

细胞周期 G2/M 期调控与神经变性疾病

侯一玮 综述 王洪财,葛汝丽 审校

滨州医学院附属医院神经内科,山东省滨州市 256603

摘要:神经变性疾病是一种进行性神经功能缺失及严重影响生活质量的神经系统疾病,主要病理特征为神经元变性丢失,病因未明。近来神经元的细胞周期异常调控机制引起广泛重视,尤其细胞周期停滞在 G2/M 期走向凋亡,该机制有助于对神经变性疾病细胞周期机制的理解以及为其提供治疗靶点。变性神经元在细胞周期 G2/M 期会发生阻滞,并与 CDK 家族和 cyclin B 等调控蛋白密切相关,从而揭示 G2/M 期阻滞、核内复制及相关细胞周期蛋白调控异常导致神经元变性死亡的病理过程。

关键词:G2/M 期;神经变性;细胞周期;细胞凋亡;核内复制

DOI:10.16636/j.cnki.jinn.2018.03.024

神经变性疾病(如帕金森病和阿尔茨海默病)的关键病理变化是神经元变性死亡,但机制不明。近年相继有氧化应激、线粒体功能障碍、蛋白异常聚集及细胞凋亡等机制报道,但仍未有一种病理生理机制能诠释整个神经变性过程。有研究发现,其中许多机制都能导致神经元细胞周期异常,且神经元进入细胞周期后未出现细胞分裂,却启动细胞凋亡^[1]。是否细胞周期机制是各种机制的共同通路?还有研究发现细胞周期重启后神经元能完成 DNA 复制,达到细胞周期末期,但不能完成细胞分裂,且细胞凋亡前存在较长细胞周期 G2 期滞留。并有报道,变性神经元出现大神经元如 4 倍体神经元及核内复制过程,而细胞在 G2/M 期滞留延迟神经元凋亡,提示异常 G2/M 期调控可能在神经元凋亡中发挥关键作用。近来研究陆续发现细胞周期 G2/M 期关键调控分子 Cdc25、Cdc2 和 Cyclin B 等在变性神经元中表达异常^[2],且与凋亡活性分子存在相互作用,由此推断 G2/M 期关键点调控可能参与调控神经元细胞凋亡过程。

1 G2/M 期调控关键分子机制

1.1 G2/M 期检测点调控

细胞周期是有丝分裂细胞通过一系列细胞事件完成 DNA 复制和细胞分裂的过程,完整的细胞周期包括 G1 期(DNA 合成前期)、S 期(DNA 合成期)、G2 期(DNA 合成后期)和 M 期(分裂后期)。

细胞周期存在关键检查点(checkpoint)是细胞周期中的一套保证 DNA 复制和染色体准确分配质量的检查机制,是一类负反馈调节机制。整个细胞周期调控受到 3 个关键检测点调控:G1/S 检测点、G2/M 检测点和纺锤体检测点,其中 G2/M 检测点是未复制 DNA 检测,来监控 DNA 复制,以保证分裂必须发生于 DNA 复制之后,其中的主要调控蛋白包括 ATR、Chl1、Cdc25 和 CyclinA/B-Cdc2 等,其中细胞周期蛋白 B(Cyclin B)-Cdc2 是 G2/M 期的总开关,精确调控 G2/M 期转化^[3]。细胞周期主要是受细胞周期蛋白依赖性激酶(Cyclin dependent kinase, CDKs)和细胞周期蛋白(Cyclins)的精确调控。CDKs 是细胞周期调控中的重要调控因子,在细胞周期不同时相可分别被激活,在与 Cyclin 形成的异二聚体中,CDK 作为催化亚基被激活,从而在不同 CDK-Cyclin 复合体中通过进一步激活下游底物,实现对细胞周期的调控^[4]。CDKs 在细胞周期调控中磷酸化发挥重要作用,如 CDK5 介导的磷酸化参与调控 ERK/MAPK 级联的过度激活,由此导致神经元重新进入 S 期和发生凋亡^[5]。Cdc2,也称细胞周期蛋白依赖性激酶 1(Cyclin dependent kinase 1, CDK1),是细胞周期中必不可少的细胞周期蛋白激酶^[6],首先在裂体生殖酵母中被识别,是裂殖酵母 Cdc2 基因编码的蛋白,分子量 34 kDa,所以又称为 p34Cdc2 蛋白,即细胞分裂期周期蛋白,活

基金项目:国家自然科学基金青年基金(81601108);山东省自然科学基金(ZR2016HQ14)

收稿日期:2017-06-12;修回日期:2018-04-10

作者简介:侯一玮(1993-),女,在读硕士研究生,主要从事帕金森病及神经变性疾病发病机制的研究。

通信作者:王洪财(1982-),男,医学博士,主治医师,主要从事帕金森病及神经变性疾病发病机制的研究。Email:whc2891@126.com。

性由磷酸化(Cdc2 Thr161)和Cdc25磷酸酶的去磷酸化(Cdc2 Thr14和Tyr15)共同调节^[4]。此外,Cdc2与Cyclin B形成复合体也是Cdc2活化必不可少的,因为Cyclin B含有核定位信号,能促使Cdc2在细胞核中的定位^[6]。

1.2 核内复制

核内复制是一种特殊细胞周期,也是正常有丝分裂细胞周期的变异形式,细胞只进行DNA复制,而不发生胞质分裂,形成了拥有多线染色体的多倍体细胞,另有研究发现氧化应激也能促进核内复制的发生,植物和动物组织均存在核内复制^[7]。现有研究提示细胞分裂相关的CDK活性决定分裂程度和核内复制的发生^[8]。近来有学者提出,核内复制可能是神经变性疾病中神经元细胞周期的变异调控形式^[9,10]。

2 G2/M期阻滞参与神经元变性

细胞周期的精确调控是细胞在生长发育、分化、增生及死亡中不可缺少的重要环节,近来研究发现异常的细胞周期调控与中枢神经系统疾病相关,如急性损伤和慢性神经变性疾病^[11,12]。在对急性中枢神经系统损伤(脑外伤和中风)的研究中发现,急性中枢神经系统损伤的神经元会重新进入细胞周期而出现凋亡,并阻滞在G1/S期^[13,14],但在对慢性神经变性疾病如帕金森病(Parkinson's disease, PD)和阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)中的研究中发现,神经元可经G1/S监测点进入S期,完成DNA复制,而阻滞在G2/M期,且在凋亡之前存在较长的G2/M期滞留^[2,15]。

PD和AD是常见的神经变性疾病,病理特征是神经元变性死亡,但迄今发病机制仍不明确。在AD神经元细胞周期重启中,细胞周期通过G1/S期,完成了S期的DNA复制,进入G2期,着丝粒提前分裂,但未发现染色质凝聚和纺锤体形成,不能完成细胞分裂,而停止在G2/M期^[10]。另有研究也发现黑质多巴胺神经元完成DNA复制,细胞周期后期走向凋亡^[1],提示细胞周期的G2/M期调控可能在多巴胺神经元变性死亡中发挥重要作用,具体调控尚需更多证据的支持。以上证据支持神经元细胞周期调控异常是AD和PD发病过程中的重要病理过程,且G2/M期调控可能发挥关键作用。

3 核内复制与神经元变性

随着研究的不断深入,可以发现AD神经元细胞周期重启后会完成S期的DNA复制,从而形成

较多的4倍体细胞(DNA含量而不是染色体),该状态可一直维持至细胞凋亡。进一步的研究发现,在AD患者的海马神经元和前脑神经元中,神经元完成DNA复制过程,发生着丝点的提前分裂^[16],但不能完成细胞分裂。有研究表明^[17],在对照组和AD患者额叶皮质中发现了多倍体细胞。Mosch等^[18]也发现在对照组和AD患者皮质中存在4倍体神经元,并应用3个独立方法进行DNA含量分析发现,对照组大约1%的皮质神经元存在4倍DNA含量,并且这些神经元缺少Cyclin B1的表达;而AD患者皮质中同样出现这些神经元且Cyclin B1表达阳性,这些神经元大约占总神经元的2%^[18]。此外,FISH分析显示,在AD患者脑部显示不仅有4倍体神经元的增多,还有染色体数目的增多,同时能观察到非整倍体的神经元存在^[17,18]。而核内复制作为变化的细胞周期形式,只进行DNA复制而不发生分裂^[7,19],可能是神经元出现4倍体或多倍体的原因。另有研究发现,CDK抑制剂能阻止异常的神经元细胞周期G1/S期的转化,从而提示CDK活性可能影响神经元细胞周期及4倍体的形成^[20]。这些证据都提示,神经变性疾病中可能存在核内复制,且可能是细胞周期G2/M期停滞重要调控。

4 G2/M期关键分子Cdc2/Cyclin B与神经元变性死亡

4.1 Cdc2参与神经元细胞周期调控

尽管有证据显示成熟神经元停止在G0期,在各种基因突变体或环境因素或炎性因子的作用下,促使神经元进入细胞周期,引起细胞周期蛋白依赖性激酶4/细胞周期蛋白D(CDK4/Cyclin D)表达升高,继而激活激酶复合体,转而激活成视网膜细胞瘤蛋白(pRb)和E2F1信号通路引起细胞凋亡^[1]。但另有研究却发现,变性的神经元细胞可经过G1/S检测点进入S期,完成DNA的复制并进入G2期,通常情况有丝分裂细胞G2/M期转化的调控因子可促进细胞周期通过G2/M期,完成细胞分裂这一过程。但变性的神经元不但不能完成细胞分裂,反而导致细胞分裂激酶Cdc2和Cyclin B1的表达升高,并激活活性复合体,促使其错误定位于细胞浆中,引起下游活性分子的磷酸化反应,持续参与神经元的周期活动,形成恶性循环,最终导致神经元的变性死亡^[15]。Cdc2/CDK1的调节因子,如Cdc25A和Cdc25B也被激活,但Cdc25A和

Cdc25B 在正常大脑中也有表达,且并未参与正常细胞周期调控,因此目前对其在正常情况下的作用还不是十分明确^[10]。

近期研究发现,Cdc2 不仅能调控细胞周期还能介导细胞凋亡过程,在 AD 变性神经元中发现有 Cdc2-Cyclin B 复合体的形成,且表达上调参与神经元凋亡过程^[21]。活性 Cdc2 和 cyclin B 与 AD 特异性有丝分裂磷酸表位共定位,表明 Cdc2 的磷酸化引起神经原纤维缠结(NFT)形成的神经元 tau 蛋白^[22]。Cdc2 在 AD 神经元中高表达,并且定位于神经胶质和神经原纤维缠结中,从而认为 Cdc2 亚细胞定位与其功能密切相关。当定位于细胞核中能促进细胞分裂,而定位于胞浆中引起凋亡过程^[23]。有研究在鱼藤酮诱导的 PD 细胞模型中也发现,Cdc2 定位胞浆中促进细胞凋亡,并且 Cdc2 活性还能影响半胱氨酸天冬氨酸酶-3(caspase-3)的活性^[24],而 caspase-3 是细胞凋亡的主要执行因子。因此,Cdc2 在神经元变性凋亡中发挥重要的调控作用,是连接细胞周期和细胞凋亡的关键纽带,值得深入探讨。

4.2 Cyclin B 参与神经元变性过程

Cyclin B 在整个细胞周期中主要存在胞浆中,在 G2 期才开始进入细胞核并在 G2/M 期发挥作用。其受到后期促进复合物/细胞周期蛋白(APC/C)的调控,APC/C 是一种关键的 E3 泛素连接酶复合物,其在调节正常细胞周期转化中起作用。正常情况下,Cyclin B 在细胞周期 G2/M 期中发挥作用,而在 M 期后,Cyclin B 会被 APC/C 降解,使细胞进入有丝分裂 G1 期,在 G1 期,细胞合成 mRNA 和蛋白质,准备进行有丝分裂,开启新的细胞分裂^[25]。细胞周期主要是受 CDKs 和 Cyclins 的精确调控,而 CDKs 的错误表达不仅抑制神经元活性而且促神经元凋亡,且细胞周期蛋白可诱导终末分化的神经元再次进入 S 期,不能促进神经元增殖,却加速了神经元凋亡^[26]。另有研究表明,在 AD、PD 患者血液中检测到 Cyclin B 表达较正常对照组明显升高^[27, 28]。在 AD 患者中,Cyclin B 还参与了 CDC2 的激活,促进 G2/M 期转化并加速神经元凋亡。此外,有研究还发现,神经元中谷氨酸和 NM-DA 的含量增加可促进 Cyclin B 聚集,促进细胞凋亡^[29]。

5 小结

综上所述,神经元变性死亡中神经元重新进入

细胞周期,且停滞在 G2/M 期,而核内复制促使神经元细胞周期维持较长的 G2 期,引起基因组不稳;且 G2/M 期关键调控分子 Cdc2 定位于胞浆中,或 Cyclin B 异常表达升高,不能完成 G2/M 期转化却异位调节下游分子引起代谢等改变,产生恶性循环,最终引起神经元变性死亡。

参 考 文 献

- [1] Höglinger GU, Breunig JJ, Depboylu C, et al. The pRb/E2F cell-cycle pathway mediates cell death in Parkinson's disease[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2007, 104(9): 3585-3590.
- [2] Bajić VP, Su B, Lee HG, et al. Mislocalization of CDK11/PITSLRE, a regulator of the G2/M phase of the cell cycle, in Alzheimer disease[J]. Cell Mol Biol Lett, 2011, 16(3): 359-372.
- [3] Shen Y, Sherman JW, Chen X, et al. Phosphorylation of Cdc25C by AMP-activated protein kinase mediates a metabolic checkpoint during cell cycle G2/M phase transition[J]. J Biol Chem, 2018, 293(14): 5185-5199.
- [4] Hustedt N, Durocher D. The control of DNA repair by the cell cycle[J]. Nat Cell Biol, 2016, 19(1): 1-9.
- [5] Wen Z, Shu Y, Gao C, et al. CDK5-mediated phosphorylation and autophagy of RKIP regulate neuronal death in Parkinson's disease[J]. Neurobiol Aging, 2014, 35(12): 2870-2880.
- [6] Candas D, Qin L, Fan M, et al. Experimental Approaches to Study Mitochondrial Localization and Function of a Nuclear Cell Cycle Kinase Cdk1[J]. J Vis Exp, 2016, (108): 53417.
- [7] Ting CM, Lee YM, Wong CK, et al. 2-Methoxyestradiol induces endoreduplication through the induction of mitochondrial oxidative stress and the activation of MAPK signaling pathways[J]. Biochem Pharmacol, 2010, 79(6): 825-841.
- [8] Gandarillas A, Molinuevo R, Sanz-Gómez N. Mammalian endoreduplication emerges to reveal a potential developmental timer[J]. Cell Death Differ, 2018, 25(3): 471-476.
- [9] Wang H, Chen Y, Chen J, et al. Cell cycle regulation of DNA polymerase beta in rotenone-based Parkinson's disease models. PLoS One, 2014, 9(10): e109697.
- [10] Frade JM, López-Sánchez N. A novel hypothesis for Alzheimer disease based on neuronal tetraploidy induced by p75 (NTR). Cell Cycle, 2010, 9(10): 1934-1941.
- [11] Wang W, Bu B, Xie M, et al. Neural cell cycle dysregulation and central nervous system diseases[J]. Prog Neurobiol, 2009, 89(1): 1-17.
- [12] Folch J, Junyent F, Verdaguer E, et al. Role of cell cycle re-entry in neurons: a common apoptotic mechanism of neuronal cell death[J]. Neurotox Res, 2012, 22(3): 195-207.
- [13] Di Giovanni S, Movsesyan V, Ahmed F, et al. Cell cycle inhibi-

- tion provides neuroprotection and reduces glial proliferation and scar formation after traumatic brain injury[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2005, 102(23): 8333-8338.
- [14] Osuga H, Osuga S, Wang F, et al. Cyclin-dependent kinases as a therapeutic target for stroke[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97(18): 10254-10259.
- [15] Sharma R, Kumar D, Jha NK, et al. Re-expression of cell cycle markers in aged neurons and muscles: Whether cells should divide or die? [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2017, 1863(1): 324-336.
- [16] Zivković L, Spremo-Potparević B, Siedlak SL, et al. DNA damage in Alzheimer disease lymphocytes and its relation to premature centromere division[J]. *Neurodegener Dis*, 2013, 12(3): 156-163.
- [17] Iourov IY, Vorsanova SG, Liehr T, et al. Aneuploidy in the normal, Alzheimer's disease and ataxia-telangiectasia brain: differential expression and pathological meaning [J]. *Neurobiol Dis*, 2009, 34(2): 212-220.
- [18] MoschB, MorawskiM, MittagA, et al. Aneuploidy and DNA replication in the normal human brain and Alzheimer's disease[J]. *J Neurosci*, 2007, 27(26): 6859-6867.
- [19] Andriani GA, Faggioli F, Baker D, et al. Whole chromosome aneuploidy in the brain of Bub1bH/H and Erec1-Δ7 mice[J]. *Hum Mol Genet*, 2016, 25(4): 755-765.
- [20] Ullah Z, Lee CY, Lilly MA, et al. Developmentally programmed endoreduplication in animals [J]. *Cell Cycle*, 2009, 8(10): 1501-1509.
- [21] Kim H, Kwon YA, Ahn IS, et al. Overexpression of Cell Cycle Proteins of Peripheral Lymphocytes in Patients with Alzheimer's Disease[J]. *Psychiatry Investig*, 2016, 13(1): 127-134.
- [22] Chang KH, Vincent F, Shah K. Deregulated Cdk5 triggers aberrant activation of cell cycle kinases and phosphates inducing neuronal death[J]. *J Cell Sci*, 2012, 125(Pt 21): 5124-5137.
- [23] Nantajit D, Fan M, Duru N, et al. Cyclin B1/Cdk1 phosphorylation of mitochondrial p53 induces anti-apoptotic response [J]. *PLoS One*, 2010, 5(8): e12341.
- [24] Wang H, Zhang Z, Huang J, et al. The contribution of Cdc2 in rotenone-induced G2/M arrest and caspase-3-dependent apoptosis [J]. *J Mol Neurosci*, 2014, 53(1): 31-40.
- [25] Aulia S, Tang BL. Cdh1-APC/C, cyclin B-Cdc2, and Alzheimer's disease pathology[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2006, 339(1): 1-6.
- [26] Konishi Y, Lehtinen M, Donovan N, et al. Cdc2 phosphorylation of BAD links the cell cycle to the cell death machinery[J]. *Mol Cell*, 2002, 9(5): 1005-1016.
- [27] Zhu X, McShea A, Harris PL, et al. Elevated expression of a regulator of the G2/M phase of the cell cycle, neuronal CIP-1-associated regulator of cyclin B, in Alzheimer's disease[J]. *J Neurosci Res*, 2004, 75(5): 698-703.
- [28] Lee SS, Kim YM, Junn E, et al. Cell cycle aberrations by alpha-synuclein over-expression and cyclin B immunoreactivity in Lewy bodies[J]. *Neurobiol Aging*, 2003, 24(5): 687-696.
- [29] Maestre C, Delgado-Esteban M, Gomez-Sanchez JC, et al. Cdk5 phosphorylates Cdh1 and modulates cyclin B1 stability in excitotoxicity[J]. *EMBO J*, 2008, 27(20): 2736-2745.

2型糖尿病致认知功能障碍的危险因素

安金, 李小旋, 任艳艳 综述 吕佩源 审校
河北省人民医院神经内科, 河北省石家庄市 050051

摘要: 糖尿病是一种以糖代谢紊乱为特征的慢性多系统疾病, 近年来发病率逐年上升。目前的研究已证实, 糖尿病是认知功能障碍的独立危险因素之一。糖尿病自身病情、并发症和合并症均与认知功能障碍有关。因此, 本文对糖尿病患者发生认知功能障碍的可控危险因素进行综述, 以期制定新的策略预防和延缓糖尿病引起的认知功能损害。

关键词: 糖尿病; 认知障碍; 危险因素; 心理障碍; 肠道菌群失调

DOI: 10.16636/j.cnki.jinn.2018.03.025

收稿日期: 2017-10-10; 修回日期: 2018-04-13

作者简介: 安金(1989-), 女, 医师, 主要从事认知障碍研究。

通信作者: 吕佩源(1962-), 男, 主任医师, 主要从事认知障碍研究。E-mail: peiyuanlu@163.com。