

多巴胺及多巴胺转运蛋白与帕金森病

潘天虹

(上海第二医科大学附属仁济医院神经内科 上海 200001)

一、多巴胺(DA)的合成、 释放与失活

DA 是中枢神经系统的儿茶酚胺类神经递质,在植物神经系统某些神经节也起着神经递质的作用。在外周和中枢神经系统,DA 是去甲肾上腺素和肾上腺素的前体^[1]。已知的 DA 功能与中枢神经系统有关,曾认为,多巴胺能神经传递仅存在于中枢神经系统。而对它的外周作用却了解较少。事实上,许多外周组织对外源性 DA 也有反应,但在这些组织没有发现多巴胺能神经分布,说明没有多巴胺能神经支配的外周组织也可能存在多巴胺受体。

DA 由 L-酪氨酸经酪氨酸羟化酶(存在于儿茶酚胺能神经元胞浆中)的催化作用,生成 L-多巴,L-多巴经多巴脱羧酶脱羧成 DA。酪氨酸是通过神经膜上的主动转运从血浆中进入多巴胺能神经元的。

DA 存在于储存颗粒中,以胞裂外排方式释入突触间隙,其过程是钙离子依赖的。DA 释入突触间隙后,与突触后受体结合,发挥其生理功能。

信号传递结束后,突触间隙中的 DA 通过神经元再摄取方式失去生物活性,以保证冲动传递的时效性。

二、多巴胺转运蛋白(DAT)

早在本世纪 50 年代,人们在研究递质的突触传递机制时就已经提出“转运系统”这一概念,并从生化和药理方面确证了递质转运蛋白的存在。将位于突触前神经元上的摄取系统称为摄取系统 1,位于非神经组织上的摄取系统

称为摄取系统 2。突触传递中递质的再摄取依赖于前神经元和神经胶质细胞质膜上的递质转运蛋白(Neurotransmitter transporters)。其摄取机制可能为:质膜上离子泵及离子通道的运作引起了膜内外离子的不对称,从而产生了膜电位和离子梯度,正是离子梯度和相应的膜电位引起了转运蛋白的构象变化,使之与递质的结合形式不断发生变化从而保证递质转运的整个过程。

近 40 年来,人们对神经递质转运蛋白进行了大量研究,神经递质转运蛋白同信号传导、神经毒素、神经性疾病、药物成瘾、学习记忆等现象有密切联系。若转运蛋白的摄取功能异常,将导致突触间隙递质浓度的增高或降低,从而引起相应递质系统功能活动的改变。相反,在某些病理生理状态下,如神经退行性病变,突触前递质量发生改变,那么不仅突触后膜的相应受体会出现上调或下调性变化,而且在突触前膜的转运蛋白也会发生一系列相应变化,且这种变化比受体变化更为敏感、直接⁽²⁾。多巴胺的再摄取则是通过多巴胺转运蛋白(Dopamine Transporter, DAT)的作用。

1. DAT 的结构

DAT 是一种膜蛋白,属于 Na^+/Cl^- 依赖性转运蛋白,DAT 约含 620 个氨基酸,分子量约 70kDa,具有 12 个跨膜功能区,跨膜区主要由 20-24 个疏水氨基酸组成,有 5 个细胞内氨基酸链和 6 个细胞外氨基酸链将这些功能区连接起来构成完整的 DAT。

2. DAT 的功能

感谢仁济医院周孝达教授及中科院生化细胞所费俭教授在本文撰写过程中给予的帮助。

在正常生理条件下, DAT 的主要功能是在摄取释放到突触间隙的 DA, 这个吸收过程对脑功能的正常维持非常重要, 因为它限制了多巴胺能受体激活的时间、程度和范围, 中止神经细胞间的信息传递, 调节多巴胺在突触间隙的浓度, 而多巴胺的多少又与许多神经疾患有关。如 DA 减少, 临床上会出现震颤、运动减少、僵直等症状; 而突触间隙的 DA 浓度过程高, 临床上会出现手足多动、精神紊乱等症状。因此, DAT 是调节和维持 DA 神经递质的最重要因子, 它的功能正常与否对中枢神经系统正常生理功能的维持是非常重要的。DAT 的功能活动、密度变化是反映 DA 递质系统功能的又一重要指标^[3]。

服用了具有阻断 DAT 吸收过程的药物后会产生行为及生理功能的异常。DAT 还是各种药物的作用靶点, 精神兴奋药如可卡因, 安非它明能抑制 DAT 的作用。而且, 神经毒物如 MPP⁺ 也是通过 DAT 进入多巴胺能神经细胞的。

Giros 等^[4]发现 DAT 基因剔除小鼠的主要适应性变化是递质与受体水平下降。多巴胺在突触间隙存在的时间比正常小鼠至少长 100 倍, 行为特征发生改变, 造成对药物(可卡因和苯基丙胺)不敏感, 且对 MPTP 也变得不敏感了。另有文献报道, 将 DAT 基因剔除后并不能完全解决可卡因成瘾问题。将 DAT 基因转染至非神经细胞中, 表达的 DAT 也具有毒物转运功能。

近年来的研究认为, DAT 是药物主要的及最初的结合位点, 甚至有时可作为药物的受体。与帕金森病(PD)发病有关的外源性神经毒物如 MPP⁺ 是经 DAT 转运入细胞而损伤细胞, 因此, DAT 在 PD 发病机制中的作用也引起了人们的关注。

3. DAT 的定位

在中枢神经系统, DAT 只存在于 DA 能神经元, 而不像氨基酸转运蛋白普遍存在于神经元和神经胶质细胞中, 因而可能是 DA 能神经

元最好的标志。最近的电镜研究表明, 这种转运蛋白合成并表达于多巴胺能神经元胞体、树突及轴突, 装配于高尔基体中, 然后被运输到树突膜、轴突膜及内质网上起生理作用⁽⁵⁾。

DAT 在所有的 DA 能神经元中的浓度并不是一样的, 定量原位杂交表明, 在不同的神经元中, DAT 的 mRNA 水平存在很大差异。在中脑黑质和腹侧被盖区 DATmRNA 表达水平最高, 而在多巴胺能神经末梢如纹状体、大脑皮质等处几乎没有表达⁽⁶⁾。免疫组织化学研究也支持这一发现。应用 SPECT(单光子发射计算机断层扫描)功能显象研究健康人 DAT 的大体分布显示: DAT 在基底节和丘脑分布最多, 其次为额中回, 而在小脑、黑质及红核中几乎未见显象。

人的外周血淋巴细胞上也发现有 DAT 存在, 可作为一个稳定而易得的模型来监测反映中枢神经系统的生化信息、神经元的 DA 吸收功能⁽⁷⁾等。

三、帕金森病(PD)

PD 是一种常见的中老年神经系统疾病, 临床上以运动迟缓、震颤、强直、姿势反射消失等为特征。病理生化上以中脑黑质 DA 能神经元变性死亡、造成 DA 缺失为特征。对 PD 的诊断主要是以临床表现、神经系统体征为依据。对 PD 的治疗, 以补充缺失的 DA 为主, 平衡多巴胺-乙酰胆碱(DA-Ach)系统, L-Dopa 仍是目前治疗 PD 的最有效药物, 并得到广泛使用。但绝大多数病人在使用 L-dopa 制剂 3-5 年后均出现运动系统并发症, 如疗效波动、剂末效应、开关现象、以及运动障碍。这些并发症的出现限制了病人使用 L-Dopa 的量, 严重影响了病人的治疗、症状控制。

四、DAT 与 PD

如上所述, DAT 是神经递质转运蛋白的一种, 它的功能活动及密度变化反映了 DA 递质系统功能, 而且与 PD 有关的外源性神经毒物

MPP⁺经 DAT 转运,所以,DAT 参与 PD 的发病机制越来越为人们所重视。

1. DAT 与 PD 的病因机制探索

到目前为止,关于 PD 的确切病因尚未找到,多数学者认为,可能是遗传和环境因素的共同作用结果,其中这环境因素主要是指一种环境毒物 MPTP。MPTP 是一种化工原料,是脂溶性的化合物,在脑内经 MAO-B 催化,氧化为 MPP⁺,后者经多巴胺转运系统主动转运至多巴胺能神经原内,这可以解释为什么 MPTP 选择性地损害黑质多巴胺能神经原。另有研究证明,利用多巴胺转运蛋白阻滞剂可以预防 MPTP 对黑质多巴胺能神经原的神经毒性。因此,目前认为,MPP⁺经多巴胺转运蛋白进入多巴胺能神经原内,累计到一定程度便产生损伤作用。其损伤的机理可能是 MPP⁺抑制了线粒体复合体 I 的活性,导致氧化应激反应,产生了大量氧自由基,从而导致神经原损伤。如 DAT 跨膜疏水功能区的突变可引起转运到细胞内的 MPP⁺增加⁽⁸⁾。因此,对 PD 的病因,目前的研究认为外界环境毒素通过作用于有遗传缺陷的个体而发病,也就是说,即使同样接触相同的外界环境毒素并非人人都发病,只有那些对外界毒素敏感的个体才发病,而个体敏感性的差异是由于遗传多态性所决定的。DAT 可能是部分 PD 患者环境因素和遗传因素相互作用的焦点。

2. DAT 与 PD 的诊断

目前帕金森病的诊断主要依赖于临床表现、神经系统体征及对多巴制剂的疗效反应,缺乏较为客观的实验室依据,符合率仅 70% - 80%,且临床出现症状一般在基底节多巴胺耗竭到 80% 以上,才出现,而帕金森病患者基底节区 DAT 早期即较正常人降低 65% 左右。利用 PET(正电子发射扫描)作全脑显象,可以发现 PD 患者的基底节区密度较正常人为低,从而可能成为 PD 早期诊断的客观指标。但由于 PET 过于昂贵,而且所用的放射性核素半衰期

太短,因此目前应用 PET 进行 DAT 临床检测尚难以推广。近年来,随着 SPECT 功能显象设备的显著改进,使之成为目前 DAT 检测的常用手段,配用的放射性示踪剂以¹²³I-β-CIT 应用最为广泛。

3. DAT 阻滞剂与 PD 的预防及治疗

DAT 具有转运 MPP⁺等神经毒物功能,运用 DAT 阻滞剂,抑制 MPP⁺的摄取,保护神经元免遭损伤⁽⁹⁾,则有可能为环境毒物暴露下的 PD 患者的早期干预开辟一个全新的途径。PD 患者突触间隙 DA 减少,运用 DAT 阻滞剂,则有可能使间隙中的 DA 增高而使临床症状改善。

综上所述,中枢神经递质 DA 的减少产生 PD 的临床症状,DAT 是再摄取突触间隙 DA 的功能蛋白,又是神经毒物 MPP⁺进入多巴胺能神经元的通道,DAT 与 PD 有着密切的联系。深入研究 DAT 对 PD 的病因机制阐明及 PD 的诊断、预防和治疗都有极大的帮助。

参 考 文 献

- [1] Z. L. Kruk, C. J. Pycock. 1992, Neurotransmitters and Drug. Third Edition, Chapman Hall.
- [2] 林岩松、林祥通, 1997, 国外医学放射医学核医学分册第 21 卷第 1 期 1 - 4.
- [3] Robert Rivest, Pierre Falardeau, Therese Di Paolo. 1995; Brain Research, 692: 269 - 272.
- [4] Bruno Giros, Mohamed Jaber, Sara R. Jones, et al., 1996, Nature, 376: 606 - 612.
- [5] Nirenberg M J, Vaughan R A, Uhl G R, et al., 1996, J Neurosci, 16(2): 436.
- [6] Cerruti C, Walther D M, Kuhar M J, et al., 1993, Mol Brain Res, 18: 181.
- [7] Bahjat A. Faraj, Zbigniew L. Olkowski and Richard T. Jackson, 1995, Biochemical Pharmacology, 50 (7): 1007 - 1014.
- [8] Kitayama S, Wang J B, Uhl G R, 1993, Synapse, 15 (1): 58.
- [9] Manuchair Ebadi, Shashi K. Srinivasan, Mayur D. Baxi. 1996, Progress in Neurobiology, 48(1): 1 - 19.