

mGluR5 在脆性 X 综合征发病中的研究进展

张丹莉^{1,2} 崔若月^{1,2} 李 捷^{1,2} 郑琳璐^{1,2} 周立飞^{1,3} 张萍萍¹ 李亚丽^{1*}

(1. 河北省人民医院生殖遗传科 河北 石家庄 050051)

(2. 河北北方学院研究生院 河北 张家口 075132)

(3. 华北理工大学研究生院 河北 唐山 063000)

【摘 要】脆性 X 综合征 (Fragile X syndrome, FXS) 是发病率仅次于唐氏综合征的遗传性智力低下疾病, 也是引起孤独症谱系障碍最主要的单基因遗传病, 在智力障碍患者中的发病率为 1%-3%。该病的特征在于脑中突触可塑性的改变, 突触可塑性受到不同突触通路的复杂平衡的严格调节。有研究表明, 代谢型谷氨酸受体 (metabotropic glutamate receptor, mGluR) 是中枢谷氨酸能系统的重要受体之一, 其广泛参与调控突触传递、突触可塑性、神经兴奋性、抑制性平衡等生理过程。在反应性星形胶质细胞中代谢型谷氨酸受体 5 (metabotropic glutamate receptor 5, mGluR5) 的表达在 FXS 发病有着重要作用。本文主要对 mGluR5 在脆性 X 综合征发病中的作用以及 mGluR5 作为潜在治疗靶点的药物研究现状进行概述, 为 FXS 临床治疗提供新思路。

【关键词】脆性 X 综合征; 脆性 X 智力低下蛋白; 代谢型谷氨酸受体 5; mGluR5

脆性 X 综合征 (Fragile X syndrome, FXS) 是最常见的遗传性智力障碍疾病, 主要是由于 X 染色体上脆性 X 智力低下基因 1 (fragile X mental retardation 1, FMR1) 5' 端非翻译区 CGG 三核苷酸的重复扩增及其相邻部位 CpG 岛的异常甲基化而导致其编码产物脆性 X 智力低下蛋白 (fragile X mental retardation protein, FMRP) 的缺失引起。^[1] 脆性 X 智力低下蛋白 FMRP 是一种进化上高度保守的蛋白, 其广泛分布于兴奋性突触部位, 调节树突、轴突部位特异性蛋白的合成, 一旦缺乏, 将会使树突和轴突局部的某些蛋白表达异常, 进而损伤突触正常的结果和功能, 致使神经元出现大量不成熟的树突丝, 导致神经元的连接异常, 继而导致 FXS 患者出现严重的遗传性智能低下、多动症和自闭症等一系列临床表现, 这些基本的临床表现均被发现与 FXS 患者和动物体内代谢型谷氨酸受体介导的信号通路密切相关。目前, 基因诊断是 FXS 诊断的金标准, 但临床治疗仍然缺乏特异性, 且各种临床症状的潜在分子机制一直是基础和临床研究热点。^[2] 基于此, 本文从代谢型谷氨酸受体 5 的结构与功能出发, 剖析其在 FXS 发病中的作用, 为脆性 X 综合征患者的治疗提供新思路。

1 mGluR5 概述

谷氨酸 (glutamate, Glu) 是哺乳动物大脑内一种主要氨基酸, 主要集中在前脑, 从新皮质到后脑逐渐减少。其作为一种酸性氨基酸, 是合成蛋白质和多肽的重要成分之一, 具有调节酸碱平衡的作用, 在神

经细胞的增殖、发育、存活与死亡过程中发挥关键作用^[4]。谷氨酸也是大脑最丰富的兴奋性神经递质, 通过作用于特异性受体, 参与脑内信息传递, 调控与学习和记忆密切相关的长时程增强效应 (LTP) 和长时程抑制效应 (LTD), 当细胞外谷氨酸水平增加引起谷氨酸受体的过度刺激, 则会导致神经元细胞死亡或“兴奋性毒性”。代谢型谷氨酸受体 (metabotropic glutamate receptors, mGluRs) 属于 G 蛋白偶联受体, 影响细胞内许多参与调控神经兴奋、突触形成及神经变性的第二信使系统。mGluRs 是由 7 个跨膜结构域组成的 G 蛋白偶联受体, 基于其信号转导途径、氨基酸序列同源性以及激动剂和拮抗剂的选择性, 这些跨膜结构域被细分为 I、II 和 III 组。其中 I 组包括 mGluR1 和 mGluR5, II 组包括 mGluR2 和 mGluR3, III 组包括 mGluR4、mGluR6、mGluR7 和 mGluR8^[3]。其中 mGluR5 广泛分布于人类和啮齿动物的大脑皮层、海马、嗅球、纹状体、丘脑等区域, 也存在于突触前膜、星形胶质细胞中。mGluR5 是星形胶质细胞主要表达的一种 mGluRs, 其在小鼠大脑发育早期的星形胶质细胞中高度表达, 而在发育后期至成年阶段表达急剧下降。mGluR5 位于突触后膜, 在许多重要神经元信号传递过程中发挥重要作用, 包括突触的形成、长时程抑制以及作为调控物质参与星形胶质细胞介导的兴奋性突触后电位的增强。当激动剂激活该受体时, mGluR5 通过激活磷脂酶 C 增强突触后膜肌醇肌醇的水解, 促进甘油二酯的形成, 使之激活蛋白激酶 C 和 1, 4, 5-三

磷酸肌醇, 诱发细胞内储存的钙的释放并激活 PKC^[4]。近年来有试验发现, mGluR5 作为脑中丰富表达的一种谷氨酸受体, 其与神经系统疾病有着密切的联系。如在阿尔兹海默症中 β -淀粉样蛋白 42(A β 42) 寡聚体与 mGluR5 复合物相互作用, 破坏生理学 mGluR5 信号转导; 重度抑郁症中慢性约束应激 (CRS) 诱导星形胶质细胞活化并降低易感小鼠海马 CA1 中星形胶质细胞 mGluR5 的表达, 表现出抑郁样行为。

2 mGLUR5 介导的信号通路

FXS 各种临床症状的潜在分子机制一直是临床研究的热点, 其主要由 FMR1 基因的转录沉默和随之而来的编码 FMRP 的缺乏引起, 进而使 FXS 患者表现出智力低下和认知障碍。FMRP 是一种 RNA 结合蛋白, 调节树突和轴突中相互作用 mRNA 的翻译和运输。目前已经发现许多 FMRP 的靶 mRNA, 它们的蛋白产物的表达有助于 FXS 的病理学特征。^[5] mGLUR5 是其中的一种, 其内在特性和信号转导会在 FXS 中发生改变, 在先前的研究中发现星形胶质细胞中 RNA 结合蛋白 FMRP 的损失破坏星形胶质细胞 mGluR5 信号传导, 并减少主要的星形胶质细胞谷氨酸转运蛋白 GLT 1 和谷氨酸摄取的表达, 在 Fmr1 条件性缺失的小鼠皮质中, 导致神经元的过度活跃和兴奋性毒性, 进而表现出 FXS 相关的行为过度活跃和癫痫发作。例如 Ronesi 等人的一项研究结果中揭示了大脑中 mGluR5-Homer 相互作用的新功能, 并描述了认知功能障碍和自闭症小鼠模型中 mGluR5 功能障碍的不同机制, 表明长 Homer 蛋白和 mGluR5 之间的相互作用在 FMRP 不存在的情况下减少, Homer1a 的基因删除恢复了 mGluR5 并纠正 Fmr1(-/y) 小鼠的几种表型, 包括改变的 mGluR5 信号、新皮质电路功能障碍和行为^[6]。星形胶质细胞作为 CNS 中数量最多的胶质细胞, 其具有重要的生理功能。Liu 等人一组实验中, 将神经元与 FMR1 基因敲除的星形胶质细胞共培养时, 可表现出神经元发育异常表现; 将 FMR1 基因敲除的神经元与野生型神经元共培养时, 能够在一定程度上缓解突变神经元的发育异常。以上研究结果表明阻断星形胶质细胞中 mGluR5 是 FXS 的潜在治疗靶点, mGluR5 可以作为 FXS 治疗的新靶点。

2.1 miR-128-3p 上调 mGLUR5

在 Fmr1 敲除 (KO) 小鼠的培养神经元和大脑中进行的广泛研究表明, FMRP 主要作为 RNA 结合蛋白

发挥作用, 与大脑中超过 1,000 种 mRNA 结合, 并有可能调节其翻译。生物化学和遗传学证据表明, FMRP 介导的翻译抑制与 miRNA 途径密切相关, 其通过神经元中的 RNA 诱导沉默复合物调节 miR 生物发生或参与 miR 介导的靶 mRNA 沉默。Men 及其团队在小鼠 FXS 模型中观察到星形胶质细胞 FMRP 的选择性丧失上调 miR-128-3p, 其会抑制星形胶质细胞 mGluR5 的发育表达, miR-128-3p 是大脑富集的一种 miRNA, 曾被报道参与神经发育、形成恐惧消退记忆和神经元兴奋^[7]。他们从星形胶质细胞祖细胞产生人星形胶质细胞和使用慢病毒 FMR1shRNA 的沉默的 FMRP 表达, 一致发现人 FXS 患者中 miR-128-3P 显著上调, 他们还在死后的 FXS 患者组织上进行 miR-128-3P 的原位杂交, 与健康对照组相比, FXS 患者中 miR-128-3P 同样显著上调。FMRP 消融导致谷氨酸能信号失调, 尤其是在 Fmr1 KO 小鼠的关键期内 NMDA/AMPA 比率的发育转换。增强的神经元兴奋性和回路水平的过度兴奋是 FXS 相关的行为多动和癫痫发作的机制之一。星形胶质细胞 mGLUR5 的激活引起细胞内 Ca²⁺ 升高并诱导随后释放调节突触信号传导和神经元兴奋性的各种胶质递质。^[8] 此外, mGluR5 激活有助于星形胶质细胞谷氨酸转运蛋白 GLT1 的发育诱导和星形胶质细胞发育过程的动力学。星形胶质细胞 mGluR5 的选择性缺失显著降低了 GLT 1 的表达, 并且 mGluR5 降低了突触活动诱发的外周星形胶质细胞突起 (PAP) 运动性。因此, FMRP 缺陷诱导的 miR-128-3p 上调导致星形胶质细胞 mGluR5 过早减少, 将改变星形胶质细胞从传递到谷氨酸摄取和突触覆盖的关键功能, 从而导致 FXS 条件下突触信号的改变和神经元兴奋性的增强^[9]。在最近的一项研究中, Liang 等人通过在精神发育障碍和健康一致的双胞胎外周血中进行小 RNA 测序 (sRNA-seq), 然后在小鼠模型中验证发现, miR-501-3p 的缺失通过 mGLUR5 介导的兴奋性谷氨酸能传递增强社交、记忆、感觉运动门控中断的调控分子机制。^[10] 由于 miRNA 同时调节许多基因的表达, 并在通路水平影响突触功能的能力, 使得 miRNA 在神经发育障碍疾病的复杂表型变异的背景下可能非常重要。然而, 由于大量的 miRNA 及其靶基因, 导致发病和发展的分子调节机制在很大程度上是未知的, 还需要大量的试验研究来验证。

2.2 腺苷 A2B 受体下调 mGLUR5

Tanaka 及其团队通过关注嘌呤能信号通路,发现三磷酸腺苷(ATP)/腺苷介导的信号下调星形胶质细胞中的 mGluR5。嘌呤能信号通路是胶质细胞与神经元、胶质细胞与胶质细胞之间交流的主要途径之一。他们发现腺苷 A2B 受体在培养的星形胶质细胞和体内发育阶段负调控 Grm5 的表达,表明腺苷 A2B 受体参与了星形胶质细胞出生后发育过程中 mGluR5 的下调。其通过小鼠试验验证发现,ATP 和腺苷抑制 mGluR5 基因 Grm5 在培养的星形胶质细胞中的表达。并且在出生后 7-28 天小鼠急性脑干星形胶质细胞的原位 Ca²⁺ 成像显示, mGluR5 激动剂 (S)-3,5 二羟基苯基甘氨酸 ((RS)-3,5-DHPG) 引起的 Ca²⁺ 反应在发育过程中减少,而 ATP 或其代谢产物腺苷引起的 Ca²⁺ 反应增加。他们还观察到在出生后 14 天内敲除 A2B 受体的星形胶质细胞中 Grm5 的下调被抑制,并且来自 A2B 受体敲除小鼠的原位 Ca²⁺ 成像表明 A2B 受体抑制星形胶质细胞中 mGluR5 的表达。此外, A2B 受体的缺失增加了发育阶段兴奋性突触的数量,综上,腺苷 A2B 受体对星形胶质细胞中 mGluR5 的下调至关重要,这将有助于终止发育过程中过量的突触发生^[11]。腺苷 A2B 受体可能是神经发育疾病中突触的靶点,但我们仍需要更多的研究来证明 Grm5 表达与腺苷 A2B 受体突触数量之间的因果关系,并确认腺苷 A2B 受体对星形胶质细胞特异性操纵 mGluR5 表达的可能性。

3 mGluR5 潜在治疗靶点

近年来,随着分子诊断技术的不断发展和应用,FXS 的诊断已取得一些突破,但是由于其复杂的临床表现,至今在临床上仍无有效的治疗措施。大量研究表明 mGluR5 的异常表达参与 FXS 疾病的发生发展,因此 mGluR5 的正向变构调节剂(positive allosteric modulator, PAM)和负向变构调节剂(negative allosteric modulator, NAM)的开发是针对 FXS 的靶向治疗方法。Zhao 及其同事通过试验表明,^[12]服用 Nutlin-3 (一种作为抑制剂的实验性癌症药物),可使缺乏 FMRP 蛋白的小鼠恢复其在第一次研究中看到或闻到东西的记忆能力,记忆损伤的这种明显逆转与影响神经干细胞和它们在海马中形成的新神经元的 FMRP 的再活化特别相关。Berry-Kravis 及其同事发现磷酸二酯酶-4D (PRE-4D) 变构调节剂有助于改善 FXS 患者的认知功能和行为结果。目前临床上应

用的治疗 FXS 的 mGluR5 拮抗剂主要两种 (AFQ056、R04917526)。其中 AFQ056 治疗 FXS 小鼠后可以改善其海马 CA1 神经元的树突棘发育异常,改善患者的眼睛注视行为以及面部的交感反应, R04917526 主要表现为对 FXS 患者行为的改善。这些试验数据及结果均表明,使用 mGluR5 抑制剂可以恢复大脑树突棘的异常形态,改善其传导功能,降低异常增高的 LTP,进而从行为学上改善 Fmr1 KO 小鼠学习记忆障碍的表型,可成为治疗 FXS 的有效途径^[13]。因此目前临床针对 mGluR5 药物研发成为临床热点,且在近两年中, PET 技术在其药物研发中也发挥了积极作用, PET 技术作为一种先进的体内成像技术,借助放射性示踪剂来定量活体组织中的受体、转运蛋白或酶的表达水平,从而反应分子水平的生理、病理、代谢等变化,以更好的确定临床针对 FXS 的新型药物,为 FXS 的治疗确定药物靶点,使 FXS 的诊断和治疗会更加准确和有效。

4 结尾和展望

FXS 导致的智力障碍、认知障碍等是儿童神经系统疾病中最常见的疾病。目前有关 FXS 致病基因 FMR1 的结构特征已被知晓,基因诊断是检测 FXS 的金标准,但是其治疗方面只能根据其临床表现对症治疗,而无特异性方式,因此如何靶向逆转 FMR1 基因是治疗 FXS 的主要目标。^[14]大量研究表明, mGluR5 作为谷氨酸能系统的重要组成部分,在维系大脑神经网络稳定中发挥不可或缺的作用。借助先进的临床影像技术,发现 mGluR5 在 FXS 患者脑内的表达变化,其与 FXS 疾病中的突触功能损伤和认知障碍发生密切联系,探究 mGluR5 在 FXS 疾病中所扮演的角色,可以为神经发育障碍疾病的临床治疗提供新策略,且有药物研究揭示 mGluR5 抑制剂使 FXS 的病理变化及临床表型均有所改善,这为治疗 FXS 提供了一种治疗方式。目前 mGluR5 与 FXS 研究已经取得了一些进展,但由于 FXS 其发病机制复杂,单一的药物干预不能达到预期的治疗效果,仍需要进一步探究 FXS 的病理机制以探索更多的治疗药物,以从根本上寻找其治疗策略,达到临床预期效果,为临床遗传疾病防治提供更加深厚的理论基础。

参考文献:

[1]Faundez, V, De Toma, I, Bardoni, B, et al. Translating molecular advances in Down syndrome and Fragile X syndrome into therapies[J]. Eur

Neuropsychopharm. 2018; 28 (6): 675–690.

[2] 朱恩妮, 吴超然, 廖红. 代谢型谷氨酸受体 5 在中枢神经系统疾病中的研究进展 [J]. 中国药科大学学报, 2021, 52(06): 751–758.

[3] Abd-Elrahman, KS, Ferguson, SSG. Noncanonical Metabotropic Glutamate Receptor 5 Signaling in Alzheimer's Disease[J]. Annu Rev Pharmacol 2021; 62: 235–254.

[4] Liu, C, Yang, TQ, Zhou, YD, et al. Reduced astrocytic mGluR5 in the hippocampus is associated with stress-induced depressive-like behaviors in mice[J]. Neurosci Lett 2022; 784

[5] Zhang, W, Kim, PJ, Chen, Z, et al. MiRNA-128 regulates the proliferation and neurogenesis of neural precursors by targeting PCM1 in the developing cortex[J]. Elife. 2016; 5

[6] 刘洁, 王文元. 星形胶质细胞的生理病理研究进展 [J]. 神经病学与神经康复学杂志. 2020(01): 1–10

[7] Liang, W, Hou, Y, Huang, W, et al. Loss of schizophrenia-related miR-501-3p in mice impairs sociability and memory by enhancing mGluR5-mediated glutamatergic transmission[J]. Sci Adv. 2022; 8 (33)

[8] Tanaka, M, Shigetomi, E, Parajuli, B, et al. Adenosine A2B receptor down-regulates metabotropic

glutamate receptor 5 in astrocytes during postnatal development[J]. Glia. 2021; 69 (11): 2546–2558.

[9] Sengmany K, Gregory KJ. Metabotropic glutamate receptor sub-type 5 molecular pharmacology, allosteric modulation and stimulus bias[J]. Br J Pharmacol, 2016, 173(20): 3001–3017

[10] Hellyer S, Leach K, Gregory KJ. Neurobiological insights and novel therapeutic opportunities for CNS disorders from mGlu receptor allosteric and biased modulation[J]. Curr Opin Pharmacol, 2017, 32: 49–55.

[11] 陈晓丹, 张雪, 孙灏, 陈克平. 代谢型谷氨酸受体 5 与神经系统疾病的研究进展 [J]. 中国药理学与毒理学杂志. 2019(02): 130–137

[12] Sengmany K, Gregory KJ. Metabotropic glutamate receptor sub-type 5 molecular pharmacology, allosteric modulation and stimulus bias[J]. Br J Pharmacol, 2016, 173(20): 3001–3017

[13] 梅练妮, 胡纯纯, 徐琼. 脆性 X 综合征药物治疗进展 [J]. 中国儿童保健杂志. 2023(02): 180–184

[14] Li, Y, Stockton, ME, Bhuiyan, I, et al. MDM2 inhibition rescues neurogenic and cognitive deficits in a mouse model of fragile X syndrome. Sci Transl Med[J]. 2016; 8 (336): 336–361.

通信作者: 李亚丽。