

Kalirin-7 在癫痫突触发生机制中的作用研究进展

黄天兰^{1,2}, 梅艺文^{1,2}, 余思邈¹, 匡永勤¹, 树海峰¹

1. 中国人民解放军西部战区总医院神经外科, 四川省成都市 610083

2. 西南交通大学医学院, 四川省成都市 610031

摘要: 癫痫在神经系统疾病中很常见, 其发病机制与兴奋性和抑制性神经递质功能紊乱、异常突触发生密切相关。Kalirin-7 是 Dbl 癌基因家族 Kalirin 的主要同种型, 受多种因子调节, 在多个促进树突棘形成和突触发生的分子通路中起重要的介导作用, 与突触发生密切相关。本综述通过对癫痫发生机制的简要介绍, 以及 Kalirin-7 促进树突棘形成和突触发生发展的分析, 为进一步研究癫痫的发生机制提供新的潜在依据和思路。

关键词: 癫痫; Kalirin; 树突棘形成; 突触发生

DOI: 10.16636/j.cnki.jinn.2020.01.022

癫痫是最常见的严重脑部疾病之一, 可以发生在所有年龄段, 并且有多种可能的表现和原因^[1]。最近的统计表明, 癫痫年度累积发病率为 67.77/10 万, 其患病率没有年龄、性别或研究质量的差异^[2]。尽管癫痫的预后总体控制良好, 有超过 70% 的患者进入缓解期^[3], 但是癫痫的活动期仍对患者的生活造成巨大影响, 极大地降低了患者的生活质量。因此, 探索癫痫发生机制的研究对癫痫的控制和预后至关重要。

癫痫的发病机制复杂, 与兴奋性和抑制性突触发生失衡、异常突触发生密切相关。在皮质中, 大多数兴奋性突触由树突棘发育而来的^[4]。树突棘是皮质神经元和海马神经元上大多数兴奋性突触的位点^[5], 含有丰富的突触支架蛋白、神经递质受体以及精细的肌动蛋白细胞骨架, 是更稳定的突起结构^[6]。目前认为, 树突棘来源于树突上的丝状伪足^[7], 随后依赖肌动蛋白细胞骨架的重塑而转变为蘑菇刺状, 进而发育为成熟的突触。在成人, 棘突的数量和形态的调节与突触的可塑性密切相关^[8]。这一调节过程受很多分子通路调控, 其中包括聚集在肌动蛋白细胞骨架上, 于突触活动期间双向调节树突棘形态学和动力学的 Rho 和 Ras 家族小 GTP 酶分子信号通路^[9], 而该分子信号通路中的 Kalirin (Kal) 就起着不可或缺的关键作用。Sharma 等^[10]在红藻氨酸诱导大鼠颞叶内侧癫痫模型上观察得

到神经元突触可塑性基因 Kalrn 的表达产物, 即 Rac/Rho 调节因子 Kal 显著上调。Cisse 等^[11]报道, 在阿尔茨海默病 (AD) 小鼠模型的海马中进行转录因子 X-Box 结合蛋白 1s (XBP1s) 的基因治疗可导致棘突密度、突触可塑性以及认知功能的变化, 也进一步确定了 Kal 同种型 Kal-7 在调节树突棘形成、成熟所发挥的重要作用。

1 Kal 的简介

Kal 是由 Alam MR 等发现并命名的一种 217 KDa 的胞质蛋白, 具有 9 个血影蛋白样重复结构域和与之相邻的具有 GDP/GTP 交换因子典型特征的结构域, 能够与肽酰甘氨酸 α -酰胺化单加氧酶相互作用, 在大脑皮质、海马齿状回等普遍存在^[12]。Kal 属于 Dbl 癌基因家族的一员, 具有 Dbl homology (DH) 和 pleckstrin homology (PH) 同源结构域和 GDP/GTP 交换因子, 能将肽酰甘氨酸 α -酰胺化单加氧酶 (peptidylglycine α amidating monooxygenase, PAM) 的催化结构域与调节细胞骨架和信号转导途径的细胞溶质因子连接起来^[12], 是一种 Rho 鸟嘌呤核苷酸交换因子 (guanine nucleotide-exchange factor, GEF)。

基因 Kalrn 具有多个启动子和转录起始位点, 因此能够产生多种多功能的 Kal 同种型^[13], 并且每种同种型都由独特的域集合组成。主要同种型 Kal-7、Kal-9、Kal-12 等通过替代 3' 外显子产

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (81772686); 四川省卫生和计划生育委员会科研课题 (18PJ423)

收稿日期: 2019-07-03; 修回日期: 2019-12-09

作者简介: 黄天兰 (1993-), 男, 主要从事癫痫的研究。

通信作者: 树海峰 (1979-), 男, 副主任医师, 硕士研究生导师, 神经外科学博士, 药学博士后, 主要研究方向: 癫痫。E-mail: 13908052010@126.com。

生^[14],均具有一些相同的特征,包括具备9个类似血影蛋白样重复结构域和Sec14p结构域。其中Kal-7仅包含一个GEF结构域,在早期发育中不存在,随着神经系统的发育而表达增加,最终成为成人脑中的主要同种型。

2 Kal-7对突触发生至关重要

在突触发生中,正常的树突棘发育和成熟需要肌动蛋白和微管蛋白的协调控制,而Kal可能在此过程中发挥重要作用^[15]。树突上的棘突富含丝状肌动蛋白,是其动力学和树突可塑性的主要决定因素^[16]。在皮质中,大多数的兴奋性突触是由树突棘发育而来的^[4]。树突棘的大小和形态变化影响局部突触后密度(PSD)上AMPA和NMDA受体的信号传递。树突棘来源于树突上的丝状伪足,随后依赖肌动蛋白细胞骨架的重塑而转变为蘑菇刺状,进而发育为成熟的突触。

Kal能够促进神经元树突棘突的生长、增加树突棘的数量,其亚型Kal-7在中枢神经系统中较其他亚型表达更丰富^[17]。Kal-7的表达主要局限于中枢神经系统的神经元中,其表达水平随着中枢神经系统发育而增加。在皮质培养物中,Schiller等^[18]发现,Kal-7过表达可导致树突上的棘突增大,但其棘突密度不增加。而Penzes等^[19]的研究表明Kal-7过表达可增加离体海马神经元中树突棘的线性密度。Ma等^[20]的实验中显示,内源性Kal缺乏可导致神经元的树突上没有任何棘突突起而变得光滑,即Kal是维持离体海马神经元树突棘形成的必要条件。同时,他们还发现Kal-7的Sec14结构域在确定树突棘长度方面起主要作用,而N-末端片段则刺激树突棘的形成^[21]。

2.1 Kal-7通过下游分子Rac1调节突触发生

Christopherson等^[22]研究发现,中枢神经系统中星形胶质细胞分泌的凝血酶敏感蛋白(thrombospondin, TSP)能够增加突触数量。TSP诱导的兴奋性突触形成需要其受体 $\alpha 2\delta 1$,且 $\alpha 2\delta 1$ 介导的突触形成与 $\alpha 2\delta 1$ 本身的钙通道表达水平无关^[4, 23]。 $\alpha 2\delta 1$ 调节树突的发育过程高度依赖于细胞肌动蛋白骨架^[24],其中的机制可能与小GTP酶的Rho家族活性有关。在这些GTP酶中,Rac1参与包括树突棘形成、棘突的发育和成熟等突触发育中的各个阶段^[25],而家族成员中RhoA却对维持棘突形态具有抑制作用^[26]。2018年Risher等^[4]提出突触发育发生的两步模型:首先TSP与树突丝状伪

足的突触后受体 $\alpha 2\delta 1$ 的细胞外结构域结合,促进突触前和突触后蛋白对新生突触位点的影响,随后 $\alpha 2\delta 1$ 受体的跨膜区域以及C端尾部触发细胞内信号传导事件,诱导下游Rac1的激活和肌动蛋白细胞骨架的重组,从而促进树突棘的稳定和生长。

Xu等^[27]的实验数据表明Kal-7增强了Rac1活性,随后Rac1促进下游目标蛋白的表达。Nakayama等^[28]验证了内源性Rac1是维持树突棘和分支所必需的,并证明内源性Rac1在维持树突棘形成和成熟中具有重要作用。

在树突棘中,已知Rac1是GEF的下游,而GEF能够将Rac1转化为活性状态。此外,Rac1是肌动蛋白的中心调节因子。在对GEF Kal-7或p-Pix的干扰实验中表明TSP诱导的突触发生也需要Kal-7的参与^[4]。在对Kal-7与树突棘活性依赖性结构和功能可塑性的研究中发现,Kal-7能够与Rac1结合,后者能够特异性地诱导棘突形成且发育增大^[29]。Miller等^[30]研究发现,随着Kal-7的增加,Rac1的激活数量也增加。同时,Rac1是树突棘中肌动蛋白结合蛋白的关键调节因子,在树突棘形成、维持和重塑中起重要作用^[31]。因此,位于TSP- $\alpha 2\delta 1$ 下游的Rac1是诱导突触形成所必需的,能够促进树突棘的形成和成熟,并受其上游Kal-7的调控。

2.2 Kal-7受多种因子调节而影响突触发生

Penzes等^[32]的实验表明,在细胞内B型肝配蛋白(EphrinB)与其受体EphB相互作用,诱导Rho-GEF Kal易位至Rac1而将后者激活,随后Rac1活化下游效应物PAK,进而调节树突棘棘突形成和重塑中的细胞骨架蛋白。其中,突触后EphB受体可通过突触前EphrinB在神经系统发育期间或突触可塑期间的聚合来激活。随后通过磷酸化的Kal聚集至树突和棘突中的信号传导复合物中,使得Kal的局部浓度增加而导致活化的Rac1增加^[32]。最后,这一过程可能诱导PAK的局部激活,从而触发事件的级联反应,导致肌动蛋白重组和树突棘形态变化^[33]。此外,Grunwald等^[34]发现,在细胞外结构域中,EphB2受体的激活诱导新生神经元中NMDA受体的聚集,这对于新突触的形成是至关重要的。这些研究表明,EphrinB-EphB能以两种不同的方式调节突触发生,其中在胞内通路中,调节肌动蛋白细胞骨架重排的主要信号转导蛋白之一的Kal-7有着至关重要的地位。

已有研究表明,外源性脑源性神经营养因子(BDNF)通过与TrkB激酶结合能促进树突进行乔木状生长^[35]和轴突分支^[36]。Yan等^[37]发现Kalirin是TrkB下游信号传导的关键组成部分,受TrkB调控,可导致BDNF诱导的神经突向外生长以及海马神经元分支。Kal是神经元中表达的多种Rac1 GEF之一,能催化暴露于BDNF的海马神经元中一小部分Rac1活化^[37],而在BDNF/TrkB通路中,Rac1的激活主要由Kal介导。尽管Yan等^[37]充分证明了处于TrkB下游的Kal在发育早期神经突向外生长、分支中是必需的,但其具体的发生作用过程研究甚少。另外,蛋白酪氨酸磷酸酶O型受体(PTPRO)和蛋白酪氨酸磷酸酶 σ (PTP σ)均使TrkB去磷酸化,对BDNF刺激神经突发育和树突棘突形态发育起负调节的作用^[38]。

除上述之外,Kal还被证明在Cdk5、NRG1、ErbB4、TrkA和PDGFR- β 等对树突棘发生和突触发生进行调节的信号通路中发挥不可或缺的重要作用。

3 结论与未来研究方向

Kal除涉及癫痫外,也涉及精神分裂症、抑郁症、阿尔茨海默病、亨廷顿病等许多神经精神疾病^[10, 39-41]。其中,癫痫的发病机制复杂,其致病发作对患者的生活影响巨大。目前主流观点认为,癫痫的发病机制与兴奋性和抑制性突触发生失衡、异常突触发生密切相关。大量的研究表明,Kal-7是成人中枢神经系统中Kal的主要同种型,在树突棘发育和突触的重塑中起重要的介导作用。海马神经元中雌激素介导的棘突形成和纹状体MSN中可卡因诱导的棘突密度增加也需要Kal-7^[42]。总而言之,Kal-7介导的树突棘形成和突触发育重塑的潜在分子机制及其在癫痫等神经精神疾病中的作用具备很大的潜在研究意义。

参 考 文 献

[1] Duncan JS, Sander JW, Sisodiya SM, et al. Adult epilepsy [J]. *Lancet*, 2006, 367(9516): 1087-1100.

[2] Fiest KM, Sauro KM, Wiebe S, et al. Prevalence and incidence of epilepsy: A systematic review and meta-analysis of international studies [J]. *Neurology*, 2017, 88(3): 296-303.

[3] Sander JW. The epidemiology of epilepsy revisited [J]. *Curr Opin Neurol*, 2003, 16(2): 165-170.

[4] Risher WC, Kim N, Koh S, et al. Thrombospondin receptor

alpha2delta-1 promotes synaptogenesis and spinogenesis via postsynaptic Rac1 [J]. *J Cell Biol*, 2018, 217(10): 3747-3765.

[5] Lemtiri-Chlieh F, Zhao L, Kiraly DD, et al. Kalirin-7 is necessary for normal NMDA receptor-dependent synaptic plasticity [J]. *BMC Neurosci*, 2011, 12: 126.

[6] Grutzendler J, Kasthuri N, Gan WB. Long-term dendritic spine stability in the adult cortex [J]. *Nature*, 2002, 420(6917): 812-816.

[7] Korobova F, Svitkina T. Molecular architecture of synaptic actin cytoskeleton in hippocampal neurons reveals a mechanism of dendritic spine morphogenesis [J]. *Mol Biol Cell*, 2010, 21(1): 165-176.

[8] Lendvai B, Stern EA, Chen B, et al. Experience-dependent plasticity of dendritic spines in the developing rat barrel cortex in vivo [J]. *Nature*, 2000, 404(6780): 876-881.

[9] Chidambaram SB, Rathipriya AG, Bolla SR, et al. Dendritic spines: Revisiting the physiological role [J]. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 2019, 92: 161-193.

[10] Sharma AK, Searfoss GH, Reams RY, et al. Kainic acid-induced F-344 rat model of mesial temporal lobe epilepsy: gene expression and canonical pathways [J]. *Toxicol Pathol*, 2009, 37(6): 776-789.

[11] Cisse M, Duplan E, Lorivel T, et al. The transcription factor XBP1s restores hippocampal synaptic plasticity and memory by control of the Kalirin-7 pathway in Alzheimer model [J]. *Mol Psychiatry*, 2017, 22(11): 1562-1575.

[12] Alam MR, Johnson RC, Darlington DN, et al. Kalirin, a cytosolic protein with spectrin-like and GDP/GTP exchange factor-like domains that interacts with peptidylglycine alpha-amidating monooxygenase, an integral membrane peptide-processing enzyme [J]. *J Biol Chem*, 1997, 272(19): 12667-12675.

[13] Mcpherson CE, Eipper BA, Mains RE. Kalirin expression is regulated by multiple promoters [J]. *J Mol Neurosci*, 2004, 22(1-2): 51-62.

[14] Mcpherson CE, Eipper BA, Mains RE. Genomic organization and differential expression of Kalirin isoforms [J]. *Gene*, 2002, 284(1-2): 41-51.

[15] Vignal E, Blangy A, Martin M, et al. Kinectin is a key effector of RhoG microtubule-dependent cellular activity [J]. *Mol Cell Biol*, 2001, 21(23): 8022-8034.

[16] Hering H, Sheng M. Dendritic spines: structure, dynamics and regulation [J]. *Nat Rev Neurosci*, 2001, 2(12): 880-888.

[17] Penzes P, Johnson RC, Alam MR, et al. An isoform of kalirin, a brain-specific GDP/GTP exchange factor, is enriched in the postsynaptic density fraction [J]. *J Biol Chem*, 2000, 275(9): 6395-6403.

- [18] Schiller MR, Blangy A, Huang J, et al. Induction of lamellipodia by Kalirin does not require its guanine nucleotide exchange factor activity [J]. *Exp Cell Res*, 2005, 307(2): 402-417.
- [19] Penzes P, Johnson RC, Sattler R, et al. The neuronal Rho-GEF Kalirin-7 interacts with PDZ domain-containing proteins and regulates dendritic morphogenesis [J]. *Neuron*, 2001, 29(1): 229-242.
- [20] Ma XM, Huang J, Wang Y, et al. Kalirin, a multifunctional Rho guanine nucleotide exchange factor, is necessary for maintenance of hippocampal pyramidal neuron dendrites and dendritic spines [J]. *J Neurosci*, 2003, 23(33): 10593-10603.
- [21] Ma XM, Miller MB, Vishwanatha KS, et al. Nonenzymatic domains of Kalirin7 contribute to spine morphogenesis through interactions with phosphoinositides and Abl [J]. *Mol Biol Cell*, 2014, 25(9): 1458-1471.
- [22] Christopherson KS, Ullian EM, Stokes CC, et al. Thrombospondins are astrocyte-secreted proteins that promote CNS synaptogenesis [J]. *Cell*, 2005, 120(3): 421-433.
- [23] Eroglu C, Allen NJ, Susman MW, et al. Gabapentin receptor alpha2delta-1 is a neuronal thrombospondin receptor responsible for excitatory CNS synaptogenesis [J]. *Cell*, 2009, 139(2): 380-392.
- [24] Spence EF, Soderling SH. Actin Out: Regulation of the Synaptic Cytoskeleton [J]. *J Biol Chem*, 2015, 290(48): 28613-28622.
- [25] Scott EK, Reuter JE, Luo L. Small GTPase Cdc42 is required for multiple aspects of dendritic morphogenesis [J]. *J Neurosci*, 2003, 23(8): 3118-3123.
- [26] Penzes P, Cahill ME. Deconstructing signal transduction pathways that regulate the actin cytoskeleton in dendritic spines [J]. *Cytoskeleton (Hoboken)*, 2012, 69(7): 426-441.
- [27] Xu J, Chen Y, Wu Z, et al. Kalirin-7 plays a neuroprotective role in Neuro-2A cells injured by oxygen-glucose deprivation and reperfusion through Rac1 activation [J]. *Iran J Basic Med Sci*, 2018, 21(10): 992-997.
- [28] Nakayama AY, Harms MB, Luo L. Small GTPases Rac and Rho in the maintenance of dendritic spines and branches in hippocampal pyramidal neurons [J]. *J Neurosci*, 2000, 20(14): 5329-5338.
- [29] Xie Z, Srivastava DP, Photowala H, et al. Kalirin-7 controls activity-dependent structural and functional plasticity of dendritic spines [J]. *Neuron*, 2007, 56(4): 640-656.
- [30] Miller MB, Yan Y, Wu Y, et al. Alternate promoter usage generates two subpopulations of the neuronal RhoGEF Kalirin-7 [J]. *J Neurochem*, 2017, 140(6): 889-902.
- [31] Pontrello CG, Ethell IM. Accelerators, Brakes, and Gears of Actin Dynamics in Dendritic Spines [J]. *Open Neurosci J*, 2009, 3: 67-86.
- [32] Penzes P, Beeser A, Chernoff J, et al. Rapid induction of dendritic spine morphogenesis by trans-synaptic ephrinB-EphB receptor activation of the Rho-GEF kalirin [J]. *Neuron*, 2003, 37(2): 263-274.
- [33] Wilkinson DG. Multiple roles of EPH receptors and ephrins in neural development [J]. *Nat Rev Neurosci*, 2001, 2(3): 155-164.
- [34] Grunwald IC, Korte M, Wolfer D, et al. Kinase-independent requirement of EphB2 receptors in hippocampal synaptic plasticity [J]. *Neuron*, 2001, 32(6): 1027-1040.
- [35] Ozdinler PH, Macklis JD. IGF-I specifically enhances axon outgrowth of corticospinal motor neurons [J]. *Nat Neurosci*, 2006, 9(11): 1371-1381.
- [36] Panagiotaki N, Dajas-Bailador F, Amaya E, et al. Characterisation of a new regulator of BDNF signalling, Sprouty3, involved in axonal morphogenesis in vivo [J]. *Development*, 2010, 137(23): 4005-4015.
- [37] Yan Y, Eipper BA, Mains RE. Kalirin is required for BDNF-TrkB stimulated neurite outgrowth and branching [J]. *Neuropharmacology*, 2016, 107: 227-238.
- [38] Gatto G, Dudanova I, Suetterlin P, et al. Protein tyrosine phosphatase receptor type O inhibits trigeminal axon growth and branching by repressing TrkB and Ret signaling [J]. *J Neurosci*, 2013, 33(12): 5399-5410.
- [39] Colomer V, Engeler S, Sharp AH, et al. Huntingtin-associated protein 1 (HAP1) binds to a Trio-like polypeptide, with a rac1 guanine nucleotide exchange factor domain [J]. *Hum Mol Genet*, 1997, 6(9): 1519-1525.
- [40] Li W, Li QJ, An SC. Preventive effect of estrogen on depression-like behavior induced by chronic restraint stress [J]. *Neurosci Bull*, 2010, 26(2): 140-146.
- [41] Kushima I, Nakamura Y, Aleksic B, et al. Resequencing and association analysis of the KALRN and EPHB1 genes and their contribution to schizophrenia susceptibility [J]. *Schizophr Bull*, 2012, 38(3): 552-560.
- [42] Mandela P, Ma XM. Kalirin, a key player in synapse formation, is implicated in human diseases [J]. *Neural Plast*, 2012, 2012: 728161.