

象,采用队列研究方法构建预测效能良好的多参数风险预测模型或评分工具,其数据获取简单可靠易行,并具有良好的成本效益分析结果,是各国糖尿病防控机构和研究人员努力的方向。

参考文献

[1] 中华医学会糖尿病学分会. 中国 2 型糖尿病防治指南(2013 版) [J]. 中国糖尿病杂志, 2014, 22(7): 447-498.

[2] Gillies CL, Abrams KR, Lambert PC, et al. Pharmacological and lifestyle interventions to prevent or delay type 2 diabetes in people with impaired glucose tolerance: systematic review and meta-analysis[J]. BMJ, 2007, 334(7588): 299.

[3] American diabetes association. Classification and diagnosis of diabetes[J]. Diabetes Care, 2015, 38(Suppl 1): S8-16.

[4] Noble D, Mathur R, Dent T, et al. Risk models and scores for type 2 diabetes: systematic review[J]. BMJ, 2011, 343: d7163.

[5] Buijsse B, Simmons RK, Griffin SJ, et al. Risk assessment tools for identifying individuals at risk of developing type 2 diabetes[J]. Epidemiol Rev, 2011, 33(1): 46-62.

[6] Abbasi A, Peelen LM, Corpeleijn E, et al. Prediction models for risk of developing type 2 diabetes: systematic literature search and independent external validation study[J]. BMJ, 2012, 345: e5900.

[7] American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus[J]. Diabetes Care, 2013, 33(Suppl 1): S67-74.

[8] World Health Organization. Use of glycated haemoglobin(HbA1c) in the diagnosis of diabetes mellitus; abbreviated report of a WHO consultation[J]. Geneva, WHO, 2011; 1-15.

[9] Stern MP, Williams K, Haffner SM. Identification of persons at high risk for type 2 diabetes mellitus; do we need the oral glucose tolerance test? [J]. Ann Intern Med, 2002, 136(8): 575-581.

[10] McNeely MJ, Boyko EJ, Leonetti DL, et al. Comparison of a clinical model, the oral glucose tolerance test, and fasting glucose for prediction of type 2 diabetes risk in Japanese Americans[J]. Diabetes Care, 2003, 26(3): 758-763.

[11] Lindström J, Tuomilehto J. The diabetes risk score: a practical tool to predict type 2 diabetes risk[J]. Diabetes Care, 2003, 26(3): 725-731.

[12] Schulze MB, Hoffmann K, Boeing H, et al. An accurate risk score based on anthropometric, dietary, and lifestyle factors to predict the development of type 2 diabetes[J]. Diabetes Care, 2007, 30(3): 510-515.

[13] Schmidt MI, Duncan BB, Bang H, et al. Identifying individuals at high risk for diabetes: the atherosclerosis risk in communities

study[J]. Diabetes Care, 2005, 28(8): 2013-2018.

[14] Kengne AP, Beulens JW, Peelen LM, et al. Non-invasive risk scores for prediction of type 2 diabetes (EPIC-InterAct): a validation of existing models[J]. Lancet Diabetes Endocrinol, 2014, 2(1): 19-29.

[15] Wilson PW, Meigs JB, Sullivan L, et al. Prediction of incident diabetes mellitus in middle-aged adults: the framingham offspring study[J]. Arch Intern Med, 2007, 167(10): 1068-1074.

[16] Aekplakorn W, Bunnag P, Woodward M, et al. A risk score for predicting incident diabetes in the Thai population[J]. Diabetes Care, 2006, 29(8): 1872-1877.

[17] Schulze MB, Weikert C, Pischon T, et al. Use of multiple metabolic and genetic markers to improve the prediction of type 2 diabetes: the EPIC-Potsdam Study[J]. Diabetes Care, 2009, 32(11): 2116-2119.

[18] Morris AP, Voight BF, Teslovich TM, et al. Large-scale association analysis provides insights into the genetic architecture and pathophysiology of type 2 diabetes[J]. Nat Genet, 2012, 44(9): 981-990.

[19] Lyssenko V, Jonsson A, Almgren P, et al. Clinical risk factors, DNA variants, and the development of type 2 diabetes[J]. N Engl J Med, 2008, 359(21): 2220-2232.

[20] Meigs JB, Shrader P, Sullivan LM, et al. Genotype score in addition to common risk factors for prediction of type 2 diabetes[J]. N Engl J Med, 2008, 359(21): 2208-2219.

[21] Bao W, Hu FB, Rong S, et al. Predicting risk of type 2 diabetes mellitus with genetic risk models on the basis of established genome-wide association markers: a systematic review[J]. Am J Epidemiol, 2013, 178(8): 1197-1207.

[22] Wang TJ, Larson MG, Vasan RS, et al. Metabolite profiles and the risk of developing diabetes[J]. Nat Med, 2011, 17(4): 448-453.

[23] Floegel A, Stefan N, Yu Z, et al. Identification of serum metabolites associated with risk of type 2 diabetes using a targeted metabolomic approach[J]. Diabetes, 2013, 62(2): 639-648.

[24] Chien K, Cai T, Hsu H, et al. A prediction model for type 2 diabetes risk among Chinese people[J]. Diabetologia, 2009, 52(3): 443-450.

[25] Ye X, Zong G, Liu X, et al. Development of a new risk score for incident type 2 diabetes using updated diagnostic criteria in middle-aged and older Chinese[J]. PLoS One, 2014, 9(5): e97042.

(收稿日期: 2015-06-25)

• 综 述 •

丝氨酸消旋酶及 D 构象氨基酸氧化酶与精神分裂症的研究进展*

平军娇, 杜宝国, 蒋廷云, 吴 勇, 沈玉双 综述, 高永双 审校
(中山市第三人民医院, 广东中山 528400)

关键词: 丝氨酸消旋酶; D-型氨基酸氧化酶; 精神分裂症

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2015.18.040

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2015)18-2713-03

长期以来, 一直认为组成人类蛋白质的氨基酸为 L-氨基酸, D-氨基酸只在细菌和无脊椎动物内合成。2002 年 Fujii^[1]

* 基金项目: 广东省中山市科技计划项目(NO. 2014A1FC070)。

作者简介: 平军娇, 女, 检验师, 主要从事神经分子遗传学研究。

研究报道显示,研究者将质谱和气相色谱技术应用于手性氨基酸检测和分离,发现在高等动物中枢神经系统中存在区域性的高浓度的内源性 D-丝氨酸(D-Ser)。D-Ser 主要分布于哺乳动物的前脑区,存在于哺乳动物脑内灰质区中突触旁边的 II 型星形胶质细胞内,为胶质细胞释放的神经递质,作用于 N-甲基天冬氨酸(NMDA)受体,引起中枢神经系统中信号的传导^[2-3],在突触可塑性、学习和记忆等方面起重要作用,其合成与代谢依赖于丝氨酸消旋酶(SR)和 D-型氨基酸氧化酶(DAO)。

精神分裂症是一种至今病因未明的重型精神疾病,随着分子生物学技术和遗传学数据分析方法的发展,对精神分裂症的遗传学研究日趋聚集于致病基因的定位克隆及基因的表达和功能的研究方面。据遗传学研究发现,精神分裂症发病机制是体内多个致病基因共同蓄积的结果^[4]。近几年,对 SR 及 DAO 的研究成为精神分裂症研究的热点之一。

1 SR 的结构与作用

在 1999 年 Wolosker 等首次从大鼠脑内分离纯化出 SR,该酶的发现为内源性 D-Ser 的产生提供了很好的解释,之后 Snyder 等通过分析丝氨酸的结构和检索基因库得出该酶的 cDNA,并在体外进行了表达,在体外培养细胞内合成了 D-Ser。SR 是一种相对分子质量为 37×10^3 的可溶性蛋白,包含 1 020 bp,编码 340 个氨基酸,属于 II 型 5'-磷酸吡哆醛酶系,结构类似于细菌的丝/苏氨酸水解酶,在三磷酸腺苷(ATP)和镁离子(Mg^{2+})的辅助下,能专一性地催化 L-丝氨酸转化为 D-Ser,所以命名为丝氨酸消旋酶。在 2000 年 De Miranda 等^[5]首次克隆出人类的 sr 基因,染色体定位发现存在于人类 17q13.3,含 7 个外显子及 6 个内含子。SR 是一种保守性的酶,与鼠体内的序列比对发现同源性高达 88%,而酶活性比较低,对 L-丝氨酸(L-Ser)有高度选择性,SR 酶的活性随磷酸吡哆醛(PLP)的去除而消失,添加而恢复。

2009 年赵勇山等^[6]利用同源建模和分子动力学模拟方法构建了人类丝氨酸消旋酶(hSR)的三维结构模型,并采用 Pro-file-3D 和 ProCheck 方法评估了模型的可靠性。hSR 的三维结构中含有 14 个 α 螺旋,10 个 β 折叠和 11 个 β 转角,见图 1。



图 1 hSR 的三维结构模型

大量研究显示 D-Ser 及其代谢相关的酶基因与精神分裂症的病理生理过程密切相关。2007 年 Morita 等^[7]研究发现, sr 基因变异与精神分裂症具有相关性,随后大量研究也发现 sr 基因与精神分裂症密切相关^[8-11]。

2 DAO 的结构与作用

DAO 是一种以黄素腺嘌呤(FAD)为辅基的典型黄素蛋白酶类,氧化 D-氨基酸的氨基生成酮酸和氨。自 1935 年 Krebs

等首次从猪肾脏中检测到 DAO 之后,陆续有研究人员从哺乳动物、藻类及真菌等多种生物体内发现该酶。DAO 对催化反应底物有高度的立体异构选择性和广谱性,目前可应用于许多方面。不同来源的 DAO 其结构具有差异性,来源于人类的 DAO 由 347 个氨基酸组成,基因长度为 1 041 bp,相对分子质量为 38.4×10^3 ,由二聚体组成,活性部位为 Y224、Y228、R283、G313 及 Q53,对中性 D-氨基酸的活力最强,对碱性 D-氨基酸的活力较弱,最适反应 pH 为 6.5~8.5,在 30 °C 左右能保持活力至少 2 h^[12]。

虽然高等生物体内的 DAO 很早就被发现并分离,但对其生理学作用的研究却一直处于瓶颈期。在体外实验中,DAO 能有效地作用于 D-氨基酸;最近几年也逐步阐明其在体内不仅具有代谢 D-氨基酸的作用,在大脑的代谢过程中也起到重要作用,但由于其复杂的代谢过程,许多生理方面的作用机制还有待进一步的研究。

D-氨基酸在新陈代谢中的重要作用现在已被证实,即在脑组织、血清条件和脊髓液中浓度的变化反映了各种病理变化情况。一些精神疾病,如精神分裂症及阿尔茨海默症都会导致血清、脑蛋白、脑灰质及脊髓液中 D-氨基酸,如 D-Ser、D-丙氨酸(D-Ala)、D-天冬酰胺(D-Asn)等浓度发生较大的变化。分析测定健康及病理条件下 D-氨基酸水平为诊断和检测这些疾病提供了依据。因此,利用 DAO 检测 D-氨基酸水平及测定体内 DAO 水平可以对疾病早期诊断和疾病控制发挥重要作用。脑组织内 DAO 的浓度鉴定及利用 DAO 对 D-氨基酸的监测促使了针对 DAO 多种抑制剂的研究,目前已经研发出了多种抗精神药物作用的物质,其中有些药物在动物模型体内已经得到验证^[13]。随着研究的深入,以大鼠作为研究对象,加入外源 DAO,并运用酶抑制剂,可使大鼠脑皮质和中脑中的 D-Ser 明显增加并趋于恢复正常^[14]。

近年来,遗传学研究表明染色体 13q22-34 区域的基因与精神分裂症连锁^[15]。而目前越来越多的研究显示位于染色体 13q33 位的 D-氨基酸氧化酶激活剂(DAOA)基因与精神分裂症明显相关^[16]。而己知 DAOA 蛋白可以与位于染色体 12q24 的编码 DAO 的基因相互作用,通过 NMDA 受体途径来调节谷氨酸能神经递质系统。在以往的报道中,Shi 等^[17]在亚洲和欧洲人群中发现了 dao 基因与精神分裂症明显相关。

DAO 在哺乳动物中枢神经系统和周围组织中发挥着促进中性 D-氨基酸氧化去氨基的作用,研究者认为 DAO 在 D-Ser 的代谢过程中发挥着重要作用。D-Ser 由肝脏合成后释放入血,随血液循环到达肾脏,在肾近端小管直部通过钠离子(Na^+)梯度形成的不同渗透压重吸收。重吸收 D-Ser 的细胞中含有大量的 DAO,催化其代谢,DAO 催化 D-Ser 生成羟基丙酮酸,然后羟基丙酮酸重新进入糖酵解或糖异生途径用于正常的新陈代谢。

2007 年 Bendikov^[18]等对精神分裂症、重度抑郁和双相精神障碍患者的额叶皮质和海马区域的 SR 和 DAO 蛋白表达情况进行研究发现,与健康人相比精神分裂症、重度抑郁和双相精神障碍患者额叶皮质和海马区域的 SR 分别减少 39% 和 21%,在额叶皮质 DAO 无变化,而在海马 DAO 蛋白明显增加。李悦等^[19]在 2010 年研究发现,在西安地区 dao 基因的多态性与精神分裂症具有相关性。Ohnuma 等^[20]在日本对 340 例健康人和 340 例精神分裂症患者采用病例对照研究,结果发现 DAO 单体型与精神分裂症存在关联。Corvin 等^[21]在爱尔兰人群中的研究也发现 dao 基因与精神分裂症密切相关。

3 展 望

近年来,随着对精神分裂症研究的深入,SR 及 DAO 在医学及药品方面的应用前景已逐步被人们认识。因此,运用分子生物学的方法,对 sr 及 dao 基因进行克隆、表达,以及通过定点突变或基因重组产生更符合人类需要的酶类。目前已有研究者通过结构解析及定点突变等方法明确了 DAO 的催化机理并进行合理改造以期获得适用于生产应用的酶蛋白。希望在不久的将来,能作为成熟的抗精神病药物用于临床治疗中,并作为 D-氨基酸解毒剂在医药行业发挥更重要的作用。

自 Hashimoto 等^[22]在 1992 年首次报道了在哺乳动物中存在 D-Ser 以来,研究发现包括人类在内的哺乳动物在中枢神经系统存在区域性的高浓度 D-Ser^[23-24]。此外,有研究表明 D-Ser 具有比甘氨酸更强的激活效能^[25]。D-Ser 的发现不仅对神经递质的传统观念提出了挑战,而且为 NMDA 受体过度兴奋和下调所致的急性神经系统疾病提供了一种新的治疗途径。因此 D-Ser 与精神分裂症的关系也受到越来越多的关注。D-Ser 在中枢神经系统中主要由 SR 经 L-Ser 直接消旋而来,最终被 DAO 氧化。sr 和 dao 基因是精神分裂症的两个易感基因,可能是通过 SR 和 DAO 对 D-Ser 作用来激活或削弱 NMDA 受体活性而致病的。目前国内外研究学者渐渐开始对 SR 及 DAO 的结构及其抑制剂的抑制作用机制展开研究。总之,SR 及 DAO 可为临床上治疗 NMDA 受体过度活化引起的急性神经及精神疾病提供一种新的治疗靶点。

参考文献

[1] Fujii N. D-amino acids in living higher organisms[J]. *Orig Life Evol Biosph*, 2002, 32(2): 103-127.

[2] Schell MJ, Brady RO Jr, Molliver ME, et al. D-serine as a neuro-modulator: regional and developmental localization in rat brain glia resemble NMDA receptors[J]. *J Neurosci*, 1997, 17(5): 1604-1615.

[3] Wolosker H, Panizzutti R, De Miranda J. Neurobiology through the looking-glass: D-serine as a new glial-derived transmitter[J]. *Neurochem Int*, 2002, 41(5): 327-332.

[4] O'Donovan MC, Craddock N, Norton N, et al. Identification of loci associated with schizophrenia by genome-wide association and follow-up[J]. *Nat Genet*, 2008, 40(9): 1053-1055.

[5] De Miranda J, Santoro A, Engelender S, et al. Human serine racemase: molecular cloning, genomic organization and function analysis[J]. *Gene*, 2000, 256(1/2): 183-188.

[6] 赵勇山, 郑清川, 张红星, 等. 人类丝氨酸消旋酶的同源建模及其与多肽类抑制剂的分子对接[J]. *物理化学学报*, 2009, 25(3): 417-422.

[7] Morita Y, Ujike H, Tanaka Y, et al. A genetic variant of the serine racemase gene is associated with schizophrenia[J]. *Biol Psychiatry*, 2007, 61(10): 1200-1203.

[8] Balu DT, Li Y, Puhl MD, et al. Multiple risk pathways for schizophrenia converge in serine racemase knockout mice, a mouse model of NMDA receptor hypofunction[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2013, 110(26): E2400-2409.

[9] Balu DT, Basu AC, Corradi JP, et al. The NMDA receptor co-agonists, D-serine and glycine, regulate neuronal dendritic architecture in the somatosensory cortex[J]. *Neurobiol Dis*, 2012, 45(2): 671-

682.

[10] DeVito LM, Balu DT, Kanter BR, et al. Serine racemase deletion disrupts memory for order and alters cortical dendritic morphology[J]. *Genes Brain Behav*, 2011, 10(2): 210-222.

[11] Labrie V, Fukumura R, Rastogi A, et al. Serine racemase is associated with schizophrenia susceptibility in humans and in a mouse model[J]. *Hum Mol Genet*, 2009, 18(17): 3227-3243.

[12] 郭皎洁, 薛永常, 徐书景, 等. D-氨基酸氧化酶研究进展[J]. *中国生物工程杂志*, 2010, 30(11): 106-111.

[13] Willams M. Commentary: genome-based CNS drug discovery: d-Amino acid oxidase (DAAO) as a novel target for antipsychotic medications: progress and challenges [J]. *Biochem Pharmacol*, 2009, 78(11): 1360-1365.

[14] Almond SL, Fradley RL, Armstrong EJ, et al. Behavioral and biochemical characterization of a mutant mouse strain lacking D-amino acid oxidase activity and its implications for schizophrenia[J]. *Mol Cell Neurosci*, 2006, 32(4): 324-334.

[15] Levinson DF, Holmans PH, Straub RE, et al. Multicenter linkage study of schizophrenia candidate regions on chromosomes 5q, 6q, 10p, and 13q: schizophrenia linkage collaborative group III [J]. *Am J Hum Genet*, 2000, 67(3): 652-663.

[16] Chumakov I, Blumenfeld M, Guerassimenko O, et al. Genetic and physiological data implicating the new human gene G72 and the gene for D-amino acid oxidase in schizophrenia[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99(21): 13657-13680.

[17] Shi J, Badner JA, Gershon ES, et al. Allelic association of G72/G30 with schizophrenia and bipolar disorder: a comprehensive meta-analysis[J]. *Schizophr Res*, 2008, 98(1/3): 89-97.

[18] Bendikov I, Nadri C, Amar S, et al. A CSF and postmortem brain study of D-serine metabolic parameters in schizophrenia [J]. *Schizophr Res*, 2002, 99(1/3): 41-51.

[19] 李悦, 陈元堂, 胡江, 等. D-氨基酸氧化酶基因多态性与精神分裂症的关联研究[J]. *南方医科大学学报*, 2010, 30(9): 2142-2147.

[20] Ohnuma T, Shibata N, Maeshima H, et al. Association analysis of glycine-and serine-related genes in a Japanese population of patients with schizophrenia [J]. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 2009, 33(3): 511-518.

[21] Corvin A, McGhee KA, Murphy K, et al. Evidence for association and epistasis at the DAOA/G30 and D-amino acid oxidase loci in an Irish schizophrenia sample[J]. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, 2007, 144B(7): 949-953.

[22] Hashimoto A, Nishikawa T, Hayashi T, et al. The presence of free D-serine in rat brain[J]. *FEBS Lett*, 1992, 296(1): 33-36.

[23] Burnet PW, Hutchinson L, von Hesling M, et al. Expression of D-serine and glycine transporters in the prefrontal cortex and cerebellum in schizophrenia[J]. *Schizophr Res*, 2008, 102(1/3): 283-294.

[24] Mustafa AK, Kumar M, Selvkumar B, et al. Nitric oxide S-nitrosylates serine racemase, mediating feedback inhibition of D-serine formation[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(8): 2980-2955.

[25] 阳洪波, 袁建月, 彭小忠. D 构象丝氨酸在中枢神经系统中的功能研究进展[J]. *生物化学与生物物理进展*, 2003, 30(6): 852-854.