

Cdk5在可卡因诱导的药物成瘾中的作用

李彦辉¹ 马莎² 白洁¹

(¹昆明理工大学生物工程研究中心, 昆明 650224; ²云南第一人民医院神经内科, 昆明 650032)

摘要: 细胞周期素依赖性蛋白激酶 5 (cyclin dependent kinase-5 Cdk5) 是细胞周期素蛋白激酶之一, 具有很多磷酸化底物, 其激动剂 p35 和 p39 特异存在于神经系统 (CNS)。因此, Cdk5 在神经系统中的功能尤为突出, 成为神经科学研究热点。目前研究较多的是 Cdk5 在可卡因诱导的药物成瘾中的作用。在可卡因所致药物成瘾过程中, 多巴胺系统, Δ FosB 神经元突触可塑性等发挥重要作用。Cdk5 与这些分子相互作用, 所以, Cdk5 与可卡因诱导所致药物成瘾密切相关。阐明其与药物成瘾的联系, 探索新的以 Cdk5 为靶向的药物, 将可能成为成瘾治疗的有效手段。综述了在可卡因诱导的药物成瘾中 Cdk5 作用, 以及 Cdk5 与相关的信号转导分子之间的相互调节。

关键词: 可卡因 Cdk5 多巴胺系统 Δ FosB 突触塑性

The Role of Cdk5 in the Cocaine-induced Drug Addiction

Li Yanhui¹ Ma Sha² Bai Jie¹

(¹Faculty of Life Sciences and Technology, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650224 ²People's Hospital of Yunnan Province of Neurology, Kunming 650032)

Abstract Cyclin-dependent kinase 5 (Cdk5) as a member of the Cyclin-protein kinase family, and has many phosphorylation substrate. Unlike other Cdk5, its activity is dependent upon binding to p35 or p39 which exists in the nervous system. Therefore, Cdk5 is extremely important in the nervous system. Many researches focus on the role of Cdk5 in addiction by cocaine. Dopamine system, Δ FosB, and neuronal synaptic plasticity play key roles during the process of drug addiction by cocaine. Cdk5 interacts with these molecules, thus Cdk5 is closely related to cocaine-induced drug addiction. To clarify the link between Cdk5 and drug addiction, new targets of Cdk5 as a drug may be new effective method for treatment of addiction. In this paper, the role of the Cdk5 in the cocaine-induced drug addiction, and interaction of Cdk5 and signal transduction molecules were overviewed.

Key words Cocaine Cdk5 Dopamine system Δ FosB Synaptic plasticity

细胞周期素依赖性蛋白激酶 5 (cyclin dependent kinases-5 Cdk5) 属于胞周期素 (cyclin) 依赖性蛋白激酶 (CDK) 家族, 是分子量为 35 kD 的脯氨酸限定性丝/苏氨酸 (Ser/Thr) 蛋白激酶, 磷酸化毗邻脯氨酸残基的丝/苏氨酸^[1]。因其有 60% 序列与 Cdc2 和 Cdk2 同源, 也被称为神经特异性 Cdc2 激酶 (NCLK)。Cdk5 普遍存在于各种组织中, 而其激活剂非周期素蛋白 p35 和 p39 特异性地存在于神经系统 (p35 分布于大脑皮层, p39 主要分布于小脑), 因此, Cdk5 活性最先于神经系统发现^[2]。

大量试验证据表明 Cdk5 具有很多磷酸化作用底物, 涉及中枢神经系统发育以及维持神经元正常功能的信号转导途径, 包括细胞分化, 细胞迁移, 轴突引导, 突触功能等^[3]。Samantha 等^[4]研究发现, Cdk5 敲除小鼠表现为围产期死亡, 病理表现有大脑皮层神经细胞缺少, 分布异常。并且, Zhang^[5]的研究也发现, Cdk5 在神经元生存, 细胞周期和神经元分化中起重要作用。例如, 在正常有丝分裂后神经元中对细胞周期起抑制作用。更为重要的是 Cdk5 高表达时, 对疼痛刺激敏感, 而抑制其活性则对疼痛

收稿日期: 2009-10-09

基金项目: 云南省中青年学术技术带头人后备人才基金资助项目 (2006YP01-07), 国家自然科学基金项目 (30860085)

作者简介: 李彦辉, 女, 在读研究生, 研究方向: 神经分子生物学; E-mail: liyanhui0911@yahoo.com.cn

通讯作者: 白洁, 博士, 教授, 博士研究生导师; E-mail: jieba662001@yahoo.com.cn

的反应延长^[6],在这个疼痛反应中,Cdk5的表达和ERK信号通路相关,正如炎症所致疼痛中,Cdk5表达和ERK相关一样。

细胞周期素(cyclinD1和cyclinA)与神经元的细胞周期和神经退行性疾病有关。Yang等^[7,8]研究表明细胞周期素与神经退行性疾病有关,因此,尽管Cdk5属于细胞周期素家族,它的功能异常可导致神经系统功能障碍以及触发神经退行性疾病^[9]。例如,在Alzheimer's Disease等神经退行性疾病中,tau蛋白的高度磷酸化和Cdk5的活性升高密切相关^[10]。此外,Cdk5/P35通过影响微管稳定性而抑制突变亨廷顿蛋白聚集的形成^[11]。由此可见,Cdk5与神经系统疾病发生有密切联系。

Cdk5除了与神经退行性疾病有关,在可卡因导致的成瘾中,Cdk5的作用被广泛研究。王韵等^[12]发现,Cdk5通过磷酸化吗啡内源性受体之一delta受体的第二胞内环中161位苏氨酸,明显延缓吗啡耐受,证明Cdk5和药物成瘾相关。本实验室的前期研究结果也表明了Cdk5也与吗啡作用有关(文章待发表)。

1 Cdk5与慢性可卡因作用

药物成瘾不仅可以导致人格丧失,还可导致犯罪,目前世界上还没有很好的戒断治疗手段,因此,成瘾的分子机理研究一直是神经科学领域的研究难点与热点。可卡因是常见引起成瘾的药品之一,是多巴胺、去甲肾上腺素和5-HT摄取转运体的有效阻滞剂。使用此类精神兴奋剂,可引起欣快感、警觉、唤起、注意力集中和运动能力增强等,而慢性长期的可卡因作用则可导致神经细胞结构和功能等改变,一旦戒断,则产生寻觅行为和戒断症状。目前研究结果显示,慢性长期可卡因作用可引起 Δ FosB转录因子的高表达,大脑腹侧核多巴胺受体,cAMP系统激活^[13]。而Cdk5又具有调节这些途径的作用。因此,在可卡因导致药物成瘾中发挥重要的调节作用^[3]。

1.1 Cdk5对多巴胺水平的调节

多巴胺神经元仅占大脑神经元的十万分之一,但在调节大脑功能,以及控制学习行为的大脑奖赏系统中起重要作用。同样,多巴胺系统在药物成瘾过程中发挥积极作用。可卡因可阻断多巴胺能神经

元细胞膜上的多巴胺转运体,阻滞多巴胺的重摄取,引起突触间隙多巴胺浓度增高,从而,使脑内多巴胺系统活性升高,出现兴奋,活动增加等症状。同时,它还能激活脑内奖赏系统,引起欣快,由于正性强化奖赏作用,是对药物产生心里依赖重要的生化机制,最终产生药物依赖^[14]。

Takahashi等^[15,16]研究显示,Cdk5参与多巴胺信号传递过程,Cdk5和它的激动剂P35在可卡因刺激后表达增高,其活性的增加可以使可卡因调节的多巴胺信号衰减。伏隔核注射Cdk5抑制剂,roscovitine或者olomoucine均可增强可卡因所引起运动活性,而且随着注射时间延长,作用也增加。因此,Cdk5对多巴胺系统起负反馈调节作用。这是由于可卡因刺激多巴胺D1受体,激活cAMP及PKA,PKA使多巴胺和环磷酸腺苷调节的磷酸化蛋白-32(dopamine and cAMP-regulated phosphoprotein of mass 32 kD, DARPP-32) Thr-34位的磷酸化活性增强,而DARPP-32Thr-34磷酸化抑制磷酸激酶(PP-1)的活性,随之,神经元内多种效应蛋白底物,如离子通道、神经递质受体、转录因子等的磷酸化状态和活性增加,对上游信息传递产生级联放大的效应。因而,产生了较强的奖赏效应。在慢性的可卡因作用后,Cdk5可以提高DARPP-32Thr-75位点磷酸化水平,导致DARPP-32Thr-34位点磷酸化水平降低,减弱DARPP-32对PP-1活性的抑制作用,起到和PKA相反的作用,降低了可卡因效应。由此,可见反复慢性的可卡因作用,最终抑制了急性期的奖赏作用,导致滥用者必须增加药物剂量才能获得奖赏感受。这样最终形成了对药物需求剂量的不断增加。Scheggi^[17]的研究也显示,Cdk5在多巴胺信号通路中,通过作用于DARPP-32 PP抑制剂-1调节了可卡因和多巴胺神经递质之间平衡,在药物成瘾过程中发挥重要作用。Taylor等^[18,19]研究结果表明Cdk5与可卡因所致的成瘾无关。

1.2 Cdk5与可卡因调节的基因表达的相关

Nestler^[20]发现,反复的药物滥用可以改变脑中的基因表达,转录因子cAMP效应元件结合蛋白(cyclic AMP-responsive element binding protein CREB)和 Δ FosB就是其中的重要基因。这两种蛋白在成瘾过程中分别介导不同途径:CREB介导了

耐受和依赖,可以抑制药物接触后个体的敏感性并且在撤药的早期过程中诱导产生负向的情感;相反, Δ FosB则介导对药物的长期敏感性并且引起对药物的自发性寻找的动机产生。

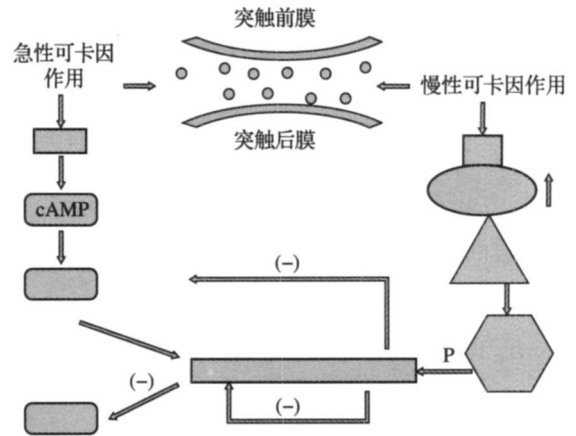
Δ FosB是在成瘾与学习记忆相关作用中保持时间最长的分子。Kumar等^[21]的研究表明,从药物滥用到药物成瘾过程中, Δ FosB起到了开关的作用。持续使用可卡因则体内的 Δ FosB水平会维持高水平状态,试验小鼠体内的 Δ FosB升高,表现出和药物成瘾者一样的行为,而 Δ FosB水平正常的小鼠则不会有这种行为。

另外,Chen等^[22]的研究得出,FosB表达增高可引起大约 25% 以上的慢性可卡因导致的基因表达的改变,Cdk5就是 Δ FosB的下游作用靶标之一。 Δ FosB转基因鼠海马区Cdk5增高,并且Cdk5的启动区活性增强,如果启动区发生变异,则 Δ FosB不能导致Cdk5活性增加。慢性可卡因作用后,Cdk5在mRNA水平和蛋白水平都会有很大的提高,这是由于可卡因作用导致 Δ FosB增加, Δ FosB可以通过作用于Cdk5基因启动子上的AP-1位点来激活Cdk5基因,从而可卡因促进Cdk5的mRNA、蛋白水平表达升高,并增强其激酶活性,进而,Cdk5对多巴胺信号通路起到了调节作用。这些研究结果进一步说明了Cdk5与 Δ FosB均参与了可卡因成瘾作用。

此外,根据Nguyen^[23]报道,慢性可卡因作用导致 Δ FosB及Cdk5活性增强,Cdk5的活性增加可抑制早期可卡因的多巴胺D1受体诱导的多巴胺的信号传导途径,形成可卡因慢性长期作用后的适应反应。这就意味着可卡因作用一旦停止,Cdk5对PKA途径的抑制作用消失,各种神经递质异常释放,从而产生戒断后的不适反应,成瘾者寻求药物的动机。Cdk5调节可卡因的急性与慢性作用的分子机制可以总结为图1。

1.3 Cdk5对神经元突触可塑性的作用表现

神经元突触可塑性是指突触在形态结构和功能上的可变动性和可修饰性,包括形态结构和功能的可塑性,是大脑重塑的基础,也是学习和记忆的神经生物学基础。大量研究表明,突触可塑性机制广泛参与药物成瘾的发生、发展。神经元突触可塑性是药物成瘾的生物过程关键的一部分,Cdk5在这个过程中发挥调节作用^[1,2]。



急性可卡作用因阻滞突触前多巴胺的重摄取,活化D1受体并且使cAMP水平升高,导致蛋白激酶A的活化。慢性可卡因作用上调D1/PKA信号,激活了转录因子 Δ FosB,诱导细胞周期素依赖性蛋白激酶5(CDK5)。CDK5磷酸化DARPP-32的Thr-75进而抑制PKA活性

图1 急性和慢性可卡因对多巴胺受体信号的影响

Clay^[13]发现慢性可卡因作用可以引起神经元突触功能和结构的可塑性,这些可塑性是对药物刺激应答的神经元适应性。在突触可塑性这个过程中,Cdk5发挥重要作用。在正常生理条件下,蛋白的磷酸化引起和维持突触强度的长时间改变,Cdk5可以磷酸化抑制剂-1(pp-1抑制剂)的Ser-67位点,减弱PKA的磷酸化的作用效果,其激动剂P35和P39在钙离子依赖的 Ca^{2+} /calmodulin-dependent protein kinase II(CaMKII)作用下,影响递质释放。另外,Zhang等^[24]还发现,Cdk5还通过磷酸化调节有丝分裂原活化蛋白激酶途径,骨架蛋白PSD-95和NMDA受体的亚单位NR2A的Ser-1232来调节在神经元突触功能可塑性。

与此相关的是,Nikolic^[25]提出在慢性可卡因作用下,伏核及背侧纹状体中Cdk5 mRNA的及蛋白的表达,树突棘的密度增高。而注射Cdk5抑制剂后,可以抑制可卡因诱导的树突棘的产生。Cdk5在协调骨架的组织,囊泡转运与神经元细胞形态改变以及结构塑性的联系中发挥重要作用,而其激动剂P35在片状伪足和线状伪足细胞界外,促进神经突触向外生长。另外,慢性可卡因作用可引起P35和P39表达增高,进而导致肌动蛋白重组。

此外,Paglini等^[26]也得出,Cdk5可引起PKA1

过度磷酸化,使 PKA 1 激酶活性降低,最终影响肌动蛋白骨架动力活力; Cdk5 通过介导脑信号蛋白依赖调节肌动蛋白组织,决定树突定向性,也可通过磷酸化 MAP1B 影响轴突延伸。还有报道^[27]指出,神经调节蛋白依赖于 Cdk5 来调节 E ubB 依赖性神经肌肉接头形成, Cdk5 / E ubB 相互作用在中枢轴突形成中起重要的作用。综合以上研究结论,可以进一步证实 Cdk5 在可卡因所致的突触塑性中所起的关键作用。

2 展望

尽管最近研究报道 Cdk5 与其它疾病的相关性,如韩国人群中 Cdk5 基因启动子单核苷酸多态性与肺癌易患性密切相关^[28], Cdk5 可介导 GLUT4 调节的 3T3-L1 脂肪细胞对葡萄糖的摄取^[29]。然而, Cdk5 作为细胞周期素的成员之一,其激动剂在神经系统的局限性,使 Cdk5 在神经系统的作用尤为重要。

药物成瘾是一个涉及神经系统递质和 / 或调质、受体、酶、基因表达等的复杂过程,而且在这些过程中存在着复杂的相互作用。 Cdk5 在慢性可卡因调节的信号传导途径中,无论在对多巴胺信号途径调控作用还是在神经元的结构和功能可塑性方面起重要作用。

阐明 Cdk5 在药物成瘾中的作用机制,将为探索有效的戒毒方法提供理论依据,具有重要的现实意义。

参考文献

- [1] Hawasli AH, Koovakkattu D, Hayashi K, et al Regulation of hippocampal and behavioral excitability by cyclin-dependent kinase. *PLoS One* 2009, 4(6): 5808
- [2] Long H, Zhao S, Lei T, et al Cloning and spatiotemporal expression of porcine CDK5 and CDK5R1(p35) genes *Anim Biotechnol* 2009, 20(3): 133-43.
- [3] Kanungo J, Zheng YL, Amin ND, et al Specific inhibition of cyclin-dependent kinase 5 activity induces motor neuron development *in vitro* *Biochem Biophys Res Commun* 2009, 386(1): 263-7.
- [4] Sanantha Cicero Cdk5 modulation of mitogen-activated protein kinase signaling regulates neuronal survival *Mol Biol Cell* 2007, 18: 404-413.
- [5] Zhang J, Herrup K. cdk5 and the non-catalytic arrest of the neuronal cell cycle. *Cell Cycle* 2008, 7(22): 3487-90
- [6] Peng HY, Chen GD, Tung KC, et al Estrogen-dependent facilitation on the spinal reflex potentiation involves Cdk5 /ERK 1/2/NR2B cascade in anesthetized rats *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2009
- [7] Bai J, Nakamura H, Ueda S, et al Proteasome-dependent degradation of cyclin D1 in 1-methyl-4-phenylpyridinium ion (MPP+) -induced cell cycle arrest *J Biol Chem* 2004 279(37): 38710-4.
- [8] Yang Y, Varvel NH, Bruce T, et al Ecotopic cell cycle events link human Alzheimer's disease and amyloid precursor protein transgenic mouse models *J Neurosci* 2006, 26(3): 775-84.
- [9] JämÄ A, Agerman K, RadeÄter AC, et al Identification of normuscle myosin heavy chain as a substrate for Cdk5 and tool for drug screening *J Biomed Sci* 2009, 16: 55.
- [10] Stielcr JT, Bullmann T, Kohl E, et al PHF- like tau phosphorylation in mammalian hibernation is not associated with p25-formation *J Neural Transm* 2009, 116(3): 345-50
- [11] Kaminosono S, Saito T, Oyama F, et al Suppression of mutant huntingtin aggregate formation by Cdk5 /p35 through the effect on microtubule stability *Neurosci* 2008, 28: 8747-8755
- [12] Xie WY, He Y, Yang YR, et al Disruption of Cdk5-associated phosphorylation of residue threonine-161 of the delta opioid receptor impaired receptor function and attenuated morphine antinociceptive tolerance *J Neurosci* 2009, 29(11): 3551-64.
- [13] Clay SW, Allen J, Parran T. A review of addiction *Postgrad Med* 2008, 120(2): 1-7
- [14] Nishi A. Role of Cdk5 in dopamine signaling and addiction. *Tanpakushitsu Kakusan Koso* 2009, 54(7): 813-9.
- [15] Takahashi S, Ohshima T, Cho A, et al Increased activity of cyclin-dependent kinase 5 leads to attenuation of cocaine-mediated dopamine signaling *Proc Natl Acad Sci USA* 2005, 102(5): 1737-42
- [16] Meyer DA, Richer E, Berkovic SA, et al Striatal dysregulation of Cdk5 alters locomotor responses to cocaine motor learning and dendritic morphology. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008, 105(47): 18561-6
- [17] Scheggi S, Raone A, De Montis MG, et al Behavioral expression of cocaine sensitization in rats is accompanied by a distinct pattern of modifications in the PKA /DARPP-32 signaling pathway. *J Neurochem* 2007, 103(3): 1168-83
- [18] Taylor JR, Lynch WJ, Sanchez H, et al Inhibition of Cdk5 in the nucleus accumbens enhances the locomotor activating and incentive motivational effects of cocaine *Proc Natl Acad Sci USA* 2007, 104(10): 4147-52
- [19] Bhat R, Chari G, Rao R, et al Prenatal cocaine and morphine alter brain cyclin-dependent kinase 5(Cdk5) activity in rat pups *Neurotoxicol Teratol* 2006, 28(5): 625-8
- [20] Nestler EJ, Barrot M, Self DW, et al Delta FosB: a sustained molecular switch for addiction *Proc Natl Acad Sci USA* 2001, 98(20): 11042-6

- [21] Kumar A, Choi KH, Renthal W, et al Chromatin remodeling is a key mechanism underlying cocaine-induced plasticity in striatum. *Neuron*, 2005, 48(2): 303-14
- [22] Chen J, Zhang Y, Kelz MB, et al Induction of cyclin-dependent kinase 5 in the hippocampus by chronic electroconvulsive seizures: Role of FosB. *J Neurosci* 2000, 20(24): 8965-71
- [23] Nguyen C, Nishi A, Karsy JW, et al Regulation of protein phosphatase inhibitor-1 by cyclin-dependent kinase 5. *J Biol Chem*, 2007, 282(22): 16511-16520
- [24] Zhang S, Edelmann L, Liu J, et al Cdk5 regulates the phosphorylation of tyrosine 1472 NR2B and the surface expression of NMDA receptors. *J Neurosci* 2008, 28(2): 415-424.
- [25] Nikolov M, Chou MM, Lu W, et al The p35/Cdk5 kinase is a neuron-specific Rac effector that inhibits Pak1 activity. *Nature*, 1998, 395: 194-198
- [26] Paglini G, Pignino G, Kunda P, et al Evidence for the participation of the neuron-specific CDK5 activator P35 during kainic acid-enhanced axonal growth. *J Neurosci* 1998, 18: 9858-9869.
- [27] Fu K, Fu W Y, Cheung J, Tsin W, et al Cdk5 is involved in neuregulin-induced AChR expression at the neuromuscular junction. *Nat Neurosci* 2001, 4: 374-381.
- [28] Choi HS, Lee Y, Park KH, et al. Single-nucleotide polymorphisms in the promoter of the CDK5 gene and lung cancer risk in a Korean population. *J Hum Genet* 2009, 54(5): 298-303
- [29] Munoz G, Lalit V, Sandoval IV, The Cdk5 inhibitor roscovitine strongly inhibits glucose uptake in 3T3-L1 adipocytes without altering GLUT4 translocation from internal pools to the cell surface. *J Cell Physiol* 2009, 220(1): 238-244

(上接第 57页)

- response. *Plant Physiol* 2003, 133(3): 1181-1189.
- [43] Cooper W, Jia L, Goggins LJ Effects of jasmonate-induced defences on root-knot nematode infection of resistant and susceptible tomato cultivars. *Chem Ecol* 2005, 31(9): 1953-1967.
- [44] Koomneef A, Leon-Reyes A, Ritsma T, et al Kinetics of salicylate-mediated suppression of jasmonate signaling reveal a role for redox modulation. *Plant Physiol* 2008, 147(3): 1358-1368