

DARPP-32 磷酸化异常与 LID 形成机制研究进展

罗瑞静 何建成

随着人口老龄化的日趋明显,帕金森病(Parkinson's disease, PD)发病率日渐攀升^[1]。迄今为止,左旋多巴(L-dopa, LD)凭借其起效快、减轻症状明显等优点,仍然是治疗 PD 的“金标准”药物,是其他治疗方法和药物所不能替代和比拟的^[2]。然而长期 LD 治疗后约 80% 患者出现严重的运动并发症,异动症(levodopa-induced dyskinesia, LID)是其中较为常见的一种类型,它严重影响 PD 患者的药物治疗效果和生活质量,但其发生机制尚未完全阐明。近来许多研究发现 DARPP-32 的异常磷酸化与 LID 发生有密切关系,本文就 DARPP-32 与 LID 发生机制相关内容予以综述^[3,4]。

一、DARPP-32 的结构及分布

1983 年 Walaas 等^[5]发现了一种对多巴胺(dopamine, DA)和环磷酸腺苷(cyclic adenosine monophosphate, cAMP)非常敏感的磷蛋白,称为 DARPP-32 蛋白(dopamine and cAMP-regulated phosphoprotein of 32 kDa, DARPP-32),它是由 202 个氨基酸残基组成的酸性单肽链,其中含有丰富的亲水性氨基酸,不同种属之间 DARPP-32 核苷酸序列和氨基酸序列相似性可达 80% 以上。该蛋白在脑区的分布与 DA 在轴突末梢分布相平行,主要分布在基底神经节的尾状核、壳核、伏隔核、嗅结节和杏仁体,在苍白球、黑质网状体中也有表达,特别是在纹状体中含有多巴胺 D₁ 受体(dopamine D₁ receptor, D₁R)和 D₂R 的中等大小棘状神经元胞质中含量丰富。DARPP-32 结构与功能异常,可导致帕金森病异动症、抑郁症、精神分裂症、药物成瘾等疾病的发生。

二、DARPP-32 的功能及调控机制

在中枢神经系统,蛋白磷酸化是一种调控细胞生理功能的重要机制,是细胞信号转导的重要环节^[6]。DARPP-32 在信号转导过程中发挥重要作用,可以接受多种生理活性物质的调控,同时又可以通过自身

不同位点的磷酸化与去磷酸化调控多种效应蛋白底物来发挥重要生理功能^[7]。

1. DARPP-32 的功能:多巴胺(DA)是重要的中枢神经递质,调节着机体运动、识别、情感和神经内分泌等生理功能。DA 受体主要有两大类,分别是 D₁ 类和 D₂ 类受体,二者与 DA 结合后可以产生不同的效应^[8,9]。总的来讲,D₁ 类受体激活后可以增强腺苷酸环化酶(adenylate cyclase, AC)活性,从而增加 cAMP 的产生;D₂ 类受体可以抑制 AC 的活性,减少 cAMP 的产生。DARPP-32 是一种胞内蛋白,是 DA 信号转导通路上的重要信号分子之一,在细胞内信号转导通路上起分析和整合作用,居于信息传递和级联放大效应的中心地位^[10]。

2. DARPP-32 磷酸化调控机制:通过蛋白激酶 A (protein kinase A, PKA)、蛋白激酶 C (protein kinase C, PKC)等介导的细胞信号转导途径调节专一性蛋白底物的磷酸化,是许多神经递质对特异性靶细胞发挥其生理作用的普遍机制。DARPP-32 生物学活性主要受其中 4 个氨基酸残基位点磷酸化和去磷酸化的调节^[11]。这 4 个位点分别是 Thr34、Thr75、Ser102 和 Ser137,其中 Thr34 位点可被 PKA 磷酸化,Thr75 位点则可被周期素依赖蛋白激酶 5 (cyclin-dependent kinase 5, CDK5)磷酸化。在上述的 4 个位点中,Thr34 处于中心位置, Ser102 和 Ser137 的磷酸化对其有正性调节作用,而 Thr75 磷酸化则对其有负性调节作用。上述 4 个位点的异常磷酸化成为 DARPP-32 参与 LID 形成的重要机制之一,通过自身不同位点的磷酸化及去磷酸化对底物蛋白发挥双向调控的作用,以保证生理功能的正常发挥。多种生理活性物质可以影响 DARPP-32 的磷酸化和去磷酸化,近期研究^[12-15]表明,多巴胺、谷氨酸、可卡因、阿片、5-HT、苯丙胺、(-GABA、NO、腺苷等神经递质及其类似物都可影响 DARPP-32 的磷酸化,进而通过调控蛋白磷酸酯酶-1 (protein phosphatase-1, PP-1)的活性状态,导致同一神经元发出不同的调控信息。迄今为止对其影响机制研究比较透彻的是 DA

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30672684、30973722)

作者单位:201203 上海中医药大学

通讯作者:何建成,电子信箱:hejc163@163.com

的调控,DA 可以与 D_1 、 D_2 受体结合后通过多条途径对 DARPP-32 的不同位点的磷酸化和去磷酸化进行调控,从而对效应蛋白底物产生激活或抑制效应^[16-18]。PKA 途径是 DA 信号转导途径中比较经典的一条^[19]。其具体过程是 DA 作用于 D_1 R,刺激 AC 使 cAMP 生成增加,激活 PKA,使 Thr34-DARPP-32 磷酸化成为 PP-1 的强效抑制剂,进而降低一些效应蛋白的脱磷酸,同时可以通过 D_1 /PKA/蛋白磷酸酯酶-2A (protein phosphatase-2A, PP-2A) 促进 Thr75 位点的去磷酸化,间接加强 Thr34 位点对 PP-1 的抑制作用,使效应蛋白底物磷酸化增强,直接通路活性增强^[20]。Thr34 的去磷酸化是由蛋白磷酸酯酶-2B (protein phosphatase-2B, PP-2B) 完成的。DA 与 D_2 R 结合后可以通过以下两条途径发挥作用:①阻碍 D_1 类受体活动,减少 cAMP 的生成,影响 PKA 途径信号转导;②增加细胞间 Ca^{2+} 水平,可以引起 PP-2B 的激活;两条途径都可以导致 DARPP-32 的 Thr34 位点去磷酸化,而其去磷酸化后,对 PP-1 的强效抑制作用即解除。

此外,Thr-75 位点可被 CDK5 磷酸化,此时 DARPP-32 成为 PKA 的抑制剂,可通过抑制 PKA 使 Thr34-DARPP-32 磷酸化能力降低;谷氨酸受体 NMDA (N-methyl-D-aspartate)、AMPA (α-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionate) 可以通过与 D_1 R、 D_2 R 相互作用共同调控 DARPP-32 的磷酸化状态,影响直接通路的活化程度。总之,DARPP-32 磷酸化调控机制非常复杂,上游不同物质可以通过多条途径对其不同位点的磷酸化与去磷酸化进行调控,进而影响其下游效应蛋白底物,通过对直接与间接通路活性状态的调控,保持机体生理功能的正常发挥。

三、DARPP-32 功能异常与 LID 发生机制

目前认为 LID 的发生与服用半衰期较短的外源性 DA 引起突触前 DA 间断性释放波动性刺激纹状体 DA 受体后引起的下游突触后神经元功能改变所导致的直接通路和间接通路之间的失衡以及清除异常运动信息功能的破坏有关,在此期间,DARPP-32 不同位点磷酸化功能异常导致直接通路活动的活性异常增强与 LID 的形成关系密切,但确切机制尚不清楚。

Picconi、Hakansson、Santini 等先后研究发现,DA 与 D_1 R 结合后使得 Thr34-DARPP-32 过度激活,直接通路过度活化,最终导致 LID 的发生。Nishi 等研

究发现 CDK5 可使 Thr34-DARPP-32 过度磷酸化,过度激活直接通路,导致 LID 发生。Lebel 等研究表明纹状体内 DARPP-32 通过抑制 PP-1 促进 ERK1/2 的磷酸化,过度激活直接通路,导致 LID 的发生。

国内学者牛铁瑄、梁直厚等研究发现 PD 长期反复 LD 波动性治疗可使 D_1 R 下游突触后神经元内 DARPP-32 的 Thr-34 位点的磷酸化水平增加,导致直接通路过度活化。牛铁瑄等进一步研究证实 D_1 R 下游突触后神经元内 PDyn 等蛋白表达改变和效应蛋白底物磷酸化修饰增加,选择性异常活化直接通路,使基核环路失衡进而引起 LID 的形成。陈志斌等研究发现 LID 大鼠纹状体内 DARPP-32 的 Thr-34 位点的磷酸化水平发生了明显变化,可能造成了直接通路过度活化,引起直接、间接通路的平衡失调及清除异常运动信息的功能被破坏,最终导致了 LID 的发生。宋璐等研究发现,纹状体 DARPP-32 的 Thr-75 位点的磷酸化水平减低参与了 LID 的发生。徐岩等研究表明纹状体内 DARPP-32 可通过抑制 PP-1 促进纹状体内直接通路上的重要信号分子 ERK1/2 的磷酸化,进而促进下游靶基因的表达来影响神经元突触可塑性,参与 LID 的发生。

四、展望

综上所述,在神经系统中,DARPP-32 的磷酸化和去磷酸化受多种物质的调节,通过对 PP-1 活性的影响,进而调节神经元的电化功能,参与多种生理功能和病理过程。其磷酸化功能异常特别是 Thr-34 位点的过度磷酸化导致直接通路活动的异常增强与 LID 的形成关系密切。但 LID 形成机制复杂,不同神经递质变化对 DARPP-32 磷酸化的影响及其相互作用机制、DARPP-32 不同位点的磷酸化及其相互作用机制、DARPP-32 异常磷酸化后对下游效应蛋白底物的影响及上下游相互作用机制等尚未完全阐明,有待进一步深入研究。

参考文献

- 1 Zhang ZX, Roman GC, Hong Z, et al. Parkinson's disease in China: prevalence in Beijing, Xian, and Shanghai [J]. *Lancet*, 2005, 365 (9459): 595-597
- 2 刘道宽, 蒋雨平, 江澄川, 等. 锥体外系疾病 [M]. 上海: 上海科技出版社, 2000: 91
- 3 Pezzoli G, Zini M. Levodopa in Parkinson's disease: from the past to the future [J]. *Expert Opin Pharmacother*, 2010, 11 (4): 627-635
- 4 Sethi KD. The impact of levodopa on quality of life in patients with Parkinson disease [J]. *Neurologist*, 2010, 16 (2): 76-83
- 5 Walaas SI, Aswad DW, Greengard PA. Dopamine- and cyclic AMP

- regulated phosphoprotein enriched in dopamine - innervated brain regions[J]. *Nature*, 1983, 301: 69 - 71
- 6 魏群. 脑内蛋白质磷酸化及其在神经系统信息传递中的作用[J]. 国外医学: 分子生物学分册, 1992, 14(3): 112 - 116
- 7 Fisone G, Hakansson K, Borgkvist A, *et al.* Signaling in the basal ganglia: postsynaptic and presynaptic mechanisms[J]. *Physiol Behav*, 2007, 92(1 - 2): 8 - 14
- 8 Missale C, Nash SR, Robinson SW, *et al.* Dopamine receptors: from structure to function[J]. *Physiol Rev*, 1998, 78(1): 189 - 225
- 9 Neve KA, Seamans JK, Trantham - Davidson H. Dopamine receptor signaling[J]. *Recept Signal Transduct Res*, 2004, 24(3): 165 - 205
- 10 杨艳蕊, 王韵. DARPP - 32 神经信息传递的整合器[J]. 生理科学进展, 2006, 37(2): 129 - 131
- 11 Walaas SI, Greengard PJ. DARPP - 32, a dopamine - and adenosine 3', 5' - monophosphate - regulated phosphoprotein enriched in dopamine - innervated brain regions. I. Regional and cellular distribution in the rat brain[J]. *Neurosci*, 1984, 4(1): 84 - 98
- 12 Ghashghaei HT, Barbas H. Neural interaction between the basal forebrain and functionally distinct prefrontal cortices in the rhesus monkey[J]. *Neuroscience*, 2001, 103(3): 593 - 614
- 13 Quysner A, Blaustein JD. A dopamine antagonist blocks vaginocervical stimulation - induced neuronal responses in the rat forebrain[J]. *Brain Research*, 2001, 921(1 - 2): 173 - 182
- 14 Kawaguchi SY, Hirano T. Signaling cascade regulating long - term potentiation of GABA (A) receptor responsiveness in cerebellar Purkinje neurons[J]. *Neurosci*, 2002, 22(10): 3969 - 3976
- 15 Botsakis K, Pavlou O, Poulou PD. Blockade of adenosine A2A receptors downregulates DARPP - 32 but increases ERK1/2 activity in striatum of dopamine deficient "weaver" mouse[J]. *Neurochem Int*, 2010, 56(2): 245 - 249
- 16 Svenningsson P, Lindskog M, Ledent C, *et al.* Regulation of the phosphorylation of the dopamine and cAMP - regulated phosphoprotein of 32 kDa *in vivo* by dopamine D1, dopamine D2, and adenosine A2A receptors[J]. *Proc Natl Acad Sci*, 2000, 97(4): 1856 - 1860
- 17 O'Sullivan GJ, Dunleavy M, Hakansson K, *et al.* Dopamine D1 vs D5 receptor - dependent induction of seizures in relation to DARPP - 32, ERK1/2 and GluR1 - AMPA signaling[J]. *Neuropharmacology*, 2008, 54(7): 1051 - 1061
- 18 Qi Z, Miller GW, Voit EO. The internal state of medium spiny neurons varies in response to different input signals[J]. *BMC Syst Biol*, 2010, 4: 26
- 19 Svenningsson P, Nishi A, Fisone G, *et al.* DARPP - 32: an integrator of neurotransmission[J]. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2004, 44: 269 - 296
- 20 Nishi A, Bibb JA, Snyder GL, *et al.* Amplification of dopaminergic signaling by a positive feedback loop[J]. *Proc. Natl. Acad. Sci*, 2000, 97(23): 12840 - 12845

(收稿: 2011 - 11 - 23)

(修回: 2011 - 12 - 20)

Zuckerlandl 结节在甲状腺手术中的临床意义

彭友 罗定存 张卧 潘钢 丁金旺 陈斌 方益峰

Zuckerlandl 结节是甲状腺腺叶后外侧缘的结节状突出部分, 由奥地利解剖学家 Emil Zuckerlandl 最先提出并命名。近年来逐渐受到甲状腺外科医师的重视, 在甲状腺手术中为了避免损伤甲状旁腺和喉返神经及其分支, 甲状腺外科医师常需要借助于一些特定的解剖学标志。如甲状腺下动脉、甲状软骨下角、环甲关节、气管食管沟和甲状腺悬韧带等。Zuckerlandl 结节即是一个新近提出的解剖学标志, 且在人群中普遍存在, 可作为甲状腺手术中识别喉返神经及其分支与上甲状旁腺的重要标志。本文中我们将对 Zuckerlandl 结节在甲状腺手术中的应用经验和临床意义进行总结。

一、历史回顾

甲状腺外科发展至今已有百余年的历史了, 曾经涌现出了 Theodor Billroth、Theodor Kocher、William Halsted、Charles Mayo、George Crile、Frank Lahey 和 Thomas Dunhill 等甲状腺外科领域的先驱^[1]。在 1902 年, 由奥地利解剖学家 Emil Zuckerlandl 最先提出并命名了 Zuckerlandl 结节 (Zuckerlandl's tubercle, ZT) 这个解剖学名词, 即甲状腺后外侧缘的结节状突出部分, 并指出这个结构具有着特殊的解剖学意义。直到 1938 年, Gilmour^[2]报道了 ZT 与喉返神经及上甲状旁腺之间的关系。并于 1983 年被 Proye^[3]认为 ZT 是甲状腺手术中发现喉返神经与甲状旁腺的重要解剖学标志。1997 年, Thompson 等^[4]将 ZT 作为识别喉返神经的标志写入外科教材中, 并强调在病变的甲状腺中喉返神经可能位于 ZT 的前方或后

作者单位: 310006 杭州市第一人民医院肿瘤外科

通讯作者: 罗定存, 电子信箱: doctor3663@163.com