的作用。生化和电生理的分析结果表明,海马 LTD 的形成需要  $\tau$  蛋白丝氨酸 396 位点特异性磷酸化<sup>[22]</sup>。此外,Ittner 等<sup>[23]</sup>最近的一份报告显示,在 AD 动物模型中,早期的  $\tau$  蛋白磷酸化起到了积极作用。特别是,在苏氨酸 205 位点上模仿  $\tau$  蛋白磷酸化可以减轻 A $\beta$  诱导的神经元死亡,并在疾病的早期阶段提供保护。此

外, $\tau$  蛋白介导的 AMPAR<sub>s</sub> 变化机制在 AD 早期可能被作为潜在的代偿机制,提示在神经退行性变的初始阶段激活  $\tau$  蛋白磷酸化可能是有益的。

除磷酸化外, $\tau$  蛋白乙酰化在病理老化过程中也有重要作用,因为  $\tau$  赖氨酸 K 274 和 K 281 的异常乙酰化与 AD 中的痴呆有关<sup>[24-25]</sup>。含有赖氨酸-谷氨酰胺突变的转基因小鼠可以表现出与 AD 相关的记忆缺陷和海马 LTP 受损。同时,增强  $\tau$  乙酰化能破坏海马突触可塑性,减少突触后肾脏脑蛋白(recombinant kidney and brain protein, KIBRA)表达,并与痴呆 AD 患者 KIBRA 的表达减少有关。综上所述,阻止  $\tau$  蛋白乙酰化可能对 AD 认知功能下降有治疗作用。

AMPA<sub>R</sub> 的动态调控是支持突触传递和可塑性的关键因素。因此,在自然衰老和病理老化过程中,AMPA<sub>R</sub> 失调是突触衰变的基础。近几年来,在 AD 这类神经退行性疾病的研究中,NFT 和 A $\beta$  干扰谷氨酸受体及其下游通路的机制取得了很大进展,不仅影响了 AMPAR 的构成及转运,也影响了突出可塑性,因此 AMPAR 可能会成为 AD 的一个治疗靶点。其中有多项研究表明,选择性调节含 GluA2/3 的 AMPAR<sub>s</sub> 可能影响自然衰老和病理衰老的过程。其中,GluA2 亚基对 AMPAR 的转运和钙通透性有着深远的影响,不含 GluA2 的 AMPAR 钙内流增加,可导致神经元的兴奋性毒性。并且在病理条件下,含有 GluA2/3 的 AMPAR<sub>s</sub> 常出现异常,也提示其调控的分子机制可能是神经退行性疾病新疗法的基础。所以,更好地理解 AMPAR 转运涉及的分子基础,将是发现治疗认知功能障碍疾病至关重要的步骤。

#### 参考文献:

- [1] Nicoll R A. A brief history of long-term potentiation[J]. *Neuron*, 2017, 93(2):281
- [2] Guntupalli S, Widagdo J, Anggono V. Amyloid- $\beta$ -induced dysregulation of AMPA receptor trafficking[J]. *Neural Plast*, 2016, 2016:3204519
- [3] Granger A J, Shi Y, Lu W, et al. LTP requires a reserve pool of glutamate receptors independent of subunit type[J]. *Nature*, 2013, 493(7433):495
- [4] Hosokawa T, Mitsushima D, Kaneko R, et al. Stoichiometry and phosphoisotypes of hippocampal AMPA-type glutamate receptor phosphorylation[J]. *Neuron*, 2015, 85(1):60
- [5] Rodrigues E M, Scudder S L, Goo M S. A  $\beta$ -induced synaptic alterations require the E3 ubiquitin ligase Nedd4-1[J]. *J Neurosci*, 2016, 36(5):1590
- [6] Radin D P, Zhong S, Purcell R, et al. Acute amphetamine treatment ameliorates age-related deficits in long-term potentiation[J]. *Biomed Pharmacother*, 2016, 84:806
- [7] Hara Y, Punsoni M, Yuk F, et al. Synaptic distributions of GluA2

- and PKM zeta in the monkey dentate gyrus and their relationships with aging and memory[J]. *J Neurosci*, 2012,32(21):7336
- [8] Knafo S, Sanchez-Puelles C, Palomer E A, et al. PTEN recruitment controls synaptic and cognitive function in Alzheimer's models[J]. *Nat Neurosci*, 2016, 19(3):443
- [9] Li S M, Jin M, Koeglsperger T, et al. Soluble a beta oligomers inhibit long-term potentiation through a mechanism involving excessive activation of extrasynaptic NR2B-Containing NMDA receptors[J]. *J Neurosci*, 2011, 31(18):6627
- [10] Tu S C, Okamoto S I, Lipton S A, et al. Oligomeric a beta-induced synaptic dysfunction in alzheimer's disease[J]. *Mol Neurodegener*, 2014, 9:48
- [11] Watts J C, Prusiner S B.  $\beta$ -Amyloid prions and the pathobiology of alzheimer's disease[J]. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2018, 8(5): pii: a023507
- [12] Rahman M M, Zetterberg H, Lendel C A. Binding of human proteins to amyloid-beta protofibrils[J]. *ACS Chem Biol*, 2015, 10(3):766
- [13] Reinders N R, Pao Y, Renner M C, et al. Amyloid-beta effects on synapses and memory require AMPA receptor subunit GluA3 [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2016, 113(42):E6526
- [14] Alfonso S, Kessels H W, Banos C C, et al. Synapto-depressive effects of amyloid beta require PICK1[J]. *Eur J Neurosci*, 2014, 39(7): 1225
- [15] Berchtold N C, Sabbagh M N, Beach T G, et al. Brain gene expression patterns differentiate mild cognitive impairment from normal aged and Alzheimer's disease[J]. *Neurobiol Aging*, 2014, 35(9):1961
- [16] Granger A J, Shi Y, Lu W, et al. LTP requires a reserve pool of glutamate receptors independent of subunit type[J]. *Nature*, 2013, 493 (7433):495
- [17] Whitcomb D J, Hogg E L, Regan P, et al. Intracellular oligomeric amyloid-beta rapidly regulates GluA1 subunit of AMPA receptor in the hippocampus[J]. *Sci Rep*, 2015,5:10934
- [18] Wirth M, Madison C M, Rabinovici G D, et al. Alzheimer's disease neurodegenerative biomarkers are associated with decreased cognitive function but not beta-amyloid in cognitively normal older individuals[J]. *J Neurosci*, 2013, 33(13):5553
- [19] Yu W D, Polepalli J, Wagh D, et al. A critical role for the PAR-1/MARK-tau axis in mediating the toxic effects of A on synapses and dendritic spines[J]. *Hum Mol Genet*, 2012,21(6):1384
- [20] Kopeikina K J, Polydoro M, Tai H, et al. Synaptic alterations in the rTg4510 mouse model of tauopathy[J]. *J Comp Neurol*, 2013, 521(6): 1334
- [21] Fa M, Puzzo D, Piacentini R, et al. Extracellular Tau oligomers produce an immediate impairment of LTP and memory[J]. *Sci Rep*, 2016, 6:19393
- [22] Regan P, Piers T, Yi J H, et al. Tau phosphorylation at serine 396 residue is required for hippocampal LTD [J]. *J Neurosci*, 2015, 35 (12):4804
- [23] Ittner A, Chua S W, Bertz J, et al. Site-specific phosphorylation of tau inhibits amyloid-beta toxicity in Alzheimer's mice[J]. *Science*, 2016, 354(6314):904
- [24] Tracy T E, Gan L. Acetylated tau in Alzheimer's disease: an instigator of synaptic dysfunction underlying memory loss: increased levels of acetylated tau blocks the postsynaptic signaling required for plasticity and promotes memory deficits associated with tauopathy [J]. *Bioessays*, 2017, 39(4): doi: 10.1002/bies.201600224
- [25] Tracy T E, Sohn P D, Minami S S, et al. Acetylated Tau obstructs KIBRA-mediated signaling in synaptic plasticity and promotes Tauopathy-Related memory loss[J]. *Neuron*, 2016, 90(2):245

(2019-08-13 收稿)

(上接第 291 页)

- targeting strategies[J]. *Med Res Rev*, 2017, 37(6, SI):1318
- [47] Worzfeld T, Von Strandmann E P, Huber M A, et al. The unique molecular and cellular microenvironment of ovarian cancer[J]. *Front Oncol*, 2017, 7(Suppl 5):24
- [48] Yokoi A, Yoshioka Y, Yamamoto Y, et al. Malignant extracellular vesicles carrying MMP1 mRNA facilitate peritoneal dissemination in ovarian cancer[J]. *Nat Commun*, 2017, 8:14470
- [49] Kelleher J, Balu-Iyer S, Loyall J A, et al. Extracellular vesicles present in human ovarian tumor microenvironments induce a phosphatidylserine-dependent arrest in the T-cell signaling cascade[J]. *Cancer Immunol Res*, 2015, 3(11):1269
- [50] Szajnik M, Czystowska M, Szczepanski M J, et al. Tumor-derived microvesicles induce, expand and up-regulate biological activities of human regulatory T cells (Treg)[J]. *PLoS One*, 2010, 5(7):e11469
- [51] Nakamura K, Sawada K, Yoshimura A, et al. Clinical relevance of circulating cell-free microRNAs in ovarian cancer[J]. *Mol Cancer*, 2016, 15(1):48
- [52] Kanlikilicer P, Rashed M H, Bayraktar R A, et al. Ubiquitous release of exosomal tumor suppressor miR-6126 from ovarian cancer cells[J]. *Cancer Res*, 2016, 76(24):7194
- [53] Au Yeung C L, Co N N, Tsuruga T, et al. Exosomal transfer of stroma-derived miR21 confers paclitaxel resistance in ovarian cancer cells through targeting APAF1[J]. *Nat Commun*, 2016, 7:11150

(2019-03-18 收稿)