

综述

脊髓小脑共济失调中浦肯野神经元信号转导异常的研究进展

吴琼^{1, 2, 3}, 黄青芸^{1, 2, 3}, 谭国鹤^{1, 2, 3, *}

¹广西医科大学转化医学研究中心; ²长寿与老年相关疾病教育部重点实验室; ³广西医科大学基础医学院, 广西脑科学重点实验室, 南宁 530021

摘要: 脊髓小脑共济失调(spino cerebellar ataxias, SCAs)是一组常染色体显性遗传性神经退行性疾病。目前已知的SCAs亚型众多, 具有明显的遗传异质性和临床变异性。浦肯野神经元变性和小脑萎缩是大部分SCAs亚型共同的病理特征。浦肯野神经元的生理功能受到多重因素的调节, 其信号转导功能障碍会导致小脑运动控制能力失常。本文主要综述了SCAs中浦肯野神经元电压门控离子通道、细胞内钙信号及谷氨酸信号转导异常, 旨在为深入理解SCAs的共同发病机制、寻找并开发特异性治疗方法提供理论依据。

关键词: 脊髓小脑共济失调; 浦肯野神经元; 信号转导; 离子通道

Abnormalities in signal transduction of Purkinje cells in spinocerebellar ataxias: a review

WU Qiong^{1, 2, 3}, HUANG Qing-Yun^{1, 2, 3}, TAN Guo-He^{1, 2, 3, *}

¹Center for Translational Medicine, Guangxi Medical University; ²Key Laboratory of Longevity and Aging-related Diseases of Chinese Ministry of Education; ³Guangxi Key Laboratory of Brain Research, School of Basic Medical Sciences, Guangxi Medical University, Nanning 530021, China

Abstract: Spinocerebellar ataxias (SCAs) are a group of autosomal dominant neurodegenerative diseases that have been currently identified with numerous subtypes exhibiting genetic heterogeneity and clinical variability. Purkinje neuronal degeneration and cerebellar atrophy are common pathological features among most SCA subtypes. The physiological functions of Purkinje cells are regulated by multiple factors, and their dysfunction in signal transduction may lead to abnormal cerebellar motor control. This review summarizes the abnormalities in voltage-gated ionic channels, intracellular calcium signaling, and glutamate signaling transduction of Purkinje cells in SCAs, aiming to provide a theoretical basis for further understanding the common pathogenesis of SCAs and developing specific treatments.

Key words: spinocerebellar ataxias; Purkinje cells; signal transduction; ion channels

脊髓小脑共济失调(spino cerebellar ataxias, SCAs)是常染色体显性遗传性小脑共济失调 (autosomal dominant cerebellar ataxia, ADCA), 以平衡和运动协调能力受损为特征, 其病理改变可能涉及但不局限于脊髓、小脑、周围神经、脑干和基底节等在内多个区域^[1]。目前已发现至少 50 种 SCAs 亚型, 不同亚型之间的症状重叠明显^[2-4]。根据 ADCA 的临床表现将 SCAs 分为 3 种类型: ADCA I 型表现为小

脑性共济失调合并眼肌麻痹、痴呆、锥体外系征、视神经萎缩和肌萎缩等, 多数 SCAs 属于此类; ADCA II 型特征是进行性小脑性共济失调和视网膜变性, 仅包含 SCA7; ADCA III 型表现为单纯小脑性共济失调, 如 SCA5、SCA6、SCA41 等^[5, 6]。2014 年全球流行病学研究报告估计 SCAs 的患病率约为 2.7/10 万人^[7]。迄今为止, 世界范围内尚无批准用于治疗 SCAs 的特效药物^[8]。该疾病甚至会影

*Corresponding author. E-mail: tanguohe@gxmu.edu.cn

响患者整个生命周期, 导致个人、家庭和社会负担严重增加^[9]。

小脑在控制运动功能和非运动功能(认知、情绪等)中发挥着重要作用^[10]。小脑皮层是小脑控制和协调运动的重要区域, 浦肯野神经元作为小脑皮层中唯一的输出神经元, 其放电活动受到来自分子层篮状细胞和星状细胞的局部抑制性输入, 以及两条兴奋性输入的双向调节^[11], 其中来自苔藓纤维—颗粒细胞的兴奋性突触输入负责诱导浦肯野神经元产生高频“简单锋电位”活动; 来自下橄榄核—爬行纤维的兴奋性突触输入负责诱导浦肯野神经元产生复杂锋电位^[12]。浦肯野神经元整合所有信息, 将抑制性冲动输送至小脑深部核团, 再投射至丘脑、脑干和运动皮层, 参与小脑对机体运动平衡的调节过程^[13]。不同亚型 SCAs 的突变基因多样, 但在大多数 SCAs 患者和模型小鼠中都能够观察到小脑浦肯野神经元死亡和小脑萎缩等共同病理特征^[1]。浦肯野神经元是 SCAs 中受到影响最大的神经元群, 在一些亚型中有超过 75% 浦肯野神经元丢失的情况^[14]。SCAs 相关突变影响了浦肯野神经元的活性、钙动力学和树突发育^[15]。浦肯野神经元的放电功能受损时, 小脑深部核团神经元去抑制而出现高兴奋性状态, 对运动中枢的兴奋性输入增加, 表现为运动协调障碍^[14]。此外, 浦肯野神经元的发育和小脑成熟也会受到 SCAs 遗传突变的影响, 主要表现为突触形成减少、修剪异常, 树突分支减少, 树突棘密度降低, 小脑皮层变薄等, 从而出现浦肯野神经元细胞内钙稳态和细胞间突触传递失衡, 甚至导致细胞死亡, 出现共济失调表型^[15]。本文主要对 SCAs 中浦肯野神经元电压门控离子通道、细胞内钙信号及谷氨酸信号转导异常等方面进行综述, 以期深入了解 SCAs 的发病基础、探讨疾病治疗新策略提供理论依据。

1 SCAs 中浦肯野神经元电压门控离子通道异常

浦肯野神经元自发动作电位由电压门控钠通道 1.6 (voltage-gated sodium channel 1.6, $\text{Na}_v1.6$) 介导的复活钠电流驱动, 当膜电位达到阈值时, $\text{Na}_v1.6$ 和 $\text{Na}_v1.1$ 通道被最大程度地激活, 使大量钠离子内流, 产生动作电位的上升支^[16]。电压门控钾通道 (voltage-gated potassium channel, K_v) 成员 K_v3 家族驱动形成动作电位的下降支^[17]。膜去极化后, 电压门控

钙通道 (voltage-gated calcium channel, Ca_v , 主要是 Ca_v1 和 Ca_v3 家族成员) 也被激活, 允许细胞外 Ca^{2+} 大量内流^[18, 19]。 Ca_v 通道与钙激活钾通道 (calcium-activated potassium channel, K_{Ca}) 耦合, 产生使膜电位超极化的外向钾电流^[20]。浦肯野神经元中的 K_{Ca} 通道主要包括大电导电压钙激活钾通道 (large-conductance voltage- and calcium-activated potassium channel, BK) 和小电导电压钙激活钾通道 (small-conductance voltage- and calcium-activated potassium channel, SK), 二者均能够引起膜电位后超极化, 有助于 Na_v 通道、 K_{Ca} 通道的失活, 从而保证它们在随后的动作电位中能够被再次激活。除此之外, K_{Ca} 通道还与树突 Ca^{2+} 锋电位形成、神经递质释放的调节有关^[21]。当浦肯野神经元中这些通道及相关蛋白的可用性和定位出现变化或发生突变时, 细胞内离子转运、细胞膜电位调节异常, 从而导致浦肯野神经元功能异常, 损害细胞活性, 进而出现细胞死亡, 常引起以缓慢进展型共济失调或非进行性先天共济失调为特征的 SCAs^[1]。

1.1 Na_v 通道异常

浦肯野神经元中 Na_v 通道对突触传入细胞、轴突传播和动作电位起始的整合起着非常重要的作用。小脑浦肯野神经元中的钠电流分为快失活钠电流 (I_{NaT})、慢失活钠电流 (I_{NaP}) 和复活钠电流 (I_{NaR}) 三种。 Na_v 通道在膜内呈负电位时关闭, 在去极化时激活, 引起短暂的 I_{NaT} 和持续微小的 I_{NaP} 。膜达到正电位后响应复极化, Na_v 通道进入快速失活状态的速度相对较慢, 通过细胞内蛋白质的电压依赖性解除通道阻断, 阻止稳定的 I_{NaT} 并产生 I_{NaR} , 有助于动作电位的形成并控制高频重复放电^[13]。 Na_v 通道的这些特性取决于其成孔 α 亚单位以及通道复合体中的辅助调节蛋白^[22]。

在浦肯野神经元中的 Na_v 通道成孔 α 亚单位以 $\text{Na}_v1.1$ 和 $\text{Na}_v1.6$ 表达最为丰富。 $\text{Na}_v1.1$ 由 *SCN1A* 基因编码, 在浦肯野神经元胞体中表达, 主要通过影响 60% 的钠电流来控制膜的兴奋性^[23]。 $\text{Na}_v1.1$ 的缺失会使小鼠浦肯野神经元 I_{NaP} 和 I_{NaR} 减少, 兴奋性降低, 致使小脑中抑制作用减弱, 造成神经网络过度兴奋, 可能引发癫痫和共济失调的发作^[24, 25]。 $\text{Na}_v1.6$ 由 *SCN8A* 基因编码, 在浦肯野神经元轴突始段大量表达, 主要产生 I_{NaP} 及 I_{NaR} ^[26]。由于 $\text{Na}_v1.6$ 介导的依赖性钠电流被阻断, 少数 *SCN8A* 功能缺失型基因突变患者可能表现为不伴有癫痫发作的单

纯共济失调^[25]。部分 *Scn8a* 缺失小鼠的浦肯野神经元 I_{NaT} 电流降低了 35%, I_{NaP} 降低幅度达到 70%, I_{NaR} 也表现出降低, 重复放电能力减弱^[13]; 然而, 人类 *SCN8A*^{N1768D} 突变敲入模型小鼠表现出神经元过度兴奋性、自发癫痫活动^[27]。由 *SPTBN2* 基因编码的血影蛋白 β III (spectrin β -III) 的突变会导致人类 SCA5 (ADCA III 型) 的发生; 体外培养出生后 16~20 天 SCA5 模型小鼠的浦肯野神经元记录到 I_{NaR} 减少, 自发放电频率降低。在疾病晚期小脑萎缩前就能观察到 Na_v 通道功能障碍, 可能与 *SPTBN2* 基因突变导致 $Na_v1.1$ 和 $Na_v1.6$ 的稳定性下降有关^[28]。浦肯野神经元中 Na_v 通道成孔 α 亚单位 $Na_v1.1$ 和 $Na_v1.6$ 对不同形式钠电流均存在影响, 当它们的表达及定位异常时往往会导致钠电流的减少, 影响浦肯野神经元的膜固有兴奋性。

在浦肯野神经元中, 小分子单跨膜辅助蛋白 Na_v 通道 β 亚单位能够与成孔 α 亚单位结合形成复合体, 影响 Na_v 通道的运输、定位和门控功能。其中 $Na_v\beta4$ 的 C 末端部分可能作为阻断蛋白, 通过共价二硫键与 $Na_v1.6$ 相互作用, 介导 $Na_v1.6$ 产生 I_{NaR} ^[22]。当 $Na_v\beta4$ 表达减少或被敲除时, 浦肯野神经元 I_{NaR} 减少, 放电频率减慢; 在体外培养的缺乏内源性 $Na_v\beta4$ 的浦肯野神经元中, 应用与 $Na_v\beta4$ 氨基酸序列相同的拟肽可以恢复其 I_{NaR} ^[26]。另一种重要的辅助调节蛋白是细胞内成纤维细胞生长因子 14 (fibroblast growth factor 14, FGF14), 在浦肯野神经元中与 $Na_v1.6$ 共定位于轴突始段且丰富表达, 作为阻断蛋白调节 Na_v 通道的定位。FGF14 与 Na_v 通道的 C 末端相互作用, 介导 $Na_v1.6$ 通道产生的 I_{NaR} 电流比与 $Na_v\beta4$ 介导的 I_{NaR} 电流更强大^[26]。SCA27 (ADCA I 型) 与 *FGF14* 基因外显子突变和移码突变相关, 患者表现为早发性震颤、认知、运动障碍和进行性小脑性共济失调等特征; 在部分迟发性小脑性共济失调患者中也发现了 *FGF14* 基因内含子的突变^[29]。这些都可能与 Na_v 通道活性降低所致的浦肯野神经元自发放电异常有关, 当浦肯野神经元中 FGF14 表达减少或完全缺失时, 其自发放电减弱^[30], $Na_v1.6$ 的表达减少, Na_v 通道失活、 I_{NaR} 减少^[22]。*Fgf14* 敲除小鼠表现出严重的平衡和运动协调缺陷, 小脑浦肯野神经元轴突始段 $Na_v1.1$ 和 $Na_v1.6$ 表达异常, 即使在给予去极化电流后, 绝大多数突变浦肯野神经元仍处于静止状态, 缺乏自主放电的能力^[31]。浦肯野神经元中 $Na_v\beta4$ 和 FGF14 作为重要

的阻断调节蛋白, 影响高频重复放电期间 Na_v 通道的定位和可用性, 导致神经系统过度兴奋, 引起以共济失调、肌张力障碍、震颤和智力障碍等为主要表现的 SCAs 疾病^[26]。

1.2 Ca_v 通道异常

在浦肯野神经元动作电位过程中, Ca_v 通道受到膜电位去极化诱导而开放, 引起的 Ca^{2+} 内流引发神经元兴奋性变化, 调控神经发生和基因表达等重要细胞生命活动。电压门控 P/Q 型钙通道 $Ca_v2.1$ 最早在小脑浦肯野神经元中发现, 其表达丰富, 能够引起 90% 以上的 Ca^{2+} 电流, 在调节锋电位特性、促进爬行纤维活性所致的钙瞬变和复杂锋电位方面发挥着关键作用^[32]。 $Ca_v2.1$ 通道成孔 $\alpha1A$ 亚基及其剪接变体 $\alpha1ACT$ 由 *CACNA1A* 基因编码。多种类型的 *CACNA1A* 基因突变小鼠, 在 7~8 月龄时开始出现进行性共济失调表型; 其浦肯野神经元中 P/Q 型 Ca^{2+} 电流密度、细胞膜兴奋性有不同程度的降低, 形态学表现为胞体和树突结构缩小、树突复杂程度明显减少^[33]。在 SCA6 (ADCA III 型) 患者中检测到 *CACNA1A* 基因编码的 $\alpha1ACT$ 异常^[34]。在模型小鼠中, $\alpha1ACT$ 异常会导致小脑皮层变薄并损害运动功能, 而在小鼠浦肯野神经元中靶向表达野生型 $\alpha1ACT$, 可以挽救 $\alpha1A$ 缺失带来的浦肯野神经元发育缺陷、树突连接异常以及运动功能失调^[35]。 $Ca_v2.1$ 通道的辅助亚基 $\alpha2\delta-2$ 在浦肯野神经元中特异性表达^[36], 它能够介导 Ca_v 通道与细胞内效应蛋白的功能性耦联, 控制去极化诱导的兴奋抑制和超极化后的动作电位^[37]。在小鼠中敲除编码 $\alpha2\delta-2$ 蛋白的 *Cacna2d2* 基因后, 观察到由爬行纤维诱发的浦肯野神经元复杂锋电位发生改变, 兴奋性突触后电流的幅度增加但迅速衰减, 导致膜电位变化和信号转导异常, 出现共济失调^[38]。以上结果表明, 浦肯野神经元中 $Ca_v2.1$ 通道的剪接变体 $\alpha1ACT$ 及其辅助亚基 $\alpha2\delta-2$ 出现异常时, 不仅通过降低 Ca^{2+} 电流影响神经元兴奋性, 还会造成树突的发育异常, 这些功能和器质性病变共同促进了 SCAs 的发病。

小脑中 T 型 Ca_v 通道的主要亚型是 $Ca_v3.1$, 具有调节神经元的静息膜电位附近兴奋性和振荡行为的电生理特性, 在浦肯野神经元的树突 Ca^{2+} 锋电位及其引发的自发放电中具有重要作用。研究人员在约 10 个 SCA42 (ADCA I 型) 家系中发现了编码 $Ca_v3.1$ 通道的 *CACNA1G* 基因的杂合点突变, 导致 $Ca_v3.1$ 的 S4 电压敏感区发生改变^[33]。在 *CACNA1G*

基因突变小鼠的小脑离体电生理实验中, 突触传递到浦肯野神经元的基本特性没有明显变化, 但 $\text{Ca}_v3.1$ 通道激活的电压依赖性向正电位方向移动^[39], 超极化后的反弹动作电位减少^[32]。这些结果提示 SCA42 的病理基础可能是由于 $\text{Ca}_v3.1$ 通道突变导致的膜兴奋性改变。近期有研究发现, T 型钙通道阻滞剂唑尼沙胺能够在不影响本底电压依赖性的情况下, 改善突变的 $\text{Ca}_v3.1$ 电压依赖性的异常位移, 这有可能为治疗 SCA42 患者的共济失调症状提供一些线索^[40]。

1.3 K_v 通道突变

在小脑浦肯野神经元维持高频放电的过程中, 不仅需要 Na^+ 电流的参与, 还需要具有快速激活和失活特性的 K^+ 电导。 K_v 通道中的高阈值钾通道具备这些特性。其中, $\text{K}_v3.3$ 通道在小脑浦肯野神经元胞体和树突中广泛表达, 并在兴奋性爬行纤维诱导的复杂锋电位形成中发挥作用。 $\text{K}_v3.3$ 是典型的延迟整流 K^+ 通道, 对静息钾电导几乎没有影响, 但能够在动作电位的上升阶段被激活, 参与动作电位的快速复极过程, 然后响应电压的变化快速失活, 几乎不存在相对不应期, 以保证浦肯野神经元的高频放电^[41]。编码 $\text{K}_v3.3$ 通道的 *KCNC3* 基因不同位置的点突变与 SCA13 (ADCA I 型) 相关, 包括 *KCNC3*^{R420H}、*KCNC3*^{R423H} 和 *KCNC3*^{F448L} 等。其中, *KCNC3*^{R420H} 突变会导致成人期起病的共济失调, 而 *KCNC3*^{R423H} 和 *KCNC3*^{F448L} 突变会导致儿童期起病的共济失调伴认知障碍^[42]。在斑马鱼模型中, *Kcnc3*^{R420H} 突变的浦肯野神经元在发育过程中可以正常成熟并存活, 不影响其自发放电, 但在诱发的高频放电过程中兴奋性降低, 因此这种突变形式所致的共济失调症状出现较晚^[43]; 而 *Kcnc3*^{R423H} 突变的浦肯野神经元的兴奋性显著而短暂地增加, 突起延伸迟缓, 树突棘复杂性显著降低, 突触发生受损, 导致在小脑发育早期出现浦肯野神经元死亡^[43]。体外研究表明, *KCNC3*^{R423H} 突变导致浦肯野神经元电压依赖性 K^+ 电流减少, 动作电位幅度增宽, 细胞内 Ca^{2+} 水平升高, 树突变短, 失去精细结构, 细胞死亡率增加^[42]。*KCNC3*^{F448L} 突变时 $\text{K}_v3.3$ 通道功能基本正常, 但激活阈值较低, 导致 K^+ 电流增加, 这种电压依赖性和动力学的改变可能会导致早期小脑退化^[44]。在小鼠中敲除 $\text{K}_v3.3$ 后, 其浦肯野神经元的动作电位比野生型更宽, 快速后超极化降低, 自发放电频率降低且无法维持高频放电, 爬行纤维

刺激诱导的复杂锋电位数量减少; 与电生理改变一致的是, 突变小鼠表现出轻微的行走轨迹缺陷和侧向偏移增加, 出现共济失调症状^[24]。此外, 浦肯野神经元亚阈值失活 K^+ 电流由 K_v1 、 K_v4 和 K_v11 通道产生, 其中在浦肯野神经元树突中特异性表达的 $\text{K}_v4.3$ 通道, 受到其辅助亚基调控, 影响通道的门控动力、细胞膜表面表达和亚细胞定位等^[45]。编码 $\text{K}_v4.3$ 亚基的 *KCND3* 基因突变会导致 SCA19/22, 使浦肯野神经元电压依赖门控向更去极化的电压转变, 导致严重共济失调表型^[44]。

K_{ca} 通道区别于传统的 K_v 通道, 属于 K_v 超家族, 它们同时受到膜电压和 Ca^{2+} 激活的调节。浦肯野神经元去极化过程中, K_{ca} 通道与 Ca_v 通道紧密耦合, 产生 Na_v 通道失活所必需的后超极化, 从而允许后续动作电位的产生, 维持神经元的高频放电^[44]。 K_{ca} 通道包括 BK 通道和 SK 通道, 浦肯野神经元中 BK 通道在去极化膜电位下被激活, 主要参与浦肯野神经元动作电位的复极化过程, 介导快速后超极化, 控制树突 Ca^{2+} 锋电位并影响突触传递^[46]。编码 BK 通道 α 亚单位的 *KCNMA1* 功能缺失后, 导致浦肯野神经元轴突生长迟缓、细胞活力降低和线粒体含量减少^[44], 简单锋电位频率略有降低, 复杂锋电位频率显著降低, 后超极化降低, 缺乏自发放电, 总体动作电位频率降低; 突变模型小鼠出现步幅较短、步伐不规则等运动协调和平衡受损的表现^[24]。浦肯野神经元中 SK 通道主要由 *KCNK2* 基因编码^[47], 在 SCA1、SCA2、SCA3、SCA6 和 SCA7 等亚型中均观察到 SK 通道的异常^[43, 48, 49], 表现为浦肯野神经元放电精度降低, 不规则放电使细胞内 Ca^{2+} 浓度异常升高, 引起神经元变性, 出现神经发育障碍、震颤和共济失调等症状^[50]。

以上研究结果提示 K_v 通道的异常可能会影响浦肯野神经元正常的放电模式, 进一步导致高兴奋性状态, 产生细胞毒性作用, 最终导致浦肯野神经元功能异常, 细胞活性降低, 出现浦肯野神经元死亡和小脑萎缩, 表现为共济失调症状。

2 SCAs 中浦肯野神经元钙稳态失衡

在浦肯野神经元兴奋性活动中, Ca^{2+} 不仅可以改变膜电位, 还可以作为第二信使触发基因转录、神经递质释放、突触生长发育和钙依赖性酶的激活等广泛的依赖性过程^[51]。谷氨酸刺激 G 蛋白耦联受体, 通过激活磷脂酶 C (phospholipase C, PLC) 产

生 1, 4, 5- 三磷酸肌醇 (inositol 1, 4, 5-triphosphate, IP_3), IP_3 与其受体 IP_3Rs 结合将 Ca^{2+} 从内质网中释放至胞质^[52]。PLC 还可以通过产生二酰基甘油 (diacylglycerol, DAG) 激活蛋白激酶 $C\gamma$ (protein kinase $C\gamma$, $PKC\gamma$) 和 IP_3R1 , 从而释放 Ca^{2+} 。 $PKC\gamma$ 可能通过磷酸化抑制经典瞬时受体电位通道 3 (transient receptor potential canonical 3, TRPC3) 的活性, 而细胞内 Ca^{2+} 浓度的升高可以促进 TRPC3 的活性。细胞内钙稳态受到相关通路的严格调控, 确保了细胞内 Ca^{2+} 浓度回到基础水平, 防止 Ca^{2+} 毒性级联反应和神经元死亡^[53]。当浦肯野神经元钙稳态失衡时, 可能会导致其结构和功能异常, 表现为小脑发育障碍、共济失调行为和学习能力受损等 SCAs 相关症状^[54]。

2.1 $PKC\gamma$ 异常

$PKC\gamma$ 是 PKC 家族在小脑浦肯野神经元中高度特异性表达的亚型, 失活状态通常分布在树突和胞体中, 激活后转移至胞膜^[55]。在小脑发育过程中, $PKC\gamma$ 受到 DAG 和 Ca^{2+} 的激活^[56], 参与爬行纤维与浦肯野神经元之间多余突触连接的修剪过程, 保证二者的一对一输入^[54]。 $PKC\gamma$ 能够抑制 TRPC3 通道活性, 影响细胞内 Ca^{2+} 释放^[57]。 $PKC\gamma$ 还可以通过调节树突信号转导抑制浦肯野神经元的 BK 电流, 维持细胞内钙稳态, 参与小脑发育过程和功能调节^[56]。编码 $PKC\gamma$ 的基因 *PRKCG* 突变与 SCA14 (ADCA I 型) 有关, 不同突变所致的 $PKC\gamma$ 的酶活性增强、功能获得、酶活性降低均可能引起浦肯野神经元病理改变^[58]。在离体培养的小脑切片中, $PKC\gamma$ 活性的增加抑制了浦肯野神经元树突棘的生长, 导致发育迟缓^[59]; 在 $PKC\gamma$ 敲除小鼠的浦肯野神经元中, 虽然没有观察到明显的形态异常^[60], 但是转棒实验中小鼠跌落潜伏期进行性缩短, 表现出与共济失调表型一致的进行性运动障碍^[61]。在 SCA1 和 SCA2 模型小鼠以及来自 SCA1 患者的尸检组织中也观察到 $PKC\gamma$ 活性的增加。抑制 SCA1 和 SCA2 模型小鼠的 PKC 活性, 会加速浦肯野神经元退化^[58]。另外, $PKC\gamma$ 活性增加导致浦肯野神经元膜兴奋性降低, 表明 $PKC\gamma$ 活性可能通过调节离子通道的功能来维持浦肯野神经元的状态, $PKC\gamma$ 活性的增加可能是 SCAs 的一种神经保护机制^[58]。以上结果提示, 浦肯野神经元中的 $PKC\gamma$ 活性需要稳定在一定范围内, 才能维持正常的生理状态, 当这种稳态丧失时将导致长期功能障碍, 出现共济失调表型。

小脑浦肯野神经元中 TRPC3 受到 $PKC\gamma$ 的调控, 当其功能障碍时也会引起钙信号的异常, 从而导致小脑性共济失调。TRPC3 存在于浦肯野神经元的胞体和树突中, 主要通过维持和调节胞浆、内质网及线粒体 Ca^{2+} 浓度水平, 参与构成平行纤维刺激后的兴奋性突触后电位, 也可引起长时程抑制, 影响小脑运动学习^[62]。有研究证明 *TRPC3* 基因突变与 SCA41 (ADCA III 型) 相关^[63], *Trpc3* 点突变的 Moonwalker 小鼠浦肯野神经元通道异常开放、 Ca^{2+} 内流增加, 树突生长迟缓、复杂性降低, 最终出现细胞丢失及小脑共济失调表现^[64]。另外, TRPC3 与醛缩酶 C (又称 Zebrin 蛋白) 密切相关, TRPC3 作为导致浦肯野神经元表现出独特的电生理特性主要因素, 介导小脑感觉运动整合中的功能异质性^[65]。在小脑皮层中, 浦肯野神经元可分为 Zebrin 阳性和 Zebrin 阴性两种, 前者的固有兴奋性显著低于后者^[65]。小脑皮层中还存在类似差异表达的分子, 如 $PLC\beta 3$ 仅在 Zebrin 阳性神经元中表达, $PLC\beta 4$ 则在 Zebrin 阴性神经元中表达。这些分子的差异分布使它们形成不同的神经元连接, 参与不同的行为运动模式^[62], 可能与 SCAs 中的神经元退化模式有关^[66]。

2.2 IP_3Rs 异常

IP_3Rs 是内质网上的钙释放通道, 能够被 IP_3 和胞浆中的低浓度 Ca^{2+} 共同激活, 使 Ca^{2+} 释放到胞浆中^[52]。随着细胞内 Ca^{2+} 浓度升高, IP_3Rs 通道活性受到抑制, 以此完成对 Ca^{2+} 信号精细和特异性调控过程^[67]。 IP_3R1 由 *ITPR1* 基因编码, 在小脑浦肯野神经元中高表达, 是 SCAs 发病机制中的关键蛋白之一^[68]。SCA15/16 (ADCA I 型) 由 *ITPR1* 基因单倍体缺失所致, 主要表现为单纯小脑性共济失调, 影像学显示为小脑萎缩^[33]; SCA29 由 *ITPR1* 基因的杂合错义突变引起, 患者表现出婴儿期发病、运动发育迟缓和轻度认知障碍^[53]。*Itpr1* 敲除小鼠在出生后 10 天左右表现出严重的共济失调, 在出生后 3~4 周内死亡; 在这些小鼠分离培养的浦肯野神经元中, 观察到远端树突上有大量形状异常的棘突, 导致信号传递障碍^[69]。此外, SCA2 和 SCA3 的突变蛋白 ATXN2 和 ATXN3 可以通过增加细胞质中的 Ca^{2+} 释放与 IP_3R1 相互作用; 过表达 IP_3R1 抑制因子肌醇 1, 4, 5- 磷酸酶, 稳定细胞内钙水平, 可以恢复 SCA2 和 SCA3 模型小鼠浦肯野神经元自发放电, 减少细胞变性, 改善共济失调症状^[70, 71]。虽然这看似与 SCA15 和 SCA29 的病理变化不一致,

但也恰恰表明对于功能正常的浦肯野神经元而言, IP_3R1 介导的钙释放须被精确在一定范围内, 一旦超出范围, 无论是正向还是负向的变化都可能导致浦肯野神经元功能障碍, 甚至细胞死亡^[48]。

碳酸酐酶相关蛋白 8 (carbonic anhydrase related protein 8, CAR8) 主要在浦肯野神经元中表达, 能够与 IP_3R1 结合, 降低 IP_3 与 IP_3R1 的亲合力。在 SCA14 小鼠模型中观察到 *Car8* 基因表达上调; 携带 *Car8* 基因 19 碱基缺失的 *Car8^{w^{dl}}* 小鼠不表达 CAR8 蛋白, 随着小鼠运动功能的恶化, 其浦肯野神经元简单锋电位特性会发生改变, 当其共济失调症状达到高峰时, 浦肯野神经元整体上不规则放电, 局部高度规律性消失^[71]。由于简单锋电位的局部变化对运动计时和学习很重要, 在小脑共济失调症状出现前, 利用深部脑刺激能够预测浦肯野神经元的异常并使其恢复规律放电^[72]。

3 SCAs中浦肯野神经元谷氨酸信号异常

浦肯野神经元从平行纤维和爬行纤维两个途径接收兴奋性谷氨酸能输入, 这些谷氨酸与突触后膜的促代谢型谷氨酸受体 (metabotropic glutamate receptors, mGluRs) 和促离子型谷氨酸受体 (ionotropic glutamate receptors, iGluRs) 结合, 作为兴奋性神经递质和关键神经调节剂, 在广泛的空间和时间尺度上调控突触传递和环路功能^[73]。研究表明, 浦肯野神经元中 mGluR1 和促离子型谷氨酸 δ 受体 2 (ionotropic glutamate δ receptor 2, GluD2) 与 SCAs 的发生密切相关, 两者出现异常均可导致突触输入的生理、形态和发育障碍, 影响浦肯野神经元信号转导并出现细胞退化, 最终出现不同严重程度和特征的运动缺陷^[73, 74]。

3.1 mGluR1突变

mGluR1 是 C 类 G 蛋白耦联受体, 它们以二聚体的形式存在, 不形成离子通道, 能够激活浦肯野神经元突触活动诱导的慢兴奋性突触后电位和细胞内储存 Ca^{2+} 的释放, 通过化学信使在几秒到几分钟的时间尺度上影响神经元的放电、可塑性及网络活动^[73]。mGluR1 由 *GRM1* 基因编码, 在小脑浦肯野神经元中表达丰富, 参与调节突触功能和结构可塑性, 触发突触反应所需的下游信号通路^[73]。研究人员在三个 SCA44 (ADCA I 型) 患者家族中发现 *GRM1* 的错义突变, 错义的 mGluR1 突变体表达显著增强

了 mGluR1 的活性, 使浦肯野神经元内谷氨酸负荷增加和钙缓冲能力降低, 通过正反馈环进一步造成细胞内兴奋性递质及 Ca^{2+} 的蓄积, 产生兴奋毒性, 损害浦肯野神经元功能。在体外实验中观察到 mGluR1 信号对发育早期浦肯野神经元的生长和存活至关重要, 在发育后期调节树突快速扩张^[75]; 在 mGluR1 功能缺陷小鼠中观察到浦肯野神经元树突变小、复杂性降低, 平行纤维 - 浦肯野神经元突触的长时程抑制受损, 导致运动学习异常和共济失调等表现^[73]。另外, 大多数 SCA1 和 SCA2 模型小鼠与 mGluR1 功能亢进有关, 这是细胞内 Ca^{2+} 浓度长期升高的结果; 在 SCA3 模型小鼠中观察到 mGluR1 在非突触位置异常表达, 而突触表达减少和正常 mGluR1 信号转导中断^[73]; SCA5 中 *SPTBN2* 杂合突变会导致 mGluR1 稳定性降低。以上研究结果表明, mGluR1 信号的破坏和下游的 Ca^{2+} 稳态参与了 SCAs 的共同病理机制。采用药理学手段抑制 mGluR1 信号通路的下游, 能够部分改善浦肯野神经元树突发育异常, 这种靶向调节有望应用于临床以改善 SCAs 相关的疾病症状^[75]。

3.2 GluD2突变

小脑中的 GluD2 属于 iGluRs 家族, 由 *GRID2* 基因编码, 在平行纤维 - 浦肯野神经元突触后特异性表达^[76]。GluD2 不能被谷氨酸直接激活, 它能够受 mGluR1 信号触发和 PKC 活性的诱导而开放。GluD2 可以作为颗粒细胞分泌的小脑素前体蛋白 1 (cerebellin precursor protein 1, Cbln1) 的受体, 通过与平行纤维上的突触前膜蛋白 Neurexin 结合形成 Neurexin-Cbln1-GluD2 三联突触黏附复合体, 促进平行纤维 - 浦肯野细胞突触的形成和维持^[77]。在 *Grid2* 敲除小鼠中, 平行纤维 - 浦肯野神经元突触形成减少, 长时程抑制受损, 表现出共济失调表型^[78]。在人类 SCAs 患者中, *GRID2* 外显子缺失导致的蛋白功能丧失突变会引起共济失调的表型^[79], 其疾病严重程度受到基因突变状态和位置的影响, 即携带杂合突变患者表现为轻度迟发性共济失调, 携带纯合突变患者有先天性症状; 其中, 携带纯合突变的女性患者, 症状轻微且智力正常, 这可能与 X 染色体的基因修饰有关^[79]。通过药物靶向调节, 外源性增加 GluD2 或 Cbln1^[74], 有望纠正 SCAs 中平行纤维 - 浦肯野细胞突触发育和功能异常, 改善共济失调的症状。

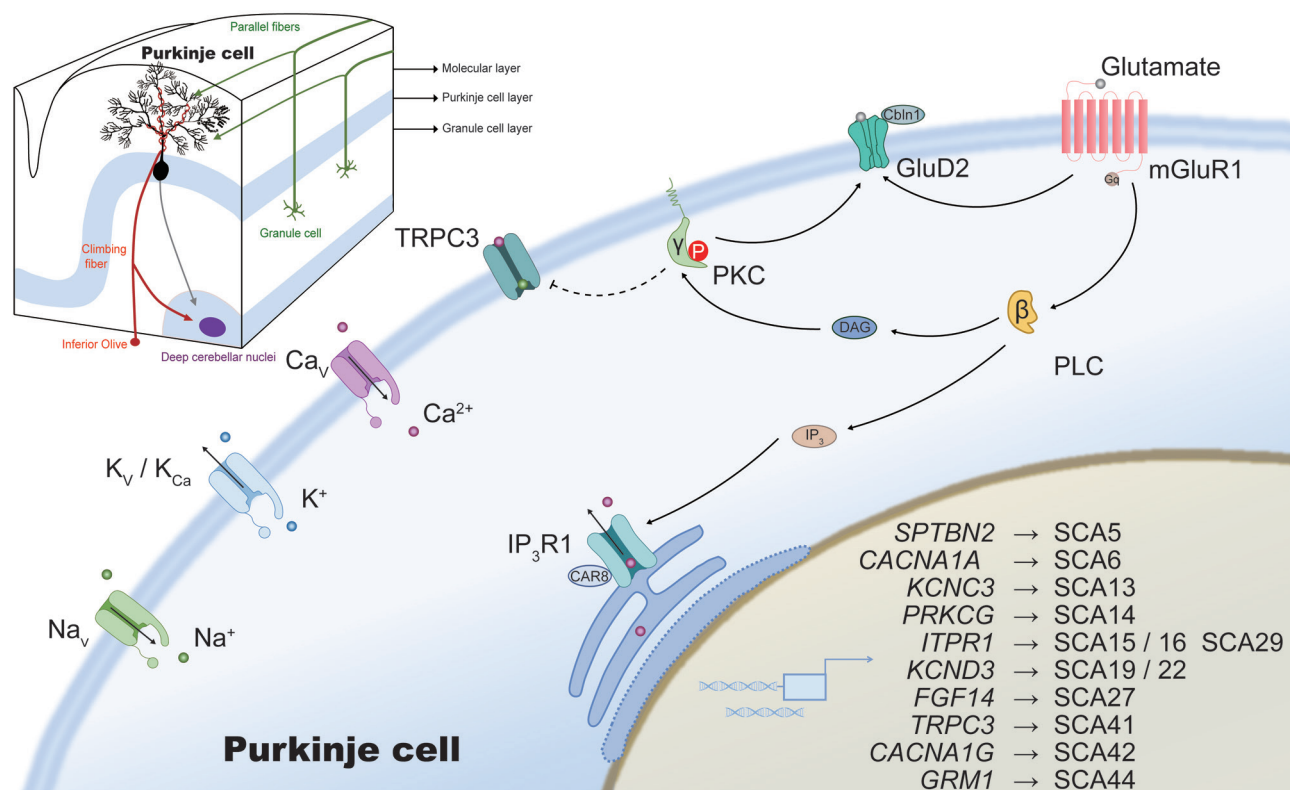


图 1. 脊髓小脑共济失调相关的小脑浦肯野细胞中异常的离子通道和信号分子

Fig. 1. Schematic of spinocerebellar ataxias (SCAs)-related abnormalities in ionic channels and signaling molecules in cerebellar Purkinje cells. Disruptions in ion channels, calcium homeostasis, and glutamate signaling may lead to various forms of SCAs. TRPC3: transient receptor potential canonical 3; PKC: protein kinase C; DAG: diacylglycerol; GluD2: ionotropic glutamate δ receptor 2; PLC: phospholipase C; IP_3 : inositol 1, 4, 5-triphosphate; mGluR1: metabotropic glutamate receptor 1; CAR8: carbonic anhydrase related protein 8; Cbln1: cerebellin precursor protein 1.

4 总结与展望

本文就 SCAs 中浦肯野神经元固有兴奋性和突触传递的异常进行了综述 (图 1), 其中包括电压门控离子通道、细胞内钙稳态和谷氨酸信号传递的异常改变。除了由编码通道和受体等特定基因突变所致的 SCAs 亚型 (表 1) 外, 在少数亚型中, 可能会同时观察到多种形式的浦肯野神经元信号异常。浦肯野神经元的结构和功能由多因素共同决定, 任何细微的扰动都可能会导致其生理功能的异常, 表现出共济失调症状, 进而引起浦肯野神经元死亡和小脑萎缩, 加重疾病进展。近年来随着 X 射线晶体学、冷冻电镜等技术的应用, 本综述中所提到的重要的通道、受体及其调节蛋白在分子结构层面得到了高分辨率解析^[80, 81], 这些研究帮助我们更好地了解和其结构、功能和相关疾病机制。除了本综述中提到的信号转导异常外, 浦肯野神经元聚谷氨酰胺

扩张、蛋白毒性、RNA 毒性、脂质稳态、线粒体功能障碍等异常因素也参与了 SCAs 的发病^[1, 82]。针对浦肯野神经元的生理特性进行深入的探索, 可能为揭示 SCAs 疾病的共同病理机制、改善共济失调症状提供有力的理论依据。临床上针对 SCAs 患者寻找特异性生物学标志物并进行检测, 或利用电生理手段进行监测, 在浦肯野神经元功能异常的早期阶段选择合理的靶向干预措施, 如神经保护剂、基因治疗、深脑部刺激等, 有望延缓疾病进展, 改善临床症状, 减少不良预后。

参考文献

- 1 Klockgether T, Mariotti C, Paulson HL. Spinocerebellar ataxia. Nat Rev Dis Primers 2019; 5(1): 24.
- 2 Coarelli G, Heinzmann A, Ewenczyk C, Fischer C, Chupin M, Monin ML, Hurmic H, Calvas F, Calvas P, Goizet C, Thobois S, Anheim M, Nguyen K, Devos D, Verny C,

表1. 浦肯野神经元中通道及受体异常及其相关SCAs亚型
Table 1. Channel or receptor abnormalities in Purkinje cells associated with subtypes of SCAs

Channels or receptors	Gene mutation	Related subtypes	Effects	Symptoms	Reference
Voltage-gated ion channels and related proteins					
Na _v 1.1	<i>SCN1A</i>	Nonspecific	Reduced sodium current and decreased excitability of Purkinje cells	Seizures and ataxia	[24, 25]
Na _v 1.6	<i>SCN8A</i>	Nonspecific	Decreased sodium current densities and attenuated repetitive firing of Purkinje cells	Spontaneous seizure activity, ataxia, tremors, and impaired coordination	[13, 25, 27]
Na _v β4	<i>SCN4B</i>	Nonspecific	Decreased sodium current densities and attenuated repetitive firing of Purkinje cells	Deficits in motor coordination and balance	[26, 83]
FGF14	<i>FGF14</i>	SCA27	Reduced expression of ion channels, leading to reduced ion influx and suppression of Purkinje cells output	Early onset upper limb postural tremor, dyskinesia, dystonia and slowly progressing cerebellar ataxia	[22, 29, 30]
Spectrin β-III	<i>SPTBN2</i>	SCA5	Reduced sodium currents and spontaneous firing, reduced stability of the glutamate receptor GluRδ2 at the surfaces of Purkinje cell dendrites	Pure cerebellar ataxia, early onset, slow progression	[28, 84–87]
Ca _v 2.1	<i>CACNA1A</i>	SCA6	Reduced expression of genes critical to Purkinje cells development and survival, reduced calcium current and decreased the excitability of Purkinje cells	Pure cerebellar ataxia	[33–35]
α2δ-2	<i>CACNA2D2</i>	Nonspecific	Reduced calcium currents, profound deficiencies in climbing fiber-induced complex spike activity of Purkinje cells	Ataxia, epilepsy, and motor control deficits	[38]
Ca _v 3.1	<i>CACNA1G</i>	SCA42	Impaired rebound bursting and decreased membrane excitability of Purkinje cells	Ataxic gait, dysarthria, nystagmus, pyramidal signs, and cognitive impairment	[32, 33]
K _v 3.3	<i>KCNC3</i>	SCA13	Disrupted Purkinje neurons excitability and function	Ataxia and intellectual disability	[24, 42–44]
K _v 4.3	<i>KCND3</i>	SCA19/22	Changed the voltage-gated dependence of Purkinje cells	Ataxia, cognitive impairment, and myoclonus	[44, 45]
BK	<i>KCNMA1</i>	Nonspecific	Retarded axon growth and decreased the overall frequency of action potentials in Purkinje cells	Impaired motor coordination and balance	[24, 44]
SK	<i>KCNN</i>	Nonspecific	Caused irregular firing of Purkinje cells	Neurodevelopmental disorders, tremors, and ataxia	[50]
Intracellular calcium homeostasis regulatory proteins					
PKCγ	<i>PRKCG</i>	SCA14	Disrupted intracellular calcium homeostasis and affected development of Purkinje cells	Ataxia and myoclonus	[56, 58, 61]
TRPC3	<i>TRPC3</i>	SCA41	Enhanced permeability of calcium, induced cytotoxicity in Purkinje cells	Pure cerebellar ataxia	[63, 64]
IP ₃ Rs	<i>ITPR1</i>	SCA15/16	Disrupted intracellular calcium signaling, decreased Purkinje cells excitability	Pure cerebellar ataxia	[33, 69]
CAR8	<i>CAR8</i>	SCA29	Affected intracellular calcium release	Ataxia, dysarthria, and cognitive impairments	[53]
Glutamate receptors					
mGluR1	<i>GRM1</i>	SCA44	Repetitive firing regularity disappeared in Purkinje cells	Ataxia, tremor, and appendicular dystonia	[71, 72, 88]
GluD2	<i>GRID2</i>	Nonspecific	Increased downstream calcium signaling, reduced complexity of Purkinje dendritic branches	Cerebellar ataxia, corticospinal tract involvement, dysarthria, dysphagia, and dysmetria	[73, 75]
			Reduced parallel fiber-Purkinje cell synaptic formation, impaired long-term depression	Cerebellar ataxia and upgaze	[78, 79, 89]

- Ricigliano VAG, Mangin JF, Brice A, Tezenas du Montcel S, Durr A. Safety and efficacy of riluzole in spinocerebellar ataxia type 2 in France (ATRIL): a multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet Neurol* 2022; 21(3): 225–233.
- 3 Coarelli G, Wirth T, Tranchant C, Koenig M, Durr A, Anheim M. The inherited cerebellar ataxias: an update. *J Neurol* 2023; 270(1): 208–222.
- 4 Coutelier M, Jacoupy M, Janer A, Renaud F, Auger N, Saripella GV, Ancien F, Pucci F, Rooman M, Gilis D, Lariviere R, Sgarito N, Valter R, Guillot-Noel L, Le Ber I, Sayah S, Charles P, Numann A, Pauly MG, Helmchen C, Deininger N, Haack TB, Brais B, Brice A, Tregouet DA, El Hachimi KH, Shoubridge EA, Durr A, Stevanin G. NPTX1 mutations trigger endoplasmic reticulum stress and cause autosomal dominant cerebellar ataxia. *Brain* 2022; 145(4): 1519–1534.
- 5 Sullivan R, Yau WY, O'Connor E, Houlden H. Spinocerebellar ataxia: an update. *J Neurol* 2019; 266(2): 533–544.
- 6 Sun YM, Lu C, Wu ZY. Spinocerebellar ataxia: relationship between phenotype and genotype - a review. *Clin Genet* 2016; 90(4): 305–314.
- 7 Ruano L, Melo C, Silva MC, Coutinho P. The global epidemiology of hereditary ataxia and spastic paraplegia: a systematic review of prevalence studies. *Neuroepidemiology* 2014; 42(3): 174–183.
- 8 Ding M (丁曼), Lu ZN. Status quo of the treatment of spinocerebellar ataxia towards its pathogenesis. *Chin J Med Genet (中华医学遗传学杂志)* 2020; 37(9): 1043–1047 (in Chinese).
- 9 Stanley WJ, Kelly CKL, Tung CC, Lok TW, Ringo TMK, Ho YK, Cheung R. Cost of cerebellar ataxia in Hong Kong: A retrospective cost-of-illness analysis. *Front Neurol* 2020; 11: 711.
- 10 Sathyanesan A, Zhou J, Scafidi J, Heck DH, Sillitoe RV, Gallo V. Emerging connections between cerebellar development, behaviour and complex brain disorders. *Nat Rev Neurosci* 2019; 20(5): 298–313.
- 11 Tan GH, Liu YY, Wang L, Li K, Zhang ZQ, Li HF, Yang ZF, Li Y, Li D, Wu MY, Yu CL, Long JJ, Chen RC, Li LX, Yin LP, Liu JW, Cheng XW, Shen Q, Shu YS, Sakimura K, Liao LJ, Wu ZY, Xiong ZQ. PRRT2 deficiency induces paroxysmal kinesigenic dyskinesia by regulating synaptic transmission in cerebellum. *Cell Res* 2018; 28(1): 90–110.
- 12 De Zeeuw CI, Lisberger SG, Raymond JL. Diversity and dynamism in the cerebellum. *Nat Neurosci* 2021; 24(2): 160–167.
- 13 Ransdell JL, Nerbonne JM. Voltage-gated sodium currents in cerebellar Purkinje neurons: functional and molecular diversity. *Cell Mol Life Sci* 2018; 75(19): 3495–3505.
- 14 Robinson KJ, Watchon M, Laird AS. Aberrant cerebellar circuitry in the spinocerebellar ataxias. *Front Neurosci* 2020; 14: 707.
- 15 Binda F, Pernaci C, Saxena S. Cerebellar development and circuit maturation: a common framework for spinocerebellar ataxias. *Front Neurosci* 2020; 14: 293.
- 16 Raman IM, Bean BP. Resurgent sodium current and action potential formation in dissociated cerebellar Purkinje neurons. *J Neurosci* 1997; 17(12): 4517–4526.
- 17 Martina M, Metz AE, Bean BP. Voltage-dependent potassium currents during fast spikes of rat cerebellar Purkinje neurons: inhibition by BDS-I toxin. *J Neurophysiol* 2007; 97(1): 563–571.
- 18 Raman IM, Bean BP. Ionic currents underlying spontaneous action potentials in isolated cerebellar Purkinje neurons. *J Neurosci* 1999; 19(5): 1663–1674.
- 19 Swensen AM, Bean BP. Ionic mechanisms of burst firing in dissociated Purkinje neurons. *J Neurosci* 2003; 23(29): 9650–9663.
- 20 Womack MD, Chevez C, Khodakhah K. Calcium-activated potassium channels are selectively coupled to P/Q-type calcium channels in cerebellar Purkinje neurons. *J Neurosci* 2004; 24(40): 8818–8822.
- 21 Fakler B, Adelman JP. Control of K_{Ca} channels by calcium nano/microdomains. *Neuron* 2008; 59(6): 873–881.
- 22 White HV, Brown ST, Bozza TC, Raman IM. Effects of FGF14 and $Na_v\beta 4$ deletion on transient and resurgent Na current in cerebellar Purkinje neurons. *J Gen Physiol* 2019; 151(11): 1300–1318.
- 23 Ransdell JL, Moreno JD, Bhagavan D, Silva JR, Nerbonne JM. Intrinsic mechanisms in the gating of resurgent Na^+ currents. *Elife* 2022; 11: e70173.
- 24 Hoxha E, Balbo I, Miniaci MC, Tempia F. Purkinje cell signaling deficits in animal models of ataxia. *Front Synaptic Neurosci* 2018; 10: 6.
- 25 Meisler MH, Hill SF, Yu W. Sodium channelopathies in neurodevelopmental disorders. *Nat Rev Neurosci* 2021; 22(3): 152–166.
- 26 Zybur A, Hudmon A, Cummins TR. Distinctive properties and powerful neuromodulation of $Na_v1.6$ sodium channels regulates neuronal excitability. *Cells* 2021; 10(7): 1595.
- 27 Ottolini M, Barker BS, Gaykema RP, Meisler MH, Patel MK. Aberrant sodium channel currents and hyperexcitability of medial entorhinal cortex neurons in a mouse model of SCN8A encephalopathy. *J Neurosci* 2017; 37(32): 7643–7655.
- 28 Perkins E, Suminaite D, Jackson M. Cerebellar ataxias: beta-III spectrin's interactions suggest common pathogenic pathways. *J Physiol* 2016; 594(16): 4661–4676.

- 29 Pellerin D, Danzi MC, Wilke C, Renaud M, Fazal S, Dicaire MJ, Scriba CK, Ashton C, Yanick C, Beijer D, Rebelo A, Rocca C, Jaunmuktane Z, Sonnen JA, Lariviere R, Genis D, Molina Porcel L, Choquet K, Sakalla R, Provost S, Robertson R, Allard-Chamard X, Tetreault M, Reiling SJ, Nagy S, Nishadham V, Purushottam M, Vengalil S, Bardhan M, Nalini A, Chen Z, Mathieu J, Massie R, Chalk CH, Lafontaine AL, Evoy F, Rioux MF, Ragoussis J, Boycott KM, Dube MP, Duquette A, Houlden H, Ravenscroft G, Laing NG, Lamont PJ, Saporta MA, Schule R, Schols L, La Piana R, Synofzik M, Zuchner S, Brais B. Deep intronic fgf14 GAA repeat expansion in late-onset cerebellar ataxia. *N Engl J Med* 2023; 388(2): 128–141.
- 30 Bosch MK, Carrasquillo Y, Ransdell JL, Kanakamedala A, Ornitz DM, Nerbonne JM. Intracellular FGF14 (iFGF14) is required for spontaneous and evoked firing in cerebellar purkinje neurons and for motor coordination and balance. *J Neurosci* 2015; 35(17): 6752–6769.
- 31 Paucar M, Lundin J, Alshammari T, Bergendal A, Lindefeldt M, Alshammari M, Solders G, Di Re J, Savitcheva I, Granberg T, Laezza F, Iwarsson E, Svenningsson P. Broader phenotypic traits and widespread brain hypometabolism in spinocerebellar ataxia 27. *J Intern Med* 2020; 288(1): 103–115.
- 32 Hashiguchi S, Doi H, Kunii M, Nakamura Y, Shimuta M, Suzuki E, Koyano S, Okubo M, Kishida H, Shiina M, Ogata K, Hirashima F, Inoue Y, Kubota S, Hayashi N, Nakamura H, Takahashi K, Katsumoto A, Tada M, Tanaka K, Sasaoka T, Miyatake S, Miyake N, Saito H, Sato N, Ozaki K, Ohta K, Yokota T, Mizusawa H, Mitsui J, Ishiura H, Yoshimura J, Morishita S, Tsuji S, Takeuchi H, Ishikawa K, Matsumoto N, Ishikawa T, Tanaka F. Ataxic phenotype with altered Ca_v3.1 channel property in a mouse model for spinocerebellar ataxia 42. *Neurobiol Dis* 2019; 130: 104516.
- 33 Prestori F, Moccia F, D'Angelo E. Disrupted calcium signaling in animal models of human spinocerebellar ataxia (SCA). *Int J Mol Sci* 2019; 21(1): 216.
- 34 Govek EE, Hatten ME. Tag-team genetics of spinocerebellar ataxia 6. *Neuron* 2019; 102(4): 707–709.
- 35 Du X, Wei C, Hejazi Pastor DP, Rao ER, Li Y, Grasselli G, Godfrey J, Palmenberg AC, Andrade J, Hansel C, Gomez CM. alpha1ACT is essential for survival and early cerebellar programming in a critical neonatal window. *Neuron* 2019; 102(4): 770–785.e7.
- 36 Coste de Bagneaux P, von Elsner L, Bierhals T, Campiglio M, Johannsen J, Obermair GJ, Hempel M, Flucher BE, Kutsche K. A homozygous missense variant in CACNB4 encoding the auxiliary calcium channel beta4 subunit causes a severe neurodevelopmental disorder and impairs channel and non-channel functions. *PLoS Genet* 2020; 16(3): e1008625.
- 37 Beeson KA, Westbrook GL, Schnell E. alpha2delta-2 is required for depolarization-induced suppression of excitation in Purkinje cells. *J Physiol* 2022; 600(1): 111–122.
- 38 Beeson KA, Beeson R, Westbrook GL, Schnell E. alpha2delta-2 protein controls structure and function at the cerebellar climbing fiber synapse. *J Neurosci* 2020; 40(12): 2403–2415.
- 39 Weiss N, Zamponi GW. Genetic T-type calcium channelopathies. *J Med Genet* 2020; 57(1): 1–10.
- 40 Hara N, Morino H, Matsuda Y, Satoh K, Hashimoto K, Maruyama H, Kawakami H. Zonisamide can ameliorate the voltage-dependence alteration of the T-type calcium channel Ca_v3.1 caused by a mutation responsible for spinocerebellar ataxia. *Mol Brain* 2020; 13(1): 163.
- 41 Zhang Y, Kaczmarek LK. Kv3.3 potassium channels and spinocerebellar ataxia. *J Physiol* 2016; 594(16): 4677–4684.
- 42 Gallego-Iradi C, Bickford JS, Khare S, Hall A, Nick JA, Salmasinia D, Wawrowsky K, Bannykh S, Huynh DP, Rincon-Limas DE, Pulst SM, Nick HS, Fernandez-Funez P, Waters MF. KCNC3(R420H), a K⁺ channel mutation causative in spinocerebellar ataxia 13 displays aberrant intracellular trafficking. *Neurobiol Dis* 2014; 71: 270–279.
- 43 Hsieh JY, Ulrich BN, Issa FA, Lin MA, Brown B, Papazian DM. Infant and adult SCA13 mutations differentially affect Purkinje cell excitability, maturation, and viability *in vivo*. *Elife* 2020; 9: e57358.
- 44 Benarroch E. What is the role of potassium channels in ataxia? *Neurology* 2021; 97(20): 938–941.
- 45 Ma D, Zhao C, Wang X, Li X, Zha Y, Zhang Y, Fu G, Liang P, Guo J, Lai D. Structural basis for the gating modulation of Kv4.3 by auxiliary subunits. *Cell Res* 2022; 32(4): 411–414.
- 46 Dong P, Zhang Y, Hunanyan AS, Mikati MA, Cui J, Yang H. Neuronal mechanism of a BK channelopathy in absence epilepsy and dyskinesia. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2022; 119(12): e2200140119.
- 47 Orfali R, Albanyan N. Ca²⁺-sensitive potassium channels. *Molecules* 2023; 28(2): 885.
- 48 Egorova PA, Bezprozvanny IB. Electrophysiological studies support utility of positive modulators of SK channels for the treatment of spinocerebellar ataxia type 2. *Cerebellum* 2022; 21(5): 742–749.
- 49 Bushart DD, Zalon AJ, Zhang H, Morrison LM, Guan Y, Paulson HL, Shakkottai VG, McLoughlin HS. Antisense oligonucleotide therapy targeted against ATXN3 improves potassium channel-mediated Purkinje neuron dysfunction in spinocerebellar ataxia type 3. *Cerebellum* 2021; 20(1): 41–53.
- 50 Mochel F, Rastetter A, Ceulemans B, Platzer K, Yang S, Shinde DN, Helbig KL, Lopergolo D, Mari F, Renieri A,

- Benetti E, Canitano R, Waisfisz Q, Plomp AS, Huisman SA, Wilson GN, Cathey SS, Louie RJ, Gaudio DD, Waggoner D, Kacker S, Nugent KM, Roeder ER, Bruel AL, Thevenon J, Ehmke N, Horn D, Holtgrewe M, Kaiser FJ, Kamphausen SB, Abou Jamra R, Weckhuysen S, Dalle C, Depienne C. Variants in the SK2 channel gene (KCNN2) lead to dominant neurodevelopmental movement disorders. *Brain* 2020; 143(12): 3564–3573.
- 51 Simms BA, Zamponi GW. Neuronal voltage-gated calcium channels: structure, function, and dysfunction. *Neuron* 2014; 82(1): 24–45.
- 52 Woll KA, Van Petegem F. Calcium-release channels: structure and function of IP₃ receptors and ryanodine receptors. *Physiol Rev* 2022; 102(1): 209–268.
- 53 Mark MD, Schwitalla JC, Groemmke M, Herlitze S. Keeping our calcium in balance to maintain our balance. *Biochem Biophys Res Commun* 2017; 483(4): 1040–1050.
- 54 Hirai H. Protein kinase C in the cerebellum: its significance and remaining conundrums. *Cerebellum* 2018; 17(1): 23–27.
- 55 Hirai H, Fukai Y, Konno A, Hosoi N. Electrophysiological and imaging analysis of GFP-tagged protein kinase C gamma translocation in cerebellar Purkinje cells. *Cerebellum* 2022; 21(5): 776–783.
- 56 Watanabe M, Takahashi N, Hosoi N, Konno A, Yamamoto H, Yasui H, Kawachi M, Horii T, Matsuzaki Y, Hatada I, Hirai H. Protein kinase Cgamma in cerebellar Purkinje cells regulates Ca²⁺-activated large-conductance K⁺ channels and motor coordination. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2022; 119(7): e2113336119.
- 57 Muller U. Spinocerebellar ataxias (SCAs) caused by common mutations. *Neurogenetics* 2021; 22(4): 235–250.
- 58 Chopra R, Wasserman AH, Pulst SM, De Zeeuw CI, Shakkottai VG. Protein kinase C activity is a protective modifier of Purkinje neuron degeneration in cerebellar ataxia. *Hum Mol Genet* 2018; 27(8): 1396–1410.
- 59 Metzger F, Kapfhammer JP. Protein kinase C activity modulates dendritic differentiation of rat Purkinje cells in cerebellar slice cultures. *Eur J Neurosci* 2000; 12(6): 1993–2005.
- 60 Shimobayashi E, Kapfhammer JP. A new mouse model related to SCA14 carrying a pseudosubstrate domain mutation in PKCgamma shows perturbed purkinje cell maturation and ataxic motor behavior. *J Neurosci* 2021; 41(9): 2053–2068.
- 61 Pilo CA, Baffi TR, Kornev AP, Kunkel MT, Malfavon M, Chen DH, Rossitto LA, Chen DX, Huang LC, Longman C, Kannan N, Raskind WH, Gonzalez DJ, Taylor SS, Gorrie G, Newton AC. Mutations in protein kinase Cgamma promote spinocerebellar ataxia type 14 by impairing kinase autoinhibition. *Sci Signal* 2022; 15(753): eabk1147.
- 62 Wu B, Blot FG, Wong AB, Osorio C, Adolfs Y, Pasterkamp RJ, Hartmann J, Becker EB, Boele HJ, De Zeeuw CI, Schonewille M. TRPC3 is a major contributor to functional heterogeneity of cerebellar Purkinje cells. *Elife* 2019; 8: e45590.
- 63 Fogel BL, Hanson SM, Becker EB. Do mutations in the murine ataxia gene TRPC3 cause cerebellar ataxia in humans? *Mov Disord* 2015; 30(2): 284–286.
- 64 Becker EB, Oliver PL, Glitsch MD, Banks GT, Achilli F, Hardy A, Nolan PM, Fisher EM, Davies KE. A point mutation in TRPC3 causes abnormal Purkinje cell development and cerebellar ataxia in moonwalker mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009; 106(16): 6706–6711.
- 65 Viet NM, Wang T, Tran-Anh K, Sugihara I. Heterogeneity of intrinsic plasticity in cerebellar Purkinje cells linked with cortical molecular zones. *iScience* 2021; 25(1): 103705.
- 66 Cerminara NL, Lang EJ, Sillitoe RV, Apps R. Redefining the cerebellar cortex as an assembly of non-uniform Purkinje cell microcircuits. *Nat Rev Neurosci* 2015; 16(2): 79–93.
- 67 Arige V, Terry LE, Wagner LE, 2nd, Malik S, Baker MR, Fan G, Joseph SK, Serysheva, II, Yule DI. Functional determination of calcium-binding sites required for the activation of inositol 1,4,5-trisphosphate receptors. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2022; 119(39): e2209267119.
- 68 Hisatsune C, Hamada K, Mikoshiba K. Ca²⁺ signaling and spinocerebellar ataxia. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res* 2018; 1865(11 Pt B): 1733–1744.
- 69 Sugawara T, Hisatsune C, Miyamoto H, Ogawa N, Mikoshiba K. Regulation of spinogenesis in mature Purkinje cells via mGluR/PKC-mediated phosphorylation of CaMKIIbeta. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2017; 114(26): E5256–E5265.
- 70 Chen X, Tang TS, Tu H, Nelson O, Pook M, Hammer R, Nukina N, Bezprozvanny I. Deranged calcium signaling and neurodegeneration in spinocerebellar ataxia type 3. *J Neurosci* 2008; 28(48): 12713–12724.
- 71 Shimobayashi E, Kapfhammer JP. Calcium signaling, PKC gamma, IP3R1 and CAR8 link spinocerebellar ataxias and Purkinje cell dendritic development. *Curr Neuropharmacol* 2018; 16(2): 151–159.
- 72 Miterko LN, Lin T, Zhou J, van der Heijden ME, Beckinghausen J, White JJ, Sillitoe RV. Neuromodulation of the cerebellum rescues movement in a mouse model of ataxia. *Nat Commun* 2021; 12(1): 1295.
- 73 Yamasaki M, Aiba A, Kano M, Watanabe M. mGluR1 signaling in cerebellar Purkinje cells: Subcellular organization and involvement in cerebellar function and disease. *Neuropharmacology* 2021; 194: 108629.
- 74 Burada AP, Vinnakota R, Bharti P, Dutta P, Dubey N, Kumar J. Emerging insights into the structure and function of ionotropic glutamate delta receptors. *Br J Pharmacol* 2022;

- 179(14): 3612–3627.
- 75 Wu QW, Kapfhammer JP. The emerging key role of the mGluR1- $\text{PKC}\gamma$ signaling pathway in the pathogenesis of spinocerebellar ataxias: a neurodevelopmental viewpoint. *Int J Mol Sci* 2022; 23(16): 9169.
- 76 Suzuki K, Elegheert J, Song I, Sasakura H, Senkov O, Matsuda K, Kakegawa W, Clayton AJ, Chang VT, Ferrer-Ferrer M, Miura E, Kaushik R, Ikeno M, Morioka Y, Takeuchi Y, Shimada T, Otsuka S, Stoyanov S, Watanabe M, Takeuchi K, Dityatev A, Aricescu AR, Yuzaki M. A synthetic synaptic organizer protein restores glutamatergic neuronal circuits. *Science* 2020; 369(6507): eabb4853.
- 77 Takeo YH, Shuster SA, Jiang L, Hu MC, Luginbuhl DJ, Rulicke T, Contreras X, Hippenmeyer S, Wagner MJ, Ganguli S, Luo L. GluD2- and Cbln1-mediated competitive interactions shape the dendritic arbors of cerebellar Purkinje cells. *Neuron* 2021; 109(4): 629–644.e8.
- 78 Burada AP, Vinnakota R, Lambolez B, Tricoire L, Kumar J. Structural biology of ionotropic glutamate delta receptors and their crosstalk with metabotropic glutamate receptors. *Neuropharmacology* 2021; 196: 108683.
- 79 Coutelier M, Burglen L, Mundwiller E, Abada-Bendib M, Rodriguez D, Chantot-Bastaraud S, Rougeot C, Cournelle MA, Milh M, Toutain A, Bacq D, Meyer V, Afenjar A, Deleuze JF, Brice A, Heron D, Stevanin G, Durr A. GRID2 mutations span from congenital to mild adult-onset cerebellar ataxia. *Neurology* 2015; 84(17): 1751–1759.
- 80 Fan X, Huang J, Jin X, Yan N. Cryo-EM structure of human voltage-gated sodium channel $\text{Na}_v1.6$. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2023; 120(5): e2220578120.
- 81 Li Y, Yuan T, Huang B, Zhou F, Peng C, Li X, Qiu Y, Yang B, Zhao Y, Huang Z, Jiang D. Structure of human $\text{Na}_v1.6$ channel reveals Na^+ selectivity and pore blockade by 4,9-anhydrotetrodotoxin. *Nat Commun* 2023; 14(1): 1030.
- 82 Zhao J, Zhang H, Fan X, Yu X, Huai J. Lipid dyshomeostasis and inherited cerebellar ataxia. *Mol Neurobiol* 2022; 59(6): 3800–3828.
- 83 Ransdell JL, Dranoff E, Lau B, Lo WL, Donermeyer DL, Allen PM, Nerbonne JM. Loss of Navbeta4-mediated regulation of sodium currents in adult Purkinje neurons disrupts firing and impairs motor coordination and balance. *Cell Rep* 2017; 19(3): 532–544.
- 84 Ikeda Y, Dick KA, Weatherspoon MR, Gincel D, Armbrust KR, Dalton JC, Stevanin G, Durr A, Zuhlke C, Burk K, Clark HB, Brice A, Rothstein JD, Schut LJ, Day JW, Ranum LP. Spectrin mutations cause spinocerebellar ataxia type 5. *Nat Genet* 2006; 38(2): 184–190.
- 85 Clarkson YL, Perkins EM, Cairncross CJ, Lyndon AR, Skehel PA, Jackson M. beta-III spectrin underpins ankyrin R function in Purkinje cell dendritic trees: protein complex critical for sodium channel activity is impaired by SCA5-associated mutations. *Hum Mol Genet* 2014; 23(14): 3875–3882.
- 86 Perkins EM, Clarkson YL, Sabatier N, Longhurst DM, Millward CP, Jack J, Toraiwa J, Watanabe M, Rothstein JD, Lyndon AR, Wyllie DJ, Dutia MB, Jackson M. Loss of beta-III spectrin leads to Purkinje cell dysfunction recapitulating the behavior and neuropathology of spinocerebellar ataxia type 5 in humans. *J Neurosci* 2010; 30(14): 4857–4867.
- 87 Lorenzo DN, Edwards RJ, Slavutsky AL. Spectrins: molecular organizers and targets of neurological disorders. *Nat Rev Neurosci* 2023; 24(4): 195–212.
- 88 Miterko LN, White JJ, Lin T, Brown AM, O'Donovan KJ, Sillitoe RV. Persistent motor dysfunction despite homeostatic rescue of cerebellar morphogenesis in the Car8 waddles mutant mouse. *Neural Dev* 2019; 14(1): 6.
- 89 Carrillo E, Gonzalez CU, Berka V, Jayaraman V. Delta glutamate receptors are functional glycine- and D-serine-gated cation channels in situ. *Sci Adv* 2021; 7(52): eabk2200.