

多巴胺转运体在精神兴奋剂依赖中的作用

吴光晓,苏瑞斌,李 锦

(军事医学科学院毒物药物研究所,北京 100850)

中国图书分类号:R-05;R 322.81;R 971.7;R 971.93;R 972.1;R 972.5

文献标识码:A 文章编号:1001-1978(2010)02-0141-03

摘要:精神兴奋剂是一类能够兴奋中枢和外周神经系统并容易产生依赖性的精神活性物质。大量研究表明,单胺类神经递质尤其是多巴胺在精神兴奋剂的行为效应和精神兴奋剂依赖过程中发挥重要作用,而多巴胺转运体控制着神经元内多巴胺的稳态和多巴胺神经通路的传递,因此多巴胺转运体在精神兴奋剂的奖赏和行为刺激效应中具有重要作用。

关键词:精神兴奋剂;精神活性物质;多巴胺;多巴胺转运体;依赖;奖赏

多巴胺在多种中枢神经系统功能如奖赏、认知、记忆、自发活动等过程中均具有重要作用^[1]。大量研究表明^[2]精神活性物质发挥奖赏作用主要是通过激活中脑腹侧被盖区(ventral tegmental area, VTA)至伏隔核的多巴胺能神经通路,促进多巴胺在神经通路中的传递。多巴胺转运体(dopamine transporter, DAT)是完成多巴胺重摄取的重要分子,决定着多巴胺的作用持续时间及其重摄取过程,维持着神经元内多巴胺的稳态。因此,DAT功能失调会导致脑内多巴胺平衡失调,从而引起帕金森病、精神分裂症及药物依赖等多种神经精神疾病^[3]。

1 精神兴奋剂的研究概况

精神兴奋剂是一类能够兴奋中枢和外周神经系统并容易产生依赖性的精神活性物质。精神活性物质依赖属于慢性脑疾病,表现为由偶尔用药逐渐过渡到强迫性用药的过程。这个过程伴随着一系列神经细胞特定的适应性反应,且该类反应能进一步反馈强化滥用者对滥用物质的依赖性^[4]。精神兴奋剂诱发的躯体依赖症状相对轻,在动物上不易观察,所以对其依赖机制的研究主要针对其精神依赖,现已深入到基因水平。

目前普遍认为^[3]精神兴奋剂产生奖赏效应并诱发依赖主要通过作用于DAT,调节多巴胺能神经信号传递通路,使

突触间隙中多巴胺的含量升高,促进多巴胺在中脑边缘皮层奖赏通路中持续发挥作用。依据其对DAT作用方式的不同,可以将精神兴奋剂分为“多巴胺重摄取抑制剂”和“促多巴胺释放剂”两类^[5]。多巴胺重摄取抑制剂如可卡因、哌甲酯等,通过结合DAT抑制多巴胺的重摄取,促进细胞外多巴胺的浓度升高;而促多巴胺释放剂如苯丙胺类物质则是DAT的底物,对DAT具有高亲和力,能够进入多巴胺能神经元取代内源性多巴胺,消耗囊泡内储存的多巴胺,并通过DAT逆向转运多巴胺,既能抑制多巴胺的重摄取,又能促进多巴胺释放^[6]。由此可见,DAT是精神兴奋剂发挥奖赏效应的基础。

2 DAT的研究概况

1991年几个研究小组首次克隆了编码DAT的基因,并且证实其与去甲肾上腺素转运体(norepinephrine transporter, NET)、5-羟色胺转运体(serotonin transporter, SERT)及抑制性神经递质 γ -氨基丁酸和甘氨酸转运体一样,均具有 Na^+/Cl^- 依赖性,即通过依赖 Na^+, K^+ -ATP酶维持的 Na^+ 浓度梯度转运神经递质。上述各种转运体均由12个跨膜区构成,在其第三~四跨膜区间有一个大的糖基化环,氨基和羧基末端在细胞内部^[7]。免疫标记研究证明DAT大多位于突触周围而不是突触前膜上,它是多巴胺能神经元的特定标记物,仅表达于合成多巴胺的神经元,其中在黑质和VTA表达水平最高;DAT能摄取多巴胺进入突触末梢,维持多巴胺循环并降低对新合成多巴胺的需求,进而保持多巴胺在神经元中的稳态^[8],另外,DAT也能转运去甲肾上腺素^[9]。最近几年发现^[7],DAT的功能受到多种蛋白的调节,如PKC、PICK1、hlc-5、synuclein、PP2A、syntaxin-RACK1、G-蛋白偶联受体以及DAT等。

3 DAT基因改变与动物行为变化

为更好地研究DAT与动物行为及精神兴奋剂作用机制的关系,目前已经通过改变DAT基因建立了若干种小鼠模型:①同源性DAT-KO小鼠;②异源性DAT-KO小鼠;③DAT-KD小鼠;④DAT-CI小鼠^[6]。

敲除DAT能破坏多巴胺的重摄取消除过程,使细胞外多巴胺的水平至少升高5倍,存在时间延长300倍;而且DAT敲除还影响着多巴胺受体的功能和表达,使完全敲除DAT的DAT-KO小鼠表现为基础活动明显增加,而精神兴奋剂不能进一步增加反而表现为降低其自发活动,这可能与5-羟色胺的抑制作用有关^[9,10]。有研究表明单独敲除DAT、NET、SERT 3个转运体中的任何一个都不能消除精神兴奋剂的奖赏效应;可卡因和苯丙胺不能升高纹状体中细胞外的多巴胺水平,但是能够升高伏隔核的多巴胺含量^[9],因此,在

收稿日期:2009-11-03,修回日期:2009-12-07

基金项目:国家重点基础研究发展计划(973计划)资助课题(No. 2009CB522000)

作者简介:吴光晓(1984-),男,硕士生,研究方向:神经精神药理学,Tel:010-66930635,E-mail:wgx.xx@163.com;
苏瑞斌(1973-),男,研究员,研究方向:神经精神药理学,Tel:010-66828341,E-mail:ruibinsu@126.com

本内放均能诱及形成条件性位置调发(CPP)行为[13]。精神兴奋剂能够在敲除 DAT 的小鼠上产生奖赏行为,可能有如下原因:一是非多巴胺神经系统参与了奖赏效应;二是敲除 DAT 的小鼠由于长期缺失 DAT 发生了适应性改变,使更多的单胺类神经递质及其转运体参与到精神兴奋剂的奖赏效应中[13]。

为了尽量减少敲除 DAT 基因后发生的适应性改变对药物作用产生的影响,一些实验室制备了对可卡因不敏感的 DAT 小鼠(DAT-CI)、DAT 基因敲减小鼠(DAT-KD)及异源性 DAT-KO 小鼠等。DAT-CI 小鼠表达的 DAT 对可卡因敏感性降低 50 余倍,在该小鼠上,可卡因表现为抑制小鼠的自发活动。此外,可卡因($5 \sim 20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)能够稳定诱发野生型小鼠形成 CPP,但是不能诱发 DAT-CI 小鼠形成 CPP[14];相反,苯丙胺能够诱发该小鼠形成 CPP,表明 DAT-CI 小鼠的奖赏通路具有功能依赖性,而且该品系小鼠能够感受到精神兴奋剂的奖赏效应[14];这些研究结果也提示抑制 DAT 是可卡因作用于功能性多巴胺受体系统并发挥奖赏效应的关键[15]。DAT-KD 小鼠与野生型小鼠相比仅具有 10% 的 DAT 活性,异源性 DAT-KO 小鼠的 DAT 活性则降低至野生鼠的 50%,可卡因能够诱发这两种小鼠高活动性,也可以诱发其形成 CPP,表明 DAT 的表达和功能降低至正常的 10% ~ 50% 并不会引起适应性改变进而破坏可卡因的作用,也提示 10% 的 DAT 活性就足以维持机体许多正常功能[6]。

4 精神兴奋剂对 DAT 功能和表达的影响

精神兴奋剂对 DAT 的功能和表达有什么影响?这些影响对精神兴奋剂依赖所起的作用又是什么?有研究报道,在表达 hDAT 的 HEK-293 细胞上用可卡因($10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)孵育 10 min, [^3H]-DA 的摄取量增加了 30%, DAT 在细胞表面的表达也明显增加。一次性给予大鼠可卡因($30 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), 30 min 后取伏隔核突触体,结果表明其重摄取 [^3H]-DA 的 V_{max} 增加了 56%, 但 K_m 没有改变[16]。在稳定转染 hDAT 的 N2A 细胞,用可卡因($1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)孵育 3 h 后 DAT 的功能明显增强,但 DAT 总蛋白和 mRNA 量并没有改变[17]。可卡因作用早期能阻断 DAT 并抑制其功能,但是其后 DAT 的功能和表达均增强,原因可能是可卡因促进 DAT 由胞质转运至胞膜上,促进了多巴胺的重摄取[8]。而苯丙胺的作用与可卡因相反,一次给予苯丙胺($15 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)或体外孵育纹状体突触体 30 min,均能剂量依赖性地下调 DAT 的功能[24];每隔 2 h,连续 4 次给予甲基苯丙胺($10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)也能下调 DAT 的功能,但 24 h 后 DAT 的功能均恢复正常。用苯丙胺($3 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)孵育大鼠纹状体突触体 1 min 就能明显增加细胞表面 DAT 的表达,孵育 30 min 后 DAT 的表达降低[18],这可能与苯丙胺促进细胞膜上 DAT 的内吞有关[9]。此外,苯丙胺对 DAT 的作用可能与脑区和给药方式的不同有关,用苯丙胺预处理大鼠 15 min 后,背侧纹状体突触体 [^3H]-DA 重摄取速度明显降低,而伏隔核突触体 [^3H]-DA 的重摄取则没有明显变化;全身给予苯丙胺 45 min 后, [^3H]-DA 重摄取速度在两个脑区内都明显降低[19]。

多,但报道不一。例如许多研究表明,可卡因连续给药 7 d 或 10 d 后, DAT 的密度均未发生变化;而连续给药 15 d, 停药 2 wk 后,伏隔核中 DAT 密度降低。另有研究表明[20],可卡因连续给药 7 d 并戒断 10 d 或形成可卡因自身给药并戒断 10 d 后,伏隔核中 DAT 的密度升高;自身给药模型建立后戒断 21 d,尾壳核和伏隔核中 DAT 功能增强,尾壳核膜表面 DAT 结合位点增多。这些研究表明 DAT 密度的改变仅发生在连续给予可卡因并戒断一段时间后,且这种变化具有脑区特异性。在恒河猴实验中,可卡因处理时间的长短是其影响 DAT 表达和功能的重要因素,短期自身给药(5 d 或 3 mon)导致尾壳核 DAT 密度的降低,但长期自身给药(1.5 年)则使伏隔核和纹状体 DAT 密度升高。在人体中发现[21]使用可卡因的患者纹状体中 DAT 结合位点较正常人群明显增高,致命剂量的可卡因也能够导致尾壳核和伏隔核中 DAT 结合位点增多。

5 DAT 结合量与可卡因药理作用的相关性

神经影像学研究发现,在可卡因滥用者上, DAT 的结合量与给予可卡因后的主观效应或行为刺激非常相关,静脉注射滥用剂量的可卡因,可结合 60% ~ 77% 的 DAT 位点;可卡因滥用者在感受可卡因的奖赏效应时至少需要结合 47% 的 DAT[22]。在狒狒上,使用人类常用剂量的可卡因能够占据 67% ~ 69% 的 DAT 结合位点,而在恒河猴自身给药实验中,保持高反应速率的可卡因的剂量能占据达到 65% ~ 76% 的 DAT[11]。这些结果表明,多巴胺转运体的结合情况对可卡因的强化效应起着重要作用。

6 DAT 抑制剂与精神兴奋剂依赖治疗

过去二十年中,研究者对精神兴奋剂依赖治疗已从多角度多学科进行了大量的研究。目前此类研究主要立足于可卡因依赖的治疗,对其他精神兴奋剂如苯丙胺类药物依赖的研究较少,而且仍未找到有效的治疗药物[21]。

用美沙酮替代治疗海洛因依赖及用尼古丁替代治疗烟草滥用的替代疗法让研究者看到了希望,他们试图用 DAT 抑制剂替代治疗精神兴奋剂依赖。研究发现[23],选择性 DAT 抑制剂 RTI-113、RTI-177、GBR12909 均能够剂量依赖性降低可卡因诱发恒河猴形成的自身给药, RTI-177 和 GBR12909 能占据 70% 左右的 DAT[11]。选择性结合 DAT 的可卡因衍生物 phenyltropane 在抑制可卡因自身给药的剂量下则能占据 72% ~ 84% 的 DAT 结合位点。相反, DAT 和 SERT 混合抑制剂 RTI-112 在抑制可卡因自身给药的剂量下对 DAT 的占据水平较低,但对 SERT 的结合水平很高,由此可推测对 DAT 选择性越高的药物,其抑制可卡因自身给药需要结合 DAT 的水平就越高;但同时其本身的滥用倾向也越高,如 RTI-113、GBR12909 均能够替代可卡因维持恒河猴的自身给药,但反应率比可卡因诱发的低,而 RTI-112 在任何动物上均未表现出强化效应[11]。因此,选择性 DAT 抑制剂在精神兴奋剂依赖的替代治疗中有一定的前景,但需要尽可能降低其本身的滥用倾向;另外,发展双向抑制 DAT 和 SERT 化合物对治疗精神兴奋剂依赖前景较好。

基于以上论述, DAT 在精神兴奋剂的作用和作为刺激效应中具有重要作用。急慢性给予精神兴奋剂对 DAT 的功能和表达量均有不同的影响,说明 DAT 在精神兴奋剂依赖的不同阶段发挥不同的作用;对精神兴奋剂的治疗应继续以多靶点研究为主,寻找更为有效的治疗药物或方法。选择性 DAT 抑制剂在精神兴奋剂依赖的替代治疗中有一定的前景,但需要尽可能降低其本身的滥用倾向,如有研究报道^[11,23],修饰 DAT 抑制剂结构减慢其代谢速度可以降低其滥用倾向并发挥抗精神兴奋剂依赖作用;另外,发展双向抑制 DAT 和 SERT 化合物对治疗精神兴奋剂依赖前景较好。

参考文献:

[1] Iversen S D, Iversen L L. Dopamine; 50 years in perspective [J]. *Trends Neurosci*, 2007, **30**(5): 188-93.

[2] Camí J, Farre M. Drug Addiction [J]. *N Engl J Med*, 2003, **349**(10): 975-86.

[3] Riddle E L, Fleckenstein A E, Hanson G R. Role of monoamine transporters in mediating psychostimulant effects [J]. *AAPS J*, 2005, **7**(4): 847-51.

[4] 文睿婷, 梁建辉. 精神活性物质与 DNA 甲基化 [J]. *中国药理学通报*, 2008, **24**(8): 996-9.

[4] Wen R T, Liang J H. Psychoactive substances and DNA methylation [J]. *Chin Pharmacol Bull*, 2008, **24**(8): 996-9.

[5] Izenwasser S. The role of the dopamine transporter in cocaine abuse [J]. *Neurotox Res*, 2004, **6**(5): 379-83.

[6] Tiller M R, Cagniard B, Zhuang X, et al. Cocaine reward and locomotion stimulation in mice with reduced dopamine transporter expression [J]. *BMC Neurosci*, 2007, **8**: 42.

[7] Torres G E. The dopamine transporter proteome [J]. *J Neurochem*, 2006, **97**(Suppl 1): 3-10.

[8] 刘英姿, 刘洁, 周宏灏. 帕金森病药物治疗的遗传药理学研究进展 [J]. *中国药理学通报*, 2009, **25**(10): 1269-72.

[8] Liu Y Z, Liu J, Zhou H T. Advances in pharmacogenetics of anti-Parkinson's drugs treatment [J]. *Chin Pharmacol Bull*, 2009, **25**(10): 1269-72.

[9] Torres G E, Gainetdinov R R, Caron M G. Plasma membrane monoamine transporter: structure, regulation and function [J]. *Nat Rev Neurosci*, 2003, **4**(1): 13-25.

[10] Gainetdinov R R. Dopamine transporter mutant mice in experimental neuropharmacology [J]. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 2008, **377**(4-6): 301-13.

tion development [J]. *Exp Clin Psychopharmacol*, 2006, **18**(5): 446-57.

[12] Sora I, Wichems C, Takahashi N, et al. Cocaine reward models: conditioned place preference can be established in dopamine and in serotonin-transporter knockout mice [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, **95**(13): 7699-704.

[13] Shen H W, Hagino Y, Kobayashi H, et al. Regional differences in extracellular dopamine and serotonin assessed by *in vivo* microdialysis in mice lacking dopamine and/or serotonin transporters [J]. *Neuropsychopharmacology*, 2004, **29**(10): 1790-9.

[14] Chen R, Tilley M R, Wei H, et al. Abolished cocaine reward in mice with a cocaine-insensitive dopamine transporter [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, **103**(24): 9333-8.

[15] Tilley M R, O'Neill B, Han D D, Gu H H. Cocaine does not produce reward in absence of dopamine transporter inhibition [J]. *NeuroReport*, 2009, **20**(1): 9-12.

[16] Daws L C, Callaghan P D, Moron J A, et al. Cocaine increases dopamine uptake and cell surface expression of dopamine transporters [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2002, **290**(5): 1545-50.

[17] Little K Y, Elmer L W, Zhong H, et al. Cocaine induction of dopamine transporter trafficking to the plasma membrane [J]. *Mol Pharmacol*, 2002, **61**(2): 436-45.

[18] Furman C A, Chen R, Guptaroy B, et al. Dopamine and amphetamine rapidly increase dopamine transporter trafficking to the surface: live-cell imaging using total internal reflection fluorescence microscopy [J]. *J Neurosci*, 2009, **29**(10): 3328-36.

[19] Sandoval V, Riddle E L, Ugarte Y V, et al. Methamphetamine-induced rapid and reversible changes in dopamine transporter function: an *in vitro* model [J]. *J Neurosci*, 2001, **21**(4): 1413-9.

[20] Samuvel D J, Jayanthi L D, Manohar S, et al. Dysregulation of dopamine transporter trafficking and function following abstinence from cocaine self-administration in rats: evidence for differential regulation in caudate-putamen and nucleus accumbens [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2008, **325**: 293-301.

[21] Howell L L, Kimmel H L. Monoamine transporters and psychostimulant addiction [J]. *Biochem Pharmacol*, 2008, **75**(1): 196-217.

[22] Volkow N D, Wang G J, Fischman M W, et al. Relationship between subjective effects of cocaine and dopamine transporter occupancy [J]. *Nature*, 1997, **386**(6627): 827-30.

[23] Howell L L, Wilcox K M. The dopamine transporter and cocaine medication development: drug self-administration in nonhuman primates [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2001, **298**(1): 1-6.

The role of dopamine transporter in psychostimulant dependence

WU Guang-xiao, SU Rui-bin, LI Jin

(Institute of Pharmacology & Toxicology, Academy of Military Medical Science, Beijing 100850, China)

Abstract: Psychostimulant is a type of psychoactive substances that stimulate central and peripheral nervous system as well as induce drug dependence. A series of studies indicate that monoamine especially dopamine plays an important role in behavior and drug dependence, moreover, dopamine transporter (DAT)

controls homeostasis of dopamine in neuron and transmission of dopamine pathways. Thus DAT might play an important role in the reward and behavioral stimulation of psychostimulant.

Key words: psychostimulant; psychoactive substance; dopamine; DAT; dependence; reward