

# 神经颗粒素与学习记忆关系研究进展\*

李欢欢 林文娟\*\*

(中国科学院心理研究所脑-行为研究中心,北京 100101)

**摘要** 神经颗粒素(Neurogranin,NG)是一种新发现的脑特异性蛋白质。它分布在多个脑区,特别在对学习记忆至关重要的脑区海马。该物质自发现以来,许多学者对其生物学作用,特别是与学习记忆的关系进行了大量的研究,并取得了相当的进展。研究表明NG参与了在学习记忆功能中起核心作用的脑内几种蛋白信号传导途径、长时程增强(Long-term potentiation,LTP)和长时程抑制(Long-term depression,LTD)等突触可塑性机制。NG基因敲除后,动物出现学习记忆能力缺陷。因而它可能涉及学习记忆的形成和巩固。

**关键词** 神经颗粒素,学习,记忆。

**分类号** B845

学习和记忆作为脑的高级功能或高级神经活动之一,是人类思维活动的基础,是生物体为适应环境做出行为反应的必要过程,其功能会随着生物体的进化而不断地发展和完善。同时,学习记忆形成过程所涉及的细胞学、生物化学机制则更为精细复杂。正因为如此,学习和记忆功能一直是脑科学研究的重点。随着技术手段日臻完善,跨学科领域的研究逐渐增多,脑的学习记忆功能目前除受到心理学、行为学的关注外,神经生物学、生物化学、分子生物学等多门学科都加入了研究行列。从而对脑学习记忆功能的研究从细胞水平,突触水平至分子水平均获得了许多有价值的发现,促进了对其脑机制的进一步了解。神经颗粒素(Neurogranin,NG)就是新近发现的一种与学习记忆有关的脑特异性蛋白质,是1990年由Watson等首次发现并将其命名<sup>[1]</sup>。实验研究表明神经颗粒素参与了在学习记忆功能中起核心作用的脑内几种蛋白信号传导途径、长时程增强(Long-term potentiation,LTP)和长时程抑制(Long-term depression,LTD)等突触可塑性机制,因而它可能涉及学习记忆的形成和巩固。该物质的发现为大脑各种高级功能及其形成机制的研究提供了一个新的思路,在一定范围内受到国内外学者的关注。

## 1 神经颗粒素的结构及脑内分布特点

NG是一种含有78个氨基酸的蛋白质。大量研究表明NG是脑特异性的、突触后Ca<sup>2+</sup>敏感性调蛋白(calmodulin,CaM)结合蛋白<sup>[1-5]</sup>。它与调蛋白的亲合力除受到局部Ca<sup>2+</sup>浓度影响之外,还受到磷酸化作用和氧化作用的调节<sup>[3,5,6]</sup>。NG主要蛋白质结构中除包含用于与CaM结合和蛋白质激酶C(Protein kinase C,PKC)磷酸化的IQ序列外,还具有用于G<sub>β</sub>蛋白活化的位点<sup>[7]</sup>,并且通过基因测序已确定了NGIQ序列中的27个氨基酸肽(ILDIPLDDPGANAAAAKIQASFRGHMA)和C-末端序列中包含的13氨基酸肽(GARGGAGGGPSGD)<sup>[1]</sup>。有研究表明NG的IQ区域与免疫反应性C激酶底物B-50(bovine homolog neurogranin/B-50 immunoreactive C-kinase substrate,BICKS)、膜生长相关蛋白(the presynaptic 43-kDa growth-associated protein,GAP-43)和小脑高丰度肽(the small cerebellum-enriched peptide,PEP-19)所具有的IQ区域高度同源,因而把它们统称为Calpacitin蛋白家族。此外,形态学上的证据提示NG还存在一个突触后位点<sup>[1,8,9]</sup>。所以NG在脑中的功能作用是作为突触后PKC的底物,并有可能影响G<sub>β</sub>蛋白的GTP酶活性这一点已得到不少证据的支持。

收稿日期:2003-03-07

\* 中国科学院重点基金和国家自然科学基金以及中国科学院创新工程资助(KSCX2-2-03)。

\*\* 通讯作者:林文娟,E-mail:Linwj@psych.ac.cn

大量实验研究采用原位杂交、免疫组化的方法来考查 NG 在大鼠脑内的分布情况,结果发现,NG 主要分布在前脑皮质、纹状体、杏仁核和海马区域,尤其在海马 CA1 区和 CA3 区和齿状回的颗粒细胞层,NG 基因表达水平最高,而后脑和小脑区域则缺乏 NG 基因的表达<sup>[1~4,7,10]</sup>。此外,Martin 等研究还揭示 NG 在内侧丘脑的神经元中也有较高水平的表达<sup>[7]</sup>。在大鼠脑发育的不同阶段,NG 的结构分布会发生改变。成熟期大鼠 NG 主要分布在上述脑区锥形神经元的胞体和树突棘中,偶见于轴突和内囊区。

## 2 神经颗粒素与学习、记忆

学习和记忆属于高级神经活动或脑的高级功能,是高等动物和人类最具特色的生理特性之一。对于学习和记忆所涉及的脑结构、物质分子和神经机制已进行了大量的报道。对海马、神经递质及其受体、蛋白激酶和突触可塑性,尤其是长时程增强(Long-term potentiation, LTP)在学习记忆过程中的重要作用取得共识。近年来,围绕 NG 进行的实验研究发现,NG 与上述学习记忆的重要物质基础和神经机制有着密切的关系,使研究者开始对 NG 在学习记忆的脑机制中可能的生物学作用发生兴趣。

### 2.1 NG 与学习记忆相关的脑结构、信息分子

大量研究表明最有可能参与记忆痕迹形成的结构是海马、围嗅区皮质(perichinal cortex)、杏仁核、大脑皮层和小脑,其中海马由于其解剖位置和纤维联系的特点,作用尤为重要。有学者还提出海马、齿状回和下托在结构和功能上可视为一个整体,合称为海马结构<sup>[11]</sup>。而对神经系统结构和功能的可塑性研究所取得的显著进展,同样也揭示了神经系统的可塑性是学习和记忆的神经基础和行为适应性的生理基础。神经系统的可塑性包括神经网络、神经环路及突触连接等不同水平的可塑性,它在宏观上可以表现为脑功能(学习和记忆)、行为表现及精神活动的改变,微观上有神经元突触、神经环路的微细结构与功能变化。其中,突触连接是神经元之间信息传递的重要环节,是神经可塑性的关键部位,因此突触可塑性与学习和记忆密切相关。对于突触可塑性过程所涉及的重要信息分子已经进行了相当多的研究,结果表明,蛋白激酶在突触可塑性调控中起至关重要的作用。目前已公认的参与突触可塑性的激酶主要有丝氨酸苏氨酸激酶,如蛋白激酶 A (protein

kinase A, PKA)、PKC、Ca<sup>2+</sup>/钙调蛋白依赖性蛋白激酶 II (calcium-calmodulin-dependent kinase II, CaMK) 及酪氨酸蛋白激酶 TPk。作为学习、记忆重要的脑结构基础的海马是 PKC1 含量最丰富的区域之一<sup>[12]</sup>。还有大量的神经递质及其受体在突触效能传递中起重要作用,尤其是乙酰胆碱受体(AchR)和 N-甲基-D-天门冬氨酸受体(NMDAR),NMDAR 还被认为是学习和记忆的关键物质。近年来大量分子生物学研究还发现,学习记忆过程受到相关基因的调控,其中与学习记忆关系密切的主要是 C-fos、C-jun 两大家族<sup>[13~17]</sup>。这两大基因家族属于可被第二信使诱导的原癌基因,具有把短时程作用的细胞外信号和细胞功能的长时程改变偶联起来的效应<sup>[18~22]</sup>。如前所述,NG 基因在大鼠的大脑皮层、海马和杏仁核区域均高表达,而且主要表达在这些部位神经元的树突棘中。NG 基因高表达的这些部位是学习和记忆功能重要的脑结构基础,NG 基因主要在树突棘中表达则表明它可能参与突触可塑性的调节。同时,NG 还是大脑中 PKC 的突触后底物,与 -CaMK 具有相同的细胞分布方式,部分脑区中的 C-fos 表达与 NGmRNA 表达有一定的相关性<sup>[1,23]</sup>。此外,有研究还发现 NMDAR 活化可以诱导 NG 磷酸化作用增加<sup>[24,28,31]</sup>。这些证据均提示 NG 可能在学习和记忆功能中扮演一定的角色。国外研究者还通过对 NG 基因敲除鼠的研究,来获得 NG 与学习记忆相关的间接证据。Miyakawa 等研究发现,NG 基因敲除小鼠在健康状态、神经反射、感觉和运动方面表现正常,但在 Morris 迷宫任务中,小鼠在隐藏平台实验和在探索实验中不能表现出有选择地搜寻,在 Barnes 圆形迷宫(一种空间航向学习任务)中表现出转向方面的缺陷。NG 基因敲除小鼠在空间学习上表现出缺陷的发现支持 NG 在学习和记忆功能上扮演一定的角色<sup>[25]</sup>。Pak 等研究也发现小鼠 NG 基因的缺失并不导致明显的发育或神经解剖的异常,但可引起小鼠空间学习能力的损害和海马区短时程、长时程可塑性(突触疲劳、长时程增强的产生)的改变,并且还伴有活化的 CaMK 基础水平的下降。由于 -CaMK 是脑内含量最丰富的蛋白激酶,以海马和新皮质突触后神经元含量最高,并且具有自身磷酸化的特点,因而在信息传导中具有“开关样”(Switch-like)作用,被认为与长时记忆储存有关。所以 Pak 等的研究结果表明 NG 对 CaMK 活性调节的过程中扮演的关键角色,使其对突触可塑性和

空间学习能力产生决定性的影响<sup>[26]</sup>,NG与CaMK的交互作用有可能是由钙调蛋白所介导<sup>[27]</sup>。Wu等研究则发现NG基因敲除后,小鼠体内PKA、PKC下游磷酸化目标包括丝裂原活化蛋白激酶、核糖体S6激酶和cAMP反应性结合蛋白(the cAMP response element binding protein, CREB)明显减少,提示NG在调节PKC和PKA介导的信号传导途径中起关键的作用。由于CREB的活动在短时记忆过渡到长时记忆中起重要作用,因而小鼠表现出来的学习和记忆缺陷可能是NG基因敲除后CREB磷酸化的信号途径缺陷造成的<sup>[5]</sup>。

## 2.2 NG与LTP

LTP是一种发生在生物体海马区域的持续增强的突触联系,是用于研究突触可塑性的活化依赖性增强和哺乳类动物学习、记忆的模型,并且由于它延续时间长以及所涉及的相关成分,LTP已被用于考查记忆形成的神经机制。国外学者通过对神经颗粒素与LTP之间关系进行了大量的研究,以获得NG参与学习记忆过程潜在脑机制的证据,取得了有价值的发现。Fedorov等研究发现使用NG抗体能阻断海马CA1区神经元的长时程增强产生,提出NG与活化依赖性突触可塑性的机制有关<sup>[28]</sup>。Chen等研究证实在LTP的维持阶段,突触后PKC底物NG的磷酸化作用增加,而且NG磷酸化作用的持续增加需要蛋白激酶的不断活动,在LTP产生后使用蛋白激酶抑制剂H-7能翻转已增加的NG磷酸化作用。这些数据暗示NG是LTP过程中PKC的下游效应器,它有助于LTP的生理表达<sup>[29]</sup>。Rodriguez-Sanchez等研究表明NG磷酸化增加有助于增强和扩大钙调蛋白活动,因而提出NG参与了突触后信号传导和LTP过程的观点<sup>[30]</sup>。Ramakers等研究也发现LTP过程中颞区NG磷酸化作用增加,为LTP产生后突触后PKC活化提供了有力的证据<sup>[31、32]</sup>。此外,Ramakers等通过对PKC亚型敲除鼠研究还发现,缺乏PKC亚型的小鼠NG的磷酸化作用下降,提出这可能对小鼠空间学习缺陷和海马LTP有作用<sup>[33]</sup>。在LTP与NG存在的相关关系的这些研究发现进一步论证了NG可能在学习和记忆过程中起了重要的作用。

## 3 结语

从分子到行为各层次来探讨和阐明学习和记忆的脑高级功能机制,是脑研究可能获得重大突破的一个方向。NG作为一种新发现的脑特异性蛋白

质,在对学习记忆至关重要的海马、齿状回等脑结构中高度表达,并且在NG基因敲除后,动物会相应地出现学习记忆能力缺陷,说明NG可能是涉及学习和记忆过程的重要物质分子。分析近年来的研究进展,我们可以推断NG在学习记忆过程中可能通过以下几方面来发挥作用:作为突触后PKC的底物,通过蛋白质磷酸化作用来调节突触后神经递质受体如NMDAR的活性,而受体活化后又反过来促进NG磷酸化水平,形成正反馈机制,增强突触传递的效能;是学习记忆脑内蛋白信号传导通路中的几种重要的蛋白激酶(PKA, PKC, CaMK)下游目标,有可能是几种不同信号传导途径的汇聚点,磷酸化后影响细胞膜离子通道的状态,使神经细胞兴奋性增高,有利于信息的传导;通过使G<sub>i</sub>蛋白活化,激活第二信使系统,发挥生理作用;作为一种突触后的蛋白质,可能是LTP维持的物质基础,从而与长时记忆形成有关。综上所述,NG从发现到围绕其进行的与学习记忆关系的大量实验研究体现了对学习记忆脑机制研究的多学科的特点,使我们在学习记忆过程中涉及的物质分子和相关机制有了更进一步的了解,为以后的深入研究提供了新的视角。

## 参 考 文 献

- 1 Watson J B, Sutcliffe J G, Fisher R S. Localization of the protein kinase C phosphorylation/calmodulin-binding substrate RC3 in dendritic spines of neostriatal neurons. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1992, 89(18): 8581 ~ 8585
- 2 Houben M P, Lankhorst A J, van Dalen J J, et al. Pre- and postsynaptic localization of RC3/neurogranin in the adult rat spinal cord: an immunohistochemical study. *The Journal of Neuroscience Research*, 2000, 59(6): 750 ~ 759
- 3 Pak J H, Huang F L, Li J, et al. Involvement of neurogranin in the modulation of calcium/calmodulin-dependent protein kinase II, synaptic plasticity, and spatial learning: a study with knockout mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2000, 97(21): 11232 ~ 11237
- 4 Miyakawa T, Yared E, Pak J H, et al. Neurogranin null mutant mice display performance deficits on spatial learning tasks with anxiety related components. *Hippocampus*, 2001, 11(6): 763 ~ 775
- 5 Wu J, Li J, Huang K P, et al. Attenuation of protein kinase C and cAMP-dependent protein kinase signal transduction in the neurogranin knockout mouse. *The Journal of Biological Chemistry*, 2002, 277(22): 19498 ~ 19505
- 6 Gerendasy D. Homeostatic tuning of Ca<sup>2+</sup> signal transduction by members of the calpactin protein family. *The Journal of Neuroscience Research*, 1999, 58(1): 107 ~ 119

- 7 Neuner - Jehle M, Rhyner T A, Borbely A A. Sleep deprivation differentially alters the mRNA and protein levels of neurogranin in rat brain. *Brain Research*, 1995, 685(1 - 2) : 143 ~ 153
- 8 Gerendasy D D, Sutcliffe J G. RC3/ neurogranin, a postsynaptic calpacitin for setting the response threshold to calcium influxes. *Molecular Neurobiology*, 1997, 15(2) :131 ~ 163
- 9 Slemmon J R, Feng B, Erhardt J A. Small proteins that modulate calmodulin - dependent signal transduction: effects of PEP - 19, neuromodulin, and neurogranin on enzyme activation and cellular homeostasis. *Molecular Neurobiology*, 2000, 22(1 - 3) : 99 ~ 113
- 10 Neuner - Jehle M, Denizot J P, Mallet J. Neurogranin is locally concentrated in rat cortical and hippocampal neurons. *Brain Research*, 1996, 733(1) : 149 ~ 154
- 11 Han T Z, Wu F M. *Neurobiology of Learning and memory (in Chinese)*. 1<sup>st</sup> edition. Beijing Medical University and Peking Union Medical College Combined Press, 1998. 4  
(韩太真, 吴馥梅. 学习与记忆的神经生物学. 北京医科大学中国协和医科大学联合出版社, 1998. 4)
- 12 Duan W Z. Long - term potentiation and signaling molecules in learning and memory (in Chinese). *Chinese Pharmacological Bulletin*, 1998, 14(5) :387 ~ 390  
(段文贞. 长时程突触增强现象与学习记忆中信息分子的研究进展. *中国药理学通报*, 1998, 14(5) :387 ~ 390)
- 13 Tischmeyer W, Kaczmarek L, Strauss M, et al. Accumulation of c - fos mRNA in rat hippocampus during acquisition of a brightness discrimination. *Behavioral and Neural Biology*, 1990, 54: 165 ~ 167
- 14 Nikolaev E, Werka T, Kaczmarek L. C - fos protooncogene expression in rat brain after long - term training of two - way active avoidance reaction. *Behavioural Brain Research*, 1992, 48:91 ~ 94
- 15 Rose S P. How chicks make memories: the cellular cascade from c - fos to dendritic remodeling. *Neurotoxins*, 1991, 14:390 ~ 397
- 16 Nikolave, Tischmeyer W, Krug M, et al. c - fos protooncogene expression in rat hippocampus and entorhinal cortex following titanic stimulation of the perforant path. *Brain Research*, 1991, 560: 346 ~ 349
- 17 Dragunow M, Abraham W C, Goulding M, et al. Long - term potentiation and the induction of c - fos mRNA and proteins in the dentate gyrus of unanesthetized rats. *Neuroscience Letters*, 1989, 101: 274 ~ 280
- 18 Sebastiano C, Noam M, et al. Late memory - related genes in the hippocampus revealed by RNA fingerprinting. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1997, (94) : 9669 ~ 9673.
- 19 Heurteaux C, Messier C, Destrade C, et al. Memory processing and apamin induce immediate early gene expression in mouse brain. *Molecular Brain Research*, 1993, 18: 7 ~ 22
- 20 Morgan J I, Curran T. Stimulus transcription coupling in neuron: role of cellular immediate early genes. *Technical tips online*, 1989, 12: 459 ~ 462
- 21 Wisden W, Errington M L, Williams S, et al. Differential expression of immediate early genes in the hippocampus and spinal cord. *Neuron*, 1990, 4: 603 ~ 614
- 22 Anokhin K V, Ross S P R. Learning - induced increase of immediate early gene messenger RNA in the chick forebrain. *The European Journal of Neuroscience*, 1991, 3: 162 ~ 167
- 23 Ressler K J, Paschall G, Zhou X L, et al. Regulation of synaptic plasticity genes during consolidation of fear conditioning. *The Journal of Neuroscience*, 2002, 22(18) : 7892 ~ 7902
- 24 Li J F, Jhang Ho Pak, Freesia L, et al. N - Methyl - D - aspartate induces Neurogranin/ RC3 oxidation in rat brain slices. *The Journal of Biological Chemistry*, 1999, 274(3) : 1294 ~ 1330
- 25 Miyakawa T, Yared E, Pak J H, et al. Neurogranin null mutant mice display performance deficits on spatial learning tasks with anxiety related components. *Hippocampus*, 2001, 11(6) : 763 ~ 775
- 26 Pak J H, Huang F L, Li J, et al. Involvement of neurogranin in the modulation of calcium/calmodulin - dependent protein kinase II, synaptic plasticity, and spatial learning: a study with knockout mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2000, 97(21) : 11232 ~ 11237
- 27 Huang K P, Freesia L, Li J F, et al. Calcium - Sensitive interaction between calmodulin and modified forms of rat brain neurogranin/ RC3. *Biochemistry*, 2000, 39: 7291 ~ 7299
- 28 Fedorov N B, Pasinelli P, Oestreicher A B, et al. Antibodies to postsynaptic PKC substrate neurogranin prevent long - term potentiation in hippocampal CA1 neurons. *The European journal of neuroscience*, 1995, 7(4) : 819 ~ 822
- 29 Chen S J, Sweatt J D, Klann E. Enhanced phosphorylation of the postsynaptic protein kinase C substrate RC3/ neurogranin during long - term potentiation. *Brain Research*, 1997, 749(2) : 181 ~ 187
- 30 Rodriguez - Sanchez P, Tejero - Diez P, Diez - Guerra F J. Glutamate stimulates neurogranin phosphorylation in cultured rat hippocampal neurons. *Neuroscience Letters*, 1997, 221(2 - 3) : 137 ~ 140
- 31 Ramakers G M, De Graan P N, Urban I J, et al. Temporal differences in the phosphorylation state of pre - and postsynaptic protein kinase C substrates B - 50/ GAP - 43 and neurogranin during long - term potentiation. *The Journal of Biological Chemistry*, 1995, 270(23) : 13892 ~ 13898
- 32 Ramakers G M, Pasinelli P, van Beest M, et al. Activation of pre - and postsynaptic protein kinase C during tetraethylammonium - induced long - term potentiation in the CA1 field of the hippocampus. *Neuroscience Letters*, 2000, 286(1) : 53 ~ 56
- 33 Ramakers G M, Gerendasy D D, de Graan P N. Substrate phosphorylation in the protein kinase C gamma knockout mouse. *The Journal of Biological Chemistry*, 1999, 274(4) : 1873 ~ 1874

## INVOLVEMENT OF NEUROGRANIN IN MEMORY AND LEARNING

Li Huanhuan, Lin Wenjuan

(Brain - Behavior Research Center, Institute of Psychology, Chinese Academy of Sciences, Beijing, 100101 China)

### Abstract

Neurogranin (NG) is a brain - specific protein newly found, which is distributed in some areas of the brain, especially in the hippocampus which is considered as a very important structure involved in the process of learning and memory. Many studies on neurogranin have been performed to examine its biological functions, especially the relationship between neurogranin and learning, memory and gained some valuable findings. These findings showed that neurogranin was involved in the mechanism of synaptic plasticity, including several pathways of protein signal transduction in the brain, long - term potentiation and long - term depression, and NG knockout animals exhibited deficits in learning and memory. Therefore it may be involved in the formation and consolidation of learning and memory. This review attempts to introduce the related researches, which may be helpful to further understand the brain mechanism and related molecules underlying memory and learning.

**Key words** neurogranin, memory, learning.

## 沉痛悼念赵鸣九教授



赵鸣九教授,山东阳信人,中共党员,1923年11月出生。2003年6月24日因病逝世,享年81岁。赵先生1953年毕业于西北师范学院教育系,曾任西北师范大学教育科学研究所所长,中国心理学会和中国社会心理学会理事,甘肃省心理学会理事长,西北师范大学教育心理学硕士学位点的创始人。长期从事学习与教学心理学的研究和教学工作,在我国较早开展了民族心理学的研究工作。编、译著作10本,其中《心理学》获1988年国家教委高等学校优秀教材一等奖;《测量法》获1987年甘肃省社会科学一等奖,《大学心理学》为全国高校教师培训教材。所发表论文的代表作有《学习的实质与学习的理论》、《儿童心理发展的规律与提高教学质量问题》、《智力活动的实质与形成问题》、《探讨非智力因素在智力活动中的意义与作用》、《7-9岁汉、藏、东乡、保安、裕固族儿童语义理解的比较研究》、《汉、回、藏、东乡、保安族中学生自我意识发展的比较研究》、《跨文化心理测验的理论与方法》、《民族的社会心理特征及其测量》等。1987年获甘肃省高等学校教书育人奖;1991年被评为甘肃省优秀教师,获省园丁奖。

《心理学报》编辑部