

· 综述 ·

天使综合征的发病机制与
治疗研究进展[☆]赵炳昊* 涂怀军*[⊗] 殷小平*

【关键词】天使综合征 UBE3A 基因 靶向治疗

天使综合征 (angelman syndrome, AS) 是一种较为罕见的严重神经精神系统疾病, 多见于儿童, 临床上主要表现为发育迟缓、智力低下、孤独内向、吞咽困难、语言和运动功能障碍、癫痫等症状。染色体 15q11-q13 区段的 *UBE3A* 基因异常是该病发生的主要因素, 但是对该病的发病机制尚未形成统一的学说, 并且这种神经精神性疾病的治疗仍然是临床中难点之一, 目前已有资料反映出分子靶向治疗具有更好的前景, 可能会是未来工作的重点与突破点。本文就天使综合征的发病机制与治疗研究进展进行综述, 提取出目前较为有价值的发病机制假说, 探讨潜在的治疗方案, 并着重关注本病的分子靶向治疗, 借以帮助临床医生加深对本病的认识。

1 AS 疾病概述

AS 又称“快乐木偶综合征”, 英国医师 HARRY ANGELMAN 最先在儿童中发现该病并且进行系统的报道, 该病也以他的名字命名^[1]。从世界范围内的发病情况分析, AS 的发病率约为 1/50000~1/24000, 而我国尚未对 AS 进行流行病学研究, 所以 AS 在我国的发病率还没有一个明确的数值^[2]。

从本质上讲 AS 属于神经遗传性疾病, 以儿童多见, 患病儿童多表现为快乐表情、发育迟缓、语言障碍、孤独内向、智力较同龄儿童低下, 有癫痫阵发性发作; 从外观分析, 大多数 AS 患者会将双手举高, 不断挥舞, 并出现脚下不稳、枕部扁平的情况, 而且喜欢吐舌^[3]。由于其存在吮吸或者吞咽功能障碍, 所以喂养的过程非常困难。所有这些症状都是判断 AS 患者早期发病的重要指标。AS 的临床表现与染色体异常具有密切联系, 不同的突变类型有不同程

度的表现, 缺失片段的大小与表型具有相关性^[4]。

2 AS 的病因与发病机制

2.1 AS 的病因和分型 AS 发病与自身染色体 15q11-q13 区段 *UBE3A* 基因的异常有关, 其父母的染色体均正常, 大多数只是在形成二倍体时发生了部分染色体片段的缺失, 因此该病并无明显家族遗传倾向。*UBE3A* 基因在印记基因的调控下差异性表达, 通常正常人脑组织中的母源性 *UBE3A* 基因表达活跃而父源性 *UBE3A* 基因相对沉默^[5]。根据染色体 15q11-q13 片段异常的类型, 可以将 AS 概括为 5 种: ①由母源性染色体相关区段缺失或表达异常导致, 约占 70%; ②由基因突变导致, 约占 5%~10%; ③由母源性染色体全部缺失单残留减数分裂未分离的父源性染色体 (父源性单亲二倍体) 导致, 约占 2%~7%; ④由印记基因缺陷 *UBE3A* 基因表达障碍导致, 约占 3%~5%; ⑤由染色体重排而导致, 不足 1%, 仅有个案报道^[6-7]。虽然 AS 的症状类似, 但因染色体异常形式不同, 各型的临床表现仍具有较大差异^[8]。综合分析, 母源性染色体异常和突变型患儿的临床表现较父源性单亲二倍体和印记基因缺陷型更为严重; 但也有部分突变型的 AS 患者临床表现较轻, 没有出现癫痫、共济失调等症状, 脑电图检查也显示正常^[9]。

2.2 AS 的发病机制 *UBE3A* 基因异常在 AS 的发病机制中具有举足轻重的地位, 该基因定位在染色体的 15q11-q13, 全长 101853 bp, 其 mRNA 上有 20 个外显子^[10]。编码的蛋白被称为 E6 相关蛋白 (E6 associated protein, E6AP), 属于泛素蛋白连接酶 E3 家族一类^[11], 其作用主要表现在两个方面: 第一是充当泛素蛋白连接酶, 对目标蛋白进行泛素化修饰, 通过蛋白酶体的降解作用调节蛋白表达水平^[12]; 第二是定位在细胞核中作为甾醇类激素受体的共激活因子来调节下游基因的转录^[13]。RONCHI 等^[14]从人胎脑组织 cDNA 文库中调取人 *UBE3A* 基因的全长 cDNA 序列, 并且将其克隆构建入真核表达载体 pEGFP-N1 质粒中, 同时将增强绿色荧光蛋白 (enhanced green fluorescent protein, EGFP) 融入其中, 研究显示 E6AP 蛋白主要定位表达在早期神经元的细胞核和细胞质之中, 同时广泛地存在于神经元的树突和轴突部位, 随着神经元发育成熟, E6AP 蛋白也会逐渐向细胞核内聚拢。这提示 E6AP 蛋白可以维持神经元的正常功能。ANDREWS 等^[15]认为, *UBE3A* 基因可以对部分单胺递质起到一定的调节作用, 单胺递质与突触可塑性动态相关, 所以是维持突触功能正常的重要因素。

UBE3A 基因异常会使得患者海马、黑质区的泛素蛋白连接酶减少甚至消失, 从而整体上影响患者的神经精神系统。针对 AS 的发病有几种相关的假说, 列举如下。

doi:10.3969/j.issn.1002-0152.2017.05.012

[☆] 国家自然科学基金项目 (编号: 81260231)^{*} 南昌大学第二附属医院神经内科 (南昌 330031)[⊗] 通信作者 (E-mail: thj127900@163.com)

2.2.1 代谢型谷氨酸受体假说 GLADDING 等^[16]通过实验发现,突触部信号的传导与代谢型谷氨酸受体(metabotropic glutamate receptors, mGluR)有关, mGluR 数目增多会抑制神经肌肉接头突触部信号的传导,同时 mGluR 受到体内 MAPK/ERK 和 PI3K/AKT 等分子信号通路的直接影响。UBE3A 基因的缺失会使 MAPK/ERK 和 PI3K/AKT 信号通路异常激活,从而募集更多 mGluR,抑制突触部信号的传导,引起癫痫或共济失调等神经精神症状^[17]。但是目前也有学者对该假说提出质疑,他们认为 mGluR 在 AS 与非 AS 体内具有相同水平^[18]。

2.2.2 Na-K ATP 酶假说 KAPHZAN 等^[19]通过实验发现增加 UBE3A 基因缺乏小鼠海马锥体部神经元内 Na-K ATP 酶 $\alpha 1$ 亚单位($\alpha 1$ subunit of Na/K-ATPase, $\alpha 1$ -NaKA)的表达会造成小鼠神经元轴突始端(axon initial segment, AIS)蛋白积累,从而加重基因缺乏小鼠的智力缺陷和记忆障碍;下调 $\alpha 1$ -NaKA 的量,AS 的症状会有所减轻。目前关于为何增加 $\alpha 1$ -NaKA 会导致 AS 症状加重的机制尚不得而知,可能与 AIS 蛋白累积会反馈性抑制突触的兴奋性有关,还可能与一些分子通路产生了新的作用蛋白有关^[20]。

2.2.3 重组细胞骨架活性调节蛋白假说 在认知功能方面,泛素蛋白连接酶 E3 涉及与突触可塑性相关的某些靶向蛋白酶体降解。重组细胞骨架活性调节相关蛋白(recombinant activity regulated cytoskeleton associated protein, Arc)作为 E6AP 的底物,一旦 E6AP 减少或缺失,迅速升高的 Arc 会通过 AMPA 型受体介导的自噬作用使突触传导能力减退。若 Arc 可以被泛素化修饰,则会有 26S 蛋白酶体参与 Arc 的降解,AMPA 介导的自噬作用将会受到抑制^[21]。Arc 对海马区的长时程增强(long-term potentiation, LTP)诱发和维持至关重要,E6AP 的减少或缺失导致 LTP 无法维持和轴突树突数量减少,进而海马功能下降和突触功能缺陷,最终患者会出现抑郁、孤独、内向等行为^[22]。

2.2.4 γ -氨基丁酸转运体假说 在运动功能方面,UBE3A 基因缺陷会使小脑颗粒细胞突触外的紧张性抑制电流特异性减少。UBE3A 基因控制着 γ -氨基丁酸转运体 1(γ -aminobutyric acid transporter-1, GAT-1)的降解,该基因缺陷引起 GAT-1 过量,从而导致突触内抑制性神经递质 γ -氨基丁酸(γ -GABA)浓度超载,小脑的浦肯野细胞功能活性也会因此而降低,最终导致运动功能障碍。另外异常泛素化的浦肯野细胞会通过小脑-皮层网络对大脑皮层的电活动起到干扰效果,大脑功能同样会有异常^[23-24]。

3 AS 的治疗进展

AS 是一种神经遗传病,重在预防,产前的咨询与遗传

学检查必不可少。目前针对 AS 患儿的治疗没有取得实质性进展,但是为了提高患者生活自理能力,改善生活质量,非常有必要进行积极的治疗,分子靶向治疗是当下 AS 治疗领域的热点。AS 的治疗大致分为常规非药物治疗、药物治疗、分子靶向治疗等。

3.1 常规非药物治疗 在常规非药物治疗中,饮食疗法可以起到一定的作用,给予患病人群一定的、规律的饮食可以帮助其缓解症状,减轻 AS 的表现。最近也有新的证据反映周期性有规律的睡眠也可以适当减轻 AS 人群神经方面的表现^[25]。

一些物理疗法也能起到一定的效果,例如患儿的生活自理能力差,则可以采取行为疗法进行治疗,提高他们的生活自理能力;同时还可以采取一些沟通辅具和康复训练改善他们的理解能力、语言能力、运动能力、认知能力等^[26]。

3.2 药物治疗 药物治疗是疾病治疗必不可少的一个环节,同时也是有效治疗 AS 疾病的重要途径,目前针对药物治疗的药品有很多。GODAVARTHI 等^[27]发现使用常用的药物如类固醇再摄取抑制剂氟西汀可以帮助修复已损毁的糖皮质激素传导信号,同时上调神经元间的正性清蛋白,能改善 AS 患儿的孤独及内向行为,该研究也认为米诺环素可以改善 AS 患儿的语言功能与社会适应能力。除此之外,“ ω -3 脂肪酸”可以帮助恢复损伤 UBE3A 基因下游失活的片段,在治疗中也有一定效果^[28]。针对 AS 患者而言,由于会表现出不同的症状,所以在用药方面也必须具有针对性。对于重度发育迟缓并且伴有癫痫频繁发作的患儿,如果采取单药治疗的方案,治疗效果很差。为了提高治疗效果,必须要把抗癫痫药物加入合并用药的方案进行治疗。药物治疗只能减轻 AS 患者的症状,无法从源头上治愈 AS。

3.3 分子靶向治疗 分子靶向治疗是目前研究的热点,也是唯一可以治愈 AS 的方式,如何恢复失活的 UBE3A 基因是研究的大方向。DAILY 等^[29]认为可以帮助恢复海马区的 E6AP 表达来进行治疗,该研究将携带 UBE3A 基因的腺相关病毒(adeno-associated virus, AAV)载体 AAV9 注入到 AS 小鼠模型的海马区部位,然后对其进行观察发现,颅内能够检测到泛素蛋白连接酶 E3 的表达,而且经过治疗后的小鼠,在学习能力方面也得到了明显的改善。反义寡核苷酸(antisense oligonucleotides, ASO)可以有效地下调 UBE3A 基因反义转录路子(UBE3A antisense transcript, UBE3A-ATS)并且持续有针对性地激活大脑神经元中沉默的 UBE3A 基因,不同位置的 ASO 下调 UBE3A-ATS 的程度一致,可能与一条长非编码 RNA 序列有关^[30],该 RNA 在 UBE3A 基因的失活中有重要作用。拓扑异构酶抑制剂如拓扑替康

(topotecan) 也可有效地下调 UBE3A-ATS, 保持父源性 UBE3A 基因的持续激活。但是与 ASO 有所不同, 拓扑异构酶抑制剂不但会下调 UBE3A-ATS, 同时也会下调其他 5 种长序列基因的表达 (*Nrxn3*, *Astn2*, *Pchd15*, *Csmd1*, *Il1rap1l*), 这可能会造成其他精神系统的症状^[31], 所以在临床使用时需要着重考虑。SUN 等^[32]发现雷帕霉素可以起到分子靶向治疗的作用。UBE3A 基因缺乏使小鼠的结节硬化复合物 2 型基因 (tuberous sclerosis complex 2, TSC2) 增多, TSC2 的抑制物同样在增多, 在这种动态平衡下, TSC2 所调控的雷帕霉素机械性靶点 (mechanistic target of rapamycin, mTOR) 的两种蛋白激酶亚单位出现不同变化, mTOR1 不断增多、mTOR2 不断减少。雷帕霉素为 mTOR 蛋白抑制剂, 能够逆转 mTOR1 和 mTOR2 的变化, 并进一步改善 AS 小鼠的运动功能。

相对于其他治疗方式, 分子靶向治疗更具有针对性、特异性, 它的出现对提高 AS 的治疗效果具有非常重要的现实意义。但基于 AS 疾病的伦理性与特殊性, 目前的研究大都停留在动物实验阶段, 离临床转化仍有一段距离。

参考文献

- [1] LEE SY, RAMIREZ J, FRANCO M, et al. Ube3a, the E3 ubiquitin ligase causing Angelman syndrome and linked to autism, regulates protein homeostasis through the proteasomal shuttle Rpn10 [J]. Cell Mol Life Sci, 2014, 71(14): 2747-2758.
- [2] CHERON G, MARQUEZ-RUIZ J, KISHINO T, et al. Disruption of the LTD dialogue between the cerebellum and the cortex in Angelman syndrome model: a timing hypothesis[J]. Front Syst Neurosci, 2014, 8: 221.
- [3] VERMEIDEN JP, BERNARDUS RE. Are imprinting disorders more prevalent after human in vitro fertilization or intracytoplasmic sperm injection[J]. Fertil Steril, 2013, 99(3): 642-651.
- [4] JIANG Y, PAN Y, ZHU L, et al. Altered Ultrasonic Vocalization and Impaired Learning and Memory in Angelman Syndrome Mouse Model with a Large Maternal Deletion from Ube3a to Gabrb3 [J]. PLoS One, 2010, 5(8): e12278.
- [5] JUDSON MC, SOSA-PAGAN JO, DEL CID WA, et al. Allelic specificity of Ube3a expression in the mouse brain during postnatal development [J]. Journal of Comparative Neurology, 2014, 522(8): 1874-1896.
- [6] FARRELL CM, O'LEARY NA, HARTE RA, et al. Current status and new features of the Consensus Coding Sequence database [J]. Nucleic Acids Res, 2014, 42 (Database issue): D865-872.
- [7] BARBARO J, DISSANAYAKE C. Autism spectrum disorders in infancy and toddlerhood: a review of the evidence on early signs, early identification tools, and early diagnosis[J]. J Dev Behav Pediatr, 2009, 30(5): 447-459.
- [8] HOPPMANANEY N, WAIN K, SEGER PR, et al. Identification of single gene deletions at 15q13.3: further evidence that CHRNA7 causes the 15q13.3 microdeletion syndrome phenotype [J]. Clinical Genetics, 2012, 83(4): 345 - 351.
- [9] VALENTE KD, VARELA MC, KOIFFMANN CP, et al. Angelman syndrome caused by deletion: A genotype - phenotype correlation determined by breakpoint [J]. Epilepsy Research, 2013, 105(1 - 2): 234-239.
- [10] NAKATANI J, TAMADA K, HATANAKA F, et al. Abnormal Behavior in a Chromosome - Engineered Mouse Model for Human 15q11-13 Duplication Seen in Autism [J]. Cell, 2009, 137(7): 1235-1246.
- [11] BRENNAN ML, ADAM MP, SEAVER LH, et al. Increased body mass in infancy and early toddlerhood in Angelman syndrome patients with uniparental disomy and imprinting center defects [J]. Am J Med Genet A, 2015, 167a(1): 142-146.
- [12] BELEZA-MEIRELES A, CERQUEIRA R, SOUSA SB, et al. Novel deletion encompassing exons 5-12 of the UBE3A gene in a girl with Angelman syndrome[J]. Eur J Med Genet, 2011, 54(3): 348-350.
- [13] POWIS L, OLIVER C. The prevalence of aggression in genetic syndromes: A review[J]. Research in Developmental Disabilities, 2014, 35(5): 1051-1071.
- [14] RONCHI VP, KLEIN JM, HAAS AL. E6AP/UBE3A ubiquitin ligase harbors two E2-ubiquitin binding sites[J]. J Biol Chem, 2013, 288(15): 10349-10360.
- [15] ANDREWS TD, WHITTLE B, FIELD MA, et al. Massively parallel sequencing of the mouse exome to accurately identify rare, induced mutations: an immediate source for thousands of new mouse models [J]. Open Biol, 2012, 2(5): 120061.
- [16] GLADDING CM, FITZJOHN SM, MOLNAR E. Metabotropic glutamate receptor-mediated long-term depression: molecular mechanisms [J]. Pharmacol Rev, 2009, 61(4): 395-412.
- [17] KLEIN MATTHEW E, CASTILLO PABLO E, JORDAN BRYEN A. Coordination between Translation and Degradation Regulates Inducibility of mGluR-LTD[J]. Cell Reports, 2015, 10(9): 1459-1466.
- [18] PIGNATELLI M, PICCININ S, MOLINARO G, et al. Changes in mGlu5 receptor-dependent synaptic plasticity and coupling to homer proteins in the hippocampus of Ube3A hemizygous mice modeling angelman syndrome[J]. J Neurosci, 2014, 34(13): 4558-4566.
- [19] KAPHZAN H, BUFFINGTON SA, RAMARAJ AB, et al. Genet-

- ic reduction of the $\alpha 1$ subunit of Na/K-ATPase corrects multiple hippocampal phenotypes in Angelman syndrome [J]. *Cell Rep*, 2013, 4(3): 405–412.
- [20] KUBA H, OICHI Y, OHMORI H. Presynaptic activity regulates Na⁺ channel distribution at the axon initial segment [J]. *Nature*, 2010, 465(7301): 1075.
- [21] KUHNLE S, MOTHES B, MATENTZOGU K, et al. Role of the ubiquitin ligase E6AP/UBE3A in controlling levels of the synaptic protein Arc[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2013, 110(22): 8888–8893.
- [22] SILVA-SANTOS S, VAN WOERDEN GM, BRUINSMA CF, et al. Ube3a reinstatement identifies distinct developmental windows in a murine Angelman syndrome model[J]. *J Clin Invest*, 2015, 125(5): 2069–2076.
- [23] KIM HC, STEFFEN AM, OLDHAM ML, et al. Structure and function of a HECT domain ubiquitin-binding site[J]. *EMBO Rep*, 2011, 12(4): 334–341.
- [24] MARGOLIS SS, SALOGIANNIS J, LIPTON DM, et al. EphB-mediated degradation of the RhoA GEF Ephexin5 relieves a developmental brake on excitatory synapse formation[J]. *Cell*, 2010, 143(3): 442–455.
- [25] THIBERT RL, LARSON AM, HSIEH DT, et al. Neurologic manifestations of Angelman syndrome [J]. *Pediatr Neurol*, 2013, 48(4): 271–279.
- [26] HYPPA MJ, REICHLER J, DIMIAN A, et al. Communication modality sampling for a toddler with Angelman syndrome [J]. *Language Speech & Hearing Services in Schools*, 2013, 44(4): 327–336.
- [27] GODAVARTHI SK, SHARMA A, JANA NR. Reversal of reduced parvalbumin neurons in hippocampus and amygdala of Angelman syndrome model mice by chronic treatment of fluoxetine [J]. *J Neurochem*, 2014, 130(3): 444–454.
- [28] CRISTIAN RA, NEAGU A, MIHALACHE MR, et al. Long-term administration of omega-3 fatty acids alleviates Angelman syndrome-like phenotype in an Ube3a mutant strain of *Drosophila melanogaster*[J]. *Biointerface Research in Applied Chemistry*, 2015.
- [29] DAILY JL, NASH K, JINWAL U, et al. Adeno-associated virus-mediated rescue of the cognitive defects in a mouse model for Angelman syndrome [J]. *PLoS One*, 2011, 6(12): e27221.
- [30] MENG L, WARD AJ, CHUN S, et al. Towards a therapy for Angelman syndrome by targeting a long non-coding RNA [J]. *Nature*, 2015, 518(7539): 409–412.
- [31] RECZKO M, MARAGKAKIS M, ALEXIOU P, et al. Functional microRNA targets in protein coding sequences [J]. *Bioinformatics*, 2012, 28(6): 771–776.
- [32] SUN J, LIU Y, MORENO S, et al. Imbalanced mechanistic target of rapamycin C1 and C2 activity in the cerebellum of Angelman syndrome mice impairs motor function[J]. *J Neurosci*, 2015, 35(11): 4706–4718.
- 【中图分类号】R748 (收稿日期:2016-11-26)
- 【文献标识码】A (责任编辑:李立)