·综述·

细胞外信号调节激酶信号传导通路在孤独症谱系障碍中的研究进展*

孙艳秋[1] 姜志梅[1,3] 张鑫阳[1] 郭岚敏[1] 李雪梅[1] 吴 丹[2] 王 灿[1] 马冬梅[1]

孤独症谱系障碍(autistic spectrum disorders, ASD)是一种起病于童年早期,由环境和遗传因素共同作用引起的大脑广泛发育障碍性疾病。目前认为ASD是一种广泛发育障碍性疾病,具有社会互动、交流障碍,异常的重复刻板行为、兴趣范围狭窄及有限和受阻的日常生活活动的临床特征[1]。同时可伴有感知觉异常、睡眠障碍以及胃肠道问题等[2]。男性明显多于女性,国外报道男女比例约为4:1,在高功能ASD患者中高达7:1[3]。ASD病因至今不明,研究多集中在遗传基因、神经发育、神经生化、免疫及病毒感染等方面,对于理解其生物机制和开发靶向治疗来说,ASD病因学的异质性是一个复杂的过程。本文对近几年发现的与ASD密切相关的细胞外信号调节激酶(extracellular signal-regulated kinase, ERK)信号传导通路的相关研究进行阐述,以期为后续的研究提供参考。

1 ERK信号传导通路的生物学特征

1.1 ERK信号传导通路的组成及作用

ERK信号传导通路是由对传入的细胞外信号起强大放大作用的三个依次激活的激酶组成的,这三个激酶分别是Raf,MEK(MAP-ERK激酶)和ERK(ERK1/p44 and ERK2/p42是其主要的亚型)[4]。小G蛋白Ras/丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)信号传导通路介导从细胞表面受体到细胞质和细胞核受体的信号传导。根据酶动力学和每一个组成部分的亚细胞分布,此信号传导通路将介导包括细胞增殖、迁移、分化和存活的不同的细胞功能。此外,在神经系统中此信号传导通路还参与一系列不同的包括突触可塑性、长时程增强(long-term potentiation, LTP)或抑制(long-term depression, LTD)及记忆形成等相关的神经活动[5]。

1.2 ERK信号传导通路的激活

ERK信号传导通路参与多种效应反应,像通过G蛋白耦联受体起作用的神经递质,像表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)、胰岛素样生长因子(insulin-like growth factor 1, IGF1)等肽类生长因子,神经生长因子,通过酪氨酸激酶受体起作用的神经调节素,尤其是通过N-甲基-D-天冬氨酸受体(N-methyl-D-aspartic acid receptor, NMDAR)和电压门控L-型钙通道介导突触内Ca^{2+}的短暂性增加。突触内的钙瞬变表现出明显的空间精确度,并且确保了神经元可以区分单个突触信号的输入是由钙离子螯合蛋白引起的,当钙离子螯合蛋白与Ca^{2+}结合时,激活钙调蛋白激酶(calmodulin-dependentprotein kinase, CaMKK)、激活钙调蛋白激酶Ⅳ(calmodulin-dependentprotein kinase Ⅳ, CaMK Ⅳ)和激活钙调蛋白激酶Ⅱ(calmodulin-dependent-protein kinase Ⅱ, CaMKII)[6]。

钙-钙调蛋白激酶和Raf–MEK-ERK之间一个至关重要的中间媒介是小G蛋白Ras。Ras只有以与三磷酸鸟苷(guanosine triphosphate, GTP)结合的形式存在时具有活性。这可能会导致鸟嘌呤核苷酸交换因子(guanine nucleotide-exchange factor, GEF)活性的增加,或者抑制GTP酶活化蛋白的表达[7]。在神经元中,通过NMDAR通道或L-型钙通道的钙离子内流激活钙调蛋白激酶,随后钙调蛋白激酶磷酸化,从而抑制小G蛋白三磷酸鸟苷酶激活蛋白(Ras GTPase-activating protein, Ras-GAP)、突触RasGAP酶激活蛋白(Synaptic Ras GTPase-activating protein, SynGAP)的活性[8—9]。SynGAP的抑制防止了GTP的水解,从而维持Ras与GTP结合形式。小G蛋白Ras与三磷酸鸟苷的结合物(Ras-GTP)是激酶Raf的直接上游激活物。通过谷氨酸或膜去极化的方式可以激活Raf-MEK-ERK信号传导通路。

2 ERK信号传导通路与孤独症谱系障碍的关系

最近,ASD遗传学和动物模型方面研究进展提供的证据表明一些细胞内信号传导通路在ASD患者中存在异常,特别是MAPK/ERK通路[10—13]。全基因组相关性研究和基因组拷贝数变异分析已经在ASD患者的基因组中确定了涉及Ras/MAPK信号通路激酶的富集现象,且一个与ASD最常见的相关的拷贝数变异,染色体16p11.2的一个593kb的缺失

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2017.05.024
*基金项目:佳木斯大学科技创新团队基金项目(Cxtd-2013-02);佳木斯大学研究生科技创新项目(YZ2016-003)
1 佳木斯大学附属第三医院,佳木斯大学康复医学院,佳木斯,154002; 2 佳木斯大学公共卫生学院; 3 通讯作者
作者简介:孙艳秋,女,在读硕士研究生; 收稿日期:2016-03-13

包括MAPK3(ERK1)基因[14—16]。此外,研究表明大鼠前脑中MAPK(ERK2)的失活导致大鼠表现出与ASD患者相似的行为改变[17—18]。孤独症谱系障碍患者中观察到的介导ERK信号传导通路的相关基因突变:

CACNA1C:突触和神经元中钙离子的短暂增加是ERK信号传导通路激活的一个重要触发点。Kabir等[19]的研究表明调节神经元兴奋性的电压门控和配体门控离子通道的基因数量明显的改变与ASD有一定的相关性,且得出结论ASD的某些亚型可能与细胞内钙离子水平的持续异常增加有关。一个具有启发性作用的例子是 Timothy综合征(timothy syndrome, TS)。TS以心律失常,并指/趾,先天性心脏病,免疫缺陷,间歇性低血糖,认知障碍和ASD等多器官功能障碍为特征。TS是由编码电压门控L型钙通道(Calcium channel, voltage- dependent, L type, alpha 1C subunit, Cav1.2)亚型的CACNA1C基因的错义突变造成的。CACNA1C基因的错义突变导致Cav1.2的完全失活,从而使细胞内钙离子超载,且超过60%的TS患者符合ASD诊断标准,使CACNA1C成为研究ASD发病机制的一个候选基因[20—22]。

SYNGAP1和NF1:GTP酶Ras是通过N-甲基-D-天门冬氨酸受体(NMDAR)和L型钙通道的钙离子内流的重要下游元件。Ras的活性是由改变它与GTP结合状态的蛋白质决定的。NF1基因编码的蛋白和SynGAP都可以水解GTP,从而减弱Ras的酶活性。SynGAP几乎完全定位于谷氨酸能突触上,且与突触后密度蛋白95抗体(anti-PSD-95)结合,并且与NMDAR共存。CaMKII使SynGAP磷酸化,磷酸化的SynGAP抑制了其水解GTP的能力。有研究在ASD和智力障碍患者中观察到SYNGAP1基因的拷贝数变异(缺失)和转录过程中过早出现终止密码子的现象[23—25]。SYNGAP1纯合子敲除大鼠在出生前就死亡了,但是杂合子大鼠存活下来了[26]。对这些大鼠进行的行为学分析表明该大鼠表现出持续的极度活跃,惊吓反应的增强和感觉运动的迟钝。此外,这些大鼠还表现出社会性记忆的完全缺乏,这是一种社会孤立和意识恐惧状态与工作记忆缺陷的倾向。因此,SYNGAP1基因一个拷贝数的缺失在人类和动物中导致认知和社会行为的异常。

编码下游Ras-GAP蛋白的基因是NF1。就SynGAP来说,NF1功能的缺失倾向于引起Ras的过度激活且增加了ASD发生的风险[27—28]。

ERK1(MAPK3):在ASD患者的基因组区域发现了16p11.2的微缺失和微重复。这些拷贝数变异涉及大约25个基因,包括编码ERK1的MAPK3基因。有学者对180例ASD患者和372例正常对照进行了基因组杂交对比研究,为了验证结果的准确性,其在532例ASD患者和465例正常对照中进行了验证性研究。他们发现5例ASD患者的16p11.2有微缺失,1例ASD患者有微重复,2例正常人的16p11.2有微重复。因此,作者认为16p11.2的微缺失是ASD发病的一个危险因素。Soueid等[29]也确定了ASD患者的16p11.2存在拷贝数变异。Mazzucchelli等[30]证明了16p11.2的微缺失在某些脑区增强了ERK信号传导通路的信号传导。

DUSP14:Moreno-De-Luca等[31]在16911例神经发育障碍患者的20例中发现17q12有1.4Mb的缺失,而在52448例正常对照中没有发现这种缺失。有这种拷贝数变异的患者通常伴有巨头畸形,肾脏的异常,特殊面容和ASD。缺失的这1.4Mb包括HNF1B和DUSP14在内的15个基因,而DUSP14是ERK信号传导通路的抑制因子,此研究结果支持ASD患者中存在ERK信号传导通路过度激活的观点,但DUSP14在大脑中的作用还没有被研究。

YWHAE:1999年发现人类YWHAE基因与钙调素相互作用且具有稳定钙调素的作用。有研究确定了染色体区域17p13.3大小可变的缺失和重复,此前和新报道的最小的重复区域跨越包括单一基因YWHAE的72kb,17p13.3微重复的患者常伴有ASD,语言和运动发育的落后,轻微的面部畸形特征,手和脚的轻度畸形等[32—33]。YWHAE基因编码的蛋白不仅与钙调素也与其他多个重要的信号分子像胰岛素受体酶作用物(insulin receptor substrate 1, IRS1),胰岛素样生长因子1受体(insulin- like growth factor 1 receptor, IGF1R)和最常见的 MAP3K (Raf1)相关联。YWHAE蛋白与其结合蛋白的稳定结合,YWHAE的重复很可能促进了ERK信号传导通路的激活。

NHE9:Morrow等[34]研究了104个有ASD患者的家庭,并且确定了靠近NHE9 5'端DIA1的缺失。他们还在两患有ASD的男同胞中发现了引起NHE9蛋白截短的变异,并且他们的母亲在童年期有语言发育的延迟。Kondapalli等[35]的研究表明NHE参与各种神经系统疾病包括ASD、注意缺陷多动障碍、智力低下及癫痫的发病。Zhao H等[36]的研究发现了NHE6和NHE9与大脑发育障碍如癫痫、ASD及注意缺陷多动障碍之间的相关性。但是,NHE9是否参与ASD的发病,并且其在ERK信号传导通路中的功能性结果还有待评估。

3 ERK信号传导通路与孤独症谱系障碍的研究现状

在ASD患者中发现的一些变异只是间接的与Ras-ERK信号传导通路(例如CACNA1C,YWHEA或者 NHE9)相关,因此,不能排除其他信号传导通路的存在,以上总结的资料表明ERK信号传导通路至少在ASD的某些亚型中是过度激活的。此外,有关细胞内钙离子处理功能的增强型突触和神经元内的钙离子水平的钙门控离子通道存在改变,且在ASD患者中也发现了该突触到细胞核信号传导通路的下游元件的改变[37]。从突触到细胞核的信号传导涉及突触内Ca^{2+}

的短暂增加,激活钙调蛋白激酶,激活GTP酶Ras,最终激活ERK丝裂原活化蛋白激酶信号通路。在染色体区域观察到的编码ERK的16p11.2的缺失与ASD有一定的相关性,这与ERK信号传导通路过度活跃的观点不矛盾,而且支持此观点。

最近,近交系小鼠BTBR T+tf/J(BTBR)作为ASD的临床前模型被研究且这些研究表明,BTBR小鼠行为的改变与基因位点有定量联系[38]。在染色体1、3、9、10、12和X上一共确定了六个定量性状基因位点,且这些性状基因位点与在BTBR小鼠中观察到的与ASD相关的三大行为改变在全基因组测序分析上具有显著的相关性。此外,新近出版的对BTBR小鼠进行生化评定的刊物中,作者证明了ERK信号传导通路在BTBR新生仔鼠中是过度激活的,此结果表明ERK信号传导通路的过度激活与在BTBR小鼠中观察到的ASD样行为有关[39]。ASD患者的基因学筛查也确定了ERK信号传导通路相关基因和蛋白质的多重改变[40]。这些发现提供了ERK信号传导通路可能在ASD患者中存在广泛改变的初步证据。

4 展望

迄今为止,对ASD病因学方面的研究虽然很多,但是ASD的病因尚未完全阐明,仍需深入研究。ASD与遗传和环境因素密切相关,且其只能解释部分患者的病因,而信号传导通路的异常是否参与ASD的发病机制,目前尚不清楚。ASD的病因学研究至关重要,同时也是一个巨大的挑战。因此,需要将遗传学、分子生物学、神经科学等各种方法结合起来共同研究ASD的发病机制,推进ASD的病因学研究,指导ASD的干预治疗。

参考文献

[1] Lee PF, Thomas RE, Lee PA. Approach to autism spectrum disorder: Using the new DSM-V diagnostic criteria and the Can MEDS-FM framework[J]. Can Fam Physician, 2015, 61 (5): 421—424.

[2] Barbara-O, Mc-Elhanon, Courtney-McCracken, et al. Gastrointestinal Symptoms-in-Autism-Spectrum-Disorder: A-Meta-analysis[J]. Pediatrics, 2014, 13(3): 860—872.

[3] Jacquemont S, Coe BP, Hersch M, et al. A higher mutational burden in females supports a "female protective model" in neurodevelopmental disorders[J]. Am J Hum Genet, 2014, 94(3): 415—425.

[4] Pearson G, Robinson F, Beers Gibson T, et al. Mitogen-activated protein (MAP) kinase pathways: regulation and physiological functions[J]. Endocrine Reviews, 2013, 22(2): 153—183.

[5] Seese RR, Maske AR, Lynch G, et al. Long-term memory deficits are associated with elevated synaptic ERK1/2 activation and reversed by mGluR5 antagonism in an animal model of autism[J]. Neuropsychopharmacology, 2014, 39: 1664—1673.

[6] Byth LA. Ca^{2+} and CaMKII-mediated processes in early LTP [J]. Ann Neurosci, 2014, 21(4): 151—153.

[7] Avlani VA, Ma W, Mun HC,et al. Calcium-sensing receptor-dependent activation of CREB phosphorylation in HEK293 cells and human parathyroid cells[J]. Neuron, 2013, 304 (10): E1097—E1104.

[8] Kalkman HO. Potential opposite roles of the extracellular signal-regulated kinase(ERK) Pathway in autism spectrum and bipolar disorders[J]. Neuroscience and Biobehavioral Reviews, 2012, 7(8): 2206—2213.

[9] Araki Y, Zeng M, Zhang M, et al. Rapid dispersion of SynGAP from synaptic spines triggers AMPA receptor insertion and spine enlargement during LTP[J]. Neuron, 2015, 85(1): 173—189.

[10] Walkup WG, Washburn L, Sweredoski MJ, et al. Phosphorylation of synaptic GTPase-activating protein (synGAP) by Ca^{2+}/calmodulin-dependent protein kinase II (CaMKII) and cyclin-dependent kinase 5 (CDK5) alters the ratio of its GAP activity toward Ras and Rap GTPases[J]. J Biol Chem, 2015, 290(8): 4908—4927.

[11] Xing L, Larsen RS, Bjorklund GR, et al. Layer specific and general requirements for ERK/MAPK signaling in the developing neocortex[J]. Elife, 2016, 5(10): e11123.

[12] Subramanian M, Timmerman CK, Schwartz JL, et al. Characterizing autism spectrum disorders by key biochemical pathways[J]. Front Neurosci, 2015, 9(24):313.

[13] Yufune S, Satoh Y, Takamatsu I, et al. Transient Blockade of ERK Phosphorylation in the Critical Period Causes Autistic Phenotypes as an Adult in Mice[J]. Sci Rep, 2015, 20 (5): 10252.

[14] Faridar A, Jones-Davis D, Rider E, et al. Mapk/Erk activation in an animal model of social deficits shows a possible link to autism[J]. Molecular Autism, 2014, 5(57): 2380—2392.

[15] Pinto D, Pagnamenta AT, Klei L, et al. Functional impact of global rare copy number variation in autism spectrum disorders[J]. Nature 2010, 466(7304): 368—372.

[16] Park SM, Littleton JT, Park HR, et al. Drosophila Homolog of Human KIF22 at the Autism-Linked 16p11.2 Loci Influences Synaptic Connectivity at Larval Neuromuscular Junctions[J]. Exp Neurobiol, 2016, 25(1):33—39.

[17] Pucilowska J, Vithayathil J, Tavares EJ, et al. The 16p11.2 deletion mouse model of autism exhibits altered cortical

progenitor proliferation and brain cytoarchitecture linked to the ERK MAPK pathway[J]. J Neurosci, 2015, 35(7):3190—3200.

[18] Satoh Y, Endo S, Nakata T, et al. ERK2 contributes to the control of social behaviors in mice[J]. Neurosci, 2011, 31(33): 11953—11967.

[19] Kabir ZD, Lee AS, Rajadhyaksha AM. L-type Ca^{2+} channels in mood, cognition and addiction: Integrating human and rodent studies with a focus on behavioural endophenotypes[J]. J Physiol, 2016, 23(10): 1113.

[20] Breitenkamp AF, Matthes J, Nass RD, et al. Rare mutations of CACNB2 found in autism spectrum disease-affected families alter calcium channel function[J]. PLoS One, 2014, 9(4): e95579.

[21] Pinggera A, Striessnig J. Cav 1.3 (CACNA1D) L-type Ca2+ channel dysfunction in CNS disorders[J]. J Physiol, 2016, doi: 10.1113.

[22] Li J, Zhao L, You Y, et al. Schizophrenia Related Variants in CACNA1C also Confer Risk of Autism[J]. PLoS One, 2015, 10(7): e0133247.

[23] Pasca SP, Portmann T, Vioneagu I, et al. Using iPSC-derived neurons to uncover cellular phenotypes associated with Timothy syndrome[J]. Nature Medicine, 2011, 17(12): 1657—1662.

[24] Berryer MH, Hamdan FF, Klitten LL, et al. Mutations in SYNGAP1 cause intellectual disability, autism, and a specific form of epilepsy by inducing haploinsufficiency[J]. Hum Mutat, 2013, 34(2):385—394.

[25] O'Roak BJ, Stessman HA, Boyle EA, et al. Recurrent de novo mutations implicate novel genes underlying simplex autism risk[J]. Nat Commun, 2014, 24(5): 5595.

[26] Hamdan FF, Daoud H, Piton A, et al. De novo SYNGAP1 mutations in syndromic intellectual disability and autism[J]. Biological Psychiatry, 2011, 69(21): 898—901.

[27] Plasschaert E, Van Eylen L, Descheemaeker MJ, et al. Executive functioning deficits in children with neurofibromatosis type 1: The influence of intellectual and social functioning[J]. Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet, 2016, 171(3):348—362.

[28] Huijbregts SC, Loitfelder M, Rombouts SA, et al. Cerebral volumetric abnormalities in Neurofibromatosis type 1: associations with parent ratings of social and attention problems, executive dysfunction, and autistic mannerisms[J]. J Neurodev Disord, 2015, 7: 32.

[29] Soueid J, Kourtian S, Makhoul NJ, et al. RYR2, PTDSS1 and AREG genes are implicated in a Lebanese population-based study of copy number variation in autism[J]. Sci Rep, 2016, 6: 19088.

[30] Mazzucchelli C, Vantaggiato C, Ciamei A, et al. Knockout of ERK1 MAP kinase enhances synaptic plasticity in the striatum and facilitates striatal-mediated learning and memory[J]. Neuron, 2002, 34(5): 807—820.

[31] Moreno-De-Luca D, consortium SGENE, Mulle JG, et al. Deletion 17q12 is a recurrent copy number variant that confers high risk of autism and schizophrenia[J]. American Journal of Human Genetics, 2010, 87(5): 618—630.

[32] Gazzellone MJ, Zhou X, Lionel AC, et al. Copy number variation in Han Chinese individuals with autism spectrum disorder[J]. J Neurodev Disord, 2014, 6(1):34—41.

[33] Luk HM, Wong VC, Lo IF, et al. A prenatal case of split-hand malformation associated with 17p13.3 triplication - a dilemma in genetic counseling[J]. Eur J Med Genet, 2014, 57(2-3):81—84.

[34] Morrow EM, Yoo SY, Flavell SW, et al. Identifying autism loci and genes by tracing recent shared ancestry[J]. Science, 2008, 321(5886): 218—223.

[35] Kondapalli KC, Prasad H, Rao R. An inside job: how endosomal $Na^{(+)}/H^{(+)}$ exchangers link to autism and neurological disease[J]. Front Cell Neurosci, 2014, 23(8):172—181.

[36] Zhao H, Carney KE, Falgoust L, et al. Emerging roles of Na^{+}/H^{+} exchangers in epilepsy and developmental brain disorders[J]. Prog Neurobiol, 2016, pii: S0301-0082(15)30098-8.

[37] Krey JF, Dolmetsch RE. Molecular mechanisms of autism: a possible role for Ca^{2+} signaling[J]. Current Opinion in Neurobiology, 2007, 17(1): 112—119.

[38] Jones-Davis DM, Yang M, Rider E, et al. Quantitative trait loci for inter hemispheric commissure development and social behaviors in the BTBR T(+) tf/J mouse model of autism[J]. PLoS One, 2013, 8(4): e61829—e61834.

[39] Yin A, Qiu Y, Jia B, et al. The developmental pattern of the RAS/RAF/Erk1/2 pathway in the BTBR autism mouse model[J]. Int J Dev Neurosci, 2014, 39(8):2—8.

[40] Faridar A, Jones-Davis D, Rider E, et al. Mapk/Erk activation in an animal model of social deficits shows a possible link to autism[J]. Molecular Autism, 2014, 5(1): 57—69.