

文章编号: 1004-0374(2011)03-0279-04

少突胶质细胞发育分化的表观遗传学调控研究进展

刘 驰, 肖 岚*

(第三军医大学学员旅十七队, 重庆 400038)

摘 要: 少突胶质细胞的发育分化是由遗传的和后生的机制共同参与调控的一系列动态过程, 其中, 对于后生调控机制的研究称为表观遗传学。既往对少突胶质细胞的研究主要集中在相关基因本身的特性研究。近年来, 关于组蛋白修饰的研究使我们对少突胶质细胞发育和衰老过程中基因表达的后生调控有了新的认识。这些理论将有助于我们更好地理解髓鞘及衰老后髓鞘修复障碍的原因和防治途径。

关键词: 少突胶质细胞; 分化; 表观遗传学

中图分类号: Q344;R329.3 **文献标识码:** A

Progress of epigenetic regulation in the differentiation of oligodendrocyte

LIU Chi, XIAO Lan*

(Company 17, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: The development of oligodendrocyte is a dynamic process that is regulated by genetic and epigenetic program. In the past years, great progresses have been made in the studies of relative gene transcription and expression in oligodendrocyte development. However, epigenetic regulation of gene expression in the differentiation of oligodendrocyte has not been elucidated. Recent studies on addressing histone modifications have increased our knowledge and found new targets regarding the differentiation of oligodendrocyte and aging of brain. These results will provide us with new idea regarding the mechanisms underlying the decreased efficacy of endogenous remyelination in response to demyelinating injuries with age increasing, and further suggest new strategies for treatment of these problems.

Key words: oligodendrocyte; differentiation; epigenetics

脱髓鞘及其修复的失代偿是神经系统功能性损伤的表现之一, 主要见于多发性硬化症 (multiple sclerosis, MS) 等疾病。在 MS 中髓鞘修复受限与内源性少突胶质细胞前体细胞 (oligodendroglia precursor cell, OPC) 不完善的成髓鞘能力有关^[1]。因此, 研究少突胶质细胞发育分化的调控机制对促进中枢神经系统髓鞘修复有重要的意义。少突胶质细胞的发育分化是受遗传的和后生的机制共同参与调控的一系列动态过程。近年来, 表观遗传学 (epigenetics) 理论为其后生调控机制的研究提供了新的方向。

表观遗传学是研究没有 DNA 序列变化, 而可以遗传的基因功能变化之学科, 主要包括如何通过激活、抑制某些基因的表达, 从而选择性地利用基因组的信息。目前脱髓鞘疾病或少突胶质细胞发育

分化相关的表观遗传学研究主要集中在 DNA 甲基化、组蛋白修饰、miRNA 的调控作用等三个方面, 本文主要就相关内容作一综述。

1 少突胶质细胞发育分化及其染色体特点

众所周知, 中枢神经系统的细胞起源于外胚层神经上皮中能自我更新并分化为神经元或胶质细胞的神经干细胞或祖细胞。其中少突胶质细胞起源于中枢神经系统室周区及室下区有增殖能力的神经祖细胞, 其发育过程经历了神经祖细胞—少突胶质细

收稿日期: 2010-08-31; 修回日期: 2010-09-16

基金项目: 国家自然科学基金项目(30870801)

*通讯作者: E-mail: xiaol35@hotmail.com; Tel:(86)23-68752230

胞先祖细胞 (oligodendroglia preprogenitor) — 少突胶质细胞前体细胞 — 幼稚少突胶质细胞 — 成熟少突胶质细胞等几个阶段^[2]。在少突胶质细胞的分化发育过程中, 不同的转录因子被陆续激活, 从而调节发育各时期特异性细胞标志蛋白的表达, 如 NG2、CNPase 和 MBP^[3] 等, 而染色质的空间三维构象决定了这些基因的表达或沉默。

细胞染色质分异染色质和常染色质两种。其中, 基因处于高凝集状态的称为异染色质, 包括功能异染色质和结构异染色质。结构异染色质始终不具有转录活性, 而功能异染色质在某些特定的条件下可发生去凝集作用, 从而激活转录; 而常染色质结构疏松, 并始终具有转录活性, 可暴露转录作用位点从而激活转录。同其他细胞一样, 少突胶质细胞染色体的三维构象决定了其转录的可能性^[4]。利用原位杂交技术发现, 在 OPC 分化过程中, 位于核周的编码髓鞘碱性蛋白 (MBP) 和蛋白脂质蛋白 (PLP) 的基因表达均上调, 并且发现 PLP 基因定位于核周而不与 MBP 基因共存^[5]。这表明在少突胶质细胞中, 转录的激活和关闭与基因在核区域的分布及染色体构象有关, 而与基因之间是否聚集无关。

染色体的凝集与去凝集作用可以由多种核蛋白介导, 如 HP1、SWI 复合体等, 但是最关键的染色体变构发生在构成染色体的基本单位——核小体。一个核小体由组蛋白八聚体包绕着 150 bp 的 DNA 构成。这些组蛋白末端的氨基酸残基就是酶的作用位点。最近部分研究显示在少突胶质细胞发育分化中, 核小体出现了 DNA 甲基化和组蛋白乙酰化等修饰改变。此外, 少突胶质细胞转录后基因表达中也发现 miRNA 的部分调节作用。

2 组蛋白修饰在少突胶质细胞分化中的作用

核小体的转录后修饰与组蛋白氨基酸残基的变化有关, 是在不改变 DNA 序列的基础上调节 DNA 的转录。其主要包括乙酰化、去乙酰化、甲基化、磷酸化、泛素化、SUMO 化和瓜氨酸化。这些修饰构成了一组具有细胞特异性的“组蛋白修饰序列”, 它们在染色体水平上构成了转录调控的动态平衡, 如某些组蛋白修饰可以激活转录, 而另一些组蛋白修饰可以促使染色体凝集从而抑制转录。

2.1 组蛋白乙酰化与去乙酰化和少突胶质细胞分化的关系

组蛋白乙酰化与具有活性的散在分布的常染色质有密切联系, 另一方面, 组蛋白去乙酰化与染色

体失活有密切联系。组蛋白的乙酰化过程是由一组乙酰转移酶 (HAT) 家族催化的, 并与基因的表达有关, 与组蛋白去乙酰化酶 (HDAC) 介导的去乙酰化作用相互拮抗。HAT 家族由与转录活性有关的 GCN5、CBP 和 P300 三种蛋白构成。例如, P300 在星形胶质细胞成熟中促进胶质纤维酸性蛋白 (glia fibro acid protein, GFAP) 的表达, 并调节其表达量^[6]。另外, 在某些基因的转录过程中 (如 Neuro D) 去除 HDAC 的作用, 可以促进神经细胞分化^[7]。事实上, 在神经细胞的分化过程中, HDAC 的作用较 HAT 更为重要。

HDAC 可以在组蛋白赖氨酸残基上去除乙酰基团并且使染色体与转录因子解离。它主要包括四种亚型: Class I (HDAC-1、-2、-3、-8)、Class II (HDAC-4、-5、-6、-7、-9、-10)、Class III (SIRT1-7) 和 Class IV (HDAC11)。它们与酵母中组蛋白去乙酰化酶具有同源性。少突胶质细胞的分化是由 HDAC 程序启动的, 在其早期阶段, HDAC1/2 介导了两个非常重要的过程: 抑制突变细胞系发育和关闭髓鞘基因抑制因子的表达。HDAC 可以通过阻止突变细胞系转录因子的表达保证少突胶质细胞系的稳定性。在少突胶质细胞分化的开始阶段, HDAC 被募集到某些少突胶质细胞转录特异性因子的启动子周围, 从而发挥作用, 关闭这些基因对少突胶质细胞的分化有抑制作用。Ye 等^[8]发现 HDAC 可竞争性结合 CBF1 和 TCF7L2, 分别关闭 Notch 和 Wnt 信号来阻止转录抑制因子 Hes5、Sox11 的作用, 从而促进髓鞘基因的表达。其中, YINYANG 1 是可以促进 HDAC 的募集作用的转录因子, 从而使少突胶质细胞分化的转录因子得到表达^[9]。

2.2 组蛋白甲基化与去甲基化和少突胶质细胞分化的关系

组蛋白甲基化是由组蛋白甲基转移酶 (HMT) 催化的。它包括组蛋白赖氨酸甲基转移酶和组蛋白精氨酸甲基转移酶 2 个家族。其甲基化位点多位于 N 端尾区赖氨酸残基上, 其中 H3K4、H3K36 的甲基化可以激活基因转录, 而 H3K9、H3K27、H3K79、H3K20 的甲基化则抑制基因转录。促进基因表达或是抑制基因表达, 除取决于甲基化的位点外, 还与甲基化的程度相关, 即某一特定残基可以结合不同数目的甲基基团^[10]。在少突胶质细胞分化过程中, H3K27 起重要作用, 它是 Ezh2 作用的增强剂。Ezh2 是一组 PcG 蛋白家族的成员, 而 PcG 蛋白组成了多聚抑制复合物如 PRC1、PRC2 等。

PRC 通过 Ezh2 发挥其抑制作用, 表现为在靶基因启动子上的 H3K27 赖氨酸残基上的三甲基化。神经干细胞在分化为神经细胞和星形胶质细胞的过程中, Ezh2 表达下调; 而在 OPC 分化过程中, 甚至未成熟的少突胶质细胞中, Ezh2 高表达, 其可能的机制为 Ezh2 阻止了神经干细胞向神经细胞和星形胶质细胞的分化而刺激了少突胶质细胞的增殖^[11]。此外, 在脱髓鞘早期, 成熟的少突胶质细胞中 Ezh2 表达有所下调。

组蛋白去甲基化和甲基化相似, 也需要特异性的酶来催化, 即组蛋白去甲基酶, 如 LSD1、Jmjc 等, 它们常常与其他组蛋白修饰酶结合为复合物, 从而提高自身的活性。而精氨酸残基的甲基化作用提供了另一种动态基因调控的模式^[12]。在哺乳动物中, 蛋白精氨酸甲基转移酶 1(PRMT1) 和精氨酸甲基化酶联合辅助因子 1(CARM1) 在组蛋白精氨酸 H4R3、H4R2、H4R17 处发挥联合作用, 其结果是使基因激活。同时, PRMT5 在 H3R8 和 H4R3 的甲基化作用与基因的沉默有关。而在这些精氨酸甲基化的过程中, 其甲基基团的转移并不是由去甲基酶完成的, 而是由另一组特异性的脱亚胺酶催化的。人类精氨酸脱亚胺酶 (PAD) 的主要作用是将精氨酸残基的亚胺基团转移, 使其转化为瓜氨酸残基。在 MS 患者的髓鞘中, PAD2 和 PAD4 的表达量上调, 即瓜氨酸化水平升高^[13]。

3 DNA 甲基化与少突胶质细胞分化的关系

高等生物的 DNA 甲基化一般发生在鸟嘌呤二核苷酸 (CpG) 上。一种 CpG 位点分散于 DNA 中, 多以甲基化的形式存在; 另一种 CpG 高度聚集, 大小为 100~1 000 bp, 称为 CpG 岛 (CGI), 通常位于基因 5' 端启动子区, 部分位于基因的第一个外显子区。DNA 甲基化的过程为: 在 DNA 甲基转移酶 (DNMT) 的作用下, 由 S-腺苷甲硫氨酸 (SAM) 提供甲基, 胞嘧啶 5' 位的氢被甲基取代, 成为 5-甲基胞嘧啶。在 CpG 序列中胞嘧啶的甲基化会关闭基因启动子的活性, 从而抑制基因的表达^[14]。在少突胶质细胞中, DNA 甲基化具有细胞特异性, 其过程受 DNA 甲基转移酶和 DNA 去甲基酶协同调控。

有研究显示, MS 患者脑组织中 DNA 去甲基化的活性和正常人脑组织、帕金森患者脑组织相比高出了两倍。在分离的白质中发现, MS 患者胞嘧啶甲基化的数量仅仅为正常人以及帕金森患者的三

分之一。这种 DNA 高去甲基化状态使那些转录活性被抑制的基因, 尤其是启动子中 CpG 序列中被抑制的基因活性得以恢复^[15]。PAD2 便是这些基因中的一个成员, 它与髓磷脂碱性蛋白 (MBP) 的脱亚胺基作用有关。在正常人脑组织中, MBP 的瓜氨酸化比率非常低, 但是在慢性 MS 中, 瓜氨酸化的 MBP 比率非常高, 几乎占据了所有 MBP 的 40%^[16]。这种基因突变使得 MBP 中的大量精氨酸转变为瓜氨酸, 导致 MBP 与其他髓鞘成分的相互作用。有研究表明, 瓜氨酸化的异常 MBP 可以激活 T 细胞介导的超敏反应, 并且可以增强自身免疫应答反应, 这些可能是 MS 的潜在发病机理^[17,18]。

4 miRNA 与少突胶质细胞分化的关系

先前的研究显示, 转录后调控机制多在转录水平调节基因的表达, 而 miRNA 是在 mRNA 水平上对基因进行的转录后调控。miRNA 是内源性非编码 RNA 的片段, 其长度大概在 22 bp 左右, 并由位于蛋白质编码基因之间的 DNA 序列编码。首先, miRNA 基因的初级转录产物 (pri-miRNA) 在细胞核中被 RNase III Drosha 切割成为前体 miRNA (pre-miRNA)。之后, pre-miRNA 在转运蛋白 Exportin25 的作用下, 由核内转移到胞质中, 然后由另一种 RNase III Dicer 进一步切割产生成熟的 miRNA。这些成熟的 miRNA 与其他蛋白质一起组成 RNA 诱导沉默复合体 (RNA induced silencing complex, RISC) 从而引起靶 mRNA 的降解或使翻译过程被抑制。

在人类脑组织中, 多种 miRNA 高表达, 它们并不具有同质性, 并且随着大脑的发育, 其表达量亦有所变化。最近研究表明, miRNA 在神经保护及神经退行性病变中扮演主要角色。在不同的神经细胞, 如神经元、星形胶质细胞、少突胶质细胞中, miRNA 的表达谱很难被定位。然而, Lau 等^[19]在最近对离体的小鼠脑组织中处于分化阶段的少突胶质细胞的研究中, 第一次鉴别出了 miRNA 的基因表达谱。他们在处于发育阶段的小鼠的少突胶质细胞中找到了 98 种 miRNA, 并且发现在少突胶质细胞前体细胞分化为髓鞘前体细胞过程中, 有 43 种 miRNA 的表达水平有所变化。在已发现的 98 种 miRNA 中, 37 种 miRNA 表现出了靶位的偏移; 而在少突胶质细胞分化过程中, 有 13 种 miRNA 的表达水平在其预知靶点上被动态调控。在众多 miRNA 中, 最值得关注的是 miR-9, 它在少突胶质细胞的分化过程中表达水平有所下调, 而与其在预

知靶点的表达呈相反关系。髓鞘周围蛋白 22(PMP22)便是这些靶点之一。PMP22 是由施旺细胞产生的蛋白, 但是其 mRNA 可以在少突胶质细胞中出现。Lau 等^[19] 证明, 在少突胶质细胞中, miR-9 作用于 PMP22 的 3' 端未转录区域并下调其表达, 然而在施旺细胞中却没有发现 miR-9。此外, Zhao 等^[20] 在对小鼠离体少突胶质细胞最新的研究中发现, miR-219 和 miR-338 可以启动少突胶质细胞的分化, 而抑制 miR-219 活性可以抑制少突胶质细胞的分化。以上研究表明, miRNA 在少突胶质细胞的分化过程中起重要作用, 研究并利用特异性 miRNA 干预少突胶质细胞的发育分化可为髓鞘修复研究提供新的思路。

5 展望

同其他组织细胞一样, 成熟少突胶质细胞的发育分化也是内在因素和外在因素共同调控的结果, 包括先天和后生因素的作用。近年来, 人们对于少突胶质细胞特异性转录因子、分化基因以及成髓鞘基因的表达及其调控机制的研究已取得一些成果, 而其后生修饰即表观遗传学方面的调控机制还有许多问题值得探讨, 如 HDAC 与 Hes5 相互作用的分子机制和 miRNA 如何发挥其调控作用, 以及 Ezh 如何促进少突胶质细胞分化成熟等方面。相信随着表观遗传学概念的不断深化和研究方法的发展, 后生调控在少突胶质细胞分化发育和髓鞘修复中的作用机制将逐渐得到阐明, 这将为理解包括少突胶质在内的神经系统各种细胞发育分化方式以及防治神经退行性病变提供新的线索。

[参 考 文 献]

- [1] Chari DM. Remyelination in multiple sclerosis. *Int Rev Neurobiol*, 2007, 79: 589-620
- [2] Nicolay DJ, Doucette JR, Nazarali AJ. Transcriptional control of oligodendrogenesis. *Glia*, 2007, 55(13): 1287-99
- [3] Harauz G, Ladizhansky V, Boggs JM. Structural polymorphism and multifunctionality of myelin basic protein. *Biochemistry*, 2009, 48(34): 8094-104
- [4] Bartova E, Krejci J, Harnicarova A, et al. Histone modifications and nuclear architecture: A review. *J Histochem Cytochem*, 2008, 56(8): 711-21
- [5] Nielsen JA, Hudson LD, Armstrong RC. Nuclear organization in differentiating oligodendrocytes. *J Cell Sci*, 2002, 115(Pt 21): 4071-9
- [6] Asklund T, Appelskog IB, Ammerpohl O, et al. Histone deacetylase inhibitor 4-phenylbutyrate modulates glial fibrillary acidic protein and connexin 43 expression, and enhances gap-junction communication, in human glioblastoma cells. *Eur J Cancer*, 2004, 40(7): 1073-81
- [7] Hsieh J, Nakashima K, Kuwabara T, et al. Histone deacetylase inhibition-mediated neuronal differentiation of multipotent adult neural progenitor cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101(47): 16659-64
- [8] Ye F, Chen Y, Hoang T, et al. HDAC1 and HDAC2 regulate oligodendrocyte differentiation by disrupting the β -catenin-TCF interaction. *Nat Neurosci*, 2009, 12(7): 829-38
- [9] He Y, Sandoval J, Casaccia-Bonnel P. Events at the transition between cell cycle exit and oligodendrocyte progenitor differentiation: the role of HDAC and YY1. *Neuron Glia Biol*, 2007b, 3(3): 221-31
- [10] Shilatifard A. Chromatin modifications by methylation and ubiquitination: implications in the regulation of gene expression. *Annu Rev Biochem*, 2006, 75: 243-69
- [11] Sher F, Rossler R, Brouwer N, et al. Differentiation of neural stem cells into oligodendrocytes: involvement of the polycomb group protein Ezh2. *Stem Cells*, 2008b, 26(11): 2875-83
- [12] Benevolenskaya EV. Histone H3K4 demethylases are essential in development and differentiation. *Biochem Cell Biol*, 2007, 85(4): 435-43
- [13] Wood DD, Ackerley CA, Brand B, et al. Myelin localization of peptidylarginine deiminases 2 and 4: comparison of PAD2 and PAD4 activities. *Lab Invest*, 2008, 88(4): 354-64
- [14] Bird A. DNA methylation patterns and epigenetic memory. *Genes Dev*, 2002, 16(1): 6-21
- [15] Mastronardi FG, Noor A, Wood DD, et al. Peptidylarginine deiminase 2 CpG island in multiple sclerosis white matter is hypomethylated. *J Neurosci Res*, 2007, 85(9): 2006-16
- [16] Moscarello MA, Wood DD, Ackerley C, et al. Myelin in multiple sclerosis is developmentally immature. *J Clin Invest*, 1994, 94(1): 146-54
- [17] D'Souza CA, Wood DD, She YM, et al. Autocatalytic cleavage of myelin basic protein: an alternative to molecular mimicry. *Biochemistry*, 2005, 44(38): 12905-13
- [18] Musse AA, Boggs JM, Harauz G. Deimination of membrane bound myelin basic protein in multiple sclerosis exposes an immunodominant epitope. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103(12): 4422-7
- [19] Lau P, Verrier JD, Nielsen JA, et al. Identification of dynamically regulated microRNA and mRNA networks in developing oligodendrocytes. *J Neurosci*, 2008, 28(45): 11720-30
- [20] Zhao X, He X, Han X, et al. MicroRNA-mediated control of oligodendrocyte differentiation. *Neuron*, 2010, 65(5): 612-26