

# 甲基化 CpG 结合蛋白 2 参与缺血性卒中后基底节神经再生的分化调控

李攀 周玉颖

**【摘要】** 研究背景 脑缺血可诱导非神经再生区(如基底节)神经再生和神经干细胞分化,但其调节机制尚不明确。本研究旨在探索缺血性卒中后基底节神经干细胞分化过程中可能的表观遗传学调控机制。**方法** 采用 Western blotting 法检测表观遗传学调节因子甲基化结合蛋白 2(MeCP2)及其磷酸化修饰形式 pMeCP2 在脑缺血大鼠基底节的表达变化,免疫组织化学染色观察 MeCP2 和 pMeCP2 阳性细胞形态特征,以及 pMeCP2 与神经干细胞标志物巢蛋白和神经元标志物微管相关蛋白 2(MAP-2)的共定位情况。**结果** (1)脑缺血后基底节 MeCP2 发生磷酸化形成 pMeCP2, MeCP2 阳性细胞数目减少( $t = 12.239, P = 0.000$ )、pMeCP2 阳性细胞数目增加( $t = 5.808, P = 0.000$ )。(2)脑缺血后基底节神经细胞胞核 MeCP2 表达水平降低( $t = 14.949, P = 0.000$ )、胞质 pMeCP2 表达水平升高( $t = 5.026, P = 0.001$ )。(3)MeCP2 磷酸化可介导 MeCP2 从细胞核转移至细胞质。(4)脑缺血第 3 天, pMeCP2 可与神经干细胞标志物巢蛋白共存于同一细胞;第 7 天时, pMeCP2 可与神经元标志物 MAP-2 共存于同一细胞。**结论** 脑缺血损伤诱导的 MeCP2 磷酸化可以改变 MeCP2 空间分布特征,使其从细胞核转移至细胞质,并影响其生物学功能。本研究结果进一步提高了对成年动物脑组织神经再生的认识,为神经再生治疗神经退行性疾病和损伤性疾病提供了新的视角。

**【关键词】** 脑缺血; 基底神经节; 神经再生; DNA 甲基化; DNA 结合蛋白质类; 磷酸化; 疾病模型,动物

## Methyl CpG - binding protein 2 participating in the regulation of differentiation plasticity of nerve regeneration in the basal ganglia after ischemic stroke

LI Pan, ZHOU Yu-ying

Department of Neurology, Tianjin Huanhu Hospital, Tianjin 300060, China

Corresponding author: ZHOU Yu-ying (Email: qiyiing789@sina.cn)

**【Abstract】** **Background** It is accepted that cerebral ischemia induces neurogenesis and neural stem cells (NSCs) differentiation in non-neurogenic regions (especially in the basal ganglia). However, the mechanisms possibly involved in modulating the differentiation plasticity of NSCs are still let to known. This study aims to investigate the possible epigenetic mechanisms involved in the differentiation process of NSCs after ischemic stroke. **Methods** Western blotting analysis was used to detect the protein levels of methyl CpG-binding protein 2 (MeCP2) and phosphorylated MeCP2 (pMeCP2) in the ischemic basal ganglia of rat model at 3 d following middle cerebral artery occlusion (MCAO). Immunohistochemical staining was performed to observe the cellular distribution of MeCP2 and pMeCP2, the cellular colocalization of pMeCP2 with NSCs marker nestin and neuronal marker microtubule-associated protein 2 (MAP-2) in the ischemic basal ganglia of rat brains. **Results** 1) MeCP2 was phosphorylated in the basal ganglia after ischemic stroke, forming pMeCP2. MeCP2 positive cell number was decreased in the ischemic basal ganglia ( $t = 12.239, P = 0.000$ ), while pMeCP2 positive cell number was increased in the ischemic basal ganglia ( $t = 5.808, P = 0.000$ ). 2) Ischemic stroke induced a reduction of MeCP2 levels in the nucleus ( $t = 14.949, P = 0.000$ ) and an elevation of pMeCP2 levels in the cytoplasm ( $t = 5.026, P = 0.001$ ). 3) MeCP2

doi:10.3969/j.issn.1672-6731.2013.11.009

基金项目:天津市科技计划项目(项目编号:13ZCZDSY01600);国家自然科学基金青年科学基金资助项目(项目编号:81301629)

作者单位:300060 天津市环湖医院神经内科

通讯作者:周玉颖(Email:qiyiing789@sina.cn)

phosphorylation mediated the translocation of MeCP2 from nucleus to cytoplasm. 4) pMeCP2 was colocalized with NSCs marker protein nestin in the ischemic basal ganglia at 3 d after MCAO; pMeCP2 was colocalized with the neuronal marker MAP-2 in the ischemic basal ganglia at 1 week after MCAO. **Conclusion** Ischemic stroke-induced MeCP2 phosphorylation was able to alter the spatial distribution of MeCP2, transferring it from nucleus to cytoplasm and affecting its biological functions. This study further improved our awareness of brain neurogenesis in adult animals, providing new perspective for making use of neuronal regeneration in the treatment of neurodegenerative diseases and nerve injuries.

**【Key words】** Brain ischemia; Basal ganglia; Nerve regeneration; DNA methylation; DNA-binding proteins; Phosphorylation; Disease models, animal

This study was supported by Tianjin Municipal Science and Technology Project (No. 13ZCZDSY01600) and Program of National Natural Science Fund for Young Scientist (No. 81301629).

在神经发育过程中哺乳动物中枢神经系统神经干细胞(NSCs)逐渐耗竭,至出生后仅室管膜下区(SVZ)和海马齿状回(DG)等极少数脑组织具有神经再生能力。脑缺血可以促进室管膜下区神经干细胞增殖,诱导其向缺血的基底节迁移,并逐渐分化为神经元和神经胶质细胞,此为脑缺血后神经组织自我修复和功能重建提供了新的理论基础。然而,目前对缺血性卒中后基底节神经干细胞增殖、分化的调控机制,以及神经干细胞分化过程中具有重要调节作用的信号转导通路尚不十分清楚。DNA甲基化是最早发现的表观遗传学修饰途径之一,也是表观遗传学调节反应链中的启动因素<sup>[1]</sup>。作为最重要的细胞内调节机制之一,DNA甲基化在神经干细胞自我更新和分化可塑性调节过程中发挥关键作用<sup>[2-3]</sup>,主要通过甲基化CpG结合蛋白2(MeCP2)调控目的基因表达变化<sup>[4]</sup>。MeCP2基因突变可以引起神经元发育迟缓、突触传递障碍,导致儿童精神运动发育障碍性神经遗传性疾病——Rett综合征(RS)<sup>[5]</sup>。此外,MeCP2还具有促进神经前体细胞分化为神经元,抑制其向星形胶质细胞分化的能力,调节神经细胞分化的可塑性<sup>[6]</sup>。近期的研究结果发现,MeCP2对神经细胞的生物学调节作用与其自身磷酸化状态密切相关,其磷酸化或脱磷酸化在MeCP2调控目的基因的表达过程中起“开关”作用<sup>[7-9]</sup>。鉴于此,本实验旨在研究表观遗传学调节因子MeCP2及其磷酸化蛋白pMeCP2在脑缺血组织中的表达变化,进一步探讨其在缺血性卒中后基底节神经干细胞分化可塑性调节中的作用。

## 材料与方 法

### 一、实验材料

#### 1. 实验动物与分组 清洁级 3 月龄雄性 Wistar

大鼠共 40 只,体质量 220~250 g,由军事医学科学院实验动物中心提供;消毒塑料鼠笼饲养,室内温度约 20℃、湿度 50%~60%,每天光照 12 小时,自由进食、饮水。于大脑中动脉闭塞(MCAO)模型制备成功后,按性别、月龄、体质量、胎别等因素将大鼠配成 5 对,每对分别编号为 1 和 2,随机数字表连续抄录 5 个数,奇数配对中第 1 只动物入 A 组(假手术组)、第 2 只入 B 组(脑缺血组);偶数配对中第 1 只动物入 B 组、第 2 只入 A 组,每组各 5 只大鼠。分别于缺血-再灌注第 3 和 7 天时,采用 Western blotting 法和免疫组织化学染色观察 MeCP2 和 pMeCP2 表达水平及细胞形态特征。

2. 试剂与药品 牛血清白蛋白购自北京索莱宝科技有限公司。核浆分离试剂盒由武汉碧云天生物技术有限公司提供。免疫试剂中 I 抗工作液[含兔抗小鼠 $\beta$ -微管蛋白( $\beta$ -tubulin, 1:1000)、 $\beta$ -肌动蛋白( $\beta$ -actin, 1:10 000)、微管相关蛋白 2(MAP-2, 1:200)和巢蛋白(nestin, 1:500)单克隆抗体,以及小鼠抗兔 MeCP2(1:100)、pMeCP2(1:100)和组蛋白 3(H3, 1:1000)多克隆抗体]分别购自美国 Sigma-Aldrich、BD、Upstate 公司和英国 Abcam、GSK 公司, II 抗工作液[生物素标记的山羊抗兔/小鼠 IgG(1:200)、辣根过氧化物酶(HRP)标记的山羊抗兔/小鼠 IgG(1:3000)多克隆抗体]和 III 抗工作液[与 II 抗工作液动物种属来源相对应的亲和素-生物素-过氧化物酶复合物(ABC, 1:200)]均购自美国 Santa Cruz 公司,二氨基联苯胺(DAB)显色试剂盒由美国 Sigma-Aldrich 公司提供(工作浓度为质量分数 0.05%),Vector Blue 碱性磷酸酶染色试剂盒购自美国 Vector 实验室(工作浓度按照试剂盒说明进行)。

### 二、实验方法

#### 1. 大脑中动脉闭塞模型制备 (1)操作方法:短

暂时性大脑中动脉闭塞模型依据文献[10]方法栓塞大脑中动脉。腹腔注射质量分数为 10%水合氯醛溶液麻醉大鼠,沿颈正中中线切开皮肤、分离左侧颈总动脉、颈外动脉和颈内动脉;电凝后剪断颈外动脉分支,结扎颈内动脉分支,双线套扎颈外动脉,结扎其远心端,并于近心端打松结。显微剪剪开颈外动脉、插入尼龙线,缓慢推入颈内动脉至大脑中动脉起始部;30 min 后缓慢拔出尼龙线,实现缺血-再灌注。假手术组大鼠仅钝性分离左侧颈总动脉、颈外动脉和颈内动脉,不结扎血管,也不施行血流再灌注。(2)结果判断:脑血流量降至基线的 20% 及以下,代表模型制备成功。

2. 免疫学观察 (1)冰冻组织切片的制备:腹腔注射质量分数为 10%水合氯醛溶液麻醉大鼠,打开胸腔、显露心脏,普通输液针头(20 GA)刺入左心室,迅速剪破右心耳,生理盐水快速冲洗后以质量分数为 4%多聚甲醛溶液灌注固定。断头取脑,置质量分数为 4%多聚甲醛溶液固定 6 h,依次梯度蔗糖溶液浸泡,直至脑组织沉降至瓶底。冰冻切片机冠状切片,层厚 30  $\mu\text{m}$ ,置 -20  $^{\circ}\text{C}$ 原位杂交保护液保存。(2)免疫组织化学染色:采用免疫组织化学单标法观察 MeCP2 和 pMeCP2 阳性细胞形态特征,免疫组织化学双标法观察 pMeCP2 与巢蛋白和 MAP-2 共定位情况。脑组织切片置质量分数为 0.3%过氧化氢溶液中孵育 30 min,0.01 mol/L 枸橼酸三钠 97.9  $^{\circ}\text{C}$  孵育 10~12 min;正常羊血清封闭 60 min;滴加小鼠抗兔 MeCP2(1:100)和 pMeCP2(1:100)多克隆抗体,37  $^{\circ}\text{C}$  孵育 2 h 后过夜,依次滴加 II 抗和 III 抗, DAB 显色。脑组织切片浸入兔抗小鼠巢蛋白(1:500)或 MAP-2(1:200)抗体工作液,37  $^{\circ}\text{C}$  孵育 2 h 后过夜,依次滴加 II 抗和 III 抗,分别以 Vector Blue 和 DAB 显色液标记两种蛋白质。常规脱水、透明、封片。阴性对照脑组织切片不滴加 I 抗,其余步骤同上。以胞核呈棕黄色为 MeCP2 阳性细胞,胞质呈棕黄色为 pMeCP2 阳性细胞。(3)Western blotting 法观察 MeCP2 和 pMeCP2 表达变化:根据胞核和胞质蛋白质检测试剂盒说明书提取核浆分离蛋白质。脑组织切成细小碎片后加入组织匀浆液充分匀浆,4  $^{\circ}\text{C}$ 、1500  $\times g$  离心 5 min,所获上清液即为胞质蛋白质;剩余细胞沉淀经洗涤后加入胞核蛋白质检测试剂,间断剧烈涡旋,4  $^{\circ}\text{C}$ 、16000  $\times g$  离心 10 min,获得胞核蛋白质。吸取适量蛋白质用于 SDS-PAGE 凝胶电泳,胞质蛋白质用于 pMeCP2 检测、胞核蛋白质用

于 MeCP2 检测。电泳后依次转膜、常规血清封闭,小鼠抗兔 MeCP2(1:1000)、pMeCP2(1:1000)、H3(1:1000)多克隆抗体和兔抗小鼠  $\beta$ -微管蛋白(1:1000)单克隆抗体(I 抗)孵育过夜,滴加辣根过氧化物酶标记的 IgG II 抗(1:3000),发光液显影。于相对分子质量为  $75 \times 10^3$  附近出现显影信号者为 MeCP2 蛋白,相对分子质量为  $80 \times 10^3$  附近出现显影信号者为 pMeCP2 蛋白,相对分子质量为  $17 \times 10^3$  附近出现显影信号者为 H3 蛋白,于相对分子质量为  $50 \times 10^3$  附近出现显影信号者为  $\beta$ -微管蛋白。 $\beta$ -微管蛋白和 H3 分别为胞质和胞核蛋白质内参照物,并反映二者分离纯度。

### 三、数据处理与统计分析

采用 CH20BIMF200(日本 Olympus 公司)专业分析软件进行免疫组织化学染色阳性细胞(即 MeCP2 或 pMeCP2 阳性细胞)立体计数;Image-J 图像分析和处理系统对 Western blotting 法所获目标电泳条带进行半定量分析,以光密度(OD)值表示。采用 SPSS 17.0 统计软件对实验数据进行分析,计量资料以均数  $\pm$  标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,行两独立样本的  $t$  检验。以  $P \leq 0.05$  为差异具有统计学意义。

## 结 果

### 一、脑缺血对大鼠基底节 MeCP2 和 pMeCP2 阳性细胞形态的影响

免疫组织化学染色显示,MeCP2 高表达于正常大鼠基底节,并聚集于细胞核(图 1)。脑缺血第 3 天时,细胞核 MeCP2 染色明显减弱,呈均匀一致淡染(图 1);缺血侧基底节可见大量 pMeCP2 阳性细胞。立体细胞计数显示,脑缺血后 MeCP2 阳性细胞数目减少,而 pMeCP2 阳性细胞数目明显增加(图 2)。

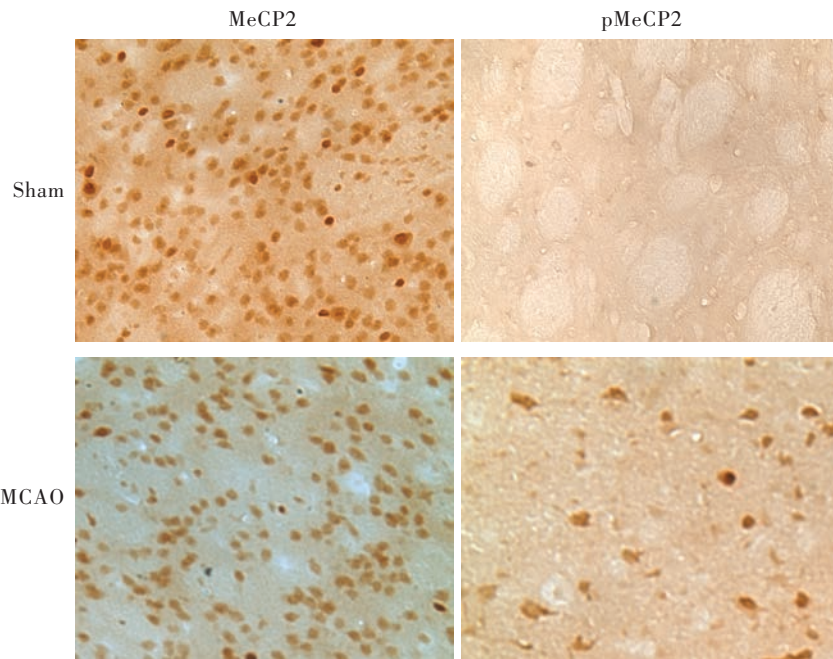
### 二、脑缺血诱导 MeCP2 磷酸化可介导 MeCP2 从细胞核转移至细胞质

MeCP2 作为一种染色质 DNA 结合蛋白仅分布于细胞核。本研究分别提取大鼠基底节神经细胞胞核和胞质蛋白,采用 Western blotting 法鉴定脑缺血对 MeCP2 和 pMeCP2 亚细胞定位和表达水平的影响。结果显示,MeCP2 仅分布于细胞核,而 pMeCP2 仅分布于细胞质。脑缺血后,细胞核 MeCP2 表达水平降低,细胞质 pMeCP2 表达水平升高(图 3)。

### 三、脑缺血后基底节 pMeCP2 可与巢蛋白和 MAP-2 共定位

免疫组织化学双标法显示,脑缺血第 3 天时,基





Sham, 假手术组; MCAO, 脑缺血组; MeCP2, methyl CpG-binding protein 2, 甲基化 CpG 结合蛋白 2; pMeCP2, phosphorylated MeCP2, 磷酸化 MeCP2。The same as Figure 2-3

图 1 光学显微镜观察显示,正常大鼠基底节神经细胞广泛表达 MeCP2,几乎不表达 pMeCP2;脑缺血第 3 天时,基底节神经细胞胞核 MeCP2 表达下调, pMeCP2 主要分布在缺血侧基底节神经细胞胞质内 免疫组织化学染色(ABC 三步法) 低倍放大

Figure 1 Optical microscopy findings showed that MeCP2 was widely distributed, while pMeCP2 was scarcely distributed in normal basal ganglia cells of rat model. On 3rd day after MCAO, MeCP2 expression in the nucleus of nerve cells in basal ganglia was reduced, while pMeCP2 was mainly distributed in the cytoplasm of nerve cells in ischemic basal ganglia. Immunohistochemical staining (ABC) low power magnified

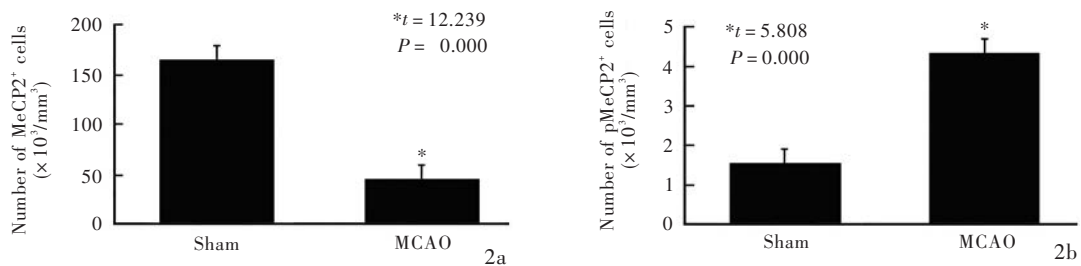


图 2 统计分析柱状图所见 2a 脑缺血第 3 天时,大鼠基底节 MeCP2 阳性细胞数目减少 2b 脑缺血第 3 天时,大鼠基底节 pMeCP2 阳性细胞数目增加

Figure 2 Histogram of statistical analysis demonstrated the decrease of MeCP2 positive cell number (Panel 2a) and the increase of pMeCP2 positive cell number (Panel 2b) in basal ganglia of rat model on the 3rd day after cerebral ischemia.

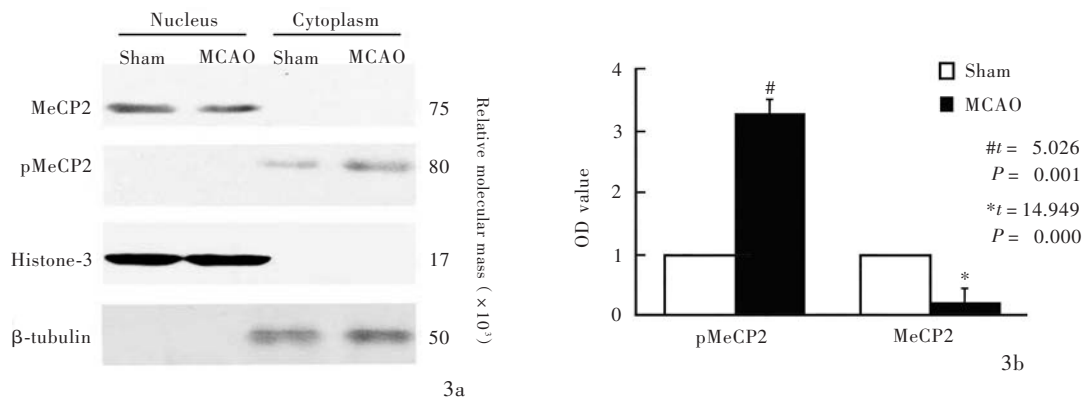
基底节 pMeCP2 可与神经干细胞标志物巢蛋白共定位;脑缺血第 7 天时,基底节 pMeCP2 可与神经元标志物 MAP-2 共定位(图 4)。

### 讨 论

神经干细胞分化的调控机制十分复杂,受外部和内部多种因素精细调节并建立完整的神经网络<sup>[11]</sup>。然而,这些调控机制尚不十分清楚。MeCP2 与甲基化 DNA 序列结合已被视为经典的表观遗传学调节方式,其在神经干细胞自我更新和分化过程中起关键作用。MeCP2 是甲基化 CpG 结合蛋白家族中的主要成员之一,广泛分布于哺乳动物体细胞,以脑组织尤为丰富<sup>[12]</sup>。作为染色质 DNA 结

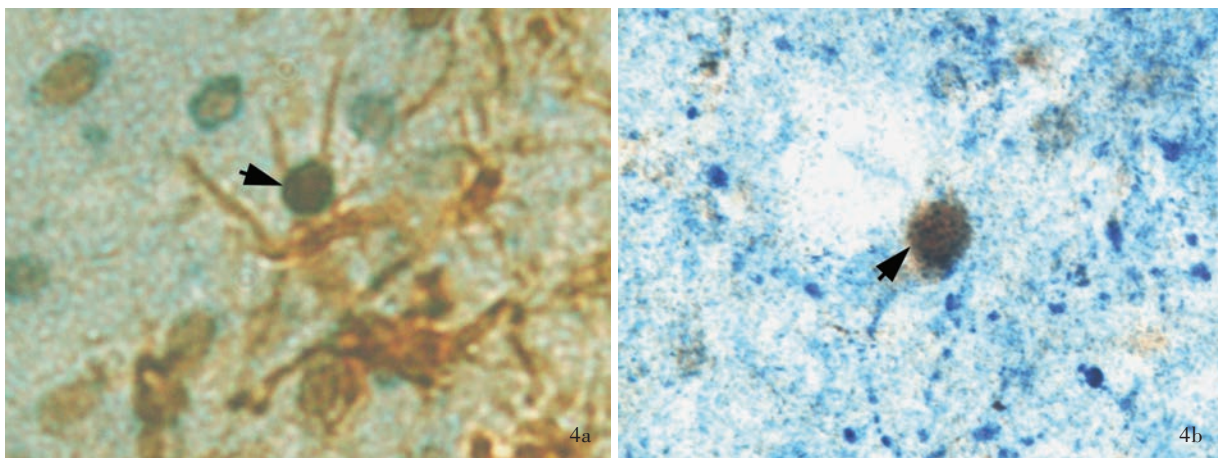
合蛋白,MeCP2 被认为仅分布于细胞核<sup>[13-15]</sup>。但在神经细胞分化过程中,MeCP2 蛋白位点上丝氨酸-苏氨酸磷酸化修饰可作为一种核输出信号(NES),调节 MeCP2 胞核-胞质转位,从而改变其空间分布特性,影响其生物学功能<sup>[16-18]</sup>。本研究结果显示,脑缺血后 MeCP2 的亚细胞定位模式和表达水平均发生明显改变。正常大鼠基底节神经细胞 MeCP2 仅分布于细胞核;脑缺血后该类蛋白质在细胞核内的免疫信号逐渐减弱、表达水平明显降低。而由脑缺血诱导产生的 pMeCP2 则仅特异性分布于细胞质,且于缺血后表达水平显著升高,提示磷酸化修饰可以介导 MeCP2 从细胞核转移至细胞质。

在本研究中,我们观察到脑缺血可以诱导



**图 3** 脑缺血第 3 天时,大鼠基底节神经细胞 MeCP2 和 pMeCP2 表达变化 3a Western blotting 法显示,MeCP2 仅表达于细胞核,pMeCP2 仅表达于细胞质 3b 统计分析柱状图显示,与假手术组相比,脑缺血组大鼠基底节神经细胞胞核 MeCP2 表达水平降低,胞质 pMeCP2 表达水平升高

**Figure 3** Changes in the protein expression of MeCP2 and pMeCP2 in the rat basal ganglia on the 3rd day after MCAO. Western blotting showed that MeCP2 selectively focused in nucleus, while pMeCP2 in the cytoplasm (Panel 3a). Histogram of statistical analysis revealed the decrease of MeCP2 expression level in nucleus and increase of pMeCP2 expression level in cytoplasm in MCAO group in comparison with Sham group (Panel 3b).



**图 4** 脑缺血大鼠基底节 pMeCP2 与巢蛋白和 MAP-2 共定位分析 4a 脑缺血第 3 天时,基底节 pMeCP2 与神经干细胞标志物巢蛋白共定位(箭头所示) 免疫组织化学染色[巢蛋白:DAB 染色;pMeCP2:Vector Blue 染色(ABC 三步法)] × 60 4b 脑缺血第 7 天时,基底节 pMeCP2 与神经元标志物 MAP-2 共定位(箭头所示) 免疫组织化学染色[pMeCP2:DAB 染色;MAP-2:Vector Blue 染色(ABC 三步法)] × 60

**Figure 4** Colocalization analysis of pMeCP2 with nestin and MAP-2 in the ischemic basal ganglia of rat after MCAO. pMeCP2 was colocalized with NSCs marker nestin in the ischemic basal ganglia on the 3rd day after MCAO (arrow indicates, Panel 4a). Immunohistochemical staining [nestin: DAB staining; pMeCP2: Vector Blue staining (ABC)] × 60 pMeCP2 protein was colocalized with neuronal marker MAP - 2 in the ischemic basal ganglia on the 7th day after MCAO (arrow indicates, Panel 4b). Immunohistochemical staining [pMeCP2: DAB staining; MAP-2: Vector Blue staining (ABC)] × 60

MeCP2 发生磷酸化,以及 pMeCP2 从细胞核转运至细胞质,而且 pMeCP2 可选择性地表达于缺血周围区域巢蛋白阳性神经干细胞和 MAP-2 阳性神经元。这种转录后修饰不仅改变 MeCP2 的空间定位,而且进一步影响其生物学功能,MeCP2 磷酸化修饰可能促使其以一种新的方式发挥生物学功能。基于此,我们提出在脑缺血后神经干细胞分化过程中,磷酸化修饰对 MeCP2 功能调控作用的假说:当神经元处于静止状态时,MeCP2 作为转录抑制因子

与神经细胞特异性基因(如 *nestin* 和 *map-2*)启动子发生特异性结合,并对其产生负性调节作用;脑缺血诱导 MeCP2 磷酸化,使 MeCP2 空间构象发生改变,导致 MeCP2 从基因启动子上解离,转录抑制作用被解除,进而诱导神经细胞特异性基因表达,这种细胞内基因表达谱的改变可以引起细胞形态和属性的转变。Zhou 等<sup>[19]</sup>研究发现,神经元激活和随后的钙离子内流可以诱发 MeCP2 磷酸化,促进 MeCP2 从脑源性神经营养因子(BDNF)基因启动子

上释放,诱导 *BDNF* 基因转录和表达,进而调节树突发生和棘突成熟,与本研究调节模式相似。另外,鉴于 MeCP2 在神经干细胞分化过程中的“开关”作用<sup>[9]</sup>,可以推测,脑缺血诱导的 MeCP2 磷酸化修饰及其介导的胞核-胞质转位在缺血性卒中后神经干细胞的分化调节中发挥至关重要的作用。

本研究使我们对脑缺血后神经干细胞分化可塑性调节机制有了新的认识,同时亦提示了表观遗传学调节方式在成年动物脑组织神经元再生过程中的潜在意义。为神经再生治疗神经退行性疾病和损伤性疾病提供新的理论依据和可能的临床治疗靶点。然而,MeCP2 对脑缺血后神经干细胞基因表达谱的调节机制,以及由神经干细胞分化而来的具有神经元属性的细胞能否与周围神经细胞建立更加广泛的突触联系,发挥神经替代功能,尚待进一步的深入探讨和研究。

#### 参 考 文 献

- [1] Song CY, Guo JF, Tang BS. Progresses on study of epigenetics in neurodegenerative disorders. *Zhongguo Xian Dai Shen Jing Ji Bing Za Zhi*, 2013, 13:555-560.[宋承远, 郭纪锋, 唐北沙. 表观遗传学在中枢神经系统退行性疾病中的研究进展. *中国现代神经疾病杂志*, 2013, 13:555-560.]
- [2] Schneider L, d'Adda di Fagnana F. Neural stem cells exposed to BrdU lose their global DNA methylation and undergo astrocytic differentiation. *Nucleic Acids Res*, 2012, 40:5332-5342.
- [3] Kohyama J, Kojima T, Takatsuka E, Yamashita T, Namiki J, Hsieh J, Gage FH, Namihira M, Okano H, Sawamoto K, Nakashima K. Epigenetic regulation of neural cell differentiation plasticity in the adult mammalian brain. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105:18012-18017.
- [4] Maunakea AK, Chepelev I, Cui K, Zhao K. Intragenic DNA methylation modulates alternative splicing by recruiting mecp2 to promote exon recognition. *Cell Res*, 2013. [Epub ahead of print]
- [5] Amir RE, Van den Veyver IB, Wan M, Tran CQ, Francke U, Zoghbi HY. Rett syndrome is caused by mutations in X-linked MECP2, encoding methyl-CpG-binding protein 2. *Nat Genet*, 1999, 23:185-188.
- [6] Tsujimura K, Abematsu M, Kohyama J, Namihira M, Nakashima K. Neuronal differentiation of neural precursor cells is promoted by the methyl-CpG-binding protein MeCP2. *Exp Neurol*, 2009, 219:104-111.
- [7] Buchthal B, Lau D, Weiss U, Weislogel JM, Bading H. Nuclear calcium signaling controls methyl-CpG-binding protein 2 (MeCP 2) phosphorylation on serine 421 following synaptic activity. *J Biol Chem*, 2012, 287:30967-30974.
- [8] Gonzales ML, Adams S, Dunaway KW, LaSalle JM. Phosphorylation of distinct sites in MeCP2 modifies cofactor associations and the dynamics of transcriptional regulation. *Mol Cell Biol*, 2012, 32:2894-2903.
- [9] Rutlin M, Nelson SB. MeCP2: phosphorylated locally, acting globally. *Neuron*, 2011, 72:3-5.
- [10] Coert BA, Anderson RE, Meyer FB. Reproducibility of cerebral cortical infarction in the Wistar rat after middle cerebral artery occlusion. *J Stroke Cerebrovasc Dis*, 1999, 8:380-387.
- [11] Wang YT, Zeng LL, Lü HY, Yuan FL, Xie BH, Cai BB, Tang YH, Guan YJ, Yang GY. Ten-year advance in the study on causes and pathologic mechanism of ischemic stroke. *Zhongguo Xian Dai Shen Jing Ji Bing Za Zhi*, 2010, 10:2-27.[王永亭, 曾丽莉, 吕海燕, 袁法磊, 谢博华, 蔡蓓蓓, 汤耀辉, 管永靖, 杨国源. 缺血性卒中病因学与发病机制研究的十年进展. *中国现代神经疾病杂志*, 2010, 10:2-27.]
- [12] Jung BP, Jugloff DG, Zhang G, Logan R, Brown S, Eubanks JH. The expression of methyl CpG binding factor MeCP 2 correlates with cellular differentiation in the developing rat brain and in cultured cells. *J Neurobiol*, 2003, 55:86-96.
- [13] Lewis CR, Staudinger K, Scheck L, Olive MF. The effects of maternal separation on adult methamphetamine self-administration, extinction, reinstatement, and MeCP2 immunoreactivity in the nucleus accumbens. *Front Psychiatry*, 2013, 4:55.
- [14] Shahbazian MD, Antalffy B, Armstrong DL, Zoghbi HY. Insight into Rett syndrome: MeCP2 levels display tissue- and cell-specific differences and correlate with neuronal maturation. *Hum Mol Genet*, 2002, 11:115-124.
- [15] Kishi N, Macklis JD. MeCP2 is progressively expressed in post-migratory neurons and is involved in neuronal maturation rather than cell fate decisions. *Mol Cell Neurosci*, 2004, 27:306-321.
- [16] Miyake K, Nagai K. Phosphorylation of methyl-CpG binding protein 2 (MeCP2) regulates the intracellular localization during neuronal cell differentiation. *Neurochem Int*, 2007, 50:264-270.
- [17] Damen D, Heumann R. MeCP2 phosphorylation in the brain: from transcription to behavior. *Biol Chem*, 2013. [Epub ahead of print]
- [18] Ebert DH, Gabel HW, Robinson ND, Kastan NR, Hu LS, Cohen S, Navarro AJ, Lyst MJ, Ekiert R, Bird AP, Greenberg ME. Activity-dependent phosphorylation of MeCP2 threonine 308 regulates interaction with NCoR. *Nature*, 2013, 499:341-345.
- [19] Zhou Z, Hong EJ, Cohen S, Zhao WN, Ho HY, Schmidt L, Chen WG, Lin Y, Savner E, Griffith EC, Hu L, Steen JA, Weitz CJ, Greenberg ME. Brain-specific phosphorylation of MeCP2 regulates activity-dependent Bdnf transcription, dendritic growth, and spine maturation. *Neuron*, 2006, 52:255-269.

(收稿日期:2013-10-17)

**【点评】** 体外研究发现,MeCP2 可以通过调控 DNA 甲基化而调节神经干细胞的自我更新和分化。该文通过体内研究探讨了 MeCP2 及其磷酸化蛋白 pMeCP2 在缺血脑组织中的表达特征,以及在缺血性卒中后基底节神经干细胞分化可塑性调节中的作用,为深入探讨神经再生修复提供了动物实验数据和新的思路。

(南京医科大学第一附属医院神经内科 丁新生教授)