

# AMPA 受体的内化及其分子机制

郑婵颖, 罗建红\*, 赵 卉

(浙江大学医学院神经生物学教研室, 杭州 310006)

**摘要:** AMPA 受体的内化不仅仅是结束它们的活性状态, 受体的许多重要信号功能是与活性依赖的内化密切相关的。突触功能调节中, 存在2种形式 AMPA 受体的内化: 组构性内化和活性依赖的内化。现就 AMPA 受体内化的分类、过程和意义, 以及活性依赖的内化的诱发因素、调节因素和内化后的去向进行综述。

**关键词:** AMPA 受体; 内化; 活性依赖性内化

**中图分类号:** Q71, Q291 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-9977(2004)03-216-05

AMPA( $\alpha$ -amino-3-hydroxy-5-methylisoxazole-4-propionic acid)受体是离子型谷氨酸受体的一种亚型, 分布于突触后膜, 在中枢神经系统(central nervous system, CNS)介导了大多数快速兴奋性神经传递。但是, AMPA 受体在突触部位的数量和组成并不是一成不变的, 而是根据神经元的功能状态快速地插入细胞膜、定位于突触, 同时也不断地从突触和细胞膜上撤离, 后者是通过内化(internalization)过程实现的。神经元通过调节兴奋性突触后膜 AMPA 受体的数量和亚单位组成, 可以改变兴奋性突触的活性和传递效能<sup>[1-3]</sup>, 与一些重要的生理机制有关, 如“静默突触”(silent synapse)、长时程增强(LTP, long-term potentiation)和长时程抑制(LTD, long-term depression)等神经可塑性机制都与此有关。

近几年来, 有关 AMPA 受体内化的细胞和分子机制及其对突触活性调节的研究越来越多<sup>[2-5]</sup>。随着对 AMPA 受体的内化机制的深入了解, 与其密切相关的信号转导机制也逐渐被阐明。

## 1 AMPA 受体内化的类型

AMPA 受体的内化, 也即胞吞(endocytosis), 是通过网格蛋白(clathrin)、衔接蛋白将聚集了受体-配体复合物的质膜“拉”向细胞内, 使其与质膜分离, 形成被网格蛋白包裹的小囊泡的过程。受体的内化的速度很快, 以秒计<sup>[6,7]</sup>, 但当温度低于 20℃ 时, 内化过程明显减慢。

AMPA受体在树突棘(spine)上的内化集中在一个

小小的内化区(endocytic zones), 其位置靠近突触后致密区域(post-synaptic density, PSD), 但与该特区并不重叠<sup>[8]</sup>。包裹着 AMPA 受体的小囊泡内化后, 其位置也相对局限于一个微域中。

AMPA 受体的内化有两种形式, 即组构性内化(constitutive endocytosis)和活性依赖性内化(activity-dependent endocytosis)<sup>[9]</sup>。

**AMPA 受体组构性内化:** 在生理状况下, AMPA 受体以相似的速率快速频繁地插入和撤离细胞膜, 该过程不需突触前递质释放的诱导。其中 AMPA 受体撤离细胞膜的过程, 即为组构性 AMPA 受体内化。这一过程是由网格蛋白介导, 并且是消耗能量的。

**活性依赖性 AMPA 受体内化:** NMDA(N-methyl-D-aspartate)受体、AMPA 受体和胰岛素受体的激活都可以显著加速活性依赖的 AMPA 受体的内化<sup>[10]</sup>。NMDA 受体的激活可以诱发 AMPA 受体的内化和循环。这种内化需要几种蛋白磷酸酶的激活, 如钙调磷酸酶(calcineurin), 但尚不清楚关键性的脱磷酸化靶蛋白。AMPA 受体的激活也会导致 AMPA 受体自身的内化, 该过程通过激活电压门控的钙通道(voltage-gated calcium channel, VGCC)诱发钙离子内流进而导致 AMPA 受体内化, 其机制与 NMDA 诱导的 AMPA 受体内化机制相似。胰岛素受体的激活可以加速含 GluR2 亚单位的 AMPA 受体的内化, 而且这个过程可能也与钙调磷酸酶相关(图 1)。

收稿日期: 2003-04-01; 修回日期: 2003-10-27

\* 通讯作者, E-mail: luojianhong@zju.edu.cn

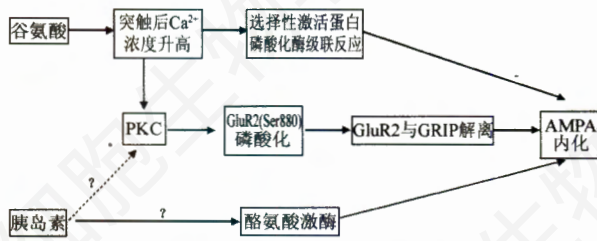


图1 谷氨酸和胰岛素引发的 AMPA 受体内化机制示意图

## 2 AMPA 受体内化的过程

组构性 AMPA 受体内化和活性依赖性 AMPA 受体内化的基本过程相同, 都是由网格蛋白介导的。

GluR2<sub>(short)</sub>、GluR3 和 GluR4<sub>(short)</sub> 亚单位 C 末端有几种结合位点, 能与含 PDZ(PSD-95, Discs-large, ZO-1)功能区的蛋白结合, 如 AMPA 受体结合蛋白(ABP, AMPA receptor binding protein)、谷氨酸受体结合蛋白 1 和谷氨酸受体结合蛋白 2 (GRIP 1, glutamate receptor interacting protein1 和 GRIP2, glutamate receptor interacting protein2)、PKC 作用蛋白(PICK, protein interacting with C kinase 1)等<sup>[11,12]</sup>。它们通过 PDZ 功能区的识别位点与 AMPA 受体亚单位的 C 末端相连, 从而参与调节突触部位的 AMPA 受体数目<sup>[13,14]</sup>。树突干上的 AMPA 受体通过与 GRIP/ABP 解离、磷酸化、与 PICK1 相结合等生化事件, 侧向运动到树突棘表面。AMPA 受体(或受体-配体复合物)可以选择性进入网格蛋白包裹的小窝中<sup>[13]</sup>, 网格蛋白由 3 条重链和 3 条轻链组成, 通过一些接头蛋白复合体(如 AP-2 和一些附件蛋白)固定在质膜胞浆侧。在网格蛋白的作用下, 含有受体的一片质膜内陷, 最终在动力蛋白(dynamin)的帮助下以囊泡形式进入胞浆。高渗蔗糖处理细胞或过表达失活的动力蛋白突变体均可有效阻断该过程<sup>[20]</sup>。并且已知上述过程是通过蛋白激酶 C(PKC)调节的<sup>[14, 16]</sup> (图 2)。进入胞浆后, 囊泡表面的网格蛋白和接头蛋白在数秒之内解聚, 此过程称为去被覆(uncoating)。去被覆可能受网格蛋白轻链和 Ca<sup>2+</sup> 的调节, 需要由去被覆 ATP 酶(uncoating ATPase, 为 HSP70)提供能量。裸露的囊泡与特定的膜性细胞器(如内体)融合。内体主要定位于细胞边缘, 表面结合了多种信号分子复合物<sup>[17]</sup>, 能将受体和配体转运到细胞内靶位点。AMPA 受体内化后可以从靠近质膜的早期内体或靠近高尔基体的晚期内体再循环进入质膜; 也可以在体内滞留很长时间, 或经晚期内体转运到溶酶体中被酶解。内体膜上有 H<sup>+</sup>-ATP 酶(称为 vacuolar

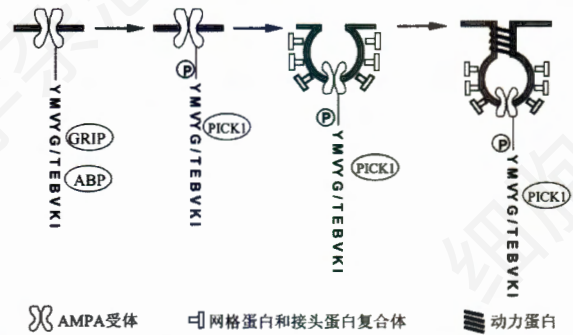


图2 AMPA 受体内化前 C 末端结合蛋白变化模式图

含有 GluR2/3 亚单位的突触后 AMPA 受体胞浆侧与 GRIP/ABP 结合, 激活 PKC 能使 AMPA 受体 C 末端的 Ser880 位点磷酸化, 于是 GRIP/ABP 与 AMPA 受体解离, 而 PICK1 则与 AMPA 受体 C 末端结合, 并与之一道内化。

H4-ATPase), 可将 H<sup>+</sup> 主动从胞液转运到内体中, 因此内化过程中的 pH 值逐渐降低, 从早期内体的 pH 为 6.0~6.5 而晚期内体和溶酶体的 pH 为 4.5~5.5<sup>[17]</sup>, 然而, 即使早期内体的酸性环境已足以使受体和配体解离。改变内体的 pH 值(如将膜浸在弱碱氯喹中), 或给予内体质子泵抑制剂(如 bafilomycin)都可以扰乱通过内体进行的膜转运。

组构性的 AMPA 受体内化后, 进入受体池等待再循环。而活性依赖的 AMPA 受体内化以后, 可以直接被溶酶体降解, 也可以重新插入质膜。其去向由 NMDA 受体和 AMPA 受体的相对活性决定。

## 3 谷氨酸引发的 AMPA 受体内化

### 3.1 谷氨酸引发的 AMPA 受体内化

突触前谷氨酸的释放可以激活 NMDA 受体活性诱导的 AMPA 受体内化和 AMPA 受体活性诱导的 AMPA 受体内化。长时间(数小时到数天)的谷氨酸处理培养神经元, 可以引起 AMPA 受体在突触上的迅速缺失, 而不影响 NMDA 受体<sup>[18]</sup>。

AMPA 受体和 NMDA 受体的活化, 可以引发 AMPA 受体介导的、调节不同区域神经元的各种信号通路<sup>[15]</sup>。NMDA 受体引发的 AMPA 受体内化能激活钙调磷酸酶, 进而使发动蛋白等与内化有关的数种蛋白去磷酸化。此过程还伴随着 GluR1 亚单位上 PKA 磷酸化位点的去磷酸化。AMPA 受体本身的激活也能造成 AMPA 受体的内化。此过程源于 AMPA 受体依赖的去磷酸化, 配体依赖的 AMPA 受体内化后, 囊泡被溶酶体降解, 而不进入快速再循环通路。

NMDA 受体和 AMPA 受体激活诱发的 AMPA 受

体内化的部位是不同的。AMPA受体诱导的AMPA受体内化和NMDA受体诱导的AMPA受体内化后,囊泡在神经元内的分布是不同的。这种分布的差异缘于受体发生内化部位的不同,而不是受体内化后再进行重新分配的结果。在NMDA受体拮抗剂APV和I/II型代谢型Glu受体拮抗剂MCPG存在的条件下,用AMPA处理培养的神经元,可以观察到内化的AMPA受体主要集中在神经元胞体和树突基部,且15分钟以后就基本停止了运动;而NMDA处理后,内化的AMPA受体主要在树突末梢部分的内吞囊泡中<sup>[19]</sup>。但NMDA和AMPA处理后的细胞内含AMPA受体的囊泡都是相对静止的。

### 3.2 谷氨酸引发的AMPA受体内化的调节因素

**3.2.1  $Ca^{2+}$  内流**是引发AMPA受体内化的必要条件。引发AMPA受体内化的钙可以来自两种途径: NMDA受体和电压依赖的钙通道。在培养细胞中,当NMDA受体被阻断时,AMPA受体内化仍可被诱发。这是由于AMPA受体激活后,质膜的去极化导致VGCC的钙通道打开,也可以造成钙内流。L型钙通道阻断剂尼莫地平(Nimodipine),可以阻断这种钙离子经VGCC内流而造成的AMPA受体内化<sup>[20]</sup>。

仅仅NMDA受体活化也可以引发AMPA受体内化,该机制可能与NMDA受体依赖的LTD的形成有关。而NMDA受体依赖的LTD首先需要突触后钙浓度的升高。除去液体培养基中的细胞外钙,可以完全阻断或是严重抑制NMDA或AMPA诱发的AMPA受体内化。而且,这种阻断AMPA受体内吞的机制,不是简单的抑制网格蛋白的“挖坑”功能。因为转铁蛋白受体的内化(以荧光标记的转铁蛋白来衡量),也是通过网格蛋白的“挖坑”功能来介导的,但在无细胞外钙的树突和细胞体上仍会发生。

**3.2.2 蛋白磷酸酶** 钙离子通过NMDA受体内流后,可以激活钙调磷酸酶、蛋白磷酸酶1(PP1)等蛋白磷酸酶。

钙调磷酸酶的激活是AMPA或NMDA引发AMPA受体内化的必要条件。钙调磷酸酶可以使包括动力蛋白在内的数个与内化及其内化动力学相关的蛋白质去磷酸化。内化过程中GluR1 Ser845的PKA磷酸化位点被去磷酸化。作用机制不同的钙调磷酸酶抑制剂FK506、氯氰菊酯(cypermethrin)和环孢菌素A(cyclosporin A)都能非常显著地抑制AMPA

受体的内化,而与FK506结构相似但不抑制钙调磷酸酶的雷帕霉素(rapamycin)却不影响AMPA受体的内化。这些都说明,钙调磷酸酶的活性也是谷氨酸引发AMPA受体内化的必要条件。PP1诱发AMPA受体内化的机制还不清楚<sup>[19]</sup>。但已有实验证明:抑制PP1会阻断NMDA受体诱发的AMPA受体内化<sup>[21]</sup>。

### 3.3 NMDA受体活性决定谷氨酸引发的AMPA受体内化后的去向

NMDA受体的活性可以调控AMPA受体内化后的去向<sup>[24]</sup>。NMDA受体被激活造成钙内流,从而激活蛋白磷酸酶如PP1,造成GluR1C末端Ser845去磷酸化<sup>[21, 22]</sup>,于是受体被转运至循环内质网,最终重新插入膜上<sup>[23]</sup>。而AMPA受体被激活造成的AMPA受体内化,不会造成GluR1C末端Ser845去磷酸化,受体被转运至晚期内质网,最终被溶酶体降解。由此可见,NMDA受体活性可以通过控制AMPA受体再循环和降解的程度,来确定是保留或是除去特定突触上的AMPA受体。

AMPA受体和NMDA受体常常在兴奋性突触上同时被激活,这提示了活性依赖的AMPA受体的转运可能反映许多单独的信号的综合。NMDA受体和AMPA受体在应答突触活性时,可能并不通过同一条通路来调控。

## 4 胰岛素引发的AMPA受体内化及受体内化后的命运

胰岛素以一种不同于谷氨酸的信号通路引发AMPA受体的内化<sup>[24, 25]</sup>。单独用胰岛素处理海马神经元,也能诱发网格蛋白介导的AMPA受体迅速、持续性的内化。但是,去除细胞外钙或阻断钙调磷酸酶并不能有效的阻断这种内化;并且,若同时用AMPA和胰岛素处理神经元,可增加AMPA受体的内化量。

蛋白激酶抑制剂和磷脂酶抑制剂都能有效抑制胰岛素介导的AMPA受体内化<sup>[24, 25]</sup>。用酪氨酸激酶抑制剂genistein或丝/苏氨酸激酶抑制剂预处理细胞,可以强烈抑制胰岛素对AMPA受体内化的诱发,说明通过胰岛素介导的AMPA受体内化后可以激活一系列蛋白激酶,包括酪氨酸激酶和蛋白激酶C(PKC)。胰岛素诱导的内化需要GluR2的C末端,而不需要GluR1的C末端及其PDZ识别序列<sup>[19]</sup>。

用胰岛素和AMPA、NMDA处理除了所激活的信号通路不同,AMPA受体内吞后的运输和定位也

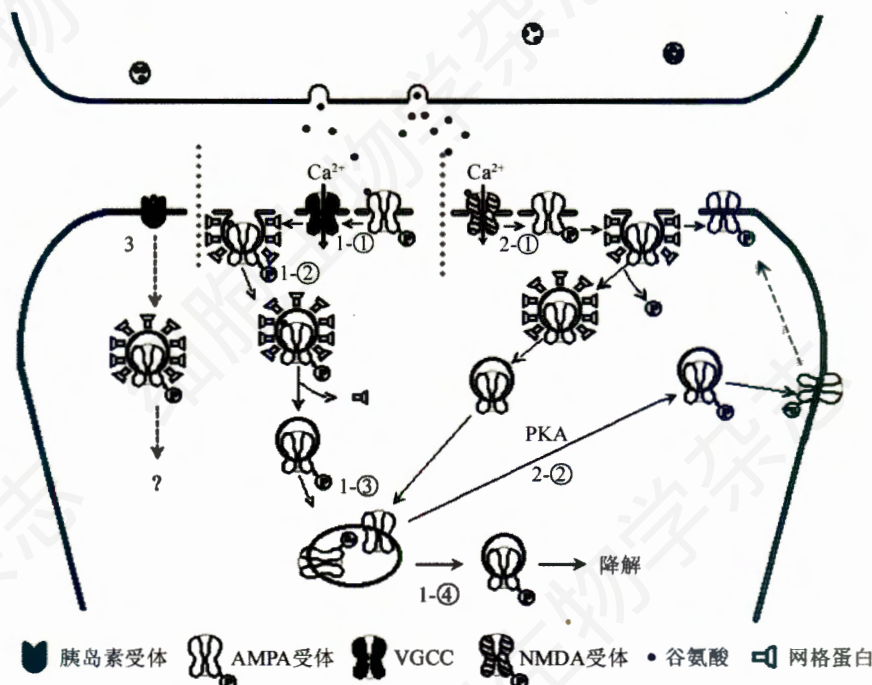


图3 AMPA受体内化模式图

1-①:谷氨酸突触前释放,与AMPA受体结合,随即 $\text{Ca}^{2+}$ 经电压依赖的钙通道内流;1-②:内陷的受体-配体复合物被网格蛋白包裹后与质膜分离,网格蛋白随即从小囊泡表面脱落,转变为早期内体;1-③:几个早期内体可以融入一个大的晚期多囊泡内体,1-④:晚期多囊泡内体经由溶酶体降解。

2-①:谷氨酸突触前释放,与NMDA受体结合, $\text{Ca}^{2+}$ 经NMDA受体通道内流,激活蛋白磷酸酶(PPs),导致网格蛋白介导的AMPA受体在去磷酸化的条件下被内化;2-②:在PKA的作用下,AMPA受体再次被磷酸化,早期内体转变为循环内体,进而重新插入胞膜。

3:胰岛素受体、配体相结合,也可以造成AMPA受体的内化,其机制尚不清楚。

不同。

## 5 结束语

AMPA受体内化的机制已经显轮廓(图3)<sup>[26]</sup>。但关于AMPA受体的内化,还有以下一些最基本的问题有待解决。使AMPA受体内化的特殊信号分子和通路的本质是什么?维持受体稳定和使其循环的生物物理机制又是什么?内化过程中,膜上AMPA受体的亚单位有否相应变化?内化的AMPA受体首先必须在空间上与NMDA受体分离,而且在AMPA受体内化的过程中,NMDA受体自身很少循环。那么,内化发生的确切部位又是在哪里?将要内化的AMPA受体是否先要从突触后致密区移出?如果是,在它们启动前,受体需要先脱离哪些约束力和支架分子?生理条件下AMPA受体的内化速率?是什么决定了内化后的AMPA受体是被降解还是重新插入细胞膜?受体的内化局限于哪些部位?内化后的AMPA受体是会继续待在树突棘内,还是会运动到其他的树突棘?相信所有这些问题,都能在不久的将来得到答案。

## 参考文献

- [1] SHI S H. AMPA receptor dynamics and synaptic plasticity [J]. *Science*, 2001, 294: 1851 — 1852.
- [2] LU W Y, MAN H Y, JU W, *et al.* Activation of synaptic NMDA receptors induces membrane insertion of new AMPA receptors and LTP in cultured hippocampal neurons [J]. *Neuron*, 2001, 29: 243 — 254.
- [3] SHENG M, NAKAGAWA T. Neurobiology: glutamate receptors on the move [J]. *Nature*, 2002, 417: 601 — 602.
- [4] ZHU J, ESTEBAN J A, HAYASHI Y, *et al.* Postnatal synaptic potentiation: delivery of GluR4-containing AMPA receptors by spontaneous activity [J]. *Nat Neurosci*, 2000, 3(11): 1098 — 1106.
- [5] BORGDORFF A J, CHOQUET D. Regulation of AMPA receptor lateral movements [J]. *Nature*, 2002, 417: 649 — 653.
- [6] RYAN T A. Endocytosis at nerve terminals: timing is everything [J]. *Neuron*, 1996, 17: 1035 — 1037.
- [7] CAMILLI P D, TAKEI K. Molecular mechanisms in synaptic vesicle endocytosis and recycling [J]. *Neuron*, 1996, 16: 481 — 486.
- [8] BLANPIED T A, SCOTT D B, EHLERS M D. Dynamics and regulation of clathrin coats at specialized endocytic zones of dendrites and spines [J]. *Neuron*, 2002, 36: 435 — 449.
- [9] LUSCHER C, XIA H H, BEATTIE E C, *et al.* Role of AMPA receptor cycling in synaptic transmission and plasticity [J].

- Trends in neurosciences*, 2001, **24**(11): 665 – 670.
- [10] CARROLL R C, BEATTIE E C, XIA H H, *et al.* Dynamin-dependent endocytosis of ionotropic glutamate receptors [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, **96**(24): 14112 – 14117.
- [11] BRAITHWAITE S P, MEYER G, HENLEY J M. Interactions between AMPA receptors and intracellular proteins [J]. *Neuron Pharmacology*, 2000, **39**: 919 – 930.
- [12] DINGLEDINER, RORGES K, BOWIE D, *et al.* The glutamate receptor ion channels [J]. *Pharmacological Reviews*, 1999, **51**(1): 7 – 61.
- [13] J O'Brien R J, LAU L F, HUGANIR R L. Molecular mechanisms of glutamate receptor clustering at excitatory synapses [J]. *Current Opinion in Neurobiology*, 1998, **8**: 364 – 369.
- [14] XIA J, CHUNG H J, WIHLER C, *et al.* Cerebellar long-term depression requires PKC-regulated interactions between GluR2/3 and PDZ domain-containing protein [J]. *Neuron*, 2000, **28**: 499 – 510.
- [15] Man H Y, LIN J W, JU W H, *et al.* Regulation of AMPA receptor-mediated synaptic transmission by clathrin-dependent receptor internalization [J]. *Neuron*, 2000, **25**: 649 – 662.
- [16] HIRAI H. Modification of AMPA receptor clustering regulates cerebellar synaptic plasticity [J]. *Neuroscience Research*, 2001, **39**: 261 – 267.
- [17] SORKIN A, ZASTROW M V. Signal transduction and endocytosis: close encounters of many kinds [J]. *Nature Neuroscience*, 2002, **3**: 600 – 614.
- [18] CARROLL R C, LISSIN D V, ZASTROW M V, *et al.* Rapid redistribution of glutamate receptors contributes to long-term depression in hippocampal cultures [J]. *Nature Neuroscience*, 1999, **2**(5): 454 – 460.
- [19] CARROLL R C, BEATTIE E C, ZASTROW M V, *et al.* Role of AMPA receptor endocytosis in synaptic plasticity [J]. *Nature*, 2001, **2**: 315 – 324.
- [20] HAUCKE V. Dissecting the ins and outs of excitement: glutamate receptors on the move [J]. *Nat Neurosci*, 2000, **3**: 1230 – 1232.
- [21] EHLERS M D. Reinsertion or degradation of AMPA receptors determined by activity-dependent endocytic sorting [J]. *Neuron*, 2000, **28**: 511 – 525.
- [22] LEE S H, LIU L D, WANG Y T, *et al.* Clathrin Adaptor AP2 and NSF Interact with Overlapping Sites of GluR2 and Play Distinct Roles in AMPA Receptor Trafficking and Hippocampal LTD [J]. *Neuron*, 2002, **36**: 661 – 674.
- [23] BARRY M F, ZIFF E B. Receptor trafficking and the plasticity of excitatory synapses [J]. *Current Opinion in Neurobiology*, 2002, **12**: 279 – 286.
- [24] BEATTIE E C, CARROLL R C, YU X, *et al.* Regulation of AMPA receptor endocytosis by a signaling mechanism shared with LTD [J]. *Nat Neurosci*, 2000, **3**: 1291 – 1300.
- [25] LIN J W, JU W, FOSTER K, *et al.* Distinct molecular mechanisms and divergent endocytotic pathways of AMPA receptor internalization [J]. *Nat Neurosci*, 2000, **3**: 1282 – 1290.
- [26] GOMES A R, CORREIA S S, CARVALHO A L, *et al.* Regulation of AMPA receptor activity, synaptic targeting and recycling: role in synaptic plasticity [J]. *Neurochem Res*, 2003, **28**: 1459 – 1473.

## Molecular Mechanisms of AMPA Receptor Endocytosis

ZHENG Chan Ying, LUO Jian Hong\*, ZHAO Hui

(School of Medical, Zhejiang University, Hangzhou 310006, China)

**Abstract:** There are two kinds of AMPA receptor endocytosis: constitutive endocytosis and activity-dependent endocytosis. AMPA receptors endocytosis means more than the end of the receptor's activity. Some important signal transduction of AMPA receptors are mediated by this process. It is associated with activity-dependent endocytosis This article reviewed the process and function of AMPA receptor endocytosis, and the molecular mechanism in which the trigger, regulation, fate of the activity-dependent endocytosis of AMPA receptors undergo.

**Key words:** AMPA receptor; endocytosis; activity-dependent endocytosis

\*Corresponding author, E-mail: luojianhong@zju.edu.cn