

文章编号: 1001-6325(2023)04-0660-05

短篇综述

组织激肽释放酶 8 在神经系统疾病中作用的研究进展

刘诗雨, 刘宇健*

上海体育学院 运动科学学院 教育部运动与健康科学重点实验室 上海市运动与代谢健康前沿科学研究基地,
上海 200438

摘要:组织激肽释放酶 8(KLK8)与中枢神经系统的联系极为紧密,通过改变突触间的黏附关系和细胞外基质分子从而改变突触形态,调节突触可塑性,最终参与多种神经系统疾病的病理过程。本文针对 KLK8 的生理特性,对其在神经系统疾病如情绪障碍、阿尔茨海默病、癫痫、多发性硬化中的作用与发病机制进行综述。期待能够为神经系统疾病诊断和预后提供理论依据,为此类疾病的研究提供方向。

关键词: 激肽释放酶 8;突触可塑性;情绪障碍;阿尔茨海默病

中图分类号:R33 文献标志码:A

DOI:10.16352/j.issn.1001-6325.2023.04.0660

Research progress on the role of kallikrein 8 in neurological diseases

LIU Shiyu, LIU Yujian*

School of Kinesiology, the Key Laboratory of Exercise and Health Sciences of Ministry of Education,
Shanghai Frontiers Science Research Base of Exercise and Metabolic Health, Shanghai University of Sport, Shanghai 200438, China

Abstract: Kallikrein 8 (KLK8) is closely related to the central nervous system and is involved in the pathological processes of many neurological diseases by altering inter-synaptic adhesion relationships and extracellular matrix molecules thereby modifying synaptic morphology and regulating synaptic plasticity. In this paper, we review the role and pathogenesis of KLK8 in neurological disorders such as dysthymic disorders, Alzheimer's disease, epilepsy, and multiple sclerosis with respect to its physiological properties. It is expected to provide a theoretical basis for the diagnosis and prognosis of neurological diseases and provide directions for the research of such diseases.

Key words: kallikrein 8; synaptic plasticity; dysthymic disorders; Alzheimer's disease

组织激肽释放酶是机体调节系统,即激肽释放酶-激肽系统(kallikrein-kinin system, KKS)的重要组成部分,几乎存在于所有正常组织中,并在大多数人体体液中分泌,通过水解低分子质量激肽原,释放缓激肽或胰激肽,进而激活激肽 B1、B2 受体,参与调控多种生理过程^[1]。到目前为止,共发现了 15 种组织激肽释放酶,尽管基因组结构相

似,但却拥有不同的表达模式^[2]。其中组织激肽释放酶 8 (kallikrein 8, KLK8)在中枢神经系统中含量丰富,不仅在突触可塑性和神经发育等过程中发挥作用,还被证明与抑郁、焦虑、阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)等疾病有关^[3]。KLK8 能通过结合特异性底物调控突触形成、神经保护、长时程增强(long-term potentiation, LTP)等重要的

收稿日期:2021-10-14 修回日期:2022-06-02

* 通信作者 (corresponding author): liuyujian@sus.edu.cn

神经生理过程,进而在上述疾病的病理发生过程中发挥关键作用,为增加对 KLK8 在神经系统疾病中作用的认识,本文对该方向的研究进展做一综述。

1 KLK8 参与的生理过程及功能

1.1 KLK8 的生理特性

作为丝氨酸蛋白酶,激肽释放酶需要激活位于活性中心的氨基酸残基才能参与正常的生理活动。KLK8 酶原主要储存在细胞外基质中,当受到应激、癫痫、长时程增强以及药物作用时被激活,因此在未受刺激的脑组织中几乎检测不出 KLK8 的酶活性^[4]。经过一系列蛋白水解酶级联反应后,KLK8 被激活,才能够正常发挥其生理功能。

由于剪接模式不同,KLK8 拥有不同的亚型,在神经系统中 1 型和 2 型 KLK8 表达最为丰富。在胎儿大脑中,2 型 KLK8 的表达量要少于 1 型,然而成年后却相反,这意味着 2 型 KLK8 是由幼儿到成人大脑可塑性功能所必需的蛋白酶^[4]。KLK8 的表达还具有随年龄增长而产生区域性改变的特性。成年小鼠 KLK8 由大脑皮层逐渐向嗅球和海马转移,而人类 KLK8 会在成年后逐渐聚集在大脑皮质和边缘系统^[5]。此外,KLK8 在神经系统的分布呈现出前脑特异性的特点,在海马和杏仁核外侧表达较多,而在前额叶、扣带回等区域中表达较弱^[6]。尽管在各年龄、各区域 KLK8 的表达量有所不同,但这些区域都与情绪、认知、学习和记忆等过程有着密切的联系。

1.2 KLK8 与神经可塑性

KLK8 在神经系统中起到许多作用,包括神经保护、增强轴突功能、促进胶质细胞活化等。作为一种分泌型丝氨酸蛋白酶,KLK8 通过改变突触与细胞外基质的黏附关系从而改变突触形态,参与突触可塑性调节。如细胞黏附分子(L1 cell adhesion molecular, L1-CAM)在胞外结构被 KLK8 裂解后,会诱导微管相关蛋白(microtubule associated protein-2c, MAP-2c)的表达,进而影响神经元迁移与轴突形态,包括树突棘的生长、树突丝状突起的形成等^[6]。除了 L1-CAM,能与 KLK8 特异性结合的底物还有:玻璃黏连蛋白(vitronectin)、纤维黏连蛋白(fibronectin, FN)、酪氨酸激酶受体 B2(ephrin

type-B receptor 2, EphB2) 以及神经调节蛋白-1(neuregulin-1, NRG-1)等^[3]。

LTP 指突触间信号传递更加有效且持续增强的现象,是突触可塑性的主要表现形式之一,是构成学习与记忆等大脑活动的生理基础;它包括两个阶段:早期暂时性的 E-LTP 和晚期持续性的 L-LTP。E-LTP 通过细胞外基质和突触膜之间的相互作用参与可塑性调控,这个过程依赖于突触后膜的 N-甲基-D-天冬氨酸受体(N-methyl-D-aspartate receptor, NMDA)和钙调蛋白依赖激酶Ⅱ(calcium/calmodulin-dependent protein kinase, CAMK II)的激活,进而增加突触内 AMPA 受体(α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole-propionic acid receptors)数量,介导突触兴奋性的传递^[7]。在应激状态下,KLK8 通过裂解 EphB2 受体的胞外部分,能减少其与 NMDA 受体结合,参与杏仁核的突触可塑性^[8]。NRG-1 在轴突导向、神经元迁移和发育等方面有着重要作用,被 KLK8 裂解后的 NRG-1 会促进磷酸化过程,影响海马 CA1 区的抑制性神经元,减少神经递质 GABA(γ -aminobutyric acid)传递^[9]。一旦 GABA 传递受损,会导致突触后膜过度兴奋,从而阻止 NMDA 受体对早期 LTP 的诱导。除了参与早期 LTP 过程,KLK8 还被发现能通过整合素 $\beta 1$ (integrin $\beta 1$)和 CaMK II 信号参与晚期 LTP 的突触标记与交叉标记,促进基底树突和树突顶端两个突触的结合,调节 E-LTP 到 L-LTP 的转换^[10]。但是目前为止还没有文章能够阐明从细胞外到细胞内信号传导、突触标记和 L-LTP 关联的机制,这些都需要做进一步的研究。

由 KLK8 介导的神经活性依赖型细胞外蛋白水解是一种新的分子机制,能与特异性底物结合参与调控突触可塑性,了解这些生理机制将对今后研究认知记忆相关疾病、情绪障碍和其他神经系统疾病起到重要作用。

2 KLK8 参与的神经系统疾病

2.1 KLK8 与情绪障碍

KLK8 基因在海马、大脑皮质、杏仁核、小脑、嗅球和前额叶皮质中均有表达,这些区域除了与记忆活动有关,还与认知、行为和情绪紧密联系。KLK8 的底物 NRG-1 是精神分裂症和双相情感障碍的生

物标志物之一,在与 KLK8 作用后会迅速磷酸化,阻碍神经递质的产生,影响疾病的发生机制^[11]。在长期应激状态下, KLK8 表达会显著增加,并影响与 EphB2 受体和 NMDA 受体的动态相互作用,上调 Fkbp5 (FK506 binding protein 5) 基因的表达,参与杏仁核内的突触调节,产生应激性焦虑^[8]。而 KLK8 基因敲除后,慢性应激下的抑郁样行为和记忆障碍的程度有所减轻,这可能是由体内应激激素皮质酮所介导。暴露于应激状态下皮质酮升高的小鼠会逐渐改变其树突和髓鞘形态以及空间记忆能力,在 KLK8 基因敲除后血浆皮质酮水平逐渐恢复,进而海马神经元结构受到保护、神经损伤减少、抑郁样行为减轻^[12]。这些研究表明由 KLK8 驱动的突触外蛋白水解,能够通过应激相关行为中细胞间信号分子的动态相互作用,调节突触可塑性,参与情绪有关疾病形成。

然而,以上的研究结果与猜测均基于动物实验。有研究比较了抑郁症患者和对照组 KLK8 在 mRNA 水平的表达量,其研究结果与之前的动物实验基本一致,抑郁症组 KLK8 在 mRNA 水平的表达显著高于健康对照组^[13]。作者将这种表达增加认为是机体对疾病的一种防御反应, KLK8 通过激活激肽 B1、B2 受体,参与外周和中枢神经系统的炎症反应和免疫反应,从而参与抑郁症的发生过程。

从以上众多研究可以看出, KLK8 的确与抑郁、焦虑的病理过程有关,但是具体的病理机制还需要更深入研究。研究人类 KLK8 与精神分裂症和双相情感障碍方向的实验也需要不断完善,为治疗情绪障碍疾病提供理论依据。

2.2 KLK8 与阿尔茨海默病

KLK8 在阿尔茨海默病中表达增加已经得到了大量研究证实。研究者检测了 AD 患者血液中 KLK8 的表达水平,具有轻度认知障碍的 AD 患者 KLK8 mRNA 含量显著高于对照组^[14]。这可能是 KLK8 通过切割纤维黏连蛋白影响 β 淀粉样前体蛋白 (amyloid precursor protein, APP) 的分泌,而 APP 水解后形成的 β 淀粉样蛋白 (amyloid- β , A β) 沉积正是 AD 发病的主要原因^[15]。除此之外, KLK8 与 EphB2 的结合也能够引发与记忆功能有关的细胞内信号级联,当二者结合被抑制后会影响 APP 水解并

加速血脑屏障对 A β 的清除,促进小胶质细胞自噬,减轻大脑 A β 负荷,进而抑制 Tau 蛋白异常磷酸化,增强神经可塑性,最终改善记忆、减少恐惧,改变阿尔茨海默病的病理过程^[16]。还有研究发现 KLK8 通过切割 L1-CAM,能够诱导树突生长标志物 MAP-2c 的表达、促进树突的生长。而当 MAP-2c 缺乏时会促进蛋白激酶 A (protein kinase A, PKA) 介导的 cAMP 反应元件结合蛋白 (cAMP-response element binding protein, CREB) 失活,下调部分记忆相关基因,表现为 AD 中最主要的记忆功能障碍^[6]。因此在 AD 病理过程中,抑制多余的 KLK8 可能对改善某些疾病特征有利,如促进神经元增殖、增加神经突起密度和神经元胞体大小,重建轴突稳定性与复杂性,减少神经炎斑,降低磷酸化 Tau 蛋白比率,从而诱导 Tau 去磷酸化信号传导,最终改善记忆障碍^[16]。一旦体内 KLK8 产生过量,能与之特异性结合的底物便会逐渐耗竭,促进 AD 病的发展。当纤维黏连蛋白缺乏时会增加 A β 沉积的生成;缺少底物 EphB2 和 L1-CAM 时会加速认知、记忆功能障碍;缺乏 NRG-1 会造成神经元凋亡以及神经炎性斑块沉淀,这些都影响着 AD 的病理机制。

此外,性别也可能作为 KLK8 诱导 AD 的因素,有研究检测出 AD 在女性群体中拥有较高发病率,并且 KLK8 在成年女性中表达显著增高。这可能是因为 KLK8 易受类固醇激素的转录调节,而女性特有的 β -雌二醇会诱导神经元和小胶质细胞中 KLK8 的产生^[17]。

总之, KLK8 在 AD 中表达增加已经得到了越来越多的实验证明,能够与 KLK8 相互作用的底物也陆续被实验证实。但是 KLK8 与这些底物结合发挥的特异性作用以及背后的信号传导通路还需要不断验证,是否存在更多底物能够参与阿尔茨海默病的病理机制也需要继续研究。

2.3 KLK8 与其他神经系统疾病

除了在情绪、记忆等高级脑功能中发挥重要作用外, KLK8 还与神经系统肿瘤有关。有实验研究了 KLK8 在颅内肿瘤中的表达,结果显示胶质细胞瘤中 KLK8 表达量显著升高^[18]。组织激肽释放酶一直被认为是形成肿瘤微环境的细胞间相互作用的调节剂,通过激活与肿瘤相关的蛋白水解参与肿瘤的发病机制^[19],不过目前还没有发现具体

的结合底物与信号通路,未来需要进行更多的实验研究。

多发性硬化也是一种常见的神经系统疾病,其主要的病理过程包括少突胶质细胞和髓鞘被降解。有研究发现 KLK8 基因敲除小鼠在髓鞘少突胶质细胞糖蛋白诱导的自身免疫性脑脊髓炎中展现出炎症反应和脱髓鞘减弱的现象,这意味着 KLK8 可能参与多发性硬化的病理过程,作者猜测这可能是依靠中枢神经系统内源性细胞发挥作用,但仍需要更多实验证实^[20]。

与以上不同的是,在颞叶癫痫动物模型的慢性发作负荷下,KLK8 表达水平具有明显降低^[21]。这可能是由于 KLK8 通过调节中间神经元(parvalbumin, PV)的活动,在颞叶癫痫的病理过程中发挥作用^[22]。在 LTP 过程中,KLK8 能够裂解成熟的 NRG-1 并释放一种可溶性配体,激活 ErbB4 受体与中间神经元,参与癫痫发病机制。在 KLK8 缺乏的小鼠中,随着中间神经元的活性降低,锥体神经元活性会增加,这损害了海马的信号传导和兴奋-抑制平衡(E/I 平衡),导致癫痫发作的活动增强^[23]。

参考文献:

- [1] Pampalakis G, Zingkou E, Panagiotidis C, *et al.* Kallikreins emerge as new regulators of viral infections[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2021, 78: 6735-6744.
- [2] Di Paolo, Diamandis EP, Prassas I. The role of kallikreins in inflammatory skin disorders and their potential as therapeutic targets[J]. *Crit Rev Clin Lab Sci*, 2021, 58: 1-16.
- [3] Mella C, Figueroa CD, Oth C, *et al.* Involvement of Kallikrein-related peptidases in nervous system disorders[J]. *Front Cell Neurosci*, 2020, 14: 166.doi:10.3389/Fncel.2020.00166.
- [4] Bukowski L, Chernomorchenko AMF, Starnawska A, *et al.* Neuropsin in mental health[J]. *J Physiol Sci*, 2020, 70: 26.
- [5] Konar A, Thakur MK. Neuropsin expression correlates with dendritic marker MAP2c level in different brain regions of aging mice [J]. *Mol Neurobiol*, 2015, 51: 1130-1138.
- [6] Konar A, Kumar A, Maloney B, *et al.* A serine protease KLK8 emerges as a regulator of regulators in memory: Microtubule protein dependent neuronal morphology and PKA-CREB signaling[J]. *Sci Rep*, 2018, 8: 9928.doi: 10.1038/s41598-018-27640-6.
- [7] He X, Wang Y, Zhou G, *et al.* A critical role for gamma-CaMKII in decoding NMDA signaling to regulate AMPA receptors in putative inhibitory interneurons[J]. *Neurosci Bull*, 2022. doi:10.1007/s12264-022-00840-x.
- [8] Attwood BK, Bourgognon JM, Patel S, *et al.* Neuropsin cleaves EphB2 in the amygdala to control anxiety[J]. *Nature*, 2011, 473: 372-375.
- [9] Nakazawa H, Suzuki Y, Ishikawa Y, *et al.* Impaired social discrimination behavior despite normal social approach by kallikrein-related peptidase 8 knockout mouse [J]. *Neurobiol Learn Mem*, 2019, 162: 47-58.
- [10] Ishikawa Y, Tamura H, Shiosaka S. Diversity of neuropsin (KLK8)-dependent synaptic associativity in the

而 E/I 平衡紊乱导致的行为异常同时也是病理性焦虑症、自闭症等精神疾病的发病机制之一,这或许可以作为未来 KLK8 的研究方向^[24]。

3 问题与展望

上述这些研究都表明,KLK8 不仅在神经系统中广泛表达,而且能够通过特异性结合不同底物,改变突触的结构与排列,影响 LTP 过程,调节突触可塑性,进而影响焦虑、抑郁等情绪障碍以及 AD 等神经系统疾病的发病机制。但是目前关于 KLK8 在人体中表达及作用的研究还远远不够,KLK8 能与哪些底物结合发挥作用以及背后的信号传导通路都需要不断验证。在未来,可以利用庞大的生物信息数据库对 KLK8 参与神经系统疾病背后的分子机制研究予以指导;此外还需加快临床实验的研究步伐,了解 KLK8 在人体中的表达与作用,能够更快运用到人类神经系统疾病当中。希望通过对 KLK8 在神经系统中生理特性和作用的研究,能够为神经系统疾病诊断和预后提供理论依据,为此类疾病的研究提供方向。

- hippocampal pyramidal neuron [J]. *J Physiol*, 2011, 589: 3559-3573.
- [11] Yang J, Kang C, Wu C, *et al.* Pharmacogenetic associations of NRG1 polymorphisms with neurocognitive performance and clinical symptom response to risperidone in the untreated schizophrenia [J]. *Schizophr Res*, 2021, 231: 67-69.
- [12] Chang S, Bok P, Sun CP, *et al.* Neuropsin inactivation has protective effects against depressive-like behaviours and memory impairment induced by chronic stress [J]. *PLoS Genet*, 2016, 12: e1006356, doi:10.1371/journal.pgen.1006356.
- [13] Bobinska K, Mossakowska-Wojcik J, Szemraj J, *et al.* Human neuropsin gene in depression [J]. *Psychiatr Danub*, 2017, 29: 195-200.
- [14] Schramm S, Jokisch M, Jockel KH, *et al.* Is kallikrein-8 a blood biomarker for detecting amnesic mild cognitive impairment? Results of the population-based Heinz Nixdorf Recall study [J]. *Alzheimers Res Ther*, 2021, 13: 202. doi:10.1186/s13195-021-00945-x.
- [15] Herring A, Kurapati NK, Krebs S, *et al.* Genetic knock-down of Klk8 has sex-specific multi-targeted therapeutic effects on Alzheimer's pathology in mice [J]. *Neuropathol Appl Neurobiol*, 2021, 47: 611-624.
- [16] Munster Y, Keyvani K, Herring A. Inhibition of excessive kallikrein-8 improves neuroplasticity in Alzheimer's disease mouse model [J]. *Exp Neurol*, 2020, 324: 113-115.
- [17] Keyvani K, Munster Y, Kurapati NK, *et al.* Higher levels of kallikrein-8 in female brain may increase the risk for Alzheimer's disease [J]. *Brain Pathol*, 2018, 28: 947-964.
- [18] Drucker KL, Gianinni C, Decker PA, *et al.* Prognostic significance of multiple kallikreins in high-grade astrocytoma [J]. *BMC Cancer*, 2015, 15: 565. doi: 10.1186/s12885-015-1566-5.
- [19] Srinivasan S, Kryza T, Batra J, *et al.* Remodelling of the tumour microenvironment by the kallikrein-related peptidases [J]. *Nat Rev Cancer*, 2022, 22: 223-238.
- [20] Panos M, Christophi GP, Rodriguez M, *et al.* Differential expression of multiple kallikreins in a viral model of multiple sclerosis points to unique roles in the innate and adaptive immune response [J]. *Biol Chem*, 2014, 395: 1063-1073.
- [21] Missault S, Peeters L, Amhaoul H, *et al.* Decreased levels of active uPA and KLK8 assessed by [(111)In] MICA-401 binding correlate with the seizure burden in an animal model of temporal lobe epilepsy [J]. *Epilepsia*, 2017, 58: 1615-1625.
- [22] Kawata M, Morikawa S, Shiosaka S, *et al.* Ablation of neuropsin-neuregulin 1 signaling imbalances ErbB4 inhibitory networks and disrupts hippocampal gamma oscillation [J]. *Transl Psychiatry*, 2017, 7: e1052, doi:10.1038/tp.2017.20.
- [23] Ray B, Sokol DK, Maloney B, *et al.* Finding novel distinctions between the sAPP-mediated anabolic biochemical pathways in Autism Spectrum Disorder and Fragile X Syndrome plasma and brain tissue [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 26-52.
- [24] Diab A, Qi J, Shahin I, *et al.* NCK1 regulates amygdala activity to control context-dependent stress responses and anxiety in male mice [J]. *Neuroscience*, 2020, 448: 107-125.