智障相关基因调控神经突触的生长发育

姚爱玉, 张永清*

中国科学院遗传与发育生物学研究所, 分子发育生物学国家重点实验室, 北京 100101

* 联系人, E-mail: yqzhang@genetics.ac.cn

收稿日期: 2015-3-05; 接受日期: 2015-04-09; 网络版发表日期: 2015-05-25

国家自然科学基金(批准号: 31110103907, 31490590)、国家重点基础研究发展计划(批准号: 2014CB942803)和中国科学院战略性先导科技专项(B类)(批准号: XDB02020400)资助项目

doi: 10.1360/N052015-00074

摘要 智力障碍病人约占人群的1%~3%, 给家庭、社会带来严重的心理和经济负担, 因此深入研究智障的发病机理具有非常重要的理论和现实意义. 目前已发现 500 多个基因突变后可导致智障, 这些基因的功能虽复杂多样, 但其中多个基因在神经突触形成和学习记忆等生物学过程中发挥重要作用. 神经突触是神经元与靶细胞之间进行信息交流的特化结构, 而在智障病人中常伴有突触发育和功能异常. 本文以本课题组的研究工作为主线, 围绕神经突触的发育简要综述最近几年在智力障碍研究方面所取得的重要进展, 并重点介绍 BMP 信号通路, 微管和微丝细胞骨架在智障相关的突触病理发生过程中的作用.

关键词
神经突触
微管
微丝
智力障碍
BMP 信号

神经疾病如智力障碍是威胁人类(*Homo sapiens*)健康的常见疾病, 患病率为 1%~3%^[1]. 智力障碍(intellectual disability)(智障)又称智力低下、智力残疾或精神发育迟滞(mental retardation), 是指 18 岁以前出现的认知功能低下(智商<70, 而正常人的智商约为 100)和社会适应能力不足, 是一组严重危害儿童青少年身心健康的神经精神疾病, 给家庭及社会带来严重的心理和精神负担. 因此深入研究智障的发病机制具有非常重要的理论和现实意义.

经过几十年的努力, 目前已报道 500 多个基因突变可导致智障, 这些基因的功能复杂多样, 但多个智障基因在神经突触形成和学习记忆等生物学过程中发挥重要作用. 神经突触是神经元与靶细胞之间进行信息交流的特化结构, 而在智障病人中经常伴随着突触发育和功能异常. 果蝇(*Drosophila melanog-*

aster)的神经肌肉突触是理想的研究突触的模式系统. 已知多个正向和反向信号通路协调控制果蝇神经肌肉突触的发育^[2,3]. 正向(从运动神经元到肌肉)信号通路主要是由 Wnt 信号通路的配体 Wingless 介导^[2], 而反向信号通路(从肌肉到运动神经元)主要是由 BMP(bone morphogenetic protein)配体 Gbb(glass bottom boat)启动^[2,3]. 由肌肉细胞分泌的 Gbb 首先结合突触前膜上的 BMP 二型受体 Wit(wishful thinking)^[3-6]. 活化的二型受体募集并磷酸化激活一型受体 Tkv(thickveins). 活化的 Tkv 然后磷酸化下游的转录因子 Mad(mothers against decapentaplegic). 磷酸化的 Mad 随后转运到细胞核内参与转录调控从而影响突触的发育和功能(图 1). 本文将重点介绍近期发现的多个智障基因通过调控 BMP 信号通路而影响神经突触的生长发育. 此外, 近期的研究还发现 BMP 信

引用格式: 姚爱玉, 张永清. 智障相关基因调控神经突触的生长发育. 中国科学: 生命科学, 2015, 45: 532-536

Yao A Y, Zhang Y Q. Intellectual disability-associated genes regulate synapse growth and development. SCIENTIA SINICA Vitae, 2015, 45: 532-536, doi: 10.1360/N052015-00074

图1 智障相关基因通过调控 BMP 信号通路以及微管和微丝细胞骨架影响神经突触的生长发育

来源于突触后肌肉细胞分泌的 BMP 配体与突触前膜上的 II 型受体 Wit 结合, 募集并磷酸化激活 I 型受体 Tkv. 活化的 I 型受体可磷酸化下游的转录因子 Mad. 磷酸化 Mad(pMad) 然后转运到细胞核内参与调控下游基因 *dfmr1* 和 *trio* 的转录. 脆性 X 蛋白 FMRP 抑制微管结合蛋白 Futsch 的表达从而抑制突触的发育. 智障相关蛋白 TBCE 通过促进微管组装而促进突触生长. Trio 促进 Rac 活性和微丝的合成, 继而促进神经突触的生长发育. Cyfip 负调控 BMP 信号、抑制微丝合成, 最终使突触生长受限, 突触扣节成团. Brat 通过抑制 BMP 信号途径中的转录因子 Mad 的表达, 从而抑制神经肌肉突触的生长. 在智障基因 *dAcs1* 突变体中, Tkv 受体在循环内涵体中的灭活受损, 从而导致活化的 BMP 受体在早期内涵体 EE(early endosome) 中累积, 从而促进 NMJ 突触生长. 箭头表示促进或通路的下一步; T 形标记表示抑制; 蓝色标记显示智障相关基因; LE: 晚期内涵体; Lyso: 溶酶体; RE: 循环内涵体

号通路可以调控微管^[7]和微丝细胞骨架^[8], 而细胞骨架在神经突触的发育过程中起极其重要的作用. 综上所述, 本课题组认为通过 BMP 信号通路-微管和微丝细胞骨架-突触的发育和功能是多个智障基因作用的分子调控通路.

1 脆性 X 蛋白 FMRP 通过调控微管而抑制突触生长发育

脆性 X 综合征(fragile X syndrome, FXS)是世界范围内最常见的一种遗传性智力障碍. FXS 由脆性 X 智力障碍蛋白(fragile X mental retardation protein, FMRP)的功能缺失引起. FMRP 由 *FMR1*(fragile X

mental retardation 1) 基因编码, 是具有多结构域的 RNA 结合蛋白, 调控靶 mRNA 的定位和翻译从而调控突触的发育、功能和可塑性^[9-11].

本课题组近期的研究发现果蝇 *dfmr1* 基因(人类 *FMR1* 基因的同源基因)突变会造成肌肉细胞核周围微管增加, 而远离细胞核的微管减少, 且缠结在一起. 相反, *dfmr1* 过表达则产生粗而平行的微管束, 且伴随着 α -微管蛋白总量和乙酰化微管含量的上升^[12]. *dfmr1* 在果蝇复眼中过表达导致粗糙眼表型. 通过基因组范围内的遗传筛选发现, *spastin* 突变可以很好地挽救 *dfmr1* 过表达所致的粗糙眼表型. *Spastin* 是一种微管剪切蛋白, 它的过表达引起微管断裂和微管碎片增多; 这一基因突变导致运动神经元变性而表现为遗传性痉挛性截瘫^[13]. 进一步遗传互作分析显示 *spastin* 突变可以挽救 *dfmr1* 过表达引起的粗且平行的微管束表型, 提示 *dfmr1* 作用于 *spastin* 的上游或平行. 长距离轴突运输是沿着微管轨道进行的. 为了更好地揭示 *dfmr1* 对微管结构的影响, 利用荧光漂白恢复技术(fluorescence recovery after photobleaching, FRAP)实时动态观察神经元轴突中线粒体的运输, 结果表明 *dfmr1* 突变体和过表达时线粒体的轴突运输异常, 表明 *dfmr1* 不仅影响微管的形成, 而且调控了以微管为轨道的轴突运输^[12].

早期的研究已发现果蝇 dFMRP(由 *dfmr1* 编码)调控神经突触的发育^[9]. 用抗 CSP(cysteine string protein; 标记突触囊泡)及 HRP(horseradish peroxidase; 标记神经元细胞膜)染色检测果蝇神经肌肉突触(neuromuscular junctions, MNJ), 发现相对于野生型的“串珠状”突触扣节(synaptic boutons), *dfmr1* 过表达时 NMJ 中的微管结合蛋白 Futsch 的量减少导致神经突触扣节数目变少, 而 *spastin* 突变可以挽救 *dfmr1* 过表达引起的 Futsch 减少的表型, 从而挽救突触扣节变少的表型^[12]. 综上所述, dFMRP 通过调控微管结合蛋白 Futsch 和微管剪切蛋白 Spastin 从而影响微管的动态平衡以及依赖于微管的突触生长发育(图 1).

微管调控神经突触的发育^[14], 微管异常与智障有密切关系. 由微管蛋白伴侣分子 E(tubulin chaperone E, TBCE)突变导致的 HRD 综合征(hypoparathyroidism, mental retardation, and facial dysmorphism syndrome), 其临床表现主要是智力低下、生长迟缓和面部畸形, 是比较罕见的遗传学疾病^[15]. 在肌肉中过表达 TBCE 表现为微管网络更为致密, 证实 TBCE 促

进微管的形成. 在神经元中过表达 TBCE 的 NMJ 突触中, 微管结合蛋白 Futsch 染色的荧光强度增加, 与过表达 *dfmr1* 的表型相反, 而且具有 Futsch 阳性的突触扣节数目增多, 表明过表达 TBCE 也促进 NMJ 中微管的稳定性^[16].

2 Cyfip 通过抑制微丝的形成而调控突触发育和内存

Cyfip(cytoplasmic FMRP interacting protein)因与 FMRP 相互作用而得名^[17]. 同时, Cyfip 还能特异地识别并结合活化形式的 Rac1, 介导肌动蛋白细胞骨架的动态平衡, 因此又叫 Sra-1(specifically Rac1 associated protein 1), 但其在神经突触中的作用还远不清楚. 本课题组研究发现, 与野生型的串珠状突触相比, 果蝇 *cyfip* 突变体中 NMJ 突触分枝变短, 突触扣节聚集成团, 并伴有神经递质传导效率降低. 另外 *cyfip* 突变体突触内存功能下降. 已有的研究表明内存缺陷突变体中, BMP 受体 Tkvr 的内存受阻而导致 BMP 信号通路的活性增高, 继而引起突触过度生长. 研究发现 *cyfip* 突变体中促进突触发育的 BMP 信号确实上调, 而且 BMP 信号通路分子 *tkv*, *mad* 的剂量降低 1/2 可以完全挽救 *cyfip* 突变体突触扣节聚团的异常表型^[17]. 进一步荧光漂白恢复和药物处理实验发现 Cyfip 抑制微丝细胞骨架的合成, 从而影响突触的形态发育. 降低 SCAR(Rac GTPase 的下游效应分子, 与 Cyfip 等 4 个蛋白分子共同形成 SCAR/WAVE 蛋白复合体)的表达也能够很好地挽救 *cyfip* 突变体的突触表型^[18]. 前人的研究发现 Rac1 的激活依赖于 GEF Trio, *trio* 突变可以有效地抑制 Rac1 过表达的表型, 而 *trio* 是 BMP 信号通路的下游直接靶基因^[8]. 因此, 本课题组认为 Cyfip 可能通过 BMP-Trio 信号通路影响了 Rac 及其效应分子 SCAR 的活性而调控微丝, 从而调控神经突触的生长.

除了文献报道的 FMRP 互作蛋白 Cyfip 外, 通过遗传学筛选发现, *brat*(brain tumor)突变可以很好地挽救 *dfmr1* 过表达所产生的粗糙眼表型. 果蝇脑肿瘤基因 *brat*(brain tumor)在进化上非常保守, 该基因突变后导致果蝇大脑产生肿瘤, 造成大脑半球明显增大. 研究发现 *brat* 突变体的神经肌肉突触过度生长, 其

显著特征是突触卫星扣节(satellite boutons, 指围绕一个大的突触扣节出现的许多小的扣节)数目大大增加, 突触传递效率下降, 突触内存功能受损, 与 *cyfip* 突变体的表型相似^[19]. 遗传学互作及生化实验表明, 发现 *brat* 抑制 BMP 信号途径下游转录因子 Mad 的表达, 从而调控了 NMJ 突触的形态、结构和内存功能^[18]. 该项研究进一步拓展了 BMP 信号通路在神经突触的分子调控机制. 此外, 已知突触内存可以限制 BMP 信号通路的强度^[20~23], 而本研究则揭示 BMP 信号通路反过来可以调控微丝的动态平衡而影响突触的内存功能, 继而调控突触生长发育. 因此, 内存和 BMP 信号通路之间相互负调控, 从而更精准地控制突触的发育和功能.

3 *dAcsl* 促进 BMP 受体 Tkvr 的灭活而抑制神经突触生长

酯酰辅酶 A 合成酶长链家族成员 4(Acyl-CoA synthetase long-chain family member 4, ACSL4)是脂代谢中的一个重要的酶, 它催化长链脂肪酸和辅酶 A 反应生成酯酰辅酶 A. 这个步骤使长链脂肪酸活化进入脂类合成和能量代谢. 人类 ACSL4 突变导致非综合征性遗传性智力低下(即除了智力低下以外, 没有其他明显临床表现), 但其发病机制还远不清楚^[24,25]. 研究发现, 果蝇 ACSL4 同源基因 *dAcsl* 突变中 NMJ 突触过度增长, 突触扣节和卫星突触扣节的数量显著增多. 而且, 在 *dAcsl* 突变体中表达人类的 ACSL4 可以使突触生长完全恢复到野生型, 提示二者的体内功能在进化上高度保守.

dAcsl 突变体中神经突触为何过度生长呢? 遗传互作分析表明, *dAcsl* 突变体神经突触过度增长的表型可以被 BMP 信号通路受体突变所抑制. 而且, 在 *dAcsl* 突变体中磷酸化的 Mad(pMad)以及活化的 BMP 受体 Tkvr 明显上调, 表明 *dAcsl* 突变体中 BMP 信号通路上调导致突触过度增长^[26]. 活化的 BMP 受体需要经过 Rab11 介导的循环内涵体(recycling endosome)进行灭活(inactivation), 从而抑制 BMP 通路的信号转导. 进一步研究发现, *dAcsl* 突变体中 Tkvr 在循环内涵体中的灭活受损, 从而引起 BMP 信号在突变体早期内涵体(early endosome)中累积, 继而导致 NMJ 突触生长增多(图 1). 这些发现使人们对 ACSL4 突变导致的智力低下的发病机理有了更深刻的认识.

4 展望

总之, 国内外最新的研究结果表明智障基因可以通过 BMP 信号通路以及微管和微丝细胞骨架而调控神经突触的发育和功能. 由于 BMP 信号通路的异常上调是不同基因突变导致智障共有的病理发生机制, 因此, 通过化学药物和遗传操作以抑制 BMP 信

号通路而防治多个智障基因突变导致的智障成为可能. 由于 500 多个基因突变可导致智障, 而且智障在人群中的发病率很高, 因此, 有必要进一步研究其他功能未知的智障基因功能及其突变导致的神经病理发生机制. 这些研究一方面可为防治智障提供理论基础和依据, 另一方面可以促进对人类智力的分子遗传调控网络以及大脑结构和高级功能的认识.

参考文献

- Inlow J K, Restifo L L. Molecular and comparative genetics of mental retardation. *Genetics*, 2004, 166: 835–881
- Packard M, Mathew D, Budnik V. Wnts and TGF β in synaptogenesis: old friends signalling at new places. *Nat Rev Neurosci*, 2003, 4: 113–120
- Bayat V, Jaiswal M, Bellen H J. The BMP signaling pathway at the *Drosophila neuromuscular* junction and its links to neurodegenerative diseases. *Curr Opin Neurobiol*, 2011, 21: 182–188
- O'Connor-Giles KM, Ho L L, Ganetzky B. Nervous wreck interacts with thickveins and the endocytic machinery to attenuate retrograde BMP signaling during synaptic growth. *Neuron*, 2008, 58: 507–518
- Collins C A, DiAntonio A. Synaptic development: insights from *Drosophila*. *Curr Opin Neurobiol*, 2007, 17: 35–42
- Fuentes-Medel Y, Budnik V. Ménage à Trio during BMP-mediated retrograde signaling at the NMJ. *Neuron*, 2010, 66: 473–475
- Nahm M, Lee M J, Parkinson W, et al. Spartin regulates synaptic growth and neuronal survival by inhibiting BMP-mediated microtubule stabilization. *Neuron*, 2013, 77: 680–695
- Ball R W, Warren-Paquin M, Tsurudome K, et al. Retrograde BMP signaling controls synaptic growth at the NMJ by regulating trio expression in motor neurons. *Neuron*, 2010, 66: 536–549
- Zhang Y Q, Bailey A M, Matthies H J, et al. *Drosophila* fragile X-related gene regulates the MAPIB homolog Futsch to control synaptic structure and function. *Cell*, 2001, 107: 591–603
- Zhang Y Q, Broadie K. Fathoming fragile X in fruit flies. *Trends Genet*, 2005, 21: 37–45
- Gatto C L, Broadie K. *Drosophila* modeling of heritable neurodevelopmental disorders. *Curr Opin Neurobiol*, 2011, 21: 834–841
- Yao A, Jin S, Li X, et al. *Drosophila* FMRP regulates microtubule network formation and axonal transport of mitochondria. *Hum Mol Genet*, 2011, 20: 51–63
- Hazan J, Fonknechten N, Mavel D, et al. Spastin, a new AAA protein, is altered in the most frequent form of autosomal dominant spastic paraplegia. *Nat Genet*, 1999, 23: 296–303
- Ruiz-Canada C, Budnik V. Synaptic cytoskeleton at the neuromuscular junction. *Int Rev Neurobiol*, 2006, 75: 217–236
- Parvari R, HersHKovitz E, Grossman N, et al. Mutation of TBCE causes hypoparathyroidism-retardation-dysmorphism and autosomal recessive Kenny-Caffey syndrome. *Nat Genet*, 2002, 32: 448–452
- Jin S, Pan L, Liu Z, et al. *Drosophila* Tubulin-specific chaperone E functions at neuromuscular synapses and is required for microtubule network formation. *Development*, 2009, 136: 1571–1581
- Schenck A, Bardoni B, Langmann C, et al. CYFIP/Sra-1 controls neuronal connectivity in *Drosophila* and links the Rac1 GTPase pathway to the fragile X protein. *Neuron*, 2003, 38: 887–898
- Zhao L, Wang D, Wang Q, et al. *Drosophila* cyfip regulates synaptic development and endocytosis by suppressing filamentous actin assembly. *PLoS Genet*, 2013, 9: e1003450
- Shi W, Chen Y, Gan G, et al. Brain tumor regulates neuromuscular synapse growth and endocytosis in *Drosophila* by suppressing mad expression. *J Neurosci*, 2013, 33: 12352–12363
- O'Connor-Giles K M, Ho L L, Ganetzky B. Nervous wreck interacts with thickveins and the endocytic machinery to attenuate retrograde BMP signaling during synaptic growth. *Neuron*, 2008, 58: 507–518
- Rodal A A, Blunk A D, Akbergenova Y, et al. A presynaptic endosomal trafficking pathway controls synaptic growth signaling. *J Cell Biol*, 2011, 193: 201–217
- Wang X, Shaw W R, Tsang H T, et al. *Drosophila* spichthyn inhibits BMP signaling and regulates synaptic growth and axonal microtubules. *Nat Neurosci*, 2007, 10: 177–185
- Nahm M, Lee M J, Parkinson W, et al. Spartin regulates synaptic growth and neuronal survival by inhibiting BMP-mediated microtubule

- stabilization. *Neuron*, 2013, 77: 680–695
- 24 Zhang Y, Chen D, Wang Z. Analyses of mental dysfunction-related ACS14 in *Drosophila* reveal its requirement for Dpp/BMP production and visual wiring in the brain. *Hum Mol Genet*, 2009, 18: 3894–3905
- 25 Liu Z, Huang Y, Zhang Y, et al. *Drosophila* Acyl-CoA synthetase long-chain family member 4 regulates axonal transport of synaptic vesicles and is required for synaptic development and transmission. *J Neurosci*, 2011, 31: 2052–2063
- 26 Liu Z, Huang Y, Hu W, et al. dAcsl, the *Drosophila* ortholog of Acyl-CoA synthetase long-chain family member 3 and 4, inhibits synapse growth by attenuating bone morphogenetic protein signaling via endocytic recycling. *J Neurosci*, 2014, 34: 2785–2796

Intellectual Disability-Associated Genes Regulate Synapse Growth and Development

YAO AiYu & ZHANG YongQing

Key Laboratory of Molecular and Developmental Biology, Institute of Genetics and Developmental Biology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China

Patients with intellectual disability (ID) account for 1%–3% of the general population worldwide, incurring huge economical and psychological burden on families and societies. Thus it is imperative that we study the underlying mechanisms and develop strategies to prevent and cure the disease. So far, more than 500 genes have been identified to be associated with ID. Though these genes have diverse molecular and cellular functions, most if not all genes play a role in synapse development, function, or plasticity, and hence learning and memory. Synapses are specialized structures mediating neurotransmission between neurons and their target cells; abnormalities in synapses are often observed in ID patients. This mini-review summarizes recent progress in synapse development and focuses on bone morphogenetic protein signaling, microtubules, and actin cytoskeleton in ID-related synaptopathologies.

synapse, microtubule, actin, intellectual disability, BMP signaling

doi: 10.1360/N052015-00074