赖氨酸去甲基化酶2与神经系统疾病

左云燕[1],温海霞[1,2] 综述 徐恩[1] 审校
1. 广州医科大学附属第二医院神经内科,广东省广州市 510260
2. 低氧适应转换医学北京市重点实验室,北京市 100053

摘 要:赖氨酸去甲基化酶2(KDM2)是一类重要的组蛋白修饰调节蛋白,广泛表达于中枢神经系统的不同区域。KDM2通过介导组蛋白去甲基化和底物蛋白泛素化,引起染色质的构象变化及调节靶基因的转录,从而影响细胞周期、细胞凋亡、氧化应激以及肿瘤形成等。KDM2在神经系统发育障碍、胶质母细胞瘤、阿尔茨海默病、脑缺血等神经系统疾病中发挥重要的作用。

关键词:神经系统疾病;赖氨酸去甲基化酶2A;赖氨酸去甲基化酶2B;组蛋白;泛素化

DOI:10.16636/j.cnki.jinn.2019.02.021

大脑的生长发育过程极其复杂,涉及多种调控因素。而表观遗传调控系统通过调节基因组的结构和功能,影响大脑的生长发育、神经细胞的多样性、突触和神经网络的连通性和可塑性、复杂的认知和行为表型[1]。其中,组蛋白甲基化修饰由赖氨酸甲基化转移酶和去甲基化酶调节。赖氨酸去甲基化酶2(lysine(K)-specific demethylase 2,KDM2)可使特定组蛋白赖氨酸残基发生去甲基化[2]或泛素化[3],从而负性调节真核生物基因转录。此外,KDM2直接参与了大脑发育过程。

胚胎发育的早期,KDM2在哺乳动物的前脑、小脑、枕叶以及中央后回有较高的表达,并随发育阶段和年龄的增长而变化[4]。KDM2的基因突变和表达异常,可通过影响靶基因的去甲基化或泛素化修饰,改变靶基因的转录水平,从而调控下游信号通路分子的表达,影响神经细胞的生成、凋亡、氧化应激、能量代谢以及神经递质合成等过程,在神经系统疾病的发生和发展中发挥重要作用。本文将就KDM2的分子结构、功能以及与一些神经系统疾病的关系等方面的研究做一综述。

1 KDM2的分子生物学特性

1.1 KDM2的分子结构

KDM2是一类进化保守且广泛存在的核蛋白,其家族主要成员包括:赖氨酸去甲基化酶2A(lysine-specific demethylase 2A,KDM2A)和赖氨酸去甲基化酶2B(lysine-specific demethylase 2B,KDM2B)。KDM2A又称为Jhdm1a、Ndy2、FBXL11,含1162个氨基酸残基,相对分子质量为132 kDa,其编码基因位于染色体11q13.2;KDM2B又称为Jhdm1b、Ndy1、FBXL10,含1336个氨基酸残基,相对分子质量为152 kDa,其编码基因位于染色体12q24.31[4]。KDM2的N端保守区主要含4个结构域:①Jumonji C(JmjC)结构域,在α-酮戊二酸和亚铁离子作用下使赖氨酸发生去甲基化[5];②锌指(CXXC Zinc finger,CXXC-ZnF)结构域,调控KDM2识别和结合未甲基化修饰的启动子区CpG双核苷酸(cytosine/guanine dinucleotides,CpG)岛[6];③植物同源结构域(plant homeodomain,PHD),调节KDM2识别核小体[7];④F-盒蛋白(F-Box)结构域,与S-期激酶关联蛋白1(S-Phase kinase associated protein 1,SKP1)结合形成SKP1-CULLIN-F-BOX(SCF)复合体[8]。而C端则包含6~7个亮氨酸重复序列(leucine-rich repeat,LRR)结构域,也影响KDM2与蛋白相互识别与结合,常与F-Box结构域共存于SCF复合体的亚基蛋白中[9]。

1.2 KDM2的功能

1.2.1 组蛋白赖氨酸去甲基化 组蛋白赖氨酸的甲基化状态是动态可逆的:它既可由特异的赖氨酸甲基化转移酶(lysine methyltransferases,KMTs)催化完成,也可被相应的赖氨酸去甲基化酶(lysine

基金项目:国家自然科学基金面上项目(81571140);广州市科技计划项目(201804010124)
收稿日期:2018-08-17;**修回日期:**2019-01-23
作者简介:左云燕(1993-),女,硕士生,主要从事脑血管病研究。
通信作者:徐恩(1960-),女,教授,博士生导师,主要从事脑血管病研究。E-mail:enxu@163.net。

demethylase，KDMs）去除[10]。赖氨酸残基的去甲基化修饰可作用于单甲基化（me1）、二甲基化（me2）和三甲基化（me3）的底物，进而增加组蛋白修饰调节基因表达的复杂性[2]。Tsukada 等[5]于 2006 年通过甲基化酶生化分析和质谱实验，发现 KDM2 的去甲基化酶活性。KDM2 直接结合未甲基化修饰的 CpG 岛，使邻近启动子上特定组蛋白赖氨酸残基去甲基化，在转录水平调控细胞周期相关基因的表达或在细胞分裂期直接影响染色质结构，从而控制细胞周期。研究发现，KDM2A 可使 H3K36me1/2/3 发生去甲基化，导致基因沉默[11]。除 H3K36me2 的去甲基化酶活性外[12]，KDM2B 还介导 H3K4me3[13]、H3K79me2/3[14]去甲基化修饰，诱导靶基因沉默。

1.2.2　*参与底物蛋白的泛素化过程*　KDM2 的特征性 F-box 结构域[15]是 E3 泛素化连接酶的重要组成部分，可结合 E3 泛素化连接酶骨架蛋白 SKP1 和特异性底物，诱导底物蛋白泛素化[16]。KDM2B 的泛素化底物包括组蛋白和非组蛋白。KDM2B 通过非经典多梳抑制复合体（polycomb repression complex，PRC）1.1 诱导组蛋白的泛素化修饰，从而改变靶基因的转录水平。在胚胎干细胞中，KDM2B 结合染色体上未甲基化的 CpG 岛，促进 PRC1.1 向后者招募。随后，PRC1.1 将泛素分子粘附在组蛋白 H2A 的 119 位赖氨酸（H2AK119ubl）上。泛素化的 H2AK119ubl 招募 PRC2，使 H3K27 发生三甲基化，最终沉默靶基因[17]。KDM2B 还可通过形成 SCF 复合体发挥 E3 泛素化连接酶的作用。作为 CUL1-RING 泛素连接酶复合体（CRL1/SCFKDM2B）的一个亚基，KDM2B 与 SKP1 相互作用，形成 SCF-E3 泛素连接酶复合体，并通过其 LRR 结构域特异性识别底物，介导非组蛋白的泛素化降解[18]。

2　KDM2 与神经系统疾病

2.1　KDM2 与神经系统发育障碍

组蛋白赖氨酸残基的甲基化水平影响染色体结构和基因转录，继而调控哺乳动物的早期发育和细胞分化。Testoni 等[19]在先天畸形的罗马诺拉肉牛中发现，*KDM2B* 的错义突变可导致面部畸形、腹水和肝硬化等致死性多器官发育异常。在一组神经系统疾病的沙特阿拉伯患者中，Charng 等[20]应用全基因组外显子测序及生物信息学分析技术，筛查出部分神经发育障碍的致病基因。其中，*KDM2B* 纯合突变与发育迟缓、小头畸形、肌张力降低及婴儿痉挛症等密切相关。Fukuda 等[21]发现，在小鼠胚胎诱导 *KDM2B* 纯合突变后，E9.5 期可见细胞周期抑制因子 p19ARF 的表达显著上调，并引起神经上皮和间质的凋亡增加，导致小鼠出生后出现神经管关闭不全，伴无脑畸形、视网膜缺损和卷曲尾，并在短期内死亡。另一项研究表明，*KDM2A* 通过抑制周期素依赖性激酶抑制基因 $p21^{Cip1}$ 调节细胞增殖。*KDM2A* 缺陷则可引起小鼠胚胎生长迟滞或神经管闭合缺陷，甚至致死[22]。在小鼠的胚胎纤维母细胞中，过表达 *KDM2B* 通过结合迁移相关基因的启动子影响细胞迁移活动，进而调节胚胎发育时期组织形成[23]。

2.2　KDM2 与胶质母细胞瘤

胶质母细胞瘤（glioblastoma multiforme，GBM）是最常见的侵袭性颅内肿瘤，临床表现为颅高压、精神异常、卒中发作等。研究发现，促凋亡蛋白和抑凋亡蛋白编码基因的表观遗传修饰改变，可导致 GBM 细胞对促凋亡因素不敏感。而 GBM 细胞的抵抗作用主要依赖于表观遗传调控分子对肿瘤坏死因子相关的凋亡诱导配体（tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand，TRAIL）的调节[24]。Kurt 等[25]通过抑制 U87 胶质瘤细胞系的 48 种染色质修饰酶基因发现，KDM2B 是 TRAIL 诱导凋亡反应的调节器之一。过表达 KDM2B 可抑制 TRAIL 诱导的凋亡反应，促进肿瘤生长。相较于正常人脑组织，胶质瘤细胞的 KDM2B 蛋白水平不仅明显升高，且升高的程度还与胶质瘤的病理分级相关。沉默 U87 和 U251 胶质瘤细胞系的 *KDM2B*，可上调细胞周期素依赖性激酶抑制因子 p21 或下调周期素 cyclin D1 的表达，阻滞细胞周期并抑制 GBM 细胞增殖。上述结果提示，KDM2B 不仅有望成为 GBM 治疗的一种潜在促凋亡靶点，还可能成为胶质瘤的临床诊断和预后评估的一种新型生物标记物[26]。

2.3　KDM2 与阿尔茨海默病

阿尔茨海默病（Alzheimer's disease，AD）是一种进展性神经退行性疾病，特征性表现为认知功能逐渐下降。载脂蛋白 E ε4（apolipoprotein ε4，APOE ε4）是目前唯一公认的 AD 遗传危险因素。近年来国内外关于 AD 与单核苷酸多态性（single nucleotide polymorphism，SNP）关系的报道较多。一项有关 AD 致病基因的研究表明，在未携带 APOE ε4 的 AD 患者中检测到 5 个与疾病相关的遗传易感基因，其中

相关性最强的是 *KDM2B*（rs28604990 和 rs7955747）。数量性状研究显示，脑脊液生物标记物 p-tau$_{181p}$ 和 p-tau$_{181p}$/Aβ_{42} 在 *KDM2B* 的 SNP 之间的差异具有统计学意义，提示 KDM2B 风险单倍型可影响脑脊液 Aβ_{42} 和 p-tau$_{181p}$ 的表达，并与其他 SNP 风险等位基因一起产生叠加效应，影响 AD 的发病[27]。在 AD 前驱期，*KDM2B* 的 CpG 岛甲基化水平与神经炎性淀粉样斑块的形成有关[28]。KDM2B 通过影响神经炎性淀粉样斑块的形成，直接参与 AD 的发病。另一方面，β 淀粉样蛋白聚集在线粒体，影响线粒体动力学和干扰线粒体能量代谢，后者通过柠檬酸循环途径调节核染色质的表观遗传修饰状态，随机干扰基因表达，诱导神经元发生退行性改变[29]。而 KDM2B 可通过影响柠檬酸循环介导的线粒体和细胞核之间的物质转运，间接影响 AD 的发病。

2.4 KDM2 与脑缺血

近年来，表观遗传调控在脑缺血中的作用备受关注[30]。Chakravarty 在 CD1 小鼠单侧颈内动脉闭塞模型的纹状体发现，大量 KMTs 和 KDMs 参与了缺血再灌注后神经损伤和后续的神经修复与再生过程[31]。在低氧条件下，KDM2 家族成员表达上调，该过程主要依赖于低氧诱导因子 1 的调节[32]。而在大鼠短暂性全脑缺血模型中，海马 CA1 区低氧诱导因子 1 的上调在脑缺血后发挥神经保护作用[33]。Polytarchou 等[34]证实 KDM2B 可下调活性氧分子调节基因和上调还原基因的表达，支持细胞抵抗氧化应激。Li 等[35]在急性缺血性脑卒中患者血液样本和神经母细胞瘤细胞氧糖剥夺模型中发现，促凋亡因子 miR-146a 表达下调，其下游 KDM2B 的 mRNA 降解减少，继而上调抗凋亡因子 KDM2B 的表达并保护脑缺血细胞。尽管 KDM2 在脑缺血中的作用和机制还未被完全阐明，但 KDM2 在凋亡、氧化应激、神经元重编码等相关的研究结果提示 KDM2 在脑缺血中可能发挥重要作用。

3 结语

作为关键的表观遗传分子，KDM2 对维持神经系统的正常发育起重要作用，其基因突变和表达异常影响神经系统的发育，与某些神经系统疾病如 AD，GBM 和脑缺血等的发生与发展密切相关。KDM2 通过其组蛋白去甲基化酶活性和组蛋白 E3 泛素化连接酶活性，重构染色质和影响下游靶基因的表达，从而调节神经细胞的生长和凋亡。因此，深入探讨 KDM2 在神经系统疾病中的作用以及 KDM2 的调控机制，将为研发以 KDM2 为靶点的新型药物，为与之相关的神经系统疾病的治疗提供新的思路。

参 考 文 献

[1] Qureshi IA, Mehler MF. Epigenetic mechanisms underlying nervous system diseases[J]. Handb Clin Neurol, 2018, 147: 43-58.

[2] Dimitrova E, Turberfield AH, Klose RJ. Histone demethylases in chromatin biology and beyond[J]. EMBO Rep, 2015, 16(12): 1620-1639.

[3] Zhou Z, Yang X, He J, et al. Kdm2b Regulates Somatic Reprogramming through Variant PRC1 Complex-Dependent Function[J]. Cell Rep, 2017, 21(8): 2160-2170.

[4] Labonne JD, Lee KH, Iwase S, et al. An atypical 12q24.31 microdeletion implicates six genes including a histone demethylase KDM2B and a histone methyltransferase SETD1B in syndromic intellectual disability[J]. Hum Genet, 2016, 135(7): 757-771.

[5] Tsukada Y, Fang J, Erdjument-Bromage H, et al. Histone demethylation by a family of JmjC domain-containing proteins[J]. Nature, 2006, 439(7078): 811-816.

[6] Long HK, Blackledge NP, Klose RJ. ZF-CxxC domain-containing proteins, CpG islands and the chromatin connection[J]. Biochem Soc Trans, 2013, 41(3): 727-740.

[7] Borgel J, Tyl M, Schiller K, et al. KDM2A integrates DNA and histone modification signals through a CXXC/PHD module and direct interaction with HP1[J]. Nucleic Acids Res, 2017, 45(3): 1114-1129.

[8] Gorelik M, Manczyk N, Pavlenco A, et al. A Structure-Based Strategy for Engineering Selective Ubiquitin Variant Inhibitors of Skp1-Cul1-F-Box Ubiquitin Ligases[J]. Structure, 2018, 26(9): 1226-1236.

[9] Huett A, Heath RJ, Begun J, et al. The LRR and RING domain protein LRSAM1 is an E3 ligase crucial for ubiquitin-dependent autophagy of intracellular Salmonella Typhimurium[J]. Cell Host Microbe, 2012, 12(6): 778-790.

[10] Black JC, Van Rechem C, Whetstine JR. Histone Lysine Methylation Dynamics: Establishment, Regulation, and Biological Impact[J]. Mol Cell, 2012, 48(4): 491-507.

[11] Cheng Z, Cheung P, Kuo AJ, et al. A molecular threading mechanism underlies Jumonji lysine demethylase KDM2A regulation of methylated H3K36[J]. Genes Dev, 2014, 28(16): 1758-1771.

[12] He J, Kallin EM, Tsukada Y, et al. The H3K36 demethylase Jhdm1b/Kdm2b regulates cell proliferation and senescence through p15(Ink4b)[J]. Nat Struct Mol Biol, 2008, 15(11): 1169-1175.

[13] Janzer A, Stamm K, Becker A, et al. The H3K4me3 Histone Demethylase Fbxl10 Is a Regulator of Chemokine Expression, Cellular Morphology, and the Metabolome of Fibroblasts[J]. J Biol Chem, 2012, 287(37): 30984-30992.

[14] Kang JY, Kim JY, Kim KB, et al. KDM2B is a histone H3K79 demethylase and induces transcriptional repression via sirtuin-1-mediated chromatin silencing[J]. FASEB J, 2018, 32(10): 5737-5750.

[15] Han XR, Zha Z, Yuan HX, et al. KDM2B/FBXL10 targets c-Fos for ubiquitylation and degradation in response to mitogenic stimulation[J]. Oncogene, 2016, 35(32): 4179-4190.

[16] Gorelik M, Orlicky S, Sartori MA, et al. Inhibition of SCF ubiquitin ligases by engineered ubiquitin variants that target the Cul1 binding site on the Skp1-F-box interface[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2016, 113(13): 3527-3532.

[17] Wu X, Johansen JV, Helin K. Fbxl10/kdm2b Recruits Polycomb Repressive Complex 1 to CpG Islands and Regulates H2A Ubiquitylation[J]. Mol Cell, 2013, 49(6): 1134-1146.

[18] Gearhart MD, Corcoran CM, Wamstad JA, et al. Polycomb group and SCF ubiquitin ligases are found in a novel BCOR complex that is recruited to BCL6 targets[J]. Mol Cell Biol, 2006, 26(18): 6880-6889.

[19] Testoni S, Bartolone E, Rossi M, et al. KDM2B is implicated in bovine lethal multi-organic developmental dysplasia[J]. PLoS One, 2012, 7(9): e45634.

[20] Charng WL, Karaca E, Coban Akdemir Z, et al. Exome sequencing in mostly consanguineous Arab families with neurologic disease provides a high potential molecular diagnosis rate[J]. BMC Medical Genomics, 2016, 9(1): 42.

[21] Fukuda T, Tokunaga A, Sakamoto R, et al. Fbxl10/Kdm2b deficiency accelerates neural progenitor cell death and leads to exencephaly[J]. Mol Cell Neurosci, 2011, 46(3): 614-624.

[22] Kawakami E, Tokunaga A, Ozawa M, et al. The histone demethylase Fbxl11/Kdm2a plays an essential role in embryonic development by repressing cell-cycle regulators[J]. Mech Dev, 2015, 135: 31-42.

[23] Rohde M, Sievers E, Janzer A, et al. Overexpression of histone demethylase Fbxl10 leads to enhanced migration in mouse embryonic fibroblasts[J]. Exp Cell Res, 2016, 348(2): 123-131.

[24] Kuijlen JM, Bremer E, Mooij JJ, et al. Review: on TRAIL for malignant glioma therapy?[J]. Neuropathol Appl Neurobiol, 2010, 36(3): 168-182.

[25] Kurt IC, Sur I, Kaya E, et al. KDM2B, an H3K36-specific demethylase, regulates apoptotic response of GBM cells to TRAIL[J]. Cell Death Dis, 2017, 8(6): e2897.

[26] Wang Y, Zang J, Zhang D, et al. KDM2B overexpression correlates with poor prognosis and regulates glioma cell growth[J]. Onco Targets Ther, 2018, 11: 201-209.

[27] Jiang S, Yang W, Qiu Y, et al. Identification of novel quantitative traits-associated susceptibility loci for APOE ε4 non-carriers of Alzheimer's disease[J]. Curr Alzheimer Res, 2015, 12(3): 218-227.

[28] De Jager PL, Srivastava G, Lunnon K, et al. Alzheimer's disease: early alterations in brain DNA methylation at ANK1, BIN1, RHBDF2 and other loci[J]. Nat Neurosci, 2014, 17(9): 1156-1163.

[29] Salminen A, Haapasalo A, Kauppinen A, et al. Impaired mitochondrial energy metabolism in Alzheimer's disease: Impact on pathogenesis via disturbed epigenetic regulation of chromatin landscap[J]. Prog Neurobiol, 2015, 131: 1-20.

[30] Ng GY, Yun-An L, Sobey CG, et al. Epigenetic regulation of inflammation in stroke[J]. Ther Adv Neurol Disord, 2018, 11: 1756286418771815.

[31] Chakravarty S, Jhelum P, Bhat UA, et al. Insights into the epigenetic mechanisms involving histone lysine methylation and demethylation in ischemia induced damage and repair has therapeutic implication[J]. Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis, 2017, 1863(1): 152-164.

[32] Batie M, Druker J, D Ignazio L, et al. KDM2 Family Members are Regulated by HIF-1 in Hypoxia[J]. Cells, 2017, 6(1): 8.

[33] Zhu T, Zhan L, Liang D, et al. Hypoxia-inducible factor 1α mediates neuroprotection of hypoxic postconditioning against global cerebral ischemia[J]. J Neuropathol Exp Neurol, 2014, 73(10): 975-986.

[34] Polytarchou C, Pfau R, Hatziapostolou M, et al. The JmjC domain histone demethylase Ndy1 regulates redox homeostasis and protects cells from oxidative stress[J]. Mol Cell Biol, 2008, 28(24): 7451-7464.

[35] Li SH, Chen L, Pang XM, et al. Decreased miR-146a expression in acute ischemic stroke directly targets the Fbxl10 mRNA and is involved in modulating apoptosis[J]. Neurochem Int, 2017, 107: 156-167.