

Pumilio2 在中枢神经系统的作用

吴旭玲 陈阳美

【摘要】 Pumilio2(Pum2)是近年新发现的一种转录后调控因子,与微小RNA功能相似,通过其特定的结构域与mRNA结合以阻断翻译起始复合物的形成、抑制靶基因的表达。近年研究表明,Pum2与中枢神经系统的形态发生和功能执行密切相关,其表达变化参与中枢神经系统疾病的生物学进程。本文拟就Pum2在中枢神经系统作用的研究进展简要概述。

【关键词】 癫痫; Pumilio2蛋白(非MeSH词); 中枢神经系统; 综述

The role of Pumilio2 in central nervous system

WU Xu-ling, CHEN Yang-mei

Department of Neurology, the Second Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400010, China

Corresponding author: CHEN Yang-mei (Email: chenym1997@sina.com)

【Abstract】 Pumilio2 (Pum2) is one of the newly discovered transcription regulatory factors in recent years, which exhibits similar function to microRNA (miRNA). Pumilio2 hinders the formation of translation initiation complexes and represses target gene expression from the combination of its specific structure domain with mRNA. Recent studies suggest that Pumilio2 is closely related to the morphogenesis and function of central nervous system. The different expression levels of Pumilio2 are involved in various biological processes of central nervous system diseases. This article mainly reviews the research progress of Pumilio2 and its role in central nervous system.

【Key words】 Epilepsy; Pumilio2 (not in MeSH); Central nervous system; Review

Pumilio(Pum)为PUF家族中的一种RNA结合蛋白,在生物学进化过程中高度保守,通过对其靶蛋白mRNA的转录调控而发挥生物学功能。Pum蛋白羧基末端(C末端)存在一个Pum同源结构域(PUM-HD),此为高度保守的RNA结合结构域,系由8个 α 螺旋重复序列串联构成,形成“新月”形超螺旋结构,其凹面可与特异性单链RNA序列相结合。一方面,Pum通过RNA结合位点与特异性单链RNA,即靶mRNA 3'端非翻译区(3'UTR)结合,该结合位点具有共同的5'-UGUANAUA-3'序列;另一方面,可聚集CCR4-NOT复合体,催化mRNA脱腺苷化,通过缩短多聚A尾(polyA tail)长度以降低mRNA稳定性,进而抑制其翻译功能。Pumilio2(Pum2)是Pum同系物,不仅可以通过Pum共有的同源结构域调控靶基因转录后翻译,而且可与真核细

胞翻译起始因子4E(eIF4E)竞争性结合至mRNA 5'端7-甲基鸟嘌呤核苷帽结构,阻碍翻译起始复合物的形成,从而调控翻译过程^[1]。体外实验显示,Pum2可与60余种mRNA结合^[2],其中部分mRNA与神经功能密切相关,如活化的蛋白激酶C受体1(RACK1)可作用于不同离子通道,与神经元兴奋性有关^[3-4]; β -淀粉样前体蛋白(APP)可影响神经元树突棘的密度^[5],与难治性癫痫的发生密切相关^[6]。Vessey等^[7]的研究表明,Pum2在体内亦广泛表达,如小鼠大脑、心脏、肝脏、肾脏等组织均可检测到Pum2,尤其在脑组织中呈高表达且主要存在于神经元,位于与突触后致密物95(PSD95)表达部位相邻近的树突。提示Pum2可能在中枢神经系统的形态发生和电活动中发挥重要作用。

一、Pumilio2与树突生长

树突是从神经元胞体发出的一个或多个放射状突起,可将突触前膜释放的神经递质转化为电信号使兴奋传入胞体,是神经元间信息传递和突触传导的重要结构,其表面存在许多不同形状的细小突

doi: 10.3969/j.issn.1672-6731.2014.12.005

作者单位:400010 重庆医科大学附属第二医院神经内科

通讯作者:陈阳美(Email:chenym1997@sina.com)

起即树突棘,为兴奋性突触位点。树突伸展长度、分支和树突棘数目的增加均可扩大神经元接受刺激的表面积,对神经元兴奋性传导具有重要调控作用。适宜的树突形态是大脑兴奋性回路形成的必要生理学条件,也是机体在生长过程中突触联系形成的组织学基础。

有研究显示,大鼠神经分化发育的各个阶段其脑组织均表达 Pum2,出生后 1 天其表达水平即显著升高,与海马树突开始生长的时间相一致,由此推测 Pum2 参与了树突形态的发生。Vessey 等^[8]在研究 Pum2 与神经元树突间关系时发现,Pum2 表达水平可以影响神经元树突形态:通过质粒转染短发夹 RNA(shRNA)和 Pum2-EYFP 分别下调或过表达大鼠海马神经元细胞模型 Pum2 水平,经体外培养 7 天后 Pum2 表达缺失神经元树突分支的复杂性显著增加,而 Pum2 过表达神经元仅表现为简化的树突支干,在 shRNA 介导 RNA 干扰的 Pum2 神经元中共转染具有 shRNA 抗性的 Pum2 mRNA 可逆转 shPum2 的作用,而与 Pum2 过表达神经元有相同的树突形态。这一结果与 Ye 等^[9]关于 Pum2 对果蝇周围神经细胞树突支干发育作用的研究结果相一致。此外,Fiore 等^[10]也发现,Pum2 是微小 RNA(miRNA)-134 的下游蛋白。通过 miRNA-134 抑制 Pum2 表达,可以诱导 Pum2 靶 mRNA 的稳定再分布,合成相应的蛋白质,从而促进树突生长。上述研究共同证实 Pum2 可以负性调节神经元树突生长。

二、Pumilio2 与突触可塑性

Pum2 不仅参与神经元树突的形态发生,同时还参与中枢神经系统突触可塑性变化即突触重塑。突触重塑系指突触在结构和功能两方面的可变性,是构成人类记忆和学习的重要神经生化基础。Vessey 等^[8]对体外培养的干扰 Pum2 表达的海马神经元突触进行形态学观察,发现与对照组相比,干扰 Pum2 表达的神经元兴奋性突触数目明显增加、体积增大,而抑制性突触形态未显示变化,这一过程可能是通过 Pum2 对 eIF4E 的负性调控实现的。为进一步研究突触功能变化,他们又采用膜片钳技术记录神经元微兴奋性突触后电流(mEPSCs)变化,其结果显示:干扰 Pum2 表达可使微兴奋性突触后电流频率增加^[8],提示 Pum2 通过对突触形态和功能的影响而参与中枢神经系统病理生理学过程。

研究显示,哺乳动物骨骼肌 Pum2 高度集中于神经-肌肉接头处,与乙酰胆碱酯酶(AChE)mRNA

3'端非翻译区高度保守的 Pum 结合元件结合,抑制神经-肌肉接头处乙酰胆碱酯酶表达,实现对该部位兴奋性传递的调控^[11]。然而,Pum2 能否在中枢神经系统中与 AChE mRNA 相结合尚未获得证实。

三、Pumilio2 与神经元兴奋性

电压门控性钠离子通道(VGSC)激活可引起动作电位发生,在神经元兴奋性的调控中起重要作用,钠离子电传导的电压依赖性及其在去极化过程中产生的正反馈机制是产生动作电位、神经元兴奋性的关键因素。Pum2 通过调控 VGSC 表达而影响神经元兴奋性。果蝇麻痹基因(*para*)是一种能够编码多种剪接变异体的高度复杂基因,其表达具有温度敏感性,可编码果蝇神经元上 4 种 VGSC 亚单位,介导细胞膜对钠离子的通透,在可兴奋细胞电信号的产生和扩散中发挥重要作用^[12]。Mee 等^[13]认为,Pum 表达变化与神经元兴奋性相关。过表达 Pum 可抑制 *para* mRNA 的翻译,使神经元钠离子持续性电流和瞬时电流减少、细胞兴奋性下降,而抑制 Pum 表达则可使 *para* 蛋白表达上调,通过增加钠离子持续性电流而提高神经元兴奋性。Vessey 等^[8]证实,Pum2 可与钠离子通道亚单位 SCN1A mRNA 相结合并抑制 SCN1A 合成,在 Driscoll 等^[14]的最新研究也有相同发现。Pum2 可直接与哺乳动物神经元上的钠离子通道(Nav1.6)转录产物相结合,调控其转录后翻译,RNA 干扰 Pum2 表达后钠离子内流增加,神经元去极化产生动作电位而兴奋神经元。一旦钠离子通道表达或功能异常即可导致神经元电活动失衡,在癫痫的发病机制中起重要作用,了解 Pum2 对钠离子通道的电流影响可为癫痫的治疗提供潜在思路和方法。值得注意的是,虽然神经元兴奋性主要由钠离子电传导决定,但也与细胞膜对钾离子的电传导有关,完全阐明 Pum2 对神经元兴奋性的影响尚待进一步的探索。

四、Pumilio2 与神经胶质增生

星形胶质细胞是脑组织中最主要、分布最广泛的神经胶质细胞,神经胶质增生系指中枢神经系统受损部位星形胶质细胞的大量增生堆积。损伤早期反应性神经胶质增生对中枢神经系统具有一定保护作用,至后期则形成胶质瘢痕,抑制中枢神经系统损伤的恢复。有关脑损伤后反应性神经胶质增生发生机制的最新研究显示,神经胶质增生与 Pum2 表达变化密切相关。Kanemaru 等^[15]发现,Pum2 可抑制神经胶质增生的形成。小鼠大脑皮质

外源性损伤可导致星形胶质细胞内钙离子信号激活,在细胞内与 1,4,5-三磷酸肌醇 2 型受体(IP₃R2)相结合,使损伤组织释放 ATP、ET1 和谷氨酸等初始信号分子,ATP 和 ET1 均能抑制 Pum2 表达。N-钙黏着蛋白 mRNA 3'端非翻译区具有保守的 PUF 结合元件,由于 Pum2 对其抑制作用减弱,钙离子依赖性 N-钙黏着蛋白表达上调,使星形胶质细胞数目和形态发生变化,由此可见,Pum2 在神经胶质增生的病理过程中发挥至关重要的作用。

五、Pumilio2 与临床疾病

动物实验显示,Pum2 表达变化可影响多种行为能力。脆性 X 染色体综合征(FXS)是由于脆性 X 智力低下(*FMR1*)基因突变所致的以智力障碍为主要表现的遗传性疾病,许多脆性 X 染色体综合征患者均表现出较高的癫痫发作易感性。Pum2 可以作为 *FMR1* 潜在靶点^[16],二者既能共同调节 PSD95、APP 等癫痫相关蛋白的表达变化^[2,17-18],又能影响神经元树突的生长^[8,19]。由此推测,Pum2 和 *FMR1* 相互作用共同调控神经功能,Pum2 的介导可能成为 *FMR1* 参与癫痫发病的重要因素。Pum2 调控的树突形态改变、突触重塑、神经元兴奋性变化和神经胶质增生均在癫痫发病机制中起着重要作用。行为学研究亦证实,*Pum2* 基因敲除小鼠癫痫易感性增加^[20],提示 Pum2 表达变化在癫痫的发生与发展中占据重要地位,但是 Pum2 通过何种机制参与癫痫的发生,目前尚未见这方面研究的报道。动物实验证实,Pum2 表达缺失小鼠不仅癫痫易感性增加,而且筑巢能力也有所下降^[20]。有研究表明,筑巢能力下降可以作为精神分裂症模型中社会功能受损的标志,而同样的表现亦可在阿尔茨海默病和 21 三体综合征小鼠模型中观察到^[21-23]。表明 Pum2 表达变化可能与癫痫等多种中枢神经系统疾病相关。

综上所述,Pum2 作为转录后的基因表达调控因子,与中枢神经系统的形态发生和功能执行有着密切的联系,在中枢神经系统中发挥重要作用。深入研究 Pum2 相关信号转导通路,有望进一步明确癫痫等中枢神经系统疾病在分子水平的发病机制,为今后研究提供新的方向,为临床治疗提供新的研究方案和药物作用靶点。因此,Pum2 是一个值得关注和研究的蛋白。

参 考 文 献

- [1] Cao Q, Padmanabhan K, Richter JD. Pumilio 2 controls translation by competing with eIF4E for 7-methyl guanosine cap recognition. *RNA*, 2010, 16:221-227.
- [2] Fox M, Urano J, Reijo Pera RA. Identification and characterization of RNA sequences to which human PUMILIO-2 (PUM2) and deleted in Azoospermia-like (DAZL) bind. *Genomics*, 2005, 85:92-105.
- [3] Surguchev A, Bai JP, Joshi P, Navaratnam D. Hair cell BK channels interact with RACK1, and PKC increases its expression on the cell surface by indirect phosphorylation. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2012, 303:C143-150.
- [4] Dong ZF, Tang LJ, Deng GF, Zeng T, Liu SJ, Wan RP, Liu T, Zhao QH, Yi YH, Liao WP, Long YS. Transcription of the human sodium channel SCN1A gene is repressed by a scaffolding protein RACK1. *Mol Neurobiol*, 2014. [Epub ahead of print]
- [5] Weyer SW, Zagrebelsky M, Herrmann U, Hick M, Ganss L, Gobbert J, Gruber M, Altmann C, Korte M, Deller T, Müller UC. Comparative analysis of single and combined APP/APLP knockouts reveals reduced spine density in APP-KO mice that is prevented by APP α expression. *Acta Neuropathol Commun*, 2014, 2:36.
- [6] Sima X, Xu J, Li J, Zhong W, You C. Expression of β -amyloid precursor protein in refractory epilepsy. *Mol Med Rep*, 2014, 9: 1242-1248.
- [7] Vessey JP, Vaccani A, Xie Y, Dahm R, Karra D, Kiebler MA, Macchi P. Dendritic localization of the translational repressor Pumilio 2 and its contribution to dendritic stress granules. *J Neurosci*, 2006, 26:6496-6508.
- [8] Vessey JP, Schoderboeck L, Gingl E, Luzi E, Riefler J, Di Leva F, Karra D, Thomas S, Kiebler MA, Macchi P. Mammalian Pumilio 2 regulates dendrite morphogenesis and synaptic function. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107:3222-3227.
- [9] Ye B, Petritsch C, Clark IE, Gavis ER, Jan LY, Jan YN. Nanos and Pumilio are essential for dendrite morphogenesis in *Drosophila* peripheral neurons. *Curr Biol*, 2004, 14:314-321.
- [10] Fiore R, Khudayberdiev S, Christensen M, Siegel G, Flavell SW, Kim TK, Greenberg ME, Schrott G. Mef2-mediated transcription of the miR379-410 cluster regulates activity-dependent dendritogenesis by fine-tuning Pumilio2 protein levels. *EMBO J*, 2009, 28:697-710.
- [11] Marrero E, Rossi SG, Darr A, Tsoulfas P, Rotundo RL. Translational regulation of acetylcholinesterase by the RNA-binding protein Pumilio-2 at the neuromuscular synapse. *J Biol Chem*, 2011, 286:36492-36499.
- [12] Li J, Waterhouse RM, Zdobnov EM. A remarkably stable TipE gene cluster: evolution of insect Para sodium channel auxiliary subunits. *BMC Evol Biol*, 2011, 11:337.
- [13] Mee CJ, Pym EC, Moffat KG, Baines RA. Regulation of neuronal excitability through pumilio-dependent control of a sodium channel gene. *J Neurosci*, 2004, 24:8695-8703.
- [14] Driscoll HE, Muraro NI, He M, Baines RA. Pumilio-2 regulates translation of Nav1.6 to mediate homeostasis of membrane excitability. *J Neurosci*, 2013, 33:9644-9654.
- [15] Kanemaru K, Kubota J, Sekiya H, Hirose K, Okubo Y, Iino M. Calcium-dependent N-cadherin up-regulation mediates reactive astrogliosis and neuroprotection after brain injury. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110:11612-11617.
- [16] Brown V, Jin P, Ceman S, Darnell JC, O'Donnell WT, Tenenbaum SA, Jin X, Feng Y, Wilkinson KD, Keene JD, Darnell RB, Warren ST. Microarray identification of FMRP-associated brain mRNAs and altered mRNA translational profiles in fragile X syndrome. *Cell*, 2001, 107:477-487.
- [17] Gandhi RM, Kogan CS, Messier C, Macleod LS. Visual-spatial

- learning impairments are associated with hippocampal PSD-95 protein dysregulation in a mouse model of fragile X syndrome. *Neuroreport*, 2014, 25:255-261.
- [18] Westmark CJ, Westmark PR, O'Riordan KJ, Ray BC, Hervey CM, Salamat MS, Abozeid SH, Stein KM, Stodola LA, Tranfaglia M, Burger C, Berry-Kravis EM, Malter JS, Tranfaglia M, Burger C, Berry-Kravis EM, Malter JS. Reversal of fragile X phenotypes by manipulation of AbetaPP/Abeta levels in Fmr1KO mice. *PLoS One*, 2011, 6:E26549.
- [19] Lauterborn JC, Jafari M, Babayan AH, Gall CM. Environmental enrichment reveals effects of genotype on hippocampal spine morphologies in the mouse model of fragile X syndrome. *Cereb Cortex*, 2013.[Epub ahead of print]
- [20] Siemen H, Colas D, Heller HC, Brüstle O, Pera RA. Pumilio-2 function in the mouse nervous system. *PLoS One*, 2011, 6: E25932.
- [21] Takao K, Kobayashi K, Hagihara H, Ohira K, Shoji H, Hattori S, Koshimizu H, Umemori J, Toyama K, Nakamura HK, Kuroiwa M, Maeda J, Atsuzawa K, Esaki K, Yamaguchi S, Furuya S, Takagi T, Walton NM, Hayashi N, Suzuki H, Higuchi M, Usuda N, Suhara T, Nishi A, Matsumoto M, Ishii S, Miyakawa T. Deficiency of schnurri-2, an MHC enhancer binding protein, induces mild chronic inflammation in the brain and confers molecular, neuronal, and behavioral phenotypes related to schizophrenia. *Neuropsychopharmacology*, 2013, 38: 1409-1425.
- [22] Torres - Lista V, Giménez - Llorca L. Impairment of nesting behaviour in 3xTg-AD mice. *Behav Brain Res*, 2013, 247:153-157.
- [23] Kaur G, Sharma A, Xu W, Gerum S, Alldred MJ, Subbanna S, Basavarajappa BS, Pawlik M, Ohno M, Ginsberg SD, Wilson DA, Guilfoyle DN, Levy E. Glutamatergic transmission aberration: a major cause of behavioral deficits in a murine model of Down's syndrome. *J Neurosci*, 2014, 34:5099-5106.

(收稿日期:2014-09-10)

· 小词典 ·

中英文对照名词词汇(三)

国际抗癫痫联盟

International League Against Epilepsy(ILAE)
 海马硬化 hippocampal sclerosis(HS)
 核内包涵体 intranuclear inclusions(INIs)
 X盒结合蛋白1 X-box binding protein 1(XBP-1)
 活化的蛋白激酶C受体1
 receptor for activated C kinase 1(RACK1)
 获得性免疫缺陷综合征
 acquired immunodeficiency syndrome(AIDS)
 肌醇需求酶1 inositol-requiring enzyme 1(IRE1)
 加巴喷丁 gabapentin(GBP)
 1-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氢吡啶
 1-methyl-4-phenyl-1, 2, 3, 6-tetrahydropyridine(MPTP)
 O⁶-甲基鸟嘌呤-DNA甲基转移酶
 O⁶-methylguanine-DNA methyltransferase(MGMT)
 碱性纤维母细胞生长因子
 basic fibroblast growth factor(bFGF)
 胶质瘤 CpG 岛甲基化亚型
 glioma-CpG island methylator phenotype(G-CIMP)
 胶质细胞源性神经营养因子
 glial cell line-derived neurotrophic factor(GDNF)
 胶质纤维酸性蛋白 glial fibrillary acidic protein(GFAP)
 节细胞胶质瘤 ganglioglioma(GG)
 结节性硬化症 tuberous sclerosis complex(TSC)
 进行性肌阵挛性癫痫 progressive myoclonic epilepsy(PME)
 惊厥性癫痫持续状态 convulsive status epilepticus(CSE)
 局灶性皮质发育不良 focal cortical dysplasia(FCD)
 聚合酶链反应 polymerase chain reaction(PCR)
 卡马西平 carbamazepine(CBZ)
 抗癫痫药物 antiepileptic drugs(AEDs)

抗癫痫药物高敏综合征

antiepileptic drug hypersensitive syndrome(AHS)
 抗核抗体 anti-nuclear antibody(ANA)
 抗中性粒细胞胞质抗体
 anti-neutrophil cytoplasmic antibody(ANCA)
 可提取性核抗原 extractable nuclear antigen(ENA)
 口服避孕药 oral contraceptive pills(OCP)
 快速眼动睡眠期 rapid eye movement(REM)
 拉莫三嗪 lamotrigine(LTG)
 辣根过氧化物酶 horseradish peroxidase(HRP)
 良性中央回癫痫 benign rolandic epilepsy(BRE)
 Newcastle-Ottawa量表 Newcastle-Ottawa Scale(NOS)
 淋巴管肌瘤病 lymphangiomyomatosis(LAM)
 磷脂酰肌醇-3激酶 phosphatidylinositol 3-kinase(PI3K)
 美国国立卫生研究院 National Institutes of Health(NIH)
 美国神经病学学会 American Academy of Neurology(AAN)
 美国食品与药品管理局
 Food and Drug Administration(FDA)
 美国糖尿病协会 American Diabetes Association(ADA)
 迷走神经刺激术 vagus nerve stimulation(VNS)
 难治性癫痫 refractory epilepsy(RE)
 脑深部电刺激术 deep brain stimulation(DBS)
 脑源性神经营养因子
 brain-derived neurotrophic factor(BDNF)
 内嗅皮质 entorhinal cortex(EC)
 内质网应激 endoplasmic reticulum stress(ERS)
 欧洲癌症研究和治疗组织
 European Organization for Research and Treatment of Cancer(EORTC)