

去甲肾上腺素转运体与心血管疾病

曹济民 蔺彩霞

〔作者简介〕 曹济民,北京协和医学院基础学院生理学系教授、系主任、博士生导师。获山西医科大学学士和硕士学位及北京协和医学院博士学位,美国加州大学洛杉矶分校博士后;国家杰出青年科学基金获得者,新世纪百千万人才工程国家级人选。担任中国生理学会常务理事和心血管专业委员会副主任,北京生理科学会常务理事,中国老年保健医学研究会心脏学分会副主任委员。主要研究方向为自主神经活动与心源性猝死。已发表论文 140 篇,其中 SCI 期刊论文 60 篇。

中图分类号 R3 文献标识码 A DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2016.03.001

去甲肾上腺素(norepinephrine, NE)是一种经典神经递质,由某些中枢神经元及外周的交感神经末梢释放。在中枢,NE 作为重要的神经递质,作用于不同的脑区,调控觉醒、应激反应、情绪和认知功能等高级神经活动。在外周心血管系统中,交感神经末梢释放的 NE 影响心率、心电活动、心肌收缩力及血管张力,从而完成对心脏活动及血压的调节。NE 由交感神经元突触前膜释放到突触间隙发挥作用后,约 80%~90% 会迅速被位于交感神经元细胞膜上的去甲肾上腺素转运体(norepinephrine transporter, NET)重新摄取回细胞内^[1]。NET 的这种重摄取功能不仅清理了突触间隙的 NE,从而及时终止神经信号的传导,而且调节了 NE 在突触前神经元和突触间隙中的分布,在维持突触稳态中发挥着重要作用^[2]。NET 在中枢及外周交感神经信号传递中都扮演着重要角色,与多种疾病相关。

一、单胺转运体的分类

神经递质转运体是可以转运神经递质的一种蛋

白质,位于神经元突触前膜或神经胶质细胞膜上。根据序列同源性,可将神经递质转运体分为:(1)神经递质-钠协同转运体(neurotransmitter: sodium symporters, NSS)家族,包括 NET、5-羟色胺转运体(serotonin transporter, SERT)和多巴胺转运体(dopamine transporter, DAT)^[3]。(2)二羧酸/氨基酸阳离子协同转运体(dicarboxylate/amino acid: cation symporters, DAACS)家族,包括谷氨酸转运体。因 NE、5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)和多巴胺(dopamine, DA)属于单胺类神经递质,NET、SERT 及 DAT 又被称为单胺类转运体(monoamine transporter, MAT)。亲水性分析及序列分析显示单胺类转运体都有相似的结构,有 12 次跨膜结构,形成 12 个疏水区,C-端和 N-端都在细胞内。其中第 3 和第 4 疏水区形成一个较大的细胞外环,环上有 1 个 N-连接的糖基化链,与 NET 在细胞膜上的募集有关^[4,5]。

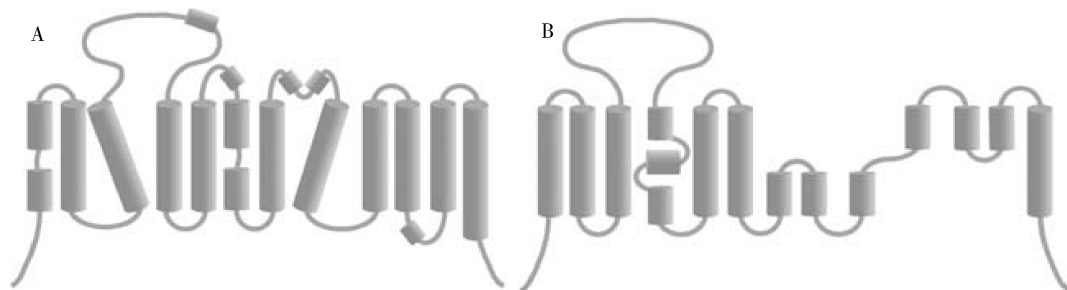


图 1 两类神经递质转运体结构^[4,5]

A. 二羧酸/氨基酸-阳离子协同转运体:主要是谷氨酸转运体(EAAT)1-5,介导 Na^+ 和 H^+ 同向转运以及 K^+ 的反向转运,有 6 次跨膜区,为二聚体结构;B. 神经递质-钠协同转运体:包括多巴胺转运体(DAT)、5-羟色胺转运体(SERT)、去甲肾上腺素转运体(NET)、GABA 转运体和甘氨酸转运体(GAT),介导神经递质和 Na^+ 和 Cl^- 的同向转运,有 12 次跨膜区,为二聚体结构

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81071072,31471126)

作者单位:100005 中国医学科学院基础医学研究所、北京协和医学院基础学院生理学系

通讯作者:曹济民,电子信箱:caojimin@126.com

二、NET 的分布与功能

在中枢神经系统中,NET 主要存在于神经元和神经胶质细胞上,多数分布于神经元的胞体、树突和轴突。研究发现,NET 在蓝斑去甲肾上腺素能神经元及其投射区分布最丰富,在刚出生时表达最多而在成年后表达逐渐下降;NET 在脑干去甲肾上腺素能神经元也有分布,表达规律也是新生儿表达多,随年龄增长表达减少^[6]。去甲肾上腺素能神经元通过与其他类型神经元间的相互作用,完成支配皮质、海马、杏仁核及下丘脑等多个脑区的多种神经传导活动。除表达于中枢神经系统外,NET 在外周系统也有分布。在外周器官中,NET 主要分布于交感神经节后纤维支配的组织器官,包括心脏、肾上腺髓质、胃肠道及胎盘等^[7, 8]。

如前所述,NET 属于神经递质-钠协同转运体家族,即其对神经递质的转运是 Na^+ 和 Cl^- 转运依赖性的继发性主动转运,利用钠泵产生的 Na^+ 电化学梯度作为驱动力,以 Na^+ 和 Cl^- 作为同向转运离子,选择性的逆浓度梯度向细胞内转运神经递质^[9]。NET 的这种对 NE 的主动和能量依赖性重摄取被成为 I 型摄取。I 型摄取具有饱和性特征,受血清中 Na^+ 、 Cl^- 、 O_2 、血供、温度及 pH 值的影响。在缺氧、缺血或高热条件下,NET 的 I 型转运会受损。 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶抑制剂如哇巴因等也可阻断 I 型摄取^[10]。大部分 NET 不论是空载还是负载状态时都是游离于胞质中,然而一旦有 Na^+ 与其结合,NET 便失去这种自由游离性而定位于细胞膜上。因此 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶、 Na^+ 和 Cl^- 对 NET 在细胞膜上的定位及 NET 的重摄取功能至关重要。NET 通过第 3 和第 4 疏水区间细胞外环上的糖基化位点连接于细胞膜上^[11],此糖基化位点不是底物或受体抑制剂识别位点,而可能与 NET 对 NE 及其类似物的跨膜转运有关。此外,NE 也可通过被动的、非特异性的扩散过程通过细胞膜,这种转运过程被称为 II 型摄取。通过非耗能和饱和性的 II 型摄取,NE 在大部分组织器官中都有低水平的累积^[12]。

NE 由神经元突触前膜释放到突触间隙,只有很少一部分发挥作用后被儿茶酚氧位甲基转移酶分解代谢,大部分(约 80%~90%)会被 NET 重新摄取入细胞内。被重摄取的 NE,一部分被重装入突触囊泡储存以备下次释放,一部分被单胺氧化酶氧化分解^[1]。NET 的重摄取,一方面及时清除了突触间隙的神经递质,终止了突触间的信号传递;另一方面

通过调节 NE 在突触前及突触间隙中的分布而维持突触稳态。

NET 的功能受多种因素调节,包括多种细胞内、外信号分子、神经递质和激素等。至今已发现具有调节 NET 功能的信号分子有 cAMP - PKA、PKC、 Ca^{2+} - 钙调激酶 II、ATP 及突触相关蛋白如 SNARE 家族等。一些神经递质也参与了 NET 的功能调节,包括乙酰胆碱、血管紧张素 II、 γ -氨基丁酸、一氧化氮等。除此之外,胰岛素、神经生长因子、钠尿肽等也可参与 NET 的调节^[2]。

三、NET 与心血管活动

心脏是交感神经分布密集的器官,心交感神经活动直接调控心脏节律和泵血功能。支配心脏的交感神经在靠近冠脉血管和心外膜区域分布密度较高^[13]。心脏交感神经保持一定的活性,对维持心脏的正常功能至关重要。当神经冲动传至交感神经末梢时,交感神经元释放 NE,作用于心肌细胞的 β_1 受体,发挥正性变时、正性变力及正性变传导的作用。NE 发挥上述作用后会迅速被 NET 重新转运到交感神经细胞内。NET 的重摄取是终止交感神经兴奋活动的重要机制。NET 的转运功能障碍会导致交感神经活性异常,从而影响其所支配的靶器官的功能。心脏交感神经末梢释放的 NE 大约 95% 会被 Na^+ 转运依赖性的 NET(即 I 型摄取)重新转移回交感神经末梢内,而 II 型摄取在心脏只起到极小的作用^[14, 15]。因此,与其他交感神经支配的器官相比,心脏对 NET 障碍更为敏感,即使是 NET 功能的微妙变化,对心脏活动都会有很显著的影响。

四、心血管疾病时 NET 的变化及其意义

近来的一些研究提示 NET 功能的改变与心血管疾病之间存在着某种联系。心血管疾病可以改变 NET 的重摄取功能。NE 被重摄取的过程是主动的和能量依赖性的,因此任何影响能量供应的心脏疾患如心脏的缺血、缺氧性疾病都可以影响此过程。遗传学研究尤其是对 NET 缺陷患者的研究提示,NET 功能障碍又会导致一系列心血管疾病^[1]。

早在 20 多年前,研究者就发现扩张性心肌病患者 NE 重摄取功能降低。随后有研究发现,服用过量的 NET 抑制剂去甲替林后会出现应激性心肌病^[16]。药理学家研究发现,可卡因可抑制 NET 的功能,而可卡因滥用也会引起心肌病^[17, 18]。心力衰竭后交感神经活动处于过度活跃状态,心衰时 NET 重摄取功能障碍会进一步增加细胞间隙的 NE 水平,从而导致预

后不良^[19]。近来有研究发现,大鼠充血性心力衰竭时心脏 NET 表达存在转录后水平的下调,NET 功能障碍使心力衰竭加重^[20]。

交感神经活动与缺血性心脏疾病的关系一直是研究热点。大量临床病例研究发现,患有心肌梗死的患者其交感神经活性增高,从而诱发恶性心律失常甚至是心源性猝死,这也是心肌梗死患者预后不良、病死率高的重要原因。动物实验及临床证实,在急性心肌缺血时心脏交感神经活性增高,而心脏 NE 浓度的升高是诱发缺血心脏发生恶性致死性心律失常的关键因素^[21]。在生理状态下,交感神经递质以囊泡的形式储存于轴突末梢,当神经冲动由中枢到达交感神经末梢时,神经细胞膜外的 Ca^{2+} 内流, Ca^{2+} 内流引起囊泡向突触前膜移动及与前膜融合,使囊泡内神经递质以胞吐的形式排出到突触间隙,作用于突触后膜引起一系列反应^[22]。因此,生理状态下交感神经递质的释放与细胞外 Ca^{2+} 浓度紧密相关。Schömig 等^[23]在 1992 年的研究就发现,在心肌缺血早期,心脏交感神经末梢 NE 的大量聚集不依赖于交感中枢和胞外钙浓度,提示心肌缺血时交感神经可能存在不同的 NE 释放途径。随后,研究者发现在心肌急性缺血时,心脏交感神经 NE 释放不会被钙通道阻断剂所抑制,PKC 也不能调节 NE 的释放,这进一步提示心肌缺血时 NE 的释放还有除经典途径外的其他途径。在缺血最初几分钟,交感神经被激活,NE 释放并聚积;同时,缺血会引起心肌灌注不足、细胞外高钾、酸中毒等,这些因素又可反馈性抑制 NE 在心肌间隙的过度积聚,同时只要 NET 功能良好,NE 会被迅速重摄取回细胞内,从而保护心脏免受过多 NE 累积引起的损伤。但是当缺血超过 10min 后,心肌保护机制不再起作用,NE 会大量泄漏。目前认为可能有两种途径会引起 NE 的大量释放:①储存在神经末梢的 NE 从储存囊泡中溢出到胞质中;②缺血时 NET 反向转运,将 NE 释放到胞外而非重摄取。上述途径使短时间内心肌间隙聚集了大量的 NE。实验发现心肌缺血 30min 后心肌间隙的 NE 可达到微摩尔浓度,是正常血浆 NE 浓度的 100 ~ 1000 倍。此外,缺血后因心肌细胞表面 α_1 受体增加 2 倍, β 受体受体增加 30%,这使得心肌细胞对 NE 的敏感度大大增加^[24]。缺血后心肌内高浓度的 NE 是导致缺血后心律失常、心力衰竭甚至猝死的关键因素。近年来,已有研究发现 NET 的抑制剂地昔帕明能改善心

肌梗死后的交感神经重塑及心室纤维化^[24]。

综上所述,NET 可能是治疗心血管疾病特别是缺血性心脏病的一个新的靶点。将来的研究重点可能是进一步阐明遗传性及获得性 NET 功能障碍的机制及合理的纠正措施,以及如何转化为临床应用。随着分子生物学、电生理学、生物医学工程及医学的发展,对 NET 的研究将愈加深入,NET 在疾病特别是心血管疾病中的作用也将愈加深入,这给心血管疾病的防治带来新的希望。

参考文献

- Schroeder C, Jordan J. Norepinephrine transporter function and human cardiovascular disease [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2012, 303(11): H1273 - H1282
- Mandela P, Ordway GA. The norepinephrine transporter and its regulation [J]. *J Neurochem*, 2006, 97(2): 310 - 333
- Norgaard - Nielsen K, Gether U. Zn^{2+} modulation of neurotransmitter transporters [J]. *Handb Exp Pharmacol*, 2006, 175: 1 - 22
- Yamashita A, Singh S K, Kawate T, *et al.* Crystal structure of a bacterial homologue of Na^+/Cl^- - dependent neurotransmitter transporters [J]. *Nature*, 2005, 437(7056): 215 - 223
- Yernool D, Boudker O, Jin Y, *et al.* Structure of a glutamate transporter homologue from *Pyrococcus horikoshii* [J]. *Nature*, 2004, 431(7010): 811 - 818
- Sanders JD, Happe HK, Bylund DB, *et al.* Development of the norepinephrine transporter in the rat CNS [J]. *Neuroscience*, 2005, 130(1): 107 - 117
- 张亭亭,薛瑞,李云峰,等. 单胺转运蛋白与单胺重摄取抑制剂研究进展 [J]. *中国药理学通报*, 2013, 29(6): 741 - 744
- Ramamoorthy S, Prasad PD, Kulanthaivel P, *et al.* Expression of a cocaine - sensitive norepinephrine transporter in the human placental syncytiotrophoblast [J]. *Biochemistry*, 1993, 32(5): 1346 - 1353
- Kitayama S, Sogawa C. Regulated expression and function of the somatodendritic catecholamine neurotransmitter transporters [J]. *J Pharmacol Sci*, 2005, 99(2): 121 - 127
- Bonisch H, Bruss M. The norepinephrine transporter in physiology and disease [J]. *Handb Exp Pharmacol*, 2006 (175): 485 - 524
- 仪丹,侯丛佳,文学方,等. 去甲肾上腺素转运体的研究进展 [J]. *现代生物医学进展*, 2014, 14: 2794 - 2797
- Streby KA, Shah N, Ranalli MA, *et al.* Nothing but NET: a review of norepinephrine transporter expression and efficacy of 1311 - mIBG therapy [J]. *Pediatr Blood Cancer*, 2015, 62(1): 5 - 11
- Petratiene V, Pauza DH, Benetis R. Distribution of adrenergic and cholinergic nerve fibres within intrinsic nerves at the level of the human heart hilum [J]. *Eur J Cardiothorac Surg*, 2014, 45(6): 1097 - 1105
- Kreusser MM, Lehmann LH, Riffel JH, *et al.* Aldosterone augments Na^+ - induced reduction of cardiac norepinephrine reuptake [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2014, 307(8): H1169 - H1177

(下转第 86 页)

触^[13]。笔者研究发现,脊髓损伤后的第7天出现 SynDIG1 少量表达,一直到术后28天才达到高峰,随后维持在较高水平表达,这说明在脊髓损伤的早期阶段神经元的内源性修复主要依赖 GAP-43 大量表达,到中后期阶段由于神经胶质细胞开始分泌大量 GFAP 形成神经胶质瘢痕,阻碍轴突的生长修复,与此同时 GAP-43 的表达水平也快速下降^[14]。而此时神经元内 SynDIG1 则开始表达,并且随时间延长不断升高,并且与 GAP-43 同时出现在神经元内,而与 caspase-3 无共同表达现象,说明 SynDIG1 主要出现在新生的细胞内,因此在损伤中后期脊髓的修复主要依赖 SynDIG1 的调控,对神经突起的再生修复有重要影响^[4]。SynDIG1 可通过跨突触组织分子 LRRTM2 调控突触前蛋白 neurexins,影响突触成熟,SynDIG1 还可识别 AMPA 受体在极端 C-末端的卷曲螺旋作用结构域,激活 AMPA 受体表达,通过胞吐作用将 AMPA 受体释放到细胞内池,再横向扩散到突触位点,同时通过支架的相互作用,激活钙调蛋白依赖性蛋白激酶 II,致使突触后密度蛋白 95 磷酸化,促进神经突触分化成熟。

综上所述,脊髓损伤后中后期 SynDIG1 的大量表达,激活了突触分化因子,促进神经元再生,有利于神经系统的修复。

参考文献

- 1 黄云. TSP1 对大鼠骨髓源性神经元样细胞突触形成的影响[D]. 广州: 广东医学院, 2012, 51
- 2 齐志国, 朱晓峰, 富奇志, 等. 神经干细胞与血管内皮祖细胞共移植促进移入缺血再灌注模型大鼠脑内神经干细胞向神经元分化和突触的形成[J]. 第三军医大学学报, 2010, 32(7): 625 -

629

- 3 Kalashnikova E, Lorca RA, Kaur I, *et al.* SynDIG1: an activity - regulated, AMPA - receptor - interacting transmembrane protein that regulates excitatory synapse development[J]. *Neuron*, 2010, 65(1): 80 - 93
- 4 黄云, 郭伟韬, 王斌. 突触形成调控蛋白的研究与进展[J]. *中国组织工程研究*, 2012, 16(45): 8524 - 8529
- 5 Díaz E. SynDIG1 regulation of synaptic AMPA receptor targeting[J]. *Commun Integr Biol*, 2010, 3(4): 347 - 349
- 6 Siddiqui TJ, Craig AM. Synaptic organizing complexes[J]. *Curr Opin Neurobiol*, 2011, 21(1): 132 - 143
- 7 焦俊霞, 高维娟. 细胞凋亡的信号转导机制研究进展[J]. *中国老年学杂志*, 2010, 30(6): 853 - 856
- 8 徐纪伟, 孙丹华. 大鼠脊髓半切损伤后细胞周期蛋白激酶 1 的表达增强[J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2013, 29(10): 1058 - 1060
- 9 Evan GI, Vousden KH. Proliferation, cell cycle and apoptosis in cancer[J]. *Nature*, 2001, 411(6835): 342 - 348
- 10 赵晶, 韩苏夏, 马瑾璐, 等. CDK1 靶向 shRNA 质粒载体的构建及鉴定[J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2011, 27(10): 1053 - 1060
- 11 Storer PD, Houle JD. Beta II - tubulin and GAP 43 mRNA expression in chronically injured neurons of the red nucleus after a second spinal cord injury[J]. *Exp Neurol*, 2003, 183(2): 537 - 547
- 12 邓志云. GAP-43 的研究进展及其与周围神经再生的关系[J]. *南昌大学学报*, 2012, 52(6): 94 - 97
- 13 Tolner EA, van Vliet EA, Holtmaat AJ, *et al.* GAP-43 mRNA and protein expression in the hippocampal and parahippocampal region during the course of epileptogenesis in rats[J]. *Eur J Neurosci*, 2003, 17(11): 2369 - 2380
- 13 Gregersen R, Christensen T, Lehrmann E, *et al.* Focal cerebral ischemia induces increased myelin basic protein and growth - associated protein - 43 gene transcription in peri - infarct areas in the rat brain[J]. *Exp Brain Res*, 2001, 138(3): 384 - 392
- 14 Díaz E. SynDIG1 regulation of excitatory synapse maturation[J]. *J Physiol*, 2012, 590(1): 33 - 38

(收稿日期: 2015 - 05 - 22)

(修回日期: 2015 - 08 - 30)

(上接第3页)

- 15 Esler M, Alvarenga M, Pier C, *et al.* The neuronal noradrenaline transporter, anxiety and cardiovascular disease [J]. *J Psychopharmacol*, 2006, 20(4): 60 - 66
- 16 Brush JJ, Eisenhofer G, Garty M, *et al.* Cardiac norepinephrine kinetics in hypertrophic cardiomyopathy [J]. *Circulation*, 1989, 79(4): 836 - 844
- 17 Arora S, Alfayoumi F, Srinivasan V. Transient left ventricular apical ballooning after cocaine use: is catecholamine cardiotoxicity the pathologic link? [J]. *Mayo Clin Proc*, 2006, 81(6): 829 - 832
- 18 Fleckenstein AE, Gibb JW, Hanson GR. Differential effects of stimulants on monoaminergic transporters: pharmacological consequences and implications for neurotoxicity [J]. *Eur J Pharmacol*, 2000, 406(1): 1 - 13
- 19 Munch G, Rosport K, Bultmann A, *et al.* Cardiac overexpression of the norepinephrine transporter uptake - 1 results in marked improvement of heart failure [J]. *Circ Res*, 2005, 97(9): 928 - 936

- 20 Backs J, Haunstetter A, Gerber SH, *et al.* The neuronal norepinephrine transporter in experimental heart failure: evidence for a posttranscriptional downregulation [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2001, 33(3): 461 - 472
- 21 Corr PB, Gillis RA. Autonomic neural influences on the dysrhythmias resulting from myocardial infarction [J]. *Circ Res*, 1978, 43(1): 1 - 9
- 22 Sudhof TC. The molecular machinery of neurotransmitter release (Nobel lecture) [J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2014, 53(47): 12696 - 12717
- 23 Schömig A, Rehmet G, Kurz T, *et al.* Calcium antagonism and norepinephrine release in myocardial ischemia [J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 1992, 20(7): S16 - S20
- 24 Wu X, Jiang H, Yu L, *et al.* Desipramine pretreatment improves sympathetic remodeling and ventricular fibrillation threshold after myocardial ischemia [J]. *J Biomed Biotechnol*, 2012, 2012: 732909

(收稿日期: 2015 - 01 - 20)

(修回日期: 2016 - 01 - 22)