秀丽隐杆线虫Wnt途径异常对机械感知神经元的影响

李慧慧, 朱曼, 李玉宏, 黄晓玮*

云南大学省部共建生物资源保护与利用国家重点实验室&生命科学学院, 昆明 650091

* 联系人, E-mail: xwhuang@ynu.edu.cn

收稿日期: 2019-05-05; 接受日期: 2019-06-01; 网络版发表日期: 2019-07-08

Wnt蛋白是后生动物中一类保守的分泌配体糖蛋白. 它们可以通过七跨膜卷曲蛋白受体(Frizzled)、酪氨酸激酶(Ryk和Ror)传递细胞内信号^[1,2]. Wnt基因和Wnt信号通路的作用涉及广泛的生物学现象, 其在生物个体的早期发育到细胞过程, 影响疾病, 尤其是癌症的发生、发展^[3]. 在神经系统中, Wnt信号传导在神经发育和神经精神疾病的病理生理学中也起到核心作用^[4].

1 Wnt信号途径的分类和构成

目前, Wnt信号激活下游通路主要通过三种细胞内途径: Wnt/ β -catenin途径、平面细胞极性(planar cell polarity, PCP)途径和Wnt/ Ca^{2+} 途径. 在这三个途径中, 又可以划分为依赖于 β -catenin的经典途径和不依赖于 β -catenin的非经典途径^[5]. 本文主要讨论的是经典Wnt/ β -catenin途径.

Wnt/ β -catenin信号通路中的关键组分各自具有特定靶标和作用. Wnt蛋白与细胞表面卷曲蛋白家族Frizzled受体结合后, 信号被逐级传导到 β -catenin, β -catenin进入细胞核以激活Wnt靶基因转录. 尽管该途径的效应转录因子是 β -catenin, 但结肠腺瘤息肉(ade-

nomatous polyposis coli, APC)蛋白、轴蛋白axin和糖原合成酶激酶3- β (GSK3- β)也是形成多聚蛋白复合物的关键组分. 若Wnt配体不存在时, β -catenin聚集到上述复合物中, 经过磷酸化、泛素化后进入蛋白酶体, 导致 β -catenin降解. 当响应于Wnt信号传导, 或在突变APC的情况下, β -catenin在细胞质中稳定积聚、并转运进入细胞核, 与淋巴增强因子——T细胞因子(TCF)结合进而诱导下游靶基因转录^[6,7](图1A).

2 秀丽隐杆线虫中Wnt信号途径调控神经细胞行为规范

秀丽隐杆线虫(*Caenorhabditis elegans*)的Wnt信号途径包括五个Wnt配体分子, 即CWN-1, CWN-2, EGL-20, LIN-44和MOM-2, 四个Frizzleds受体蛋白, 即CFZ-2, LIN-17, MIG-1和MOM-5^[8,9], 一个Ryk为LIN-18^[10], 一个Ror为CAM-1^[5]. 不同的Wnt/Frizzleds互作在遗传上冗余, 它们的功能包括确定不对称细胞分裂的极性、决定细胞命运并指导细胞迁移等^[11~13]. 尽管Wnt途径可以参与多种细胞行为的调控, 而本文主要讨论对机械感知神经元(mechanosensory neurons) ALML/R, PLML/R, AVM和PVM的影响.

引用格式: 李慧慧, 朱曼, 李玉宏, 等. 秀丽隐杆线虫Wnt途径异常对机械感知神经元的影响. 中国科学: 生命科学, 2019, 49: 916–920
Li H H, Zhu M, Li Y H, et al. Effects of Wnt pathway on mechanosensory neurons in *Caenorhabditis elegans* (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2019, 49: 916–920, doi: 10.1360/SSV-2019-0090

图 1 Wnt信号通路及机械感知回路. A: Wnt/ β -catenin信号通路(根据文献[7]绘制); B: 秀丽隐杆线虫机械感知回路(根据文献[35]绘制)

Figure 1 Wnt signaling pathway and the mechanical sensing circuit. A: Wnt/ β -catenin signal pathway (drawn according to reference [7]); B: The mechanical sensing circuit of *C. elegans* (drawn according to reference [35])

在秀丽隐杆线虫中, 六个机械感知神经元中的 ALML/R, PLML/R, AVM和PVM属于触摸受体神经元(touch receptor neurons, TRNs), 它们介导了身体不同区域对机械触碰的感知^[1]. 线虫神经系统的连通性是通过沿着背腹(dorsal-ventral, DV)和前后(anterior-posterior, AP)身体轴线的细胞和生长锥的迁移建立的. Wnt分泌信号蛋白家族成员是神经细胞迁移和轴突导向的关键调节因子^[2], 且可以调节树突形态发生, 指导神经元的极性^[1].

2.1 Wnt信号途径调控机械感知神经元极性

在神经元的发育分化成熟过程中, 首先会形成一些不成熟的短的神经突起, 其中一个突起由于微丝成不稳定状态发育成一条细长的轴突, 剩余的突起形成树突. 轴突、树突的分化和形成是神经元极化建立的标志^[14-16].

在秀丽隐杆线虫中, Wnt以冗余的方式控制线虫身体不同区域的机械感知神经元的前后AP极性: 三个Wnt(CWN-1, CWN-2和EGL-20)^[17]. 以不同的组合方式控制ALM极性; LIN-44主要控制PLM极性, 但CWN-1和EGL-20也发挥了一定的作用^[1]; CWN-1和EGL-20通过MIG-1和MOM-5冗余地起作用, 以指导AVM和PVM机械感知神经元向前的过程^[1,8,18]. 与之对应的是, 在Wnt双突变体中, ALM可能变为双极性的, 或极性发生反转——轴突向后延伸到尾部^[19].

2.2 Wnt信号途径调控机械感知神经元迁移

细胞迁移发生在后生动物神经系统发育中至关重要. 例如, 在人类大脑中, 多数神经元生成的位置距离最终它们发挥作用的位置较远, 因此细胞迁移是保证神经系统正常发育的关键过程, 并且对胚胎发育和整个生命过程都至关重要^[20,21]. 而病理状态所引起的细胞迁移异常会导致神经发育疾病、肿瘤形成和转移^[11].

Saied-Santiago等人^[11]的研究表明, 硫酸乙酰肝素蛋白多糖(heparan sulfate proteoglycans)与Wnt信号通路协调控制神经细胞和轴突迁移, 以及细胞定位. 在胚胎发生过程中, ALM神经元从其出生位置向后移动到靠近中间区域的侧向位置. 但在Ror激酶家族唯一的Wnt受体CAM-1突变体中可以观察到它们过早地停止迁移^[5]. 而Wnt信号通路中两个配体分子CWN-1和CWN-2突变体则未能将ALM神经元的树突延伸限制在身体前部^[22]. 此外, AVM神经元是成神经母细胞QR. p的后代, 正常情况下QR在L1(虫卵孵育成虫体初期)阶段向前迁移; 但在Wnt突变体中, 成虫阶段AVM细胞体却向后移位^[23].

2.3 Wnt信号途径调控神经元导向

Wnt信号基因除了在细胞迁移中的作用外, 这些分子还涉及秀丽隐杆线虫和脊椎动物的轴突导向过程^[24,25]. PDB神经元位于线虫尾部, 支配后背壁肌肉,

在雌雄同体中属于运动神经元, 在雄虫中既属于运动神经元又属于中间神经元. Wnt信号通路中的基因 *lin-44*, *lin-17* 和 *mig-1* 在PDB神经元轴突导向中显示出严重缺陷^[11]. 在L1期间形成的AVM和PVM神经元也在Wnt突变体背景中表现出轴突导向错误, AVM和PVM都位于中间体内, 并且轴突通常向腹侧中线延伸, 但在突变体中却转向并向前生长^[26,27].

3 机械感知神经元异常导致线虫对环境感知失调

机械感知神经元异常对于线虫哪些行为会有影响呢? 研究表明, 触觉是线虫对环境信息感知的重要感官之一, 线虫中超过10%的神经元可以作为机械感受器对外界触摸刺激做出反应^[28]. 温和的触摸引起线虫逃避反应并迅速远离刺激^[29]. 当机械感知神经元异常时, 线虫就不能通过触觉感知外部环境的机械压力, 亦不能做出正确的趋化或者逃避.

3.1 机械感知神经元对物理刺激的感知与调控

在线虫中机械感知主要有两种方式: 鼻子触摸(nose touch)和身体触摸(body touch), 分别由不同类型的机械感知神经元介导^[30]. 轻微触摸线虫鼻子或身体的前半部分时线虫会向后退, 触及尾巴或身体后半部分时它会快速向前移动^[29]. 而Wnt途径调控的机械感知神经元主要感知身体触摸.

Kindt等人^[31]研究表明, 当触及线虫身体前半部分时, 三个机械感受神经元(ALML, ALMR和AVM)与AVA和AVD中间神经元产生间隙连接, 促进向后运动, 即前触摸引起反转反应. 对于感知身体后半部分触摸的PLM机械感受器, 则可以看到相反的调节模式——它们与前向命令中间神经元形成兴奋性间隙连接, 后触摸引起前向加速. 在钙流实验中, 当用玻璃探针刺激线虫身体前部时, ALM和AVM神经元会显示出来一瞬间的钙流响应, 同样, 在刺激线虫身体后半部分时PLM神经元中也有钙流增加^[32]. 当线虫接收到非局部化的机械刺激, 如轻敲(tap)实验^[33]中生长基质振动时, 它们通常会执行称为反转的逃避反应——从前向运动到后向运动的转换^[31]. 由此可知, 线虫对外界的物理刺激是通过机械感知神经元感知并通过身体前后神经元拮抗作用调控的.

3.2 秀丽隐杆线虫对环境机械压力的感知

线虫中机械感知神经元对人为的物理刺激可以做出相应的反应, 那么在复杂的土壤环境中, 当线虫遇到来自外界的机械压力时又会做出什么样的反应来趋利避害呢? 研究表明, 捕食线虫真菌可以形成收缩菌丝环捕食线虫. 为了确定真菌菌丝的机械感觉是否会增加线虫从收缩环中逃逸的机会, Maguire等人^[29]对机械触摸不敏感的突变株进行了诱捕实验, 发现机械感知神经元调控的前体触摸感觉对于线虫从收缩环逃脱的能力是至关重要的. 另外, 当线虫遇到食物时运动速度降低, 当线虫离开食物时转向频率增加, 这似乎是由于觅食行为导致的运动速度降低. 但是, 对于喂食良好的野生型线虫在遇到细菌菌落时也会降低其运动速度, 且剥夺食物的线虫与喂食良好的线虫在没有细菌的情况下移动速度相同. 因此, 这种减慢反应可能是由细菌菌落的物理属性而非化学属性引起的, 由此可知, 线虫可以通过感知机械压力调节运动行为来响应其周围环境的变化^[34,35].

4 线虫机械感知神经元感知外部机械压力的分子机制

神经元对环境信号分子的感知一般是通过与外界联通的纤毛传递的^[36], 如产多巴胺神经元、机械感知神经元CEP和PDE, 它们的纤毛位于线虫鼻尖或者表皮角质层末端, 以此来感知外界环境, 趋利避害^[36]. 但是在机械感知神经元ALM, PLM, AVM中没有纤毛, 那么是什么物质介导了线虫的机械感知呢? 遗传和药理学研究已经清楚地证明了在线虫运动和食物传感等行为中多巴胺的作用^[37]. 线虫对于物理刺激(鼻子触摸和身体触摸)以及对细菌的触觉反应是通过多巴胺介导的^[38]. 据Ardiel和Rankin^[39]推测, 细菌菌落质地可以刺激多巴胺的释放, 然后通过ALM和PLM神经元中D1样多巴胺受体DOP-1改变机械感知神经元的功能特性. 在非局部机械刺激实验中, 多巴胺可以从CEP神经元释放以调节ALM功能, 并从PDE神经元释放调节PLM功能. 来自机械感知神经元的突触输入可以控制来自CEP和PDE神经元的多巴胺的释放, 多巴胺反过来又可以充当反馈回路以调节触摸回路的活动和性质^[37], 并且多巴胺神经元CEP和PDE本身也与感知细菌有关^[34]. 这些证据表明, 机械感知神经元ALM

和PLM通过多巴胺感知环境中不同的机械压力, 然后通过中间神经元、运动神经元做出相应的趋化或者逃避^[40]反应(图1B).

5 总结与展望

目前, 大量实验结果表明, Wnt/ β -catenin信号通路通过冗余的方式影响机械感知神经元的极化、迁移和

导向. 机械感知神经元通过多巴胺调控对外界机械压力的感知. 随着研究的进一步深入, 还有大量的问题仍待解决, 如线虫可以通过机械感知区分不同的细菌, 但是这种能力是否可以区分致病菌及非致病菌. Wnt途径可以影响机械感知神经元, 机械感知神经元又可以介导线虫对外界机械压力的感知, 那么Wnt途径是否也参与了机械感知? 这些问题有待在以后的工作中进一步研究.

参考文献

- 1 Prasad B C, Clark S G. Wnt signaling establishes anteroposterior neuronal polarity and requires retromer in *C. elegans*. *Development*, 2006, 133: 1757–1766
- 2 Silhankova M, Korswagen H C. Migration of neuronal cells along the anterior-posterior body axis of *C. elegans*: Wnts are in control. *Curr Opin Genets Dev*, 2007, 17: 320–325
- 3 Nusse R, Varmus H. Three decades of Wnts: A personal perspective on how a scientific field developed. *EMBO J*, 2012, 31: 2670–2684
- 4 Durak O. Converging roles of neurodevelopment and Wnt signaling in neuropsychiatric disorders. Dissertation for Doctoral Degree. Massachusetts: Massachusetts Institute of Technology, 2017. 158–173
- 5 Endo M, Minami Y. Diverse roles for the ror-family receptor tyrosine kinases in neurons and glial cells during development and repair of the nervous system. *Dev Dyn*, 2018, 247: 24–32
- 6 Clevers H, Nusse R. Wnt/ β -catenin signaling and disease. *Cell*, 2012, 149: 1192–1205
- 7 Pečina-Slaus N. Wnt signal transduction pathway and apoptosis: A review. *Cancer Cell Int*, 2010, 10: 22
- 8 Pan C L, Howell J E, Clark S G, et al. Multiple Wnts and frizzled receptors regulate anteriorly directed cell and growth cone migrations in *Caenorhabditis elegans*. *Dev Cell*, 2006, 10: 367–377
- 9 Zinovyeva A Y, Forrester W C. The *C. elegans* Frizzled CFZ-2 is required for cell migration and interacts with multiple Wnt signaling pathways. *Dev Biol*, 2005, 285: 447–461
- 10 Inoue T, Oz H S, Wiland D, et al. *C. elegans* LIN-18 is a ryk ortholog and functions in parallel to LIN-17/Frizzled in Wnt signaling. *Cell*, 2004, 118: 795–806
- 11 Saied-Santiago K, Townley R A, Attonito J D, et al. Coordination of heparan sulfate proteoglycans with Wnt signaling to control cellular migrations and positioning in *Caenorhabditis elegans*. *Genetics*, 2017, 206: 1951–1967
- 12 Korswagen H C. Canonical and non-canonical Wnt signaling pathways in *Caenorhabditis elegans*: Variations on a common signaling theme. *Bioessays*, 2002, 24: 801–810
- 13 Herman M A. Control of cell polarity by noncanonical Wnt signaling in *C. elegans*. *Semin Cell Dev Biol*, 2002, 13: 233–241
- 14 Kirszenblat L, Neumann B, Coakley S, et al. A dominant mutation in *mec-7/ β -tubulin* affects axon development and regeneration in *Caenorhabditis elegans* neurons. *Mol Biol Cell*, 2013, 24: 285–296
- 15 Ma C, Zhang H T. Molecular mechanism of neuron polarization (in Chinese). *Chem Life*, 2008, 28: 408–411 [马超, 张海涛. 神经元极化的分子机制. *生命的化学*, 2008, 28: 408–411]
- 16 Clark C E J, Liu Y, Cooper H M. The Yin and Yang of Wnt/Ryk axon guidance in development and regeneration. *Sci China Life Sci*, 2014, 57: 366–371
- 17 Su S, Wu W. Regulation of target gene transcription by Wnt/ β -catenin signaling (in Chinese). *Sci Sin Vitae*, 2014, 44: 1029–1042 [苏尚, 吴畏. Wnt/ β -catenin信号通路对靶基因转录的调控. *中国科学: 生命科学*, 2014, 44: 1029–1042]
- 18 Hilliard M A, Bargmann C I. Wnt signals and frizzled activity orient anterior-posterior axon outgrowth in *C. elegans*. *Dev Cell*, 2006, 10: 379–390
- 19 Fleming T, Chien S C, Vanderzalm P J, et al. The role of *C. elegans* Ena/VASP homolog UNC-34 in neuronal polarity and motility. *Dev Biol*,

- 2010, 344: 94–106
- 20 Marin O, Valiente M, Ge X, et al. Guiding neuronal cell migrations. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2010, 2: a001834
- 21 Boateng R, Nguyen K C Q, Hall D H, et al. Novel functions for the RNA-binding protein ETR-1 in *Caenorhabditis elegans* reproduction and engulfment of germline apoptotic cell corpses. *Dev Biol*, 2017, 429: 306–320
- 22 Harterink M, Kim D H, Middelkoop T C, et al. Neuroblast migration along the anteroposterior axis of *C. elegans* is controlled by opposing gradients of Wnts and a secreted Frizzled-related protein. *Development*, 2011, 138: 2915–2924
- 23 Wang X, Zhou F, Lv S, et al. Transmembrane protein MIG-13 links the Wnt signaling and Hox genes to the cell polarity in neuronal migration. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110: 11175–11180
- 24 Kirszenblat L, Pattabiraman D, Hilliard M A. LIN-44/Wnt directs dendrite outgrowth through LIN-17/Frizzled in *C. elegans* neurons. *PLoS Biol*, 2011, 9: e1001157
- 25 White R R, Milholland B, MacRae S L, et al. Comprehensive transcriptional landscape of aging mouse liver. *BMC Genomics*, 2015, 16: 899
- 26 Kulkarni G, Xu Z, Mohamed A M, et al. Experimental evidence for UNC-6 (netrin) axon guidance by stochastic fluctuations of intracellular UNC-40 (DCC) outgrowth activity. *Biol Open*, 2013, 2: 1300–1312
- 27 Ahmad F J, Joshi H C, Centonze V E, et al. Inhibition of microtubule nucleation at the neuronal centrosome compromises axon growth. *Neuron*, 1994, 12: 271–280
- 28 Chatzigeorgiou M, Schafer W R. Lateral facilitation between primary mechanosensory neurons controls nose touch perception in *C. elegans*. *Neuron*, 2011, 70: 299–309
- 29 Maguire S M, Clark C M, Nunnari J, et al. The *C. elegans* touch response facilitates escape from predacious fungi. *Curr Biol*, 2011, 21: 1326–1330
- 30 Kass J, Jacob T C, Kim P, et al. The EGL-3 proprotein convertase regulates mechanosensory responses of *Caenorhabditis elegans*. *J Neurosci*, 2001, 21: 9265–9272
- 31 Kindt K S, Quast K B, Giles A C, et al. Dopamine mediates context-dependent modulation of sensory plasticity in *C. elegans*. *Neuron*, 2007, 55: 662–676
- 32 Suzuki H, Kerr R, Bianchi L, et al. *In vivo* imaging of *C. elegans* mechanosensory neurons demonstrates a specific role for the MEC-4 channel in the process of gentle touch sensation. *Neuron*, 2003, 39: 1005–1017
- 33 Rose J K, Rankin C H. Analyses of habituation in *Caenorhabditis elegans*. *Learn Mem*, 2001, 8: 63–69
- 34 Sawin E R, Ranganathan R, Horvitz H R. *C. elegans* locomotory rate is modulated by the environment through a dopaminergic pathway and by experience through a serotonergic pathway. *Neuron*, 2000, 26: 619–631
- 35 Chase D L, Koelle M R. Biogenic amine neurotransmitters in *C. elegans*. In: WormBook, ed. The *C. elegans* Research Community. WormBook, 2007. 1–15
- 36 Hao Y, Yang W, Ren J, et al. Thioredoxin shapes the *C. elegans* sensory response to *Pseudomonas* produced nitric oxide. *eLife*, 2018, 7: e36833
- 37 Sanyal S, Wintle R F, Kindt K S, et al. Dopamine modulates the plasticity of mechanosensory responses in *Caenorhabditis elegans*. *EMBO J*, 2004, 23: 473–482
- 38 Chang H C, Paek J, Kim D H. Natural polymorphisms in *C. elegans* HECW-1 E3 ligase affect pathogen avoidance behaviour. *Nature*, 2011, 480: 525–529
- 39 Ardiel E L, Rankin C H. An elegant mind: Learning and memory in *Caenorhabditis elegans*. *Learn Mem*, 2010, 17: 191–201
- 40 Ezcurra M, Tanizawa Y, Swoboda P, et al. Food sensitizes *C. elegans* avoidance behaviours through acute dopamine signalling. *EMBO J*, 2011, 30: 1110–1122