

γ -氨基丁酸与帕金森病、左旋多巴 诱发异动症的研究进展

李小茜 何建成

帕金森病(PD)是老年人常见的、以黑质-纹状体系统多巴胺(DA)功能不足为主要特征的中枢神经系统退行性疾病。多巴胺能神经元变性是导致本病症状的主要原因,左旋多巴是目前公认的治疗帕金森病的有效药物,但长期应用后大部分患者会出现左旋多巴诱发异动症(LID)的发生,主要表现为舞蹈样动作、肌张力障碍、手足徐动症或简单重复的不自主运动。随着现代科技手段的发展和研究的深入,越来越多的研究发现,纹状体和黑质内 DA 的缺失并不是帕金森病唯一的发病基础,中枢神经系统内其他神经递质也参与了发病过程。近期研究表明, γ -氨基丁酸(GABA)作为一种重要的抑制性神经递质,与 PD、LID 的发生有较为密切的关系,并且在疾病的发展过程中可能发挥重要作用。因此,对 γ -氨基丁酸及其受体进行深入、广泛的研究,将有助于 PD、LID 发病机制的阐明及预防、治疗药物的研究与开发。

一、 γ -氨基丁酸及其受体

γ -氨基丁酸(GABA)是哺乳动物中枢神经系统中广泛分布的最重要的抑制性神经递质,大约 50% 的中枢突触部位以 GABA 为递质^[1]。在动物体内,GABA 基本上仅存在于神经组织之中,其中在脑组织中的含量大约为 0.1~0.6mg/g,现代免疫学研究表明,GABA 浓度最高的区域是大脑中黑质,它同时也是三羧酸循环中“GABA 环路”的产物,作为供能的物质之一在体内参与能量代谢等过程^[2]。

Krajnc 等研究认为 γ -氨基丁酸是中枢神经系统中最重要的抑制性氨基酸递质,具有突触后抑制作用,可通过突触后膜超极化、减少离子内流、降低细胞代谢及氧消耗等机制,使突触后神经元处于保护性抑

制状态,并可通过突触前抑制减少谷氨酸的释放,从而减少灌注区神经元的死亡^[3]。

GABA 受体是指突触后膜 GABA 的部位,当它与 GABA 结合后,可导致细胞膜离子通透性变化^[4]。根据受体对激动剂及拮抗剂的敏感性不同,电生理和受体结构和作用方式的不同,GABA 受体主要分为两型:GABA_A 受体和 GABA_B 受体。GABA_A 受体在神经系统广泛分布,属于化学门控离子通道类受体,主要分布于外周交感及中枢神经元的突触后膜。GABA_B 受体是 G 蛋白偶联受体,主要分布于突触前末梢,GABA_B 受体被 GABA 激活后,首先激活膜上的 G 蛋白,抑制 Ca²⁺ 内流,接着抑制突触前兴奋性递质的释放,进而产生抑制性效应,而在突触后膜的 GABA_B 受体,则通过 G 蛋白介导,开启 K⁺ 通道,进而产生膜 IPSP 及较弱的突触后抑制效应^[5]。Bowery 等在成年哺乳动物,GABA_A 受体被激活后,引起氯离子(Cl⁻)通道开放,导致胞外的 Cl⁻ 内流,神经元超极化,进而抑制神经元的活动。与 GABA_A 受体等离子门控型受体不同,GABA_B 受体属于代谢型受体,具有 7 个跨膜区段并与胞内 G 蛋白相偶联^[6]。此外,GABA_B 受体与应激性反应关系十分密切。GABA_B 受体是在 1980 年被 Bowery 发现的一种代谢型受体,根据 GABA 不同的结合点,GABA_B 受体又可以分为两种异构体^[7]。因此,GABA 受体功能的紊乱可以引起多种神经系统疾病的发生。

二、GABA_A受体与 PD

1. GABA 与 PD:国内外学者很早就开始对 GABA 与 PD 的相关性进行探讨,较多研究表明 GABA 与 PD 的发生机制关系密切。Manyan^[8]检测 PD 病人脑脊液,发现其中的 GABA 浓度下降。Levy 等^[9]采用原位杂交技术检测 PD 病人和 MPTP-PD 猴 GAD67mRNA 的表达,结果提示:PD 所有 GABA 能神经元活性普遍提高,这种改变可以部分被左旋多巴逆转。焦金菊等观察中枢神经递质 GABA 对帕金森

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30672684,30973722);上海市科委“科技创新行动计划”(12401900302);上海市卫生局中医药科研基金资助项目(2012J009A);上海中医药大学基础医学院攀登计划

作者单位:201203 上海中医药大学

通讯作者:何建成,教授,博士生导师,电子信箱:hejc8163@163.

com

病模型大鼠旋转行为的影响,结果显示:黑质内注射不同浓度的 GABA 均可加重帕金森病模型大鼠的旋转行为,且旋转持续时间延长^[10]。由此可见,GABA 参与躯体运动调节,黑质内 GABA 水平变化在 PD 发病机制中占较为重要的地位。很多研究人员通过进一步的实验研究证实 GABA 与 PD 的紧密联系,并且认为可以通过保护 GABA 能神经元进而达到防治 PD 的作用。

宋瑗宏等^[11]则探讨基底神经节各亚区 GABA 能神经元在帕金森病时的变化。认为 PD 时基底神经节直接回路和间接回路兴奋-抑制失衡,可能与 γ -氨基丁酸表达减少有关。由此可见,GABA 是基底神经节-丘脑-皮质环路中的重要神经递质,PD 时此环路各重要亚区 GABA 表达均明显降低,进而影响了直接回路和间接回路的兴奋-抑制平衡。因此,保护基底神经节 GABA 能神经元对防治 PD 具有重要作用。王传功观察兴奋性氨基酸受体拮抗剂和 GABA 受体拮抗剂对 PD 模型动物全脑多巴胺(DA)含量的影响,研究发现,GABA 能神经元功能的降低,可使 Glu 神经元失去抑制作用而产生过度兴奋状态,Glu 释放增多会更进一步损害神经元^[12]。即 GABA 能神经元功能的降低可促进 DA 神经元的损伤。这一研究不仅深入探讨了 PD 的发生机制,而且为 PD 的临床治疗提供了新的启发思路。

Petroff^[13]通过研究发现正常人体内,在基底节区兴奋性氨基酸神经系统,主要是谷氨酸;抑制性氨基酸神经系统,主要是 GABA;和多巴胺神经系统处于动态平衡。在 PD 动物脑内黑质内的多巴胺神经元进行性变性、死亡,打破了这种动态平衡,导致 GLU 含量异常增高,引起兴奋性毒性作用,加重 PD 症状。而 GABA 含量增加会抑制 GLU 释放,降低这种兴奋性毒性作用,从而缓解 PD 症状^[14]。杨婷婷等研究发现,刺五加有效部位可以增强 GABA 和 TH 的阳性表达,而对海马区 GFAP 则无影响,推测其对 MPTP 导致的 PD 可能有脑保护作用,从而为探讨其治疗帕金森病的作用机制提供思路^[15]。刘婷婷等^[16]研究亦提示帕金森病大鼠模型纹状体内谷氨酸的变化与多巴胺分泌可能存在某种联系;GABA 含量随建模时间的增加而下降。

2. GABA_B 与 PD:除了研究发现 GABA 与 PD 的紧密关联之外,也有研究者探讨 GABA_B 与 PD 发生机制之间的相关性。基底神经节在机体运动功能调节中发挥重要作用。苍白球是基底神经节间接环路

的重要核团。研究表明,帕金森病人苍白球 GABA_B 受体表达明显降低,提示 GABA_B 受体可能参与帕金森病发病^[17]。王宏韬等^[18]观察苍白球 γ -氨基丁酸 B 型(GABA_B)受体激活对氟哌啶醇诱发的帕金森病大鼠姿势行为的影响。结果提示:阻断苍白球 GABA_B 受体可减轻氟哌啶醇所导致的神经元兴奋性降低,缓解、去除基底神经节对大脑皮质运动区及丘脑的抑制效应,增强运动功能,进而意味着其可能具有抑制帕金森病的作用。为探讨 GABA_B 受体与 PD 发生机制的关系提供了理论与实验依据。

三、GABA、GABA 受体与 LID

目前,左旋多巴是治疗 PD 并改善其症状最主要的药物,但该药长期应用后大多数患者会出现异动症,严重影响了 PD 患者的日常生活,一定程度上甚至超过了 PD 本身给患者带来的痛苦。迄今,其发生机制亦未完全明了。目前认为 LID 与纹状体多巴胺受体波动性刺激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的失衡有关^[19]。GABA 能神经元是基底节环路上主要神经元,近年来许多学者探讨 GABA 及其受体与 LID 发生机制之间的关联,取得较多进展。

徐岩等^[20]通过实验观察、探讨 LID 发生过程中纹状体神经元的可塑性。提示 LID 大鼠模型纹状体区 GABA 能投射神经元及胆碱能中间神经元功能发生了改变,与 LID 的发生可能有关。浦政等认为 STN-DBS 治疗 LID 的机制可能与其在一定程度上改变基底节神经元兴奋状态以及矫正基底节直接与间接通路之间的失平衡相关。同时还发现经过 STN-DBS 的 LID 模型大鼠纹状体区 Glu 和 GABA 神经递质的含量均明显降低,推测这一结果可能是与 STN-DBS 使 LID 发生时的间接通路过度抑制有关。提示 LID 的发生与 GABA 有较为密切的关系。

研究人员亦深入探索 GABA 受体与 LID 的相关性,取得一些进展。Calon 等应用 [³⁵S]TBPS 标记帕金森病患者脑部标本的 GABA_A 受体,也发现合并 LID 的患者 GPi 内 [³⁵S]TBPS 结合力明显升高,而且与 [³⁵S]TBPS 结合力增加的部位仅限于 GPi 腹侧,此处 GABA_A 受体接受纹状体 GABA 能神经元的投射纤维。曾有研究表明与刺激 GPi 背侧部分相比,刺激 GPi 的腹侧部分可产生更好的抗 LID 效果。Boraud 等研究在 MPTP 猴子 PD 模型发现,LID 时 GPi 的 GABA 受体发生了明显变化。GABA 受体的改变表明在 GPi 内形成了对纹状体 GABA 能传入纤维的超

敏状态,而以对纹状体发出的 GABA 能投射纤维更为显著。这提示 LID 时可能存在直接通路的过度活化及 GABA 对 GPi 神经元的过度抑制,神经电生理的研究已证实 LID 中出现了 GPi 内核团的活性下降,但同时发现其放电方式也发生了改变。

四、讨 论

我们采用 6-OHDA 偏侧损毁黑质制备 PD 大鼠模型,进一步腹腔注射左旋多巴/苄丝肼(50mg/12.5kg),每天 2 次,连续注射 2 周,制备帕金森病 LID 大鼠模型,并应用高效液相法(HPLC)测定各组大鼠纹状体内氨基酸的含量。结果发现,LID 模型大鼠纹状体内兴奋性氨基酸(Glu、天门冬氨酸)显著升高,且随着时间的延长升高更加明显,与正常对照组、假手术比较,差异均有显著性意义($P < 0.01$ 或 $P < 0.001$);抑制性氨基酸(GABA、甘氨酸)与正常对照组、假手术组比较,差异无明显意义($P > 0.05$),GABA、甘氨酸 6 周与 4 周比较,虽有降低趋势,但差异无明显意义($P > 0.05$),而 Glu/GABA,与正常对照组、假手术比较,差异均有显著性意义($P < 0.01$)(另文发表)。

综上所述,PD、LID 的病因及发病机制至今尚未完全明了,GABA 及其受体通过多条途径在 PD、LID 的发病机制中起到较为重要的作用。保护 GABA 能神经元可望成为防治 PD、LID 的有效途径之一,而目前相关方面的研究较少,是故深入探讨 GABA、GABA_B 受体及其亚型与 PD、LID 发病机制的相关性,进而阐明其作用机制,具有较好的研究前景及重要的研究价值,亦将为临床 PD、LID 的预防和治疗指明新的发展方向。

参考文献

- Reichling DB, Bassbaum AI. Contribution of brainstem GABAergic circuitry to descending antinociceptive controls; II. Electron microscopic immunocytochemical evidence of GABAergic control over the projection from the periaqueductal gray to the nucleus raphe magnus in the rat[J]. *Journal of Comparative Neurology*, 1990, 302: 378 - 393
- 范少光, 屈智超. 脑内 γ -氨基丁酸能神经及其功能[J]. *生理科学进展*, 1984, 15 (1): 41 - 45
- Krajnc D, Neff NH, Hadjiconstantiou M. Glutamate, glutamine and glutamine synthetase in the neonatal rat brain following hypoxia[J]. *Brain Res*, 1996, 707 (10): 134 - 137
- 吕宝璋, 田英. 受体学概论[M]. 北京: 科学出版社, 1991: 159 - 164
- 王尧, 杜子威. 神经生物化学与分子生物学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1997: 184
- Bowery NG, Bettler B, Froestl W, et al. International Union of Pharmacology. XXXIII. Mammalian γ -aminobutyric acid B receptors: structure and function[J]. *Pharmacol Rev*, 2002, 54 (2): 247 - 264
- 储祥平. Ach、GABA 在 RVLM 心血管活动调节中的作用[J]. *国外医学: 生理病理科学与临床分册*, 1998, 18(2): 128 - 131
- Manyan BV. Low CSF gamma-aminobutyric acid levels in Parkinson's disease, effect of levodopa and cardidopa[J]. *Arch Neurol*, 1982, 39(7): 39
- Levy R, Herrero MT, Ruberg M, et al. Effects of nigrostriatal denervation and L-dopa therapy on the GABAergic neurons in the striatum in MPTP-treated monkeys and Parkinson's disease: an in situ hybridization study of GAD67 mRNA[J]. *Eur j Neurosci*, 1995, 7 (6): 1199
- 焦金菊, 庄晓燕, 高东明, 等. 黑质内注射 GABA 对帕金森病模型大鼠行为影响的研究[J]. *数理医药学杂志*, 2001, 14 (6): 492 - 493
- 宋媛宏, 高溪, 李冬冬, 等. 偏侧帕金森病大鼠基底神经节亚区 GABA 能神经元的免疫组织化学研究[J]. *神经解剖学杂志*, 2002, 18(3): 232 - 234
- 王传功. NMDA 受体和 GABA 受体拮抗剂对小鼠脑内多巴胺的影响[J]. *中国神经免疫学和神经病学杂志*, 2006, 13(4): 213 - 214, 226
- Petroff OA. GABA and glutamate in the human brain[J]. *Neuroscientist*, 2002, 8(6): 562 - 573
- 李振. 帕金森大鼠氨基酸递质、GABA 能神经元及 GABA 受体亚单位 mRNA 表达变化的研究[D]. 上海: 第二军医大学, 2003: 8 - 32
- 杨婷婷, 刘树民, 崔立然, 等. 刺五加有效部位对 C₅₇BL/6 小鼠 PD 模型 GABA、TH、GFAP 影响的实验研究[J]. *中成药*, 2009, 31 (11): 1662 - 1666
- 刘婷婷, 孟涛, 刘中海, 等. 帕金森病大鼠模型纹状体中谷氨酸、 γ -氨基丁酸与多巴胺之间的关系[J]. *神经解剖学杂志*, 2011, 27(3): 307 - 310
- Smith Y, Charara A, Hanson JE, et al. GABA_B and group I metabotropic glutamate receptors in the striatopallidal complex in primates[J]. *J Anat*, 2000, 196: 555 - 576
- 王宏韬, 崔巧玲, 陈蕾. 苍白球 GABA_B 受体对氟哌啶醇制备帕金森病模型大鼠姿势行为的影响[J]. *青岛大学医学院学报*, 2008, 44(4): 286 - 288
- Olanow CW, Beso JA. Preventing levodopa-induced dyskinesias[J]. *Ann Neurol*, 2000, 47(suppl 1): 167 - 178
- 徐岩, 孙圣刚, 曹学兵. 异动症大鼠基底节谷氨酸脱羧酶和胆碱乙酰转移酶表达的变化[J]. *基础医学与临床*, 2004, 24 (6): 619 - 622

(收稿日期: 2012-09-10)

(修回日期: 2012-10-11)