

神经元 DNA 修复的研究进展

张晶 陈水莲 吴奕辉 邱谨 余克明 庄菁

【摘要】 各种因素引起的神经元 DNA 损伤不易修复,持续损伤堆积将诱导突变,从而影响基因组稳定性,损害线粒体功能甚至促进细胞死亡。神经元 DNA 损伤与多种疾病的病情发展联系紧密,因此神经元 DNA 的修复一直是神经研究领域的热点。该文对神经元 DNA 修复机制、相关疾病及促进 DNA 修复的因素进行了归纳,为将来科研及临床应用提供理论依据及研究方向。

【关键词】 神经元; DNA 修复; 退行性疾病; 视网膜疾病

Research progress on DNA repair in neurons Zhang Jing, Chen Shuilian, Wu Yihui, Qiu Jin, Yu Keming, Zhuang Jing. State Key Laboratory of Ophthalmology, Zhongshan Ophthalmic Center, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510030, China

Corresponding author, Zhuang Jing, E-mail: zhuangj@mail.sysu.edu.cn

【Abstract】 It is difficult to repair the DNA damage in neurons caused by a variety of factors. The persistent DNA damage will induce mutation, affect genomic instability, destroy mitochondrial function and even accelerate cellular death. DNA damage in neurons is intimately correlated with the progressions of multiple diseases. Consequently, the repair of DNA damage in neurons has been a hot topic in the field of neurology. In this article, the mechanism of DNA repair, DNA damage-induced diseases and the factors promoting DNA repair were summarized, aiming to provide theoretical basis and research direction for future studies and application in clinical practice.

【Key words】 Neuron; DNA repair; Neurodegenerative disease; Retinal disease

据统计,由于自主衰变、复制错误及细胞代谢等原因,哺乳动物的细胞每天会产生 10^5 个 DNA 损伤,其中因氧化应激损伤而导致 DNA 单链断裂占 10^4 ^[1]。虽然大部分细胞能进行自我修复,但在神经元中 DNA 损伤修复能力明显减弱,因此神经元 DNA 修复一直是神经领域的研究热点。过去,修复途径的研究主要集中在针对氧化应激损伤的碱基切除修复(BER),相关疾病主要研究神经性退行性疾病。近年来随着研究的不断深入,其他修复途径也受到了重视,遗传性疾病、视网膜等疾病与神经元 DNA 修复的关系密切,与神经元 DNA 修复相关因素不断被发现。鉴于神经元 DNA 修复具有重要的生物学意义和临床意义,本综述就修复机制、影响因素及相关疾病三个方面对神经元 DNA 修复的研究进展进行系统的分析和论述。

一、神经元 DNA 的修复机制

人体细胞在正常生理代谢和外界因素影响时,会产生 DNA 损伤如 DNA 碱基易构互变, DNA 单链断裂和 DNA 双链断裂。大部分细胞都具有自我修复功能,但 Gobbel 等(1998 年)这种修复能力在神经元中明显减弱。Ren 等(2007 年)研究发现,在氧化应激和饥饿处理下,脑神经元 DNA 电泳呈现梯形条带结果;视网膜神经元体外模型中,发现 DNA 修复效率降低^[2]。这些研究说明神经元对 DNA 损伤的修复能力弱。另外,Sharma 等(2007 年)研究发现一般细胞中参与 DNA 修复过程的蛋白质,在中枢神经系统中大部分处于沉默状态。这可能与神经元 DNA 修复能力下降有关。神经元 DNA 的损伤堆积会导致基因组的不稳定,细胞的死亡以及功能障碍,因此神经元 DNA 的修复一直是神经领域的重点研究对象。

神经元 DNA 的主要修复途径包括直接损伤修复 (DR)、核苷酸切除修复 (NER)、BER 和非同源末端连接 (NHEJ)。DR 通过 MGMT 直接识别损伤位点启动通路, 主要修复 O6-甲基鸟嘌呤导致的突变、致癌和细胞毒作用损伤; NER 由多种蛋白质参与, 通过识别、切除损伤部分, 合成新链进行修复, 主要针对紫外线辐射和活性氧等造成的 DNA 损伤, 如环丁烷嘧啶二聚体、6-4 光产物、DNA 交互连结等; BER 通过糖苷水解酶识别受损位点, 特异性切除 N- β -糖苷键形成 AP 位点, 再由多种酶的作用切除损伤片段合成新链^[3-4]。它主要修复神经元细胞 DNA 损伤中最常见的氧化应激损伤, 因此一直是神经元 DNA 修复领域里的研究重点; NHEJ 通过修复蛋白和 DNA 连接酶的作用将断裂末端重新接合, 是神经元 DNA 双链断裂的主要修复途径, 也是近年来神经元 DNA 修复研究的一大热点^[5]。另外, Wood 等 (1996 年) 研究发现 NER 与其他修复通路有协同作用, 因此修复通路间的关系对神经元 DNA 修复也有重要意义。

二、与神经元 DNA 修复相关的神经系统疾病

1. 神经退行性疾病

相对于其他细胞, 神经元的能量消耗和代谢水平都要更高, 产生的活性氧水平更高; 然而在神经元中, DNA 修复能力明显减弱, 因此神经元 DNA 容易受到氧化应激损伤^[6]。神经元 DNA 分为核 DNA 和线粒体 DNA, 由于线粒体是产生能量和活性氧的主要场所, 因此氧化应激损伤主要作用于线粒体 DNA, 引起线粒体功能障碍, 最终导致神经元死亡, 相关功能障碍^[7]。

在神经退行性疾病中, 神经元线粒体呼吸链产生活性氧水平升高是 DNA 损伤的主要原因。同时神经元中 DNA 单链断裂和 DNA 双链断裂损伤的修复能力降低, DNA 损伤不断堆积, 导致神经元的死亡或者凋亡, 最终引起神经系统功能障碍^[6]。近年来研究发现, 阿尔兹海默症 (AD)、帕金森综合征 (PD) 与神经元 DNA 的氧化性损伤关系密切。

AD 是一种由于脑功能缺损造成的记忆、思维和一般行为障碍的老年痴呆疾病; PD 是一种中枢神经系统功能紊乱疾病, 临床上表现为运动功能障碍和痴呆。研究表明, AD 和 PD 在 65 岁后高发, 呈年龄相关性; 而神经元的 DNA 修复功能随着年龄增长而降低, 因此 AD 和 PD 的发病可能与神经元修复力降低有关^[8]。研究发现, 长期氧化性损伤积累与 AD 和 PD 的发病有重要关系, 线粒体

DNA 受到氧化性损伤进而功能障碍, 诱导神经元细胞死亡, 出现神经功能障碍^[12]。因此研究神经元 DNA 的修复对 AD 和 PD 的病因和病情进展有重要意义。

2. 遗传性疾病

着色性干皮病 (XP) 是一种罕见的常染色体隐性遗传疾病, 临床特征是对阳光的敏感性以及紫外线照射后明显增高的皮肤癌风险^[9]。目前 XP 研究出有 8 种基因型, 分别是神经元 DNA 修复 NER 的核心成分 (XPA 型到 XPG 型) 和一种特异性 DNA 连接酶损伤 (XPV 型), 这些蛋白质的缺失导致 DNA 碱基突变损伤的堆积。值得注意的是, Kraemer 等 (2007 年) 发现几乎四分之一的 XP 患者会发展为神经性疾病, 包括头小畸形、小脑共济失调、感觉性耳聋等, 最后导致全脑萎缩。根据临床调查结果, XPA 发生突变的患者出现神经功能障碍表现, 而 XPB、XPD、XPF、XPG 亚型的基因突变位点的患者, 均表现出神经元 DNA 的 NER 修复能力下降, 这说明 XP 神经功能障碍与神经元 DNA 修复有重要关系^[10]。

亨廷顿氏病 (HD) 是一种常染色体显性遗传的进行性神经变性疾病, 临床表现为行为和精神障碍。Ross 等 (2009 年) 发现氧化应激损伤在 HD 的发病机制中起重要作用。神经元中, 线粒体是氧化物产生的主要场所, 对代谢和氧化损伤起重要作用。神经元线粒体 DNA 的损伤会造成线粒体功能障碍, 诱导神经元细胞凋亡。Gil 等 (2008 年) 研究发现, 在 HT 鼠脑组织中, 神经元凋亡水平与病情程度呈正相关, 而 HD 患者和动物模型中, 也发现行为精神障碍表现与神经元线粒体功能障碍有关。因此, 提高神经元线粒体 DNA 修复能力, 减少神经元凋亡, 能改善 HD 神经功能障碍症状。

共济失调毛细血管扩张症 (AT) 是一种罕见的常染色体隐性遗传病, 临床主要表现为小脑性共济失调症状如出现舞蹈性动作、手足徐动, 发病机制与共济失调毛细血管扩张突变激酶 (ATM) 的突变有关^[11]。ATM 是一种 DNA 损伤应答酶, 通过 DNA 的 NHEJ 修复途径参与 DNA 双链断裂修复, 因此 ATM 的缺损会降低神经元 DNA 修复能力, 造成基因组的不稳性; 同时 ATM 缺失也与神经元线粒体代谢有关, 包括产生更高水平的活性氧, 电子传递链活性降低, 这说明在 AT 患者中, 神经元处于氧化物水平更高的环境中, 同时线粒体

能量产生水平下降, DNA 易受氧化性损伤^[12-13]。在 AT 患者中, 神经元线粒体的 DNA 修复能力下降, 氧化应激损伤水平升高, 最终导致线粒体功能障碍诱导神经元细胞死亡, 相关神经功能障碍。

3. 急性神经损伤

脑卒中是一种急性神经功能损伤疾病, 它会导致严重的脑功能障碍以及神经元死亡。研究表明, 缺血性脑卒中时, 缺血导致的缺氧以及再灌注产生的活性氧损伤与神经功能障碍关系密切^[14]。缺血性脑卒中动物实验中, 缺血以及再灌注条件下的神经元 DNA, BER 相关蛋白质表达升高, 修复水平升高; 增强神经元 DNA 的 BER 水平时, 对氧化性损伤的耐受程度升高; Li 等 (2007 年) 发现降低神经元 DNA 的 BER 效率时, 则会造成脑功能障碍。这说明缺血性脑卒中的氧化性损伤与神经元 DNA 修复能力缺损有关, 氧化性损伤造成的神经元死亡, 导致神经系统功能障碍出现相关临床症状。因此研究神经元 DNA 氧化性损伤机制对缺血性脑卒中的预防和治疗有重要意义。

4. 视网膜疾病

由于神经元是不再分裂的终末分化型细胞, 因此视网膜神经元 DNA 损伤的堆积可能会造成视功能障碍。年龄相关性黄斑病变 (AMD)、糖尿病视网膜病变 (DR)、青光眼等眼科疾病都与视网膜损伤有关, DNA 损伤会引起视网膜细胞死亡或凋亡进而引起视网膜功能障碍, 最终引起视功能障碍。因此研究神经元 DNA 的修复对视网膜损伤的预防和治疗有重要意义。

AMD 是一种导致中心视力缺损和失明的主要疾病, 据统计, 在所有疾病导致的失明中, AMD 占 8.7%, 到 2020 年, 全球将有 1 亿 9 600 万 AMD 患者^[15]。研究表明, AMD 患者的神经元中表现更高水平的氧化性 DNA 损伤, 对过氧化氢和紫外辐射敏感性升高, 和对照组相比, 神经元对于这些刺激因素造成的 DNA 修复能力水平下降^[16]。这说明在 AMD 发病机制中, 神经元 DNA 损伤的修复起重要作用。

DR 是成人后天失明的主要原因, Bearse 等 (2004 年) 研究发现, DR 不但会造成视网膜血管病变, 也会造成神经损伤。Kowluru 等 (2001 年) 发现在 DR 患者中, 氧化应激水平增高而抗氧化防御系统相关酶含量降低, 而 Caldwell 等 (2008 年) 发现视网膜中有大量氧耗和氧化葡萄糖水平的不饱和脂肪酸, 对氧化性损伤相对其他部位更加敏

感。因此 DR 患者视网膜受到的氧化性损伤与病情发展关系密切。研究神经元 DNA 的氧化应激修复, 减少视网膜损伤对糖尿病视网膜病情控制有重要意义。

三、神经元 DNA 修复的促进因素

1. BRCA1 与神经元 DNA 修复

许多 DNA 修复因子在中枢系统被沉默, 这与神经元 DNA 修复能力降低有一定关系。BRCA1 是一种肿瘤抑制基因, 与乳腺癌的发生密切相关。近年来研究发现, BRCA1 在神经元 DNA 修复中起着重要作用: BRCA1 通过与 ku80 RAD50-MRE11-NBS1 复合物结合, 参与神经元 NHEJ 的修复途径, 在敲除神经元 BRCA1 的小鼠模型中, DNA 双链断裂水平升高; 另外, 研究发现 BRCA1 表达水平随着年龄下降, 在 1 个月鼠模型中, BRCA1 的表达被沉默^[16-18]。因此, BRCA1 的表达能促进神经元 DNA 双链断裂的修复, 神经元中 BRCA1 表达呈年龄相关性降低, 表达被沉默, 很多研究认为这与 AD 和 PD 的病情有关^[19-21]。

2. Ku80 与神经元 DNA 修复

Ku80 是一种由 XRCC5 编码的蛋白质, 与 DNA 双链损伤末端结合, 募集其他蛋白质参与 DNA 的 NHEJ 修复^[22]。Oka 等 (2000 年) 研究发现, 随着神经系统发育成熟, 神经元中的 ku80 水平不断降低; 应激条件下的神经胶质细胞中 ku80 水平会升高, 成熟神经元中则不出现。Gu 等 (2000 年) 研究表明 ku80 对 H2O2 损伤的视网膜神经元 DNA 有保护作用; 而灭活 ku80 的小鼠则表现出异常神经元凋亡。这说明 ku80 对神经元 DNA 双链断裂有促进作用, 神经元中 ku80 被沉默会影响 DNA 双链断裂修复。除了 BRCA1 和 ku80, 还有很多因子与神经元 DNA 修复有关, 研究这些促进因子可以为药物设计提供一个可能的靶点, 促进神经元 DNA 的修复减少神经元凋亡, 达到保护神经功能的作用。

3. 锂与神经元 DNA 修复

近年来, 研究发现锂对视网膜缺血细胞有保护作用^[2]。在体外缺血模型中, 锂预处理组的视网膜细胞生存水平从第 1 日开始就比对照组高。进一步研究发现, 在缺血条件下, 机体激活非同源性末端结合通路进行 DNA 修复, 而在视网膜中, 锂通过上调 DNA 连接酶 IV 促进这一修复通路并减轻视网膜的损害^[23]。因此, 锂能够促进缺血条件下的神经元细胞 DNA 的稳定性以及提高视网膜神

神经元细胞的活性。这一发现对缺血性视网膜疾病的治疗具有重要的意义。

4. 睡眠与神经元 DNA 修复

睡眠占据了我们人生的三分之一,除了能恢复体力,加速清除脑脊液中的代谢废物,最新研究表明睡眠与神经元的 DNA 双链断裂水平有关^[24]。实验显示,在睡眠受影响的果蝇组中,大脑中 DNA 双链断裂水平升高;而经过 γ 射线照射处理的果蝇组中,睡眠组的 DNA 修复水平升高;同样,在小鼠模型中,睡眠受影响的大脑皮层中 DNA 双链断裂水平升高;在 DNA 双链断裂损伤预处理小鼠组中,睡眠受影响的对照组 DNA 双链断裂修复效率降低^[25]。因此,睡眠对于神经元 DNA 的修复具有促进作用,睡眠质量可能会影响神经性疾病的病情发展。

四、结 语

细胞 DNA 时刻处于各种损伤因素中,虽然大部分细胞具有自我修复功能,但神经元细胞 DNA 修复能力明显减弱,容易发生 DNA 损伤引发神经元凋亡,影响神经功能。在神经元细胞 DNA 修复途径中,BER 针对最容易受到的氧化应激损伤,而非同源末端连接途径则是 DNA 双链断裂的主要修复方式,因此一直是神经元 DNA 修复的研究热点。神经元 DNA 的修复能力与多种神经功能障碍病变有关,近年来不断发现与神经元 DNA 修复关系密切的其他疾病,因此研究神经元 DNA 修复机制与促进因素,为多种疾病的临床治疗和健康教育提出了新的研究方向。本综述从修复机制、相关疾病和促进因素论述了神经元 DNA 的修复,旨在为将来临床应用提供理论指导。

参 考 文 献

- [1] Hoeijmakers JH. DNA damage, aging, and cancer. *N Engl Med*, 2009, 361 (15): 1475-1485.
- [2] Zhuang J, Li F, Liu X, Liu Z, Lin J, Ge Y, Kaminski JM, Summers JB, Wang Z, Ge J, Yu K. Lithium chloride protects retinal neurocytes from nutrient deprivation by promoting DNA non-homologous end-joining. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009, 380 (3): 650-654.
- [3] Iyama T, Wilson DM 3rd. DNA repair mechanisms in dividing and non-dividing cells. *DNA Repair (Amst)*, 2013, 12 (8): 620-636.
- [4] Jeppesen DK, Bohr VA, Stevnsner T. DNA repair deficiency in neurodegeneration. *Prog Neurobiol*, 2011, 94 (2): 166-200.
- [5] Narciso L, Parlanti E, Racaniello M, Simonelli V, Cardinale A, Merlo D, Dogliotti E. The response to oxidative DNA damage in neurons: mechanisms and disease. *Neural Plast*, 2016, 2016 : 3619274.
- [6] Chen CM. Mitochondrial dysfunction, metabolic deficits, and increased oxidative stress in Huntington's disease. *Chang Gung Med J*, 2011, 34 (2): 135-152.
- [7] Canugovi C, Misiak M, Ferrarelli LK, Croteau DL, Bohr VA. The role of DNA repair in brain related disease pathology. *DNA repair (Amst)*, 2013, 12 (8): 578-587.
- [8] Barzilai A, Biton S, Shiloh Y. The role of the DNA damage response in neuronal development, organization and maintenance. *DNA Repair (Amst)*, 2008, 7 (7): 1010-1027.
- [9] DiGiovanna JJ, Kraemer KH. Shining a light on xeroderma pigmentosum. *J Invest Dermatol*, 2012, 132 (3 Pt 2): 785-796.
- [10] Bradford PT, Goldstein AM, Tamura D, Khan SG, Ueda T, Boyle J, Oh KS, Imoto K, Inui H, Moriwaki S, Emmert S, Pike KM, Raziuddin A, Plona TM, DiGiovanna JJ, Tucker MA, Kraemer KH. Cancer and neurologic degeneration in xeroderma pigmentosum: long term follow-up characterises the role of DNA repair. *J Med Genet*, 2011, 48 (3): 168-176.
- [11] Rahal EA, Henricksen LA, Li Y, Williams RS, Taineir JA, Dixon K. ATM regulates Mre11-dependent DNA end-degradation and microhomology-mediated end joining. *Cell Cycle*, 2010, 9 (14): 2866-2877.
- [12] Chen CC, Kass EM, Yen WF, Ludwig T, Moynahan ME, Chaudhuri J, Jasin M. ATM loss leads to synthetic lethality in BRCA1 BRCT mutant mice associated with exacerbated defects in homology-directed repair. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2017, 114 (29): 7665-7670.
- [13] D'Souza AD, Parish IA, Krause DS, Kaech SM, Shadel GS. Reducing mitochondrial ROS improves disease-related pathology in a mouse model of ataxia-telangiectasia. *Mol Ther*, 2013, 21 (1): 42-48.
- [14] Brait VH, Arumugam TV, Drummond GR, Sobey CG. Importance of T lymphocytes in brain injury, immunodeficiency, and recovery after cerebral ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2012, 32 (4): 598-611.
- [15] Wong WL, Su X, Li X, Cheung CM, Klein R, Cheng CY, Wong TY. Global prevalence of age-related macular degeneration and disease burden projection for 2020 and 2040 : a systematic review and meta-analysis. *Lancet Glob Health*, 2014, 2 (2): e106-e116.
- [16] Blasiak J, Glowacki S, Kauppinen A, Kaarniranta K. Mitochondrial and nuclear DNA damage and repair in age-related macular degeneration. *Int J Mol Sci*, 2013, 14 (2): 2996-3010.
- [17] Jiang G, Plo I, Wang T, Rahman M, Cho JH, Yang E, Lopez BS, Xia F. BRCA1-Ku80 protein interaction enhances end-joining fidelity of chromosomal double-strand breaks in the G1 phase of the cell cycle. *J Biol Chem*, 2013, 288 (13): 8966-8976.
- [18] Suberbielle E, Djukic B, Evans M, Kim DH, Taneja P, Wang X, Finucane M, Knox J, Ho K, Devidze N, Masliah E, Mucke L. DNA repair factor BRCA1 depletion occurs in Alzheimer

- brains and impairs cognitive function in mice. *Nat Commun*, 2015, 6 : 8897.
- [19] Chen P, Hu H, Chen Z, Cai X, Zhang Z, Yang Y, Yu N, Zhang J, Xia L, Ge J, Yu K, Zhuang J. BRCA1 silencing is associated with failure of DNA repairing in retinal neurocytes. *PLoS One*, 2014, 9 (6): e99371.
- [20] Nakanishi A, Minami A, Kitagishi Y, Ogura Y, Matsuda S. BRCA1 and p53 tumor suppressor molecules in Alzheimer's disease. *Int J Mol Sci*, 2015, 16 (2): 2879-2892.
- [21] Ogino M, Ichimura M, Nakano N, Minami A, Kitagishi Y, Matsuda S. Roles of PTEN with DNA Repair in Parkinson's Disease. *Int J Mol Sci*, 2016, 17 (6). pii: E954.
- [22] Herholz K, Ebmeier K. Clinical amyloid imaging in Alzheimer's disease. *Lancet Neurol*, 2011, 10 (7): 667-670.
- [23] Yang Y, Wu N, Tian S, Li F, Hu H, Chen P, Cai X, Xu L, Zhang J, Chen Z, Ge J, Yu K, Zhuang J. Lithium promotes DNA stability and survival of ischemic retinal neurocytes by upregulating DNA ligase IV. *Cell Death Dis*, 2016, 7 (11): e2473.
- [24] Xie L, Kang H, Xu Q, Chen MJ, Liao Y, Thiyagarajan M, O'Donnell J, Christensen DJ, Nicholson C, Iliff JJ, Takano T, Deane R, Nedergaard M. Sleep drives metabolite clearance from the adult brain. *Science*, 2013, 342 (6156): 373-377.
- [25] Bellesi M, Bushey D, Chini M, Tononi G, Cirelli C. Contribution of sleep to the repair of neuronal DNA double-strand breaks: evidence from flies and mice. *Sci Rep*, 2016, 6 : 36804.
- (收稿日期: 2018-12-18)
(本文编辑: 杨江瑜)

