

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2019.10.040

丝氨酸消旋酶在中枢神经系统中的研究进展*

耿金丽 陈明明 郝杰 丁利平 廖红^Δ

(中国药科大学药物科学研究院江苏省新药筛选重点实验室 江苏 南京 210009)

摘要: 中枢神经系统中,丝氨酸消旋酶是 5'吡哆醛依赖性酶,通过合成调控 D 型丝氨酸,参与 N-甲基-D-天冬氨酸受体介导的神经发生、突触可塑性及学习记忆的调节。丝氨酸消旋酶表达与活性可以通过转录、翻译、翻译后修饰,小分子配基与蛋白相互作用,亚细胞分布多种方式调节。丝氨酸消旋酶失调影响了精神分裂症、脑损伤及神经退行性疾病等多种中枢神经系统疾病。本文简要介绍丝氨酸消旋酶的结构、分布、调节因素和在中枢神经系统中的生理病理功能,为神经及精神疾病的治疗和药物开发提供了新的思路。

关键词: 丝氨酸消旋酶;D 型丝氨酸;N-甲基-D-天冬氨酸受体;中枢神经系统

中图分类号: Q593.2;R741.02 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273(2019)10-1987-03

Emerging Roles of Serine Racemase in Central Nervous System*

GENG Jin-li, CHEN Ming-ming, HAO Jie, DING Li-ping, LIAO Hong^Δ

. (Jiangsu Key Laboratory of Drug Screening, China Pharmaceutical University, Nanjing, Jiangsu, 210009, China)

ABSTRACT: Serine racemase (SR) is a pyridoxal 5'-phosphate -dependent enzyme that synthesizes d-serine, an amino acid now viewed as the main endogenous co-agonist necessary for N-methyl-D-aspartic acid (NMDA) receptor activation. SR-dependent regulations of NMDA receptor activation affect neural development, synaptic plasticity and cognitive function. SR is regulated by transcription, translation and post-translational modification, small ligands, protein interactors, and subcellular distribution. SR deregulation is associated with a wide range of neurological and psychiatric diseases including schizophrenia, traumatic brain injury and Alzheimer's disease. Here we review several aspects of SR focusing on mechanisms regulating SR, as well as physiological and pathology effects of SR in central nervous system.

Key words: Serine racemase; D-serine; N-methyl-D-aspartic acid receptor; Central nervous system

Chinese Library Classification(CLC): Q593.2; R741.02 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2019)10-1987-03

前言

N-甲基-D-天冬氨酸 (N-methyl-D-aspartic acid, NMDA) 受体是脑内谷氨酸的作用受体之一,参与了神经传递及突触可塑性过程,是脑内形成神经环路及认知学习功能必不可少的关键性递质受体。除了谷氨酸为 NMDA 受体的激动剂以外,D 型丝氨酸也是 NMDA 受体活化所必须的内源性共激动剂。丝氨酸消旋酶 (Serine racemase, SR) 是 D 型丝氨酸生成的关键性酶,SR 的活性与表达直接影响了 D 型丝氨酸对 NMDA 受体的激活。SR 失调导致 D 型丝氨酸稳态失衡,介导了 NMDA 受体相关的多种中枢神经系统疾病,如创伤性脑损伤、精神分裂症、抑郁及阿尔兹海默症 (Alzheimer's disease, AD)。因此 SR 越来越引起学者的广泛关注。本文介绍了 SR 的结构、影响 SR 表达与活性的因素,SR 及在中枢神经系统中生理和病理作用,给以 SR 为药理学靶点的新型药物的开发提供了新思路。

1 SR 的酶结构和催化反应及在中枢神经系统的分布

SR 是 5'-磷酸吡哆醛依赖性酶,结构类似于细菌的丝/苏氨酸水解酶,是两个含有大结构域和小结构域的亚基组成的对称二聚体,配体通过诱导小结构域重排来调节酶活性位点^[1]。染色体定位显示,人源 SR 基因位于染色体 17q13.3,含 7 个外显子,编码 340 个氨基酸的多肽,蛋白相对分子质量为 36.57 kDa。SR 酶活性的最适 pH 值为 8-9,最适温度为 37℃。

SR 对 D 型丝氨酸具有双向催化活性,可以催化 D 型丝氨酸的合成及分解。在 ATP 和 Mg²⁺ 的辅助下,SR 可以将 L 型丝氨酸可逆的消旋化形成 D 型丝氨酸。由于 SR 对 L 型丝氨酸具有高度的选择性,所以 SR 的主要催化方向为合成 D 型丝氨酸^[2]。SR 除了可以生成 D 型丝氨酸,也可以将 L 型、D 型丝氨酸不可逆脱水形成丙酮酸盐和氨。

SR 与 D 型丝氨酸在中枢神经系统的区域性表达一致:主要表达在大脑皮质灰质、海马、纹状体、小脑等^[3]。目前关于 SR 主要存在于神经元还是星形胶质细胞存在争议。一般认为,在生理情况下,SR 主要位于新皮层和海马^[4]的兴奋性谷氨酸能神经元及抑制性 γ-氨基丁酸能神经元^[5],但是在星形胶质细胞和

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81572240/H1701);国家自然科学基金项目(81772063/H1504)

作者简介:耿金丽(1993-),硕士研究生,主要研究方向:神经药理学,E-mail: gengjinli_cpu@163.com

Δ 通讯作者:廖红(1967-),博士生导师,主要研究方向:神经药理学,E-mail: hliao@cpu.edu.cn

(收稿日期:2018-12-26 接受日期:2019-01-18)

小胶质细胞中表达量很少。然而在病理情况下,星形胶质细胞中 SR 表达量显著增加^[6]。

2 调节 SR 表达和活性的因素

2.1 转录、翻译及翻译后修饰

SR 转录、翻译过程会影响 SR 表达,SR 蛋白翻译后修饰会影响 SR 酶活性。Zhang 等^[7]报道,DNA 氧化应激损伤以及 SR 基因启动子的甲基化会降低 SR 的基因转录。在翻译过程中,miR-193a-5p^[8]可以直接结合 SR 的 mRNA 的 3' UTR,减少 SR 的转录后翻译。在翻译后对蛋白氨基酸残基的修饰也会影响的 SR 的酶活性。SR 的 O- 棕榈酰化,人源 SR 的 S- 亚硝基化,都可以降低 SR 的活性^[9]。

2.2 小分子配体或蛋白相互作用调节

ATP 和 Mg^{2+} 是典型的 SR 小分子配体调节物。SR 是 ATP 依赖性酶,通过结合 ATP,SR 活性可以提高 7 倍。 Mg^{2+} 不仅通过直接结合阳离子结合位点增强 SR 活性,还可以增加 ATP 与 SR 亲和力进一步增强 SR 活性^[10]。

SR 活性可以通过与蛋白直接相互作用进行调节。甘油醛-3- 磷酸脱氢酶 (Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH) 可以直接结合 SR,致使 SR 活性减弱^[11],其中还原型辅酶 I (NADH) 通过对 SR 变构调节影响 SR 活性^[12]。此外,高尔基体蛋白亚家族 A3 (Golga3) 和精神分裂症断裂基因 -1 (Disrupted in schizophrenia 1, DISC1) 蛋白可以通过与 SR 相互作用减少 SR 泛素化降解^[13]。

2.3 亚细胞分布调节

SR 在细胞亚区的分布也影响其活性。当 SR 位于神经元树突和突触后致密区的质膜上,SR 与突触后致密蛋白 95 (Post synaptic density protein 95, PSD95) 及电压依赖性钙离子通道 γ -2 亚基 Stargazin 相互作用,形成三元复合物,导致 SR 的活性被抑制。NMDA 受体和 α - 氨基 -3- 羟基 -5- 甲基 -4- 异恶唑丙酸 (α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole-propionic acid, AMPA) 受体激活对 SR 活性有不同的影响。NMDA 受体激活促进 SR 易位到质膜,减少 SR 活性。AMPA 受体激活可以促进 SR 与 Stargazin 分离,进入细胞质,增加 SR 的活性^[14]。此外,AMPA 受体介导的蛋白激酶 C 相互作用蛋白 (Protein interacting with protein kinase C, PIKC1)^[15]也可以促进 SR 从质膜分离,从而增加 SR 活性。

SR 在细胞核的积累可以抑制其活性。细胞凋亡早期,SR 进行核质穿梭进入细胞核,SR 与同样积累在细胞核内的 GAPDH 等蛋白结合,SR 活性完全被抑制^[16]。

3 SR 的生理功能及在中枢神经系统疾病中作用

SR 表达促进神经元发育。在皮层发育过程中,D 型丝氨酸作用于谷氨酸能神经元的 NMDA 受体,促进 SR 和 PSD95、NR1 相互作用,增强突触发育的稳定性^[17]。在小脑中,依赖于 SR 表达的 NMDA 受体激活,通过介导颗粒细胞胶质依赖性迁移期的内向运动,促进小脑发育^[18]。

SR 表达还可以影响突触可塑性及认知功能。在皮层和海马中,SR 生成 D 型丝氨酸,激活 NMDA 受体,诱导兴奋性突触及抑制性突触的长时程增强,影响突触可塑性及认知功能^[19]。

而基因敲除 SR 会损伤神经环路和突触可塑性,造成认知功能损伤^[20]。

SR 的表达和活性的改变影响 D 型丝氨酸的稳态失调,参与多种中枢神经系统疾病。在精神分裂症、抑郁症中^[21],脑内 SR 表达下调,减少 D 型丝氨酸合成,造成 NMDA 受体功能衰退,从而减少突触连接,损伤突触可塑性及认知功能。而在创伤性脑损伤、脑卒中^[22]、AD、肌萎缩侧索硬化^[23]、癫痫疾病中^[24],SR 表达上调,D 型丝氨酸合成增加,加重神经兴奋性毒性,造成病理性损伤。

3.1 精神分裂症

SR 介导 NMDA 受体功能衰退参与精神分裂症病理过程。在精神分裂症中,皮质突触连接的广泛丧失,NMDA 受体激活的减少可能在精神分裂症起到重要作用^[25]。在精神分裂症病人血清中 SR 与 D 型丝氨酸表达降低^[26]。全基因组关联基因 GWAS 分析 SR 单个内含子变体 rs4523957 是精神分裂症的风险基因^[27]。Jacobi 等人^[28]研究认为在精神分裂症中,体内产生突变体 DISC1,促进 SR 的泛素化降解。SR 敲除小鼠,不仅减少 D 型丝氨酸,NMDA 受体功能紊乱,还减少了海马中环磷酸腺苷效应元件结合蛋白 (cAMP-response element binding protein, CREB) 依赖性基因如脑源性神经营养因子的表达,导致神经可塑性改变^[29],产生了精神分裂症症状相关的行为^[30]。

3.2 创伤性脑损伤及 AD

过多的激活离子型谷氨酸受体,特别是 NMDA 受体,可以造成神经兴奋性毒性损伤,引起神经功能紊乱,促进神经元死亡。当创伤性脑损伤后,星形胶质细胞活化高度表达 SR,产生过量的 D 型丝氨酸,损伤海马突触可塑性及行为认知^[31]。

NMDA 受体过度激活也是 AD 的损伤机制之一。AD 疾病中患者海马和顶叶皮层中 D 型丝氨酸水平高于对照受试者,SR 表达明显上调^[32]。Cline 等人研究显示 AD 患者中淀粉样前体蛋白 (amyloid precursor protein, APP) 和 β - 淀粉样蛋白 (amyloid- β protein, A β) 刺激小胶质细胞上调 SR,引起 D 型丝氨酸浓度升高,引起 NMDA 受体介导的神经兴奋性毒性,影响 AD 患者的认知功能^[33]。

4 小结与展望

综上所述,SR 通过合成 D 型丝氨酸,参与 NMDA 受体介导的神经发生、突触可塑性及学习记忆的调节。SR 转录、翻译及翻译后修饰,与小分子配体和蛋白相互作用及在亚细胞分布都可以影响 SR 的表达和酶活性的改变。SR 酶活性改变可以引起 D 型丝氨酸稳态失调,通过 NMDA 受体影响到多种中枢神经系统疾病如精神分裂症、创伤性脑损伤。SR 活性过高或过低都会引起不同的神经功能损伤,如何平衡与调节 SR 在正常的范围表达与酶活性,是以 SR 成为靶点开发新的药物需要解决的一个问题。

参考文献 (References)

- [1] Nelson DL, Applegate GA, Beio ML, et al. Human serine racemase structure/activity relationship studies provide mechanistic insight and point to position-84 as a hotspot for β -elimination function [J]. Journal of Biological Chemistry, 2017, 292: 13986-14002
- [2] Coyle JT, Balu DT. The role of serine racemase in the pathophysiology

- of brain disorders[J]. *Advances in Pharmacology*, 2018, 82: 35
- [3] Suzuki M, Imanishi N, Mita M, et al. Heterogeneity of d-Serine distribution in the human central nervous system [J]. *ASN Neuro*, 2017, 9: 1759091417713905
- [4] Balu DT, Takagi S, Puhl MD, et al. D-Serine and serine racemase are localized to neurons in the adult mouse and human forebrain [J]. *Cellular & Molecular Neurobiology*, 2014, 34(3): 419-435
- [5] Mothet JP, Le BM, Billard JM. Time and space profiling of NMDA receptor co-agonist functions [J]. *Journal of Neurochemistry*, 2015, 135(2): 16
- [6] Li S, Uno Y, Rudolph U, et al. Astrocytes in primary cultures express serine racemase synthesize d-serine and acquire A1 reactive astrocyte features[J]. *Biochem Pharmacol*, 2018, 151: 245-251
- [7] Zhang He, Kuang Xiu-Li, Chang Yu-hua, et al. Reduced serine racemase expression in aging rat cerebellum is associated with oxidative DNA stress and hypermethylation in the promoter[J]. *Brain Res*, 2015, 1629: 221-230
- [8] Pu You-guang, Zhao Fang-fang, Cai Wen-jing, et al. MiR-193a-3p and miR-193a-5p suppress the metastasis of human osteosarcoma cells by down-regulating Rab27B and SRR, respectively [J]. *Clin. Exp. Metastasis*, 2016, 33: 359-372
- [9] Marchesani F, Bruno S, Paredi G, et al. Human serine racemase is nitrosylated at multiple sites [J]. *Biochim Biophys Acta Proteins Proteom*, 2018, 1866: 813-821
- [10] Bruno S, Margiotta M, Marchesani F, et al. Magnesium and calcium ions differentially affect human serine racemase activity and modulate its quaternary equilibrium toward a tetrameric form [J]. *Biochim Biophys Acta Proteins Proteom*, 2017, 1865: 381-387
- [11] Suzuki M, Sasabe J, Miyoshi Y, et al. Glycolytic flux controls D-serine synthesis through glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase in astrocytes[J]. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 2015, 112: E2217-24
- [12] Bruno S, Marchesani F, Dellafiora L, et al. Human serine racemase is allosterically modulated by NADH and reduced nicotinamide derivatives[J]. *Biochemical Journal*, 2016, 473(20): 3505-3516
- [13] Xia M, Zhu S, Shevelkin A, et al. DISC1, astrocytes and neuronal maturation: a possible mechanistic link with implications for mental disorders[J]. *Journal of Neurochemistry*, 2016, 138(4): 518-524
- [14] Ma TM, Paul BD, Fu C, et al. Serine racemase regulated by binding to stargazin and PSD-95: potential n-methyl-d-aspartate- α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid (NMDA-AMPA) glutamate neurotransmission cross-talk [J]. *J Biol Chem*, 2014, 289(43): 29631- 29641
- [15] Jun N, Hanna JP, Eastman L, et al. Role for neonatal d-serine signaling: prevention of physiological and behavioral deficits in adult Pick1 knockout mice[J]. *Molecular Psychiatry*, 2016, 21(3): 386-393
- [16] Kolodney G, Dumin E, Safory H, et al. Nuclear compartmentalization of serine racemase regulates d-serine production: implications for n-methyl-d-aspartate (nmda) receptor activation [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2015, 291(6): 2630
- [17] Lin H, Jacobi AA, Anderson SA, et al. D-Serine and serine racemase are associated with PSD-95 and glutamatergic synapse stability[J]. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 2016, 10(12)
- [18] Zhang He, Song Li-ping, Chang Yu-hua, et al. Potential deficit from decreased cerebellar granule cell migration in serine racemase-deficient mice is reversed by increased expression of GluN2B and elevated levels of NMDAR agonists[J]. *Mol. Cell. Neurosci*, 2017, 85: 119-126
- [19] Guercio GD, Panizzutti R. Potential and challenges for the clinical use of d-serine as a cognitive enhancer [J]. *Front Psychiatry*, 2018, 9: 14
- [20] MD P, Desai RI, Takagi S, et al. N-methyl-d-aspartate receptor co-agonist availability affects behavioral and neurochemical responses to cocaine: insights into comorbid schizophrenia and substance abuse[J]. *Addiction Biology*, 2017, 7(1): 3575
- [21] Dong C, Zhang JC, Ren Q, et al. Deletion of serine racemase confers d-serine-dependent resilience to chronic social defeat stress [J]. *Neurochemistry International*, 2018, 116: 43
- [22] Watanabe A, Sasaki T, Yukami T, et al. Serine racemase inhibition induces nitric oxide- mediated neurovascular protection during cerebral ischemia[J]. *Neuroscience*, 2016, 339: 139-149
- [23] Sasabe J, Aiso S. Abnormal d-serine metabolism in amyotrophic lateral sclerosis[M]. *D-Amino Acids*, 2016
- [24] Tao Hua, Zhou Xu, Xie Qian, et al. SRR intronic variation inhibits expression of its neighbouring SMG6 gene and protects against temporal lobe epilepsy[J]. *J. Cell. Mol. Med.*, 2018, 22: 1883-1893
- [25] Coyle JT, Balu DT, Puhl MD, et al. History of the concept of disconnectivity in schizophrenia[J]. *Harv Rev Psychiatry*, 2016, 24: 80-86
- [26] El-Tallawy HN, Saleem TH, El-Ebidi AM, et al. Clinical and biochemical study of d-serine metabolism among schizophrenia patients[J]. *Neuropsychiatr Dis Treat*, 2017, 13: 1057-1063
- [27] Vander AS, Teumer A, Hertel J, et al. The inverse link between genetic risk for schizophrenia and migraine through NMDA (N-methyl-D-aspartate) receptor activation via d-serine [J]. *Eur Neuropsychopharmacol*, 2016, 26: 1507-1515
- [28] Jacobi AA, Halawani S, Lynch DR, et al. Neuronal serine racemase associates with disrupted-in-schizophrenia-1 and DISC1 agglomerates: implications for schizophrenia[J]. *Neurosci. Lett*, 2018, 692: 107-114
- [29] Balu DT, Coyle JT. Altered CREB binding to activity-dependent genes in serine racemase deficient mice, a mouse model of schizophrenia[J]. *ACS Chem Neurosci*, 2018, 9: 2205-2209
- [30] Puhl MD, Mintzopoulos D, Jensen JE, et al. In vivo magnetic resonance studies reveal neuroanatomical and neurochemical abnormalities in the serine racemase knockout mouse model of schizophrenia[J]. *Neurobiology of Disease*, 2015, 73: 269-274
- [31] Perez EJ, Tapanes SA, Loris ZB, et al. Enhanced astrocytic d-serine underlies synaptic damage after traumatic brain injury [J]. *J. Clin. Invest.*, 2017, 127: 3114-3125
- [32] Madeira C, Lourenco MV, Vargas-Lopes C, et al. D-serine levels in Alzheimer's disease: implications for novel biomarker development [J]. *Transl Psychiatry*, 2015, 5: e561
- [33] Cline EN, Bicca MA, Viola KL, et al. The amyloid- β oligomer hypothesis: beginning of the third decade [J]. *Journal of Alzheimers Disease* Jad, 2018