

癫痫及相关疾病专题

· 述评 ·

MECP2 基因及 MECP2 相关疾病

彭镜

(中南大学湘雅医院儿科, 湖南 长沙 410008)

Andrea Rett 首次于 1966 年报道一例青年女性在 1~1.5 岁之前正常发育, 以后出现认知、运动倒退以及手的刻板动作, 提出一类疾病“认知倒退、脑萎缩伴有高氨血症”^[1]。伴有高氨血症的类似病例因此受到关注, 不幸的是血氨升高是实验室误差所致。直到 1983 年, Hagberg 等^[2]在 *Annals of Neurology* 报道了类似发育倒退但没有高氨血症的病例, 这类疾病才逐渐被认识。为了纪念最先报道此类疾病的 Andrea Rett, 这类疾病被命名为 Rett 综合征。随着报道病例的增加, Rett 综合征的临床特点逐渐明朗。本病 1987 年在国内由赵东红、吴希如等学者首次报道^[3]。1999 年, Amir 等^[4]在 Rett 综合征病人中发现了甲基化 CpG 结合蛋白 -2 (methyl-CpG-binding protein 2, MECP2) 基因功能缺失型突变, 定位于 Xq28。不到 6 年, 科学家发现 MECP2 过表达 (duplication/triplication) 同样可以导致男孩严重的孤独症样表现、智力障碍、反复感染和过早夭折, 称为 MECP2 重复综合征 (MECP2 duplication syndrome, MDS)^[5]。神经科学家逐渐认识到 MECP2 基因对于中枢神经系统正常发育和神经功能维持的作用是依赖精确调控 MeCP2 表达实现的。MECP2 基因的发现、实验研究再回到临床的曲折过程实际上也是人类解密大脑神秘网络的复杂过程, MECP2 基因及相关疾病为更深入研究神经发育提供了重要的素材, 是不可多得的宝贵财富。同时, 这些单基因突变导致的疾病也为临床转化医学提供了服务对象。在近 20 年的时间里, 众多的基础和临床研究团队致力于 MECP2 基因和相关疾病研究, 并取得了显著进展。

1 MECP2 基因和 MeCP2 蛋白结构

MECP2 基因长约 76 kb, 位于染色体 Xq28, 包含 4 个外显子和 3 个内含子, 高度保守的 3' 非翻译区 (3' UTR) 长约 8.5 kb, 可根据多聚酰苷酸位点产生 3 种长短不一的 mRNA, 分别为 1.8 kb、7.5 kb 和 10 kb。MECP2 转录后形成 MECP2-e1 和 MECP2-e2 两种剪切体^[5]。MECP2 有 3 个主要的功能域: CpG 结合域 (methyl-CpG-binding domain, MBD)、转录抑制域 (transcription repression domain, TRD) 和 C-末端域 (C-terminal domain, CTD)。MECP2 基因是一个转录调节子, 能够调控基因的表达, 具有转录激活子和抑制子的双重作用, 在表观层面对中枢神经系统发育和正常功能的维持起重要作用。细胞内的 MECP2 通过 MBD 识别甲基化 DNA 并特异性地与之结合; TRD 募集多种转录因子, MECP2 表达量的改变可以导致其不能与甲基化 DNA 正确结合, 阻碍对下游靶基因表达的精确调控, 导致神经发育性疾病 Rett 综合征和 MECP2 重复综合征^[6]。

2 MECP2 相关疾病的遗传方式

MECP2 是 Rett 综合征的致病基因。Rett 综合征有非常独特的遗传方式, X 连锁但女孩发病为主。Hagberg 等^[2]曾提出男性胚胎致死的假设, 认为男性只有一条 X 染色体, MECP2 基因发生突变时男性胚胎不能存活, 并用这个理论解释罕见的 Klinefelter (XXY) 是导致男性发病的原因。事实上, 这样的病例在 1999 年方被报道^[7]。但随后的研究

[收稿日期] 2016-12-06; [接受日期] 2017-03-10

[作者简介] 彭镜, 女, 博士, 副主任医师。

证实, Rett 综合征患儿母亲的自然流产率、同胎围产期死亡率与整体人群的差异没有统计学意义, 不支持男性胚胎致死假说^[8-9]。Thomas 等^[10]认为, Rett 综合征女性发生且再现率低, 大部分以新生突变为主, 可能是由于卵母细胞中的 X 染色体处于低甲基化状态, 而精子的 X 染色体高度甲基化, 提示大多数 MECP2 突变遗传自高度甲基化的父源性生殖细胞系, 通过自发性 5 甲基胞嘧啶去氨基至胸腺嘧啶 (C>T), 产生新生突变。由于父亲的 X 染色体只传给女儿, 导致女儿发病, 男性很少从父亲方接受突变。

Rett 综合征临床表型的高度异质性与 X 染色体失活 (X chromosome inactivation, XCI) 有关^[11-12]。尽管 RTT 是 X 连锁显性遗传, 但由于 X 染色体非随机失活, 即含有突变基因的 X 染色体高度失活, 使携带突变的女性无症状或症状轻微, 而其子代如获得含有致病基因的 X 染色体并随机失活就可能发病。有 15% 的 X 连锁基因可以“逃逸”失活, 或在失活 X 染色体上不同形式和不同程度的表达, 使得女性患者的表型具有高度异质性。在罕见的情况下, 男性获得遗传自母亲的 MECP2 突变, 可以是选择性 X 染色体失活, 或生殖细胞嵌合, 而男性只有一条 X 染色体, 因此表型更加严重、甚至早期夭折。然而, 男性也可表型轻微, 表现为不同程度的智力障碍, 神经精神疾病如双相情感障碍、精神分裂症、注意力缺陷多动综合征、孤独症谱系疾病等^[12]。这些病例不仅扩大了 MECP2 突变的临床表型谱, 而且证实了男性患儿可以出生并存活。

2005 年, Meins 团队^[13]对严重智力障碍 (intellectual disability, ID) 患儿进行 MECP2 检测, 发现了 MECP2 微重复。随着研究的深入, 发现最小的 MECP2 重复片段仅包含 MECP2 和 IRAK1 基因, IRAK1 编码 ILK1 蛋白。研究表明, MeCP2 过表达可以影响 T 细胞功能, 所以 40% 的男性 MDS 患者在 25 岁前因反复感染及频繁癫痫发作死亡。然而健康女性更倾向于非随机性 XCI, 女性含有 85% 或更多细胞表达野生型 X 染色体, 临床上可以表现为焦虑和抑郁, 但不出现 ID。女性携带随机 XCI 的可以出现轻度的 ID 和 Rett-样综合征的表型^[14]。MECP2 重复综合征也可见于女孩, 但是非常罕见^[15]。

3 MECP2 对神经解剖和神经环路的影响

近 20 年, 围绕 MECP2 基因及相关疾病开展了一系列实验研究, 逐渐阐明了 MECP2 在脑发育中的重要作用及调控机制, 也为 MECP2 相关疾病的治疗提供了新的干预靶点。2001 年 MECP2 功能缺失型转基因鼠建立^[16]。MECP2 基因敲除小鼠和 Rett 综合征患者的脑组织病理学均表明, MeCP2 减少不会导致神经死亡、轴突变性或其他不可逆转的缺陷^[17]。这是个非常鼓舞人心的发现, 理论上只要 MeCP2 蛋白回复到正常水平, 疾病就有可能完全逆转。

因此, MECP2 基因调控成为研究的热点, 主要有 2 个方向: 内源性基因再激活和外源性基因转入。外源性基因转入用得最多的是 AAV9 载体, 其可以通过血脑屏障并在整个中枢神经系统分布, 既往在脊肌萎缩症小鼠模型中获得成功。研究发现, 利用 AAV9 载体给 4~5 周龄 MECP2 基因缺失型转基因小鼠输送 MECP2, 小鼠寿命延长^[18]。但是如何保证 MECP2 剂量个体化是一个很重要的问题。目前多项内源性基因再激活的研究都表明, 当再次激活沉默的 MECP2 后, 可以逆转神经系统功能紊乱, 小鼠的共济失调、刻板动作、异常呼吸明显改善, 而且寿命延长^[19]。运用反义核苷酸可以逆转 MECP2 重复综合征的临床表型, 但如果 MeCP2 蛋白表达减少达到 50%, 患者可能出现运动和行为异常^[20]。因此 MDS 基因治疗剂量一定要个体化。

以往认为 MECP2 对转录起抑制作用, 但实验发现过表达 MECP2 不能提高那些在 MECP2 缺失时失调的转录基因^[21]。同时, MECP2 作用的靶基因也不完全清楚, 多个研究团队试图从 Rett 患者或转基因小鼠模型的基因表达谱找到 MeCP2 作用的靶基因, 但可重复的结果很少。脑源性神经营养因子 (brain-derived neurotrophic factor, BDNF) 是认可度最高的接受 MECP2 调控的靶基因之一。Chahrour 等^[21]发现, MECP2 功能缺失型敲除鼠的 BDNF mRNA 和蛋白表达均有显著下降。BDNF 具有促进神经元成熟、维持 Ca^{2+} 稳态和改善突触可塑性的功能, 与学习记忆相关, 一系列 BDNF 治疗 Rett 综合征的动物实验研究和临床研究已经开展。

MeCP2 对维持突触兴奋和抑制的平衡发挥着重要作用。Rett 综合征突触的兴奋和抑制平衡被破坏^[22]。Blue 等^[23-24]1999 年对 9 例尸解的 Rett 综合征患儿脑组织进行病理学研究,发现小于 8 岁患儿的前脑皮层的 N-methyl-D-aspartate (NMDA) 含量增加,大于 8 岁患儿的 NMDA 含量下降,这种谷氨酸受体含量随年龄改变的特点在基底节区也可以观察到。Johnstone 等^[25]通过同步脑电图和谷氨酸浓度检测发现,MECP2 基因敲除鼠出现明显的睡眠节律,表现为长时间的觉醒并与脑谷氨酸浓度呈正相关。提示女性 Rett 综合征患儿睡眠障碍与谷氨酸浓度增高导致的神经毒性相关。近期研究发现,MECP2 基因敲除小鼠出生时的视力正常,生后 35~40 d 开始视力减退,55~60 d 严重下降;而 NMDA 受体亚基 NR2A 基因敲除可以防止视觉皮层受累,突触前 γ -氨基丁酸 (gamma-aminobutyric acid, GABA) 释放减少^[26]。提示 GABA 在视觉皮层可塑性中的作用。总而言之,过多或者过少 NMDA 受体活化都可导致发育中的大脑受损^[27]。

4 MECP2 相关疾病的临床研究现状

在过去 30 余年,共有 40 项 MECP2 相关疾病的临床研究在美国国立卫生研究院 (National Institutes of Health, NIH) 注册 (ClinicalTrials.gov; <https://clinicaltrials.gov/ct2/results?term=rett+syndrome&pg=1>),其中 16 项针对 RTT 疗效进行观察,暂未见针对 MDS 的临床研究^[28]。

实验研究发现,MECP2 基因功能缺失型患者体内存在神经递质和神经调控异常 (去甲肾上腺素、5-羟色胺、谷氨酸、GABA、胆碱信号系统)。因此,Naidu 开展随机开放实验验证口服右美沙芬 (一种 NMDA 拮抗剂) 对女性 Rett 综合征患儿癫痫和认知的疗效 (2008-2014, ClinicalTrials.gov: NCT00593957),结果显示右美沙芬可以显著改善患儿的语言、认知,但是对癫痫发作没有改善。非选择性阻断 NMDAR 拮抗剂,氯胺酮,在 Rett 动物模型中获得了良好的效果,现正在进行临床前期研究^[29]。Rett 综合征患儿及动物模型的多巴代谢减慢、多巴胺活动减少,因此针对左旋多巴治疗 Rett 综合征的有效性进行了实验研究,

发现左旋多巴可以增加基因敲除鼠的运动能力^[30]。MECP2 基因敲除动物实验显示,GABA 水平在某些脑区的下降可能与呼吸暂停相关;而 GABA 再摄取抑制剂 NO-711 可以 4 倍减少呼吸暂停的次数,5-羟色胺受体拮抗剂也成功地减少了 MECP2 基因敲除鼠呼吸异常的程度和频率,均已进入临床实验^[31]。

MeCP2 蛋白可以通过绑定胰岛素样生长因子 -1 (IGF-1) 调控 IGF1R 和 Akt 信号通路,导致 BDNF 表达减少。临床研究显示,BDNF 可减轻 Rett 综合征患儿的临床症状^[32];FDA 批准的考帕松在基因敲除动物可以增加 BDNF 的表达。BDNF 很难透过血脑屏障,但 IGF-1 可以活化 TrkB (tropomyosin receptor kinase B) 受体,并通过 PI3K、AKT 和 mTOR 信号通路激活下游蛋白合成^[33]。IGF-1 能改善 Rett 综合征患儿行为异常、呼吸暂停等表现;已经结束的 IGF-1 一期临床实验 (NCT identifier 01253317) 提示耐受性良好,目前已进入有效性评估的二期临床研究 (NCT identifier 01777542)。

三庚酸甘油酯减轻 Rett 综合征患儿的抽搐、肌张力障碍已经得到一期临床试验证实,关于其能否改善 Rett 综合征患儿线粒体功能的研究已进入二期临床研究 (NCT02696044)。

尽管许多神经发育调控的靶点被发现,转换工作也在进行,但早期临床实验还存在很多问题。在过去 30 多年,一些因为设计错误被终止的临床研究中只有 3 项平行、随机、双盲、对照 (RCT) 研究,5 项成组交叉设计研究,虽然大部分研究显示有效,但没有一项用于临床实践。而且也可能由于患儿家属对这类“不能治疗、自然病程预后差”疾病报予的极大期望,得出假阳性结果。所以应该开展更加准确的随机双盲对照实验。但标准的随机、对照、双盲研究需要上千例病人参与,耗时数年才能完成。如果能集中资源、全球参与,合理设计,可能给市场带来更多真正有效的药物,也给改善病情带来希望。

随着二代测序技术的迅猛发展及其在儿童神经发育性疾病的广泛应用,越来越多的新致病基因可能被发现。然而致病基因的发现只是阐明发病机制、提供新治疗方案和改善预后的开始。MECP2 基因的发现从实验室再回到临床的复杂过

程及取得的成绩,是探索神经发育性疾病的经典教材,为临床、科研及临床转化工作指明了方向。

[参 考 文 献]

- [1] Rett A. On a unusual brain atrophy syndrome in hyperammonemia in childhood[J]. *Wien Med Wochenschr*, 1966, 116(37): 723-726.
- [2] Hagberg B, Aicardi J, Dias K, et al. A progressive syndrome of autism, dementia, ataxia, and loss of purposeful hand use in girls: Rett's syndrome: report of 35 cases[J]. *Ann Neurol*, 1983, 14(4): 471-479.
- [3] 赵东红, 吴希如, 刘学会, 等. Rett 综合征两例报道 [J]. *中华儿科杂志*, 1987, 25: 102.
- [4] Amir RE, Van den Veyver IB, Wan M, et al. Rett syndrome is caused by mutations in X-linked MECP2, encoding methyl-CpG-binding protein 2[J]. *Nat Genet*, 1999, 23(2): 185-188.
- [5] Van Esch H, Bauters M, Ignatius J, et al. Duplication of the MECP2 region is a frequent cause of severe mental retardation and progressive neurological symptoms in males[J]. *Am J Hum Genet*, 2005, 77(3): 442-453.
- [6] Elisa S Na, Erika D Nelson, Ege T Kavalali, et al. The impact of MeCP2 loss- or gain-of-function on synaptic plasticity[J]. *Neuropsychopharmacology*, 2013, 38(1): 212-219.
- [7] Salomão Schwartzman J, Zatz M, dos Reis Vasquez L, et al. Rett syndrome in a boy with a 47, XXY karyotype[J]. *Am J Hum Genet*, 1999, 64(6): 1781-1785.
- [8] Colvin L, Fyfe S, Leonard S, et al. Describing the phenotype in Rett syndrome using a population database[J]. *Arch Dis Child*, 2003, 88(1): 38-43.
- [9] 张晓英, 赵滢, 包新华, 等. 中国人群 Rett 综合征的遗传特点与机制研究 [J]. *中华医学遗传学杂志*, 2014, 31(1): 1-5.
- [10] Thomas GH. High male: female ratio of germ-line mutations: an alternative explanation for postulated gestational lethality in males in X-linked dominant disorders[J]. *Am J Hum Genet*. 1996, 58(6): 1364-1368.
- [11] Zoghbi HY, Percy AK, Schultz RJ, et al. Patterns of X chromosome inactivation in the Rett syndrome[J]. *Brain Dev*, 1990, 12(1): 131-135.
- [12] Amir RE, Van den Veyver IB, Schultz R, et al. Influence of mutation type and X chromosome inactivation on Rett syndrome phenotypes[J]. *Ann Neurol*, 2000, 47(5): 670-679.
- [13] Meins M, Lehmann J, Gerresheim F, et al. Submicroscopic duplication in Xq28 causes increased expression of the MECP2 gene in a boy with severe mental retardation and features of Rett syndrome[J]. *J Med Genet*, 2005, 42(2): e12.
- [14] Van Esch H. MECP2 Duplication syndrome[J]. *Mol Syndromol*, 2012, 2(3-5): 128-136.
- [15] Scott Schwoerer J, Laffin J, Haun J, et al. MECP2 duplication: possible cause of severe phenotype in females[J]. *Am J Med Genet A*, 2014, 164A(4): 1029-1034.
- [16] Chen RZ, Akbarian S, Tudor M, et al. Deficiency of methyl-CpG binding protein-2 in CNS neurons results in a Rett-like phenotype in mice[J]. *Nat Genet*, 2001, 27(3): 327-331.
- [17] Akbarian S. The neurobiology of Rett syndrome[J]. *Neuroscientist*, 2003, 9(1): 57-63.
- [18] Gadalla KK, Bailey ME, Spike RC, et al. Improved survival and reduced phenotypic severity following AAV9/MECP2 gene transfer to neonatal and juvenile male Mecp2 knockout mice[J]. *Mol Ther*, 2013, 21(1): 18-30.
- [19] Robinson L, Guy J, McKay L, et al. Morphological and functional reversal of phenotypes in a mouse model of Rett syndrome[J]. *Brain*, 2012, 135(Pt 9): 2699-2710.
- [20] Sztainberg Y, Chen HM, Swann JW, et al. Reversal of phenotypes in MECP2 duplication mice using genetic rescue or antisense oligonucleotides[J]. *Nature*, 2015, 528(7580): 123-126.
- [21] Chahrour M, Jung SY, Shaw C, et al. MeCP2, a key contributor to neurological disease, activates and represses transcription[J]. *Science*, 2008, 320(5880): 1224-1229.
- [22] Feldman D, Banerjee A, Sur M. Developmental dynamics of Rett syndrome[J]. *Neural Plast*, 2016, 2016: 6154080.
- [23] Blue ME, Naidu S, Johnston MV. Development of amino acid receptors in frontal cortex from girls with Rett syndrome[J]. *Ann Neurol*, 1999, 45(4): 541-545.
- [24] Blue ME, Naidu S, Johnston MV. Altered development of glutamate and GABA receptors in the basal ganglia of girls with Rett syndrome[J]. *Exp Neurol*, 1999, 156(2): 345-352.
- [25] Johnston MV, Ammanuel S, O'Driscoll C, et al. Twenty-four hour quantitative-EEG and in-vivo glutamate biosensor detects activity and circadian rhythm dependent biomarkers of pathogenesis in Mecp2 null mice[J]. *Front Syst Neurosci*, 2014, 8: 118.
- [26] He LJ, Liu N, Cheng TL, et al. Conditional deletion of Mecp2 in parvalbumin-expressing GABAergic cells results in the absence of critical period plasticity[J]. *Nat Commun*, 2014, 5: 5036.
- [27] Bosnjak ZJ, Yan Y, Canfield S, et al. Ketamine induces toxicity in human neurons differentiated from embryonic stem cells via mitochondrial apoptosis pathway[J]. *Curr Drug Saf*, 2012, 7(2): 106-119.
- [28] Katz DM, Bird A, Coenraads M, et al. Rett Syndrome: Crossing the threshold to clinical translation[J]. *Trends Neurosci*, 2016, 39(2): 100-113.
- [29] Durand S, Patrizi A, Quast KB, et al. NMDA receptor regulation prevents regression of visual cortical function in the absence of Mecp2[J]. *Neuron*, 2012, 76(6): 1078-1090.
- [30] Panayotis N, Pratte M, Borges-Correia A, et al. Morphological and functional alterations in the substantia nigra pars compacta of the Mecp2-null mouse[J]. *Neurobiol Dis*, 2011, 41(2): 385-397.
- [31] Abdala AP, Toward MA, Dutschmann M, et al. Deficiency of GABAergic synaptic inhibition in the Kölliker-Fuse area underlies respiratory dysrhythmia in a mouse model of Rett syndrome[J]. *J Physiol*, 2016, 594(1): 223-237.
- [32] Zeev BB, Bebbington A, Ho G, et al. The common BDNF polymorphism may be a modifier of disease severity in Rett syndrome[J]. *Neurology*, 2009, 72(14): 1242-1247.
- [33] Banerjee A, Castro J, Sur M. Rett syndrome: genes, synapses, circuits, and therapeutics[J]. *Front Psychiatry*, 2012, 3: 34.

(本文编辑: 俞燕)