

睡眠分子机制研究进展

李娟 综述 江文 审校

第四军医大学西京医院神经内科,陕西省西安市 710032

摘要:睡眠随着人类的进化一直保留下来却仍是生物学无法解释的现象,遗传学模型以及技术的应用是睡眠研究领域的一大跨步,表明其生物学功能可能包括突触可塑性,学习记忆等。现已明确的果蝇及人类睡眠调节机制及通路主要包括:神经递质,生物钟基因,离子通道,免疫调节等。随着睡眠分子机制研究的深入,为治疗睡眠障碍疾病药物的发现提供科学依据。

关键词:睡眠;神经递质;生物钟基因;免疫调节

睡眠是生物学至今无法完全解释的现象,睡眠与觉醒在睡眠内稳态与昼夜(24 h 节律)过程的共同调节下成为基本神经生物状态。流行病学研究显示将近 30% ~ 40% 成年人出现失眠的迹象,大概 5% ~ 15% 呈过度嗜睡状态。许多研究发现睡眠相关性状比如睡眠持续时间,质量以及白天嗜睡是许多常见疾病如肥胖、高血压、代谢综合征的危险因素。还有许多研究认为失眠也是严重抑郁症和其他精神疾病的危险因素之一,因此睡眠对于人类健康和疾病起到重要作用。近年研究发现睡眠特性(时间和深度)不止受环境因素的影响,也受遗传学控制,遗传多态性影响睡眠特性^[1]。

遗传模型系统的应用是睡眠研究领域的一大跨步。十年前我们对于睡眠的定义是以大脑电活动改变为基础,通过 EEGs 记录,因此关于睡眠的研究还是限于少数的哺乳动物和禽类^[2]。以果蝇和真菌为对象研究发现其睡眠分子机制与人类相同,从而应用低等动物模型真正的改变了这一领域的发展^[3]。研究者将遗传模型系统--斑马鱼,果蝇,蠕虫等应用于睡眠的研究,期望通过这些动物模型揭示睡眠的分子基础。本篇综述就有关睡眠调节分子及其分子机制研究作一概述。

1 神经递质和神经肽系统

应用药理学方法已经发现睡眠受许多不同的神经递质调控。早期药理学研究发现侧脑室输注腺苷和腺苷类似物增加睡眠减少觉醒,且抑制腺苷代谢酶增加睡眠^[4,5]。人类腺苷脱氨酶(ADA)基因的多态性与个体间睡眠结构和睡眠 EEG 的变异有

关。咖啡因可以增加野生型鼠和 A1R(腺苷 A1 受体)敲除鼠的觉醒度,但并不影响腺苷 A2A 受体(A2AR)敲除鼠的睡眠,表明咖啡因的促觉醒作用是 A2AR 介导的^[6]。一氧化氮(NO)等对于睡眠的影响也是通过腺苷起作用^[7]。在果蝇体内,章鱼胺和多巴胺的作用类似于具有强烈促醒作用的去甲肾上腺素,而 GABA 和 5-HT 具有促眠作用^[8,9]。果蝇大脑背侧神经元释放具有促醒作用的章鱼胺,通过激活章鱼胺受体 OAMB 而起作用^[8]。5-HT 和多巴胺与睡眠有关的作用是通过一个解剖结构“蘑菇体”调控,多巴胺 D1 受体通过作用于蘑菇体调控咖啡因的作用,并且可以避免因为睡眠剥夺而引起的学习能力损伤。而 5-HT 通过蘑菇体的 d5-HT1A 受体促进睡眠^[10]。GABA 促眠的主要靶点位于大型腹外侧神经元,GABA 信号通过抵抗狄氏剂(RDL)受体抑制这些神经元促眠。

神经肽对于调节睡眠也起到了很大的作用,其中研究最多的就是 Orexin。侧脑室注射 Orexin1 和/或 Orexin2 增加觉醒时间,减少慢波和 REM 睡眠^[11,12]。Orexin 受体 2 或者 Orexin 配体基因突变均可导致发作性睡眠症状。这些实验表明 Orexin 系统的损伤可导致人类昏睡症综合征,且大约 85% ~ 95% 昏睡症病人脑脊液中 Orexin1 都有明显的减少^[13]。在果蝇脑内存在一个类似于人类 Orexin 作用的神经肽——色素分散因子 PDF,由位于果蝇脑内腹侧神经元的中央时钟细胞分泌。缺失 PDF 的果蝇,在夜里其活动高峰比野生型果蝇提前 1 h;在连续黑暗条件下多数果蝇表现为节律失常^[14]。因

收稿日期:2011-09-28;修回日期:2012-01-10

作者简介:李娟(1985-),硕士研究生,主要从事昏迷的研究。

此,果蝇脑内 PDF 可能同哺乳动物脑内 Orexin 作用相似,同样作为一个由神经元分泌的促醒神经肽。还有一些神经肽,例如神经肽 S、神经肽 Y、血管活性肠肽、褪黑素等都对睡眠起到一定作用。

2 细胞内信号分子

前文已经阐述了神经递质和神经肽的重要作用,调控神经递质以及神经肽下游的信号分子对于睡眠也起到重要的作用。如 CREB 促进哺乳动物觉醒,一些研究发现 IL-1、咖啡因、腺苷等睡眠调控分子的作用与 CREB 有关,较低和中等剂量的 IL-1 可以诱导生理睡眠产生,而高剂量 IL-1 抑制睡眠,体内实验证明 IL-1 具有上调脑组织 CREB 结合蛋白 (CBP) mRNA 表达的能力,因此 IL-1 参与睡眠觉醒与 CREB 信号通路有关^[15]。而蛋白激酶 A (PKA)/CREB 通路促进果蝇觉醒,章鱼胺很有可能与 PDF 共同作用于 PKA 而增加觉醒^[16]。环鸟苷酸激酶对于果蝇、蠕虫、哺乳动物均有促进睡眠的作用。其他一些睡眠调控通路譬,如细胞外信号调节激酶丝裂原活化蛋白激酶 (ERK/MAPK) 通路,增加 EGF 信号可以激活 ERK 从而促进果蝇睡眠^[17]。

3 离子通道和通道调控蛋白

对于睡眠具有调控功能的离子通道主要是一群调节睡眠基因的分子构成。在这些通道里,电压门控钾通道具有主要促眠作用。果蝇遗传筛选技术发现 Shaker 钾通道变异具有抑制睡眠作用。运用该方法还发现果蝇体内存在一个促眠基因 *sss*,在 *sss* 变异型 Shaker 通道日间睡眠较正常型明显减少,且睡眠剥夺后的睡眠量减少,此基因可能参与调节睡眠相关的一些离子通道^[18]。哺乳动物基因组存在高度同源的 *sss* 基序: *Lynx1* 基因,参与调控与睡眠相关的乙酰胆碱通道。

4 生物钟基因

生物钟是在自然界生物体中广泛存在的时间控制机构系统,具有调节睡眠作用^[19]。果蝇已确认的主要生物钟基因有 *period* (*per*)、*timeless* (*tim*)、*Clock* (*C/k*)、*cycle* (*cyc*)、*double-time* (*dbt*)、*vri* (*vri*) 和 *crypto-chrome* (*cry*) 等。目前认为,果蝇生物钟节律调控是一种“转录-翻译-抑转录”机制构成的反馈环路。*per* 和 *tim* 基因的表达可以在转录和翻译等水平上受到控制,其调节的机制是通过钟基因表达的蛋白质参与自动调控的反馈抑制环路来完成的。生物钟蛋白 *per* 和 *tim* 二者形成异二聚体作为负性调节因子进入细胞核,通过与正性调节因子 (CLOCK

和 *CYC*) 结合而抑制生物钟基因启动子的活化,使 mRNA 水平下降,最终蛋白合成减少,反馈抑制作用逐渐减弱,完成一个循环^[20]。果蝇缺失转录激活子 *Clock* (*CLK*) 以及 *Cycle* (*Cyc*) 使总睡眠时间减少。然而,缺失 *period* (*per*) 以及 *timeless* (*tim*) 对于睡眠几乎没有影响。哺乳动物生物钟的分子元件由一系列核心钟组分构成,包括 *Clock*、*BMAL1*、*Per*、*Cry*、*Tim* 等基因及其相关蛋白产物。缺失 *BMAL1/Mop3* 基因的大鼠 24 h 睡眠-觉醒节律紊乱。还有一些研究发现了能够影响生物钟节律的蛋白质,如蛋白质精氨酸甲基转移酶 5 (*PRMT5*),与 *PRMT5* 蛋白质变异有关的一些基因变化,也会引起动物与时间概念有关行为的改变^[21]。

5 免疫调节

很多学者认为免疫基因促眠,同时睡眠还与机体免疫功能和病理状态有关。睡眠剥夺的哺乳动物免疫蛋白 *NFκB* 上调,这也是睡眠剥夺后影响促炎症基因表达的一个潜在分子机制^[22]。一些免疫基因在病理和长时程睡眠剥夺状态下都可能具有促眠作用。外伤和感染后睡眠的增加支持睡眠具有促进恢复的作用。同时许多研究发现人在睡眠中其免疫功能也发生了许多改变,剥夺睡眠后许多促炎症细胞因子和趋化因子,如 *TNF-α*、*IL-1*、*IL-6*、*IL-8* 等表达上调,这些因子诱导局部状态的改变,同时也影响突触的可塑性。已经明确 *IL-1*、*IL-2*、*IL-8*、干扰素- γ (*IFN-γ*) 能够诱导或延长动物的睡眠时间,*IL-4*、*IL-10* 有抑制睡眠的作用。

6 代谢因素

睡眠特性同时也受代谢因素的控制。流行病学显示糖尿病患者的睡眠障碍发病率较普通人明显升高,较短的睡眠时间与肥胖有关,关于这些联系的分子水平机制了解还很少。当果蝇处于饥饿状态下睡眠被抑制,这种睡眠抑制现象不同于睡眠剥夺,因为饥饿时驱动睡眠度并没有增加,也不存在睡眠剥夺导致的学习能力下降的现象。这个现象表明存在着 *CLK* 和 *CYC* 以外的一些蛋白参与代谢对于睡眠的调节。研究发现影响睡眠的代谢突变体主要包括 *brummer* (*bmm*) 和脂质液 2 (*lsd2*)。*Bmm* 变异体可抵抗饥饿,睡眠剥夺时呈反应性升高,主要表现为剥夺后睡眠时间延长。相反,*lsd2* 变异体对于饥饿非常敏感,呈现睡眠动态平衡的下降^[23]。这些发现均表明睡眠和代谢之间明显的相互作用具有共同的分子通路,而不是简单的相互调节。

综上所述,随着分子生物学的发展,睡眠分子层面的研究也逐渐成为热点,虽然,人类对于睡眠的功能以及产生此过程的分子机制至今并不清楚,但是睡眠在人类进化过程中一直保留下来,表明一定拥有其重要功能^[24]。而这一领域的深入探索将为治疗睡眠障碍疾病药物的发现提供科学依据。

参 考 文 献

- [1] Franken MS, Tafti M. Retinoic acid signaling affects cortical synchrony during sleep. *Science*, 2005, 310: 111-113.
- [2] De Gennaro L, Marzano C, Sforza E, et al. The electroencephalographic fingerprint of sleep is genetically determined: a twin study. *Ann Neurol*, 2008, 64: 455-460.
- [3] Hendricks JC, Sehgal A, Pack AI. The need for a simple animal model to understand sleep. *Prog Neurobiol*, 2000b, 61: 339-351.
- [4] Virus RM, Radulovacki M, Green RD, et al. The effects of adenosine and 20-deoxycoformycin on sleep and wakefulness in rats. *Neuropharmacology*, 1983, 22: 1401-1404.
- [5] AKRadek RJ, Decker MW, Jarvis MF. The adenosine kinase inhibitor ABT-702 augments EEG slow waves in rats. *Brain Res*, 2004, 1026: 74-83.
- [6] Huang ZL, Qu WM, Fredholm BB, et al. Adenosine A2a, but not A1, receptors mediate the arousal effect of caffeine. *Nat Neurosci*, 2005, 8: 858-859.
- [7] Kalinchuk AV, McCarley RW, Basheer R, et al. Sleep deprivation triggers inducible nitric oxide-dependent nitric oxide production in wake-active basal forebrain neurons. *J Neurosci*, 2010, 30: 13254-13264.
- [8] Crocker A, Shahidullah M, Sehgal A, et al. Identification of a neural circuit that underlies the effects of octopamine on sleep: wake behavior. *Neuron*, 2010, 65: 670-681.
- [9] Yuan Q, Joiner WJ, Sehgal A. A sleep-promoting role for the *Drosophila* serotonin receptor 1A. *Curr Biol*, 2006, 16: 1051-1062.
- [10] Joiner WJ, Crocker A, Sehgal A, et al. Sleep in *Drosophila* is regulated by adult mushroom bodies. *Nature*, 2006, 441: 757-760.
- [11] Hara J, Beuckmann CT, Sakurai T, et al. Genetic ablation of orexin neurons in mice results in narcolepsy, hypophagia, and obesity. *Neuron*, 2001, 30: 345-354.
- [12] Espana RA, Baldo BA, Berridge CW, et al. Wake-promoting and sleep-suppressing actions of hypocretin (orexin): basal forebrain sites of action. *Neuroscience*, 2001, 106: 699-715.
- [13] Chemelli RM, Willie JT, Yanagisawa M, et al. Narcolepsy in orexin knockout mice: molecular genetics of sleep regulation. *Cell*, 1999, 98: 437-451.
- [14] Scully AL, Kay S A. Tim flies for *Drosophila*. *Cell*, 2000, 100: 279-300.
- [15] Obal Jr F, Krueger JM. Biochemical regulation of sleep. *Front Biosci*, 2003, 8: 520-550.
- [16] Crocker A, Sehgal A. Octopamine regulates sleep in *Drosophila* through protein kinase A-dependent mechanisms. *J Neurosci*, 2008, 28: 9377-9385.
- [17] Foltenyi K, Greenspan RJ, Newport JW. Activation of EGFR and ERK by rhomboid signaling regulates the consolidation and maintenance of sleep in *Drosophila*. *Nat Neurosci*, 2007, 10: 1160-1167.
- [18] Koh K, Joiner WJ, Sehgal A. Identification of SLEEPLESS, a sleep-promoting factor. *Science*, 2008, 321: 372-376.
- [19] Earnest DJ, Liang FQ, Cassone VM, et al. Immortal time: Circadian clock properties of rat suprachiasmatic cell lines. *Science*, 1999, 283(5402): 693-695.
- [20] Nambu JR, Lewis JO, Wharton KA, et al. The *Drosophila* single-minded gene encodes a helix-Loop-Helix protein as a master regulator of CNS midline development. *Cell*, 1991, 67: 1157-1160.
- [21] Sanchez SE, Petrillo E, Yanovsky MJ. A methyl transferase links the circadian clock to the regulation of alternative splicing. *Nature*, 2010, 468: 112-116.
- [22] Irwin MR, Wang M, Campomayor CO, et al. Sleep deprivation and activation of morning levels of cellular and genomic markers of inflammation. *Arch Intern Med*, 2006, 166: 1756-1762.
- [23] Thimman MS, Suzuki Y, Shaw PJ. The perilipin homologue, lipid storage droplet 2, regulates sleep homeostasis and prevents learning impairments following sleep loss. *PLoS Biol*, 2010, 8: 8.
- [24] Frank MG. The mystery of sleep function: current perspectives and future directions. *Rev Neurosci*, 2006, 17: 375-392.