

特约综述



本实验室的研究方向主要集中在细胞周期和细胞核结构、动态变化与功能研究。研究内容包括:以体外培养细胞、非洲爪蟾卵非细胞体系、线虫、果蝇、小鼠等为实验模式材料,以细胞生物学、生物化学、分子生物学以及遗传学等方法,以Ran GTP酶、CDK激酶、Aurora激酶、PLK激酶、PP1和PP2磷酸酶等为切入点,深入探讨纺锤体组装与细胞分裂、中心体循环、核膜与核孔复合体装配、Ran GTPase调控下的核质物质运输、细胞周期调控及肿瘤细胞发生等机理,以期揭示细胞增殖与分化之间的内在联系。

<http://www.bio.pku.edu.cn/teachinfo/Biographical/zhangcm.htm>

核膜结构动态变化及核膜相关病征

古 欣 祁 燃 张传茂*

(北京大学生命科学学院, 北京 100871)

摘要 真核生物的细胞核膜主要由外层核膜、核孔复合体、内层核膜及其下面的核纤层组成。越来越多的证据表明,细胞核膜结构的变化与核膜相关疾病的发生发展有着极为密切的关系。已鉴定出的核膜病征多与核膜蛋白突变或缺失有关,目前导致疾病种类最多且突变研究相对最全面的是核纤层蛋白lamin A,即核纤层的骨架组分之一。核膜相关疾病的几种主要类型是:以多器官加速衰老为症状的人类早老综合征(Hutchinson-Gilford progeria syndrome, HGPS),导致全身性严重衰老的限制性皮肤病(restrictive dermopathy, RD),具有肌肉组织特异性的肌肉营养不良症(Emery-Dreifuss muscular dystrophy, EDMD)、扩张性心肌病(dilated cardiomyopathy, DCM),具有脂肪组织特异性的家族性脂营养不良症(dunnigan familial partial lipodystrophy, FPLD),同时具有骨组织与脂肪组织特异性的下颌骨端发育不良脂肪代谢异常症(mandibuloacral dysplasia, MAD)。这些疾病已逐渐引起人们的广泛关注。该文主要总结核膜结构变化并简述核膜相关病征的症状与分子机制。

关键词 核膜; 核膜动态变化; 核膜相关疾病

The Nuclear Envelope Dynamics and the Nuclear Envelopathies

Gu Xin, Qi Ran, Zhang Chuanmao*

(College of Life Sciences, Peking University, Beijing 100871, China)

Abstract The nuclear envelope (NE) is composed of outer and inner nuclear membranes, nuclear pore complexes (NPC) and lamina underneath. The NE is dynamic during the cell cycle with disassembly in early

国家重点基础研究发展计划(973)项目(批准号: 2010CB833705)资助的课题

*通讯作者: Tel: 010-62757173, E-mail: zhangcm@pku.edu.cn

This work was supported by the State Key Development Program for Basic Research of China (Grant No.2010CB833705)

*Corresponding author. Tel: +86-10-62757173, E-mail: zhangcm@pku.edu.cn

网络出版时间: 2013-04-22 15:09

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20130422.1509.007.html>

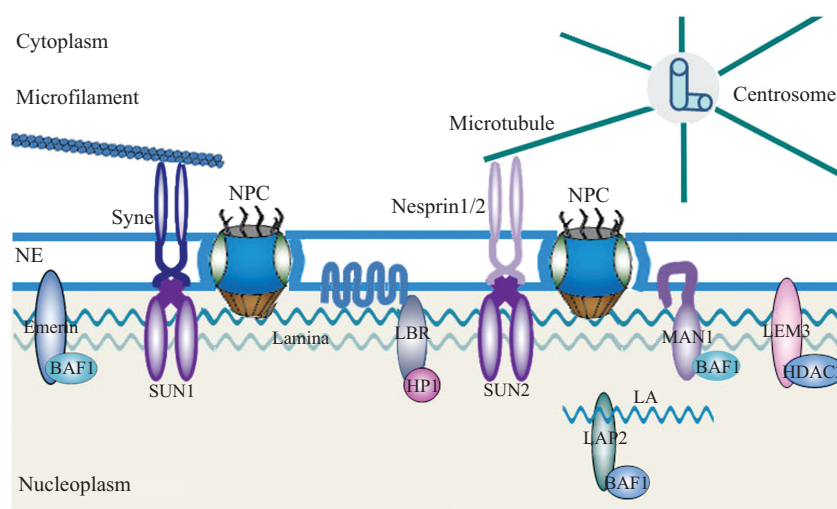
mitosis and reassembly at the end of mitosis. Increasing evidences indicate that the dynamics of the NE is related to many diseases or syndromes, called the nuclear envelopathies, which are mainly resulted from mutations or deletion of the genes encoding lamins and lamin-associated proteins. A type lamins, the significant components of the nuclear lamina, have been recognized to be closely related to the nuclear envelopathies. The main types of the nuclear envelopathies include: Hutchinson-Gilford progeria syndrome (HGPS), restrictive dermopathy (RD), Emery-Dreifuss muscular dystrophy (EDMD), dilated cardiomyopathy (DCM), dunnigan familial partial lipodystrophy (FPLD), mandibuloacral dysplasia (MAD), etc. Here we mainly introduce the NE dynamics and summarize the recent research progress of the nuclear envelopathies.

Key words nuclear envelope; nuclear membrane dynamics; nuclear envelopathies

在高等真核生物中, 细胞核膜(nuclear envelope)不仅维持着细胞核的完整性以及基因组的稳定性, 同时还使得基因的复制、转录和翻译分布在不同的区域中。广义的细胞核膜主要由外层核膜(outer nuclear membrane)、内层核膜(inner nuclear membrane)、核孔复合体(nuclear pore complex)、核纤层(nuclear lamina)等部分组成。外层核膜与内质网相连, 上面锚定着核糖体, 因此也被看作内质网的一部分。在内外层核膜融合的区域镶嵌着超过60种蛋白组成的孔状复合体, 它们是联系细胞核和细胞质信息和物质的重要通道, 但只允许一定大小的分子通过, 因此称之为选择性通道。位于内层核膜下方的是一层类似网状的结构, 称之为核纤层, 核纤层

蛋白(lamin)主要由A型核纤层蛋白和B型核纤层蛋白组成^[1]。它们和细胞质的中间纤维蛋白类似, 通过头尾聚合形成稳定的核骨架^[2], 在维持细胞核膜形态以及核孔复合体定位方面起着重要的作用。内层核膜上面含有大量的跨膜蛋白如lamin B受体(lamin B receptor, LBR)、Emerin、Lap2、SUN1、Man1等, 这些内层核膜蛋白可以与核纤层蛋白结合, 也可以直接结合染色质或DNA, 以调控染色质的组装、DNA复制和基因的转录等过程^[3]。核膜的基本结构图示如图1。

核膜相关病征主要是由于内层核膜蛋白及其结合蛋白发生突变而引起的一系列遗传性病征。90%的核膜相关病征与LMNA基因突变或



高等动物细胞的核膜主要包括内外双层核膜(NE)、核孔复合体(NPC)和内层核膜下的核纤层(lamina)等结构。在内层核膜上分布有多种特异定位的内层核膜蛋白如LBR、MAN1、Emerin、SUN1/2等。这些蛋白与核纤层蛋白(lamin)和其下面的染色质相联系并表现出其特殊功能。The nuclear envelope consists of a double-layered nuclear membrane, the nuclear pore complexes and the lamina underneath. The inner nuclear membrane, containing many transmembrane proteins such as LBR, MAN1, Emerin and SUN1/2, plays significant roles in the nuclear structure integrity and chromatin organization by binding to the lamina and chromatin directly.

图1 真核细胞核膜结构

Fig.1 The nuclear envelope and main components

Lamin A结合蛋白基因突变有关, 因此也可简称为 laminopathies(核纤层蛋白相关病征)^[4-6]。Lamin A作为核纤层蛋白的重要组成部分之一, 在维持细胞核形态和结构的完整性方面起着重要作用。因此, 本文主要从核膜结构变化为切入点, 以期分析和探索核膜相关病征的发生发展机理。

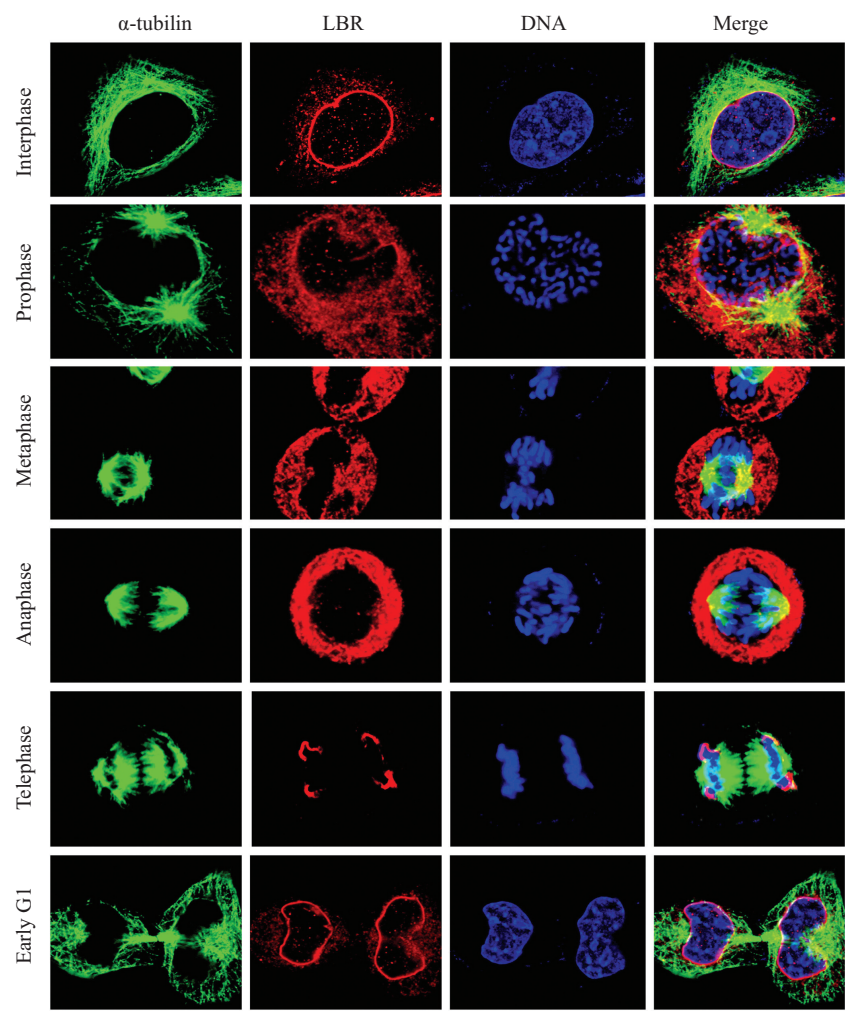
1 内层核膜蛋白

内层核膜蛋白是指含有跨膜结构域并定位于内层核膜的一系列蛋白, 可以根据它们在有丝分裂后期首先定位于染色质外周区域的位置不同分为两类, 即核心区域定位的内层核膜蛋白与非核心区域定位的内层核膜蛋白; 前者定位于紧邻微管与染色质的区域, 而后者则首先定位于染色体两端。核心区域定位的内层核膜蛋白包括Emerin、Sun2、LAP2、Man1等。它们含有一个共同的LEM结构域, 可以介导和BAF1蛋白结合, 参与核膜组装^[7]和核纤层装配。Emerin是一个单次跨膜蛋白, lamin A或BAF1蛋白的缺失或突变都会影响其正常定位^[7]。有研究表明, Emerin可以调控 β -Catenin的定位, 提示其参与WNT信号通路的信息传递^[8]。最近的研究表明, 部分Emerin也定位在外层核膜, 可以直接和微管结合, 调控中心体与细胞核之间的距离^[9]。同时有报道发现, Emerin在核内可以直接和核内的actin结合, 调控染色质的定位与装配^[10]。在肌肉细胞中Emerin调控与肌肉发育相关基因的表达^[11], 提示Emerin在肌肉发育中有着重要作用。Man1是一个2次跨膜蛋白。和Emerin一样, Man1可以与BAF1结合, 同时也可以与Smad蛋白结合, 调控TGF- β 信号通路^[12]。在线虫中, MAN1和Emerin缺失可以引起染色体分离的异常^[13]。LAP2家族包含六个成员, 和其他成员不同的是, LAP2 α 不含跨膜结构域, 主要定位在细胞核内, 可以与BAF1和Lamin A结合, 调控Rb的磷酸化及降解^[14]。其他含LEM结构域的成员均含有一个跨膜结构域。过表达LAP2 β 可以引起内质网堆积产生类似核膜的结构, LAP2 β 也可与HDAC3结合调控相关基因的表达^[15-16]。非核心区域定位的内层核膜蛋白主要包括LBR、SUN1以及部分跨膜的核孔蛋白如POM121、GP210等。LBR(lamin B受体)是一个含有8次跨膜的蛋白, 顾名思义, LBR可以和lamin B结合。LBR的N-端定位在核内, 具有固醇还原酶活性, 可以直接和染色质以及HP1结合, 调控染色质定位^[17]。

LBR的缺失或突变也会引起人类疾病^[18]。SUN1是含有两个跨膜结构域的蛋白, 在内外层核膜腔里可以与KASH结构域蛋白形成异源六聚体, 参与细胞质-细胞核机械信号转导过程^[19]。有研究表明, SUN1与核孔复合体部分共定位, 参与核孔复合体装配^[20]。Pom121和GP210等核孔复合体蛋白主要参与核孔复合体组和核膜内外的物质运输。同时也有研究表明, 核孔复合体蛋白还与基因的表达与细胞的分化有关^[21]。这些内层核膜蛋白在有丝分裂后期的不同区域定位提示, 它们可能以不同的调控机制参与核膜的装配。

2 核纤层与核纤层蛋白

在高等动物细胞中, 内层核膜下面有一层网状的结构, 人们称之为核纤层。以前的研究认为核纤层的主要功能是稳定核膜结构^[22-23], 而最近的研究表明, 核纤层与异染色质组装、基因的转录以及DNA复制等有着重大关系^[24]。核纤层主要由两类蛋白组成: B型核纤层蛋白和A型核纤层蛋白。B型核纤层蛋白主要包括lamin B1和lamin B2, 它们是不同的基因表达的产物, 而且在所有的细胞中均表达^[25]。过去普遍认为lamin B1和lamin B2对于细胞的存活是必需的。最近的研究表明, 敲除掉LMNB1和LMNB2的干细胞依然能够正常增殖, 只是在后期的发育过程中神经系统发育异常, 导致小鼠不能存活^[26-27]。A型核纤层蛋白主要包括lamin A和lamin C, 它们是同一个基因的不同剪切产物, lamin A和lamin C只在分化细胞中表达, 因此也经常被称为细胞分化的标志。lamin A和lamin B型核纤层蛋白在其分子的末尾均含有一个CAAX结构域^[28], 因此会发生一系列的翻译后修饰。lamin A的修饰过程如图2所示。而B型核纤层蛋白修饰后含有一个法尼基化的长脂肪链, 因此B型核纤层蛋白具有持久的膜结合能力。核纤层主要通过核纤层蛋白自身二聚化再通过同源或异源的头尾相互聚合形成多聚体, 进而形成核纤层。近来的研究表明, 除了核纤层蛋白构成核纤层, 细胞核内也存在部分核纤层蛋白, 通过荧光淬灭恢复实验表明, 核内的核纤层蛋白流动性比核膜上的快, 说明核内的核纤层蛋白可能以不同的形式参与细胞功能^[29]。有研究表明, 缺失了B型核纤层蛋白后, 细胞核仁结构和形态发生变化, 转录rDNA的功能丧失^[30]。还有证据表明, lamin A与部分转录因子共定位, 参与基因的转录等, 具体的作用机制还有待进一步研究^[31]。



图中 α -tubulin显示微管, LBR显示核膜, 蓝色为DAPI染色显示DNA。本图主要显示细胞分裂间期(interphase)、前期(prophase)、中期(metaphase)、后期(anaphase)、末期(telephase)以及早G₁期(early G₁)中核膜的状态。
The dynamic changes and localizations of the chromatin/chromosomes, the nuclear membrane and the microtubule skeleton during a cell cycle are presented. Microtubules and LBR were labeled by immunofluorescence staining using anti α -tubulin (green) and LBR (red) antibodies. The chromatin/chromosomes were count-stained by DAPI for DNA.

图2 在细胞分裂过程的核膜动态变化
Fig.2 The nuclear envelope dynamics during the cell cycle

3 核膜动态变化

高等真核细胞的核膜在细胞增殖的过程中发生去组装和组装的周期性动态变化^[32], 其具体过程如图2所示。

细胞完成遗传物质的复制后, 经过G₂期的准备, 开始进入M期, 核膜结构逐步消失。研究观察表明, 核膜崩解过程中首先发生核孔复合体的解聚, 然后是核纤层的解聚, 进而核膜完全崩解, 形成核膜前体膜泡, 或融入到内质网中。在这个过程中很多激酶发挥功能, 如CDK1激酶^[33]、Aurora 激酶、PLK激酶等^[34], 协同磷酸化核孔复合体蛋白, 促进核孔蛋白

的解聚, 从而使得细胞质和细胞核之间的物质可以相对自由地穿梭^[35], 进而促进核纤层解聚与染色质凝集。但核膜是如何崩解的, 目前依然不是很清楚。虽然有研究表明, 由纺锤体微管产生的拉力撕破了核膜^[36], 但仍需进一步的证据。随着纺锤体将复制的遗传物质分开, 核膜开始装配。核膜装配主要分为膜泡的募集、膜泡的融合、核孔复合体装配以及核纤层装配等几个过程。核膜的装配主要有两种假说: 第一种假说认为, 在有丝分裂的后期发生大量的膜泡融合(这主要基于非细胞体系), 在提取的爪蟾卵提取物中加入去膜精子, 可以直接诱导核膜装配。

在这个过程中, 染色质附近高浓度的Ran GTPase主要通过水解GTP诱导膜泡的融合^[37-38]。P97及其接头蛋白p47和Ufd1/Npl4等介导内质网、高尔基体膜融合的蛋白也参与了核膜的装配过程^[39]。另外一种假说是内质网延伸假说。细胞内核膜的组装主要起始于分开后的染色质的两端, 首先是核膜蛋白及核孔复合体蛋白募集到染色质外周。研究认为是管状的内质网通过融合形成片状的内质网, 然后覆盖在染色质表面, 核孔复合体在内质网上装配, 核纤层蛋白通过核孔复合体运输到核内, 参与核纤层装配过程^[40]。这个过程也伴随着染色质的去凝集。我们课题组的研究发现, 在有丝分裂的后期, importin- β 会募集含有LBR的膜泡到染色质外周^[41-43], 在Ran的诱导下进行核膜装配^[44]。在核膜装配过程中, 膜泡的融合以及核孔复合体的装配是如何调控的, 还有待于进一步的研究。随着核膜装配的完成, 遗传物质又将开始新一轮的复制。在这个过程中, 主要发生核膜的增长以及间期核孔复合体的装配, 但具体的机制目前还不甚明了。

4 核膜相关病征

越来越多的证据表明, 核膜蛋白的缺失突变或异常表达会引起一系列人类疾病, 简称核膜相关病征, 通过体外培养的细胞免疫荧光和电镜观察, 可以发现在疾病细胞中, 核膜结构发生异常, 主要包括核纤层变厚、内外层核膜间隙变大、核膜结构不完整、核膜出现过多的褶皱、核孔复合体堆积或异常定位、核膜内侧异染色质的缺失等^[45]。这些证据表明, 核膜的结构变化与核膜相关病征的发生发展有着极为密切的关系。这些疾病主要分为全身性退行性疾病包括人类早老征(Hutchinson-Gilford progeria syndrome, HGPS)以及限制性皮肤病(restrictive dermopathy, RD)^[46-47]和部分器官退行性疾病, 包括脂肪组织特异性核膜病与肌肉组织特异性核膜病。

4.1 全身性退行性疾病

全身性退行性疾病主要包括人类早老征(Hutchinson-Gilford Progeria Syndrome, HGPS)以及限制性皮肤病(Restrictive Dermopathy, RD)。

人类早老征(HGPS)是一个典型的多器官加速

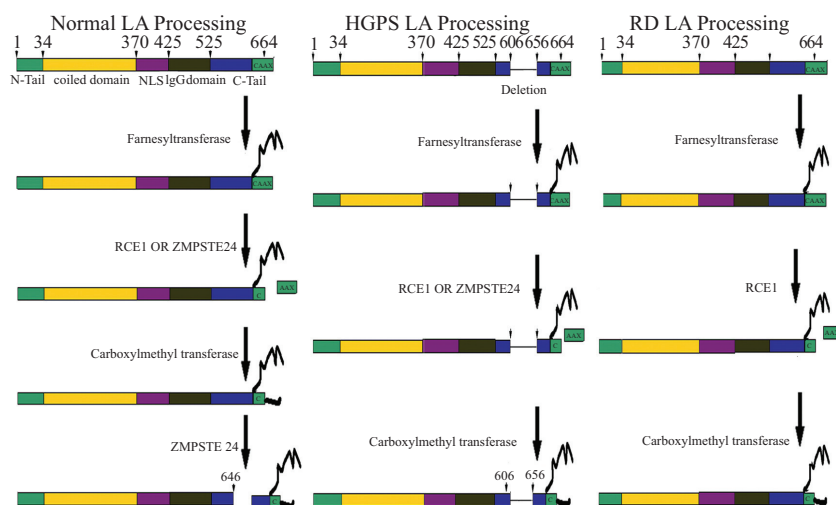
表1 核膜相关病征分类与简介
Table 1 Clarification and brief introduction of nuclear envelopathies

核膜相关疾病名称		相关突变	症状
The name of laminopathies		Related mutations	Symptoms
Generalized Progeria	Hutchinson-Gilford Progeria Syndrome (HGPS)	Approximately 90% patients are caused by the C-T mutation of the 608 codon of <i>LMNA</i>	Serious multi-organ progeria syndromes: alopecia, lack of subcutaneous fat, severe atherosclerosis, cardiovascular diseases
	Restrictive Dermopathy (RD)	Heterozygous and homozygous mutations in ZMWSTE24 lead to most cases of RD. Several patients are caused by the <i>LMNA</i> c.1968+1G>A	Growth retardation in uterus, rigid skin, lung function hypoplasia, lack of adipose tissue. The majority of patients are dead in 4 months after birth
Diseases specific for adipose tissue	Familial Partial Lipo-Dystrophy (FPLD)	75% cases are resulted from R482Q/L/W mutations in exon8 of LMNA while few cases in exon11, 1 or 3	Lack of subcutaneous fat and inhomogeneous distribution, insulin resistance diabetes, hypertriglyceridemia and atherosclerosis
	Mandibuloacral Dysplasia (MAD)	The R527 mutation of LaminA/C results in most cases of MAD. Several cases result from P248L, L94P and W350Termination codon mutations as well	Teeth defect, fat metabolism abnormalities, dermatrophy in hands and feet, palate hypoplasia, alopecia, insulin resistance diabetes and premature senility
Diseases specific for muscular tissue	Emery-Dreifuss Muscular Dystrophy (EDMD)	X-linked EDMD, the most common form, is caused by mutations of EMD; autosomal dominant EDMD is the most variable type; autosomal recessive is resulted from the H222Y mutation in LMNA	Slowly progressive muscle contraction obstacles and function loss, conduction disturbance of skeletal muscle and cardiac muscle, dysplastic cardiac muscle
	Dilated Cardiomyopathy (DCM)	DCM is mainly caused by N195K and H222P mutations in LMNA. More than 20 mutation types have been found in LMNA	Ventricular dilatation, impaired cardiac muscle contraction, cardiac arrhythmia, conduction disturbance of cardiac muscle

衰老的疾病, 主要是由于lamin A G608G突变造成的^[48]。和lamin B不同的是, lamin A要经历一系列翻译后修饰, 方能成为成熟的lamin A, 具体图示如图2。而lamin A的G608G突变, 使得法尼基化的lamin A无法进行最后一步剪切, 从而导致lamin A类似于lamin B, 永远具有膜结合的能力。在人类早老征患者的表皮细胞里, 细胞核的结构变得极为不规则, 会出现核膜的皱缩及泡状化。电镜观测发现核纤层增厚、核孔复合体聚集以及异染色质从核膜附近丢失等现象^[49-50], 同时会引起组蛋白修饰的变化。体外培养的人类早老细胞增殖能力有限、DNA修复能力下降、基因组不稳定^[51]。一些与A型lamin结合的内层核膜蛋白如Emerin、Man1等都弥散在内质网上^[52], 同时引起部分蛋白如RB的降解以及部分基因如*P21*的高度活化等。但这些现象是早老发生的原因还是早老发生的结果, 目前仍待证明。最近的研究发现, 另外一种早老征与BAF1突变有关, BAF1突变的表皮细胞核形态也发生了巨大的变化, 此表型和lamin A突

变有着高度的一致^[53]。BAF1本身也是lamin A结合蛋白, 这意味着BAF1的突变与lamin A的突变可能相关, 通过影响核膜蛋白如Emerin、Man1等的定位与功能、或影响基因组的稳定性, 导致了早老的发生。

限制性皮肤病(RD)是一类十分严重的常染色体隐性或显性遗传的核膜病^[54]。患有该病的婴儿刚出生时常伴有呼吸困难、皮肤紧皱、运动困难等症状, 几乎都会在四个月之内夭折^[55]。该病的起因有两种, 多数由于*ZMPSTE24*的纯合或杂合突变, 还有少数病例则是由于*LMNA*基因的显性突变。这两个蛋白的突变都能够导致细胞核的组装与形态异常。*ZMPSTE24*在lamin A转录后的修饰过程中起到剪切功能。该基因的突变与人类早老征类似, 产生既有法尼基化修饰又有羧基乙酰化修饰的异常剪切的lamin A^[56]。已经报道多于一半的患者都有*ZMPSTE24 c.1085_1086insT*的突变。对于限制性皮肤病比早老征严重得多这一现象, 即前者患者只有不到四个月的生命存活期而后者能够拥有平



在正常情况下, 转录后的lamin A (LA) mRNA首先翻译为lamin A前体Pre-lamin A, 然后经过法尼基转移酶(farnesyltransferase)催化修饰, 在第661位半胱氨酸的侧链上加一个长脂肪链; 随后, 在剪切酶RCE1或者ZMPSTE24的作用下, 切除掉AAX三个氨基酸; 然后, 在羧甲基转移酶(carboxylmethyl transferase)作用下, 在半胱氨酸上加一个甲基; 最后, 在剪切酶ZMPSTE 24的作用下, 切除掉剩余的15个氨基酸, 最终成为646个氨基酸的lamin A。在HGPS病人中, 由于缺失了606-656其中的50个氨基酸, 因此最后一步剪切无法发生, 形成的是永久性法尼基化的lamin A(Progerin)。而在RD病人中, 由于ZMPSTE 24的缺失或突变, 引起最后一步的剪切无法进行, 使Pre-lamin A剪切滞留。

Pre-lamin A undergoes post translation modifications after transcription from *LMNA* in normal cells. First, Pre-lamin A is farnesylated by the farnesyltransferase at 661 amino acid followed by deletion of its last three amino acids by RCE1 or ZMPSTE24; then, a methyl is added to the farnesylated lamin A at 661 amino acid by the carboxylmethyl transferase; and finally, the maturation of lamin A is achieved by the deletion of its last 15 amino acids catalyzed by the enzyme ZMPSTE24. In contrast, due to there is a deletion in Pre-lamin A from amino acid 606 to 656 in HGPS, the deletion of its last 50 amino acids cannot be carried out. While in RD patients, the Pre-lamin A cannot be correctly processed because that ZMPSTE24 is mutated or deleted.

图3 Lamin A正常剪切以及HGPS、RD中异常剪切的模式图

Fig.3 The splicing processes of lamin A in normal, HGPS and RD cells

均13年的生命存活时间,其具体原因还不明晰。单从ZMPSTE24的突变导致的限制性皮肤病来看,最近的报道称,该蛋白的作用底物可能不止lamin A前体蛋白一个,而其影响的其他蛋白也许能够从另一个方面加重症状并导致寿命的骤减。LMNA c.1968+1G>A的突变也能够导致该病。但有趣的是,这个位点不同的突变既可以导致90个氨基酸的缺失、引发限制性皮肤病,又能够导致50个氨基酸的缺失、引发人类早老征^[57]。这其中的机制仍有待阐明。

4.2 脂肪组织特异性核膜病

脂肪组织特异性的核膜病主要有家族性脂营养不良症(Familial Partial Lipo-Dystrophy, FPLD)^[58]和下颌骨端发育不良脂肪代谢异常症(Mandibuloacral Dysplasia, MAD)^[59]等。

家族性脂营养不良症(FPLD)是一种罕见的常染色体显性疾病,以躯干与四肢不同程度的脂肪缺乏以及颈部面部脂肪堆积过多为典型特征。该病是由于lamin A/C的错义突变导致的。3/4的患者有lamin A/C R482Q/L/W(8号外显子)的突变^[60-61]。还有一些患者在11号外显子上有突变,但症状没有8号外显子的突变严重。极少数的家族性脂营养不良症患者有心肌病的症状,即充血性心力衰竭、心率不齐、心传导阻滞以及心房纤维性颤动,是由1号或3号外显子的突变导致的。8号与11号外显子处于C端尾部免疫球蛋白样的亚区,其个别位点的突变并不影响lamin A/C的三维结构,但该区域可能负责与特定蛋白或受体结合,故其突变可能导致lamin A/C与这些蛋白或受体的不结合,进而导致核膜结构的异常、核的脆弱以及染色质与核纤层的分离。与其他由lamin A/C突变导致疾病的机理相比,其他疾病的突变位点大多影响lamin A/C的三维结构,导致其较大的构象紊乱,从而影响多聚化或与其他核膜蛋白的结合。而家族性脂营养不良症是有脂肪细胞特异性的,其突变位点所处的位置很可能与处于内层核膜上的脂肪细胞特异性的伴侣蛋白(如Myne-1)相互作用,但错义突变改变了这一作用,导致脂肪细胞在体内的分配紊乱。

下颌骨端发育不良脂肪代谢异常症(MAD)是一个比较少见的常染色体隐性遗传病,其临床病理特征主要是出现颞骨和锁骨骨质疏松、关节异常以及脂肪代谢异常,此类病人会出现脂肪的异常堆

积和缺失^[62]。此类疾病主要是由于lamin A/C的527精氨酸突变为组氨酸(R527H)^[63]造成的。最近研究表明,此疾病也可以由ZMPSTE24错义突变造成的(P248L, L94P和W450终止密码子)^[64]。同样有证据表明,这些错义突变一定程度上引起ZMPSTE24的构象发生变化,造成功能性缺失,引发此病^[65]。说明ZMPSTE24突变极有可能引起lamin A的翻译后修饰加工出现问题,研究结果也证实此推论,发现ZMPSTE24突变会引起前体lamin A的堆积,从而引起核膜形态结构的异常以及细胞增殖能力的下降。但此疾病又不同于早老综合征,它只在骨组织与脂肪组织中发生异常,但具体的发病机制仍有待于进一步揭示。

4.3 肌肉组织特异性核膜病

肌肉组织特异性的核膜病主要有肌营养不良症(Emery-Dreifuss Muscular Dystrophy, EDMD)^[66]以及扩张性心肌病(Dilated Cardiomyopathy, DCM)。

肌营养不良症是一类只影响横纹肌,以肘、颈、脚跟的关节挛缩,肩膀、上肢、腓肌的进行性功能减退以及心脏传导堵塞为典型症状的疾病。在多数情况下,lamin A/C与Emerin的突变是导致该病发生的原因^[67],SYNE1/2与FHL1的突变也会引发极少数的肌营养不良症。依据突变位点与遗传方式的不同可分为三类:X染色体遗传、常染色体显性遗传和常染色体隐性遗传。X染色体遗传的肌营养不良症是发病率相对最高的类型^[68],其病因是EMD,即编码Emerin的基因发生了突变^[69],导致本来该定位在内层核膜上的Emerin最终游离在核外,围绕着细胞核。Emerin的缺失会影响细胞分裂后的核膜重建过程,进而导致细胞核的形态异常与功能缺陷,甚至细胞的死亡。其余两种,即常染色体显性遗传与常染色体隐性遗传,是由LMNA9(编码lamin A/C的基因)发生了突变造成的。由于lamin A/C是核纤层主要的骨架成分,其上连接了许多内层核膜蛋白,所以lamin A/C的突变很可能会影响某些横纹肌特异性的蛋白与其结合,而Emerin极有可能是与lamin A/C相互作用的。故Emerin与lamin A/C的突变均可以导致横纹肌的组织特异性发病,这一点与家族性脂营养不良症有着相似的机制^[70]。

扩张性心肌病是核纤层蛋白综合征的一种,主要为常染色体显性遗传病,临床症状主要表现为心室收缩功能障碍、伴随着心率失常以及心力衰竭。随

着年龄增大, 致死的风险几率增大, 而且几乎所有的病人年龄都超不过60岁。最新研究表明, lamin A 蛋白的N195K以及H222P突变会造成老鼠的心率衰竭, 或心率不齐, 甚至死亡; 同时转录因子Hflb/Sp4 和缝隙连接蛋白connexin 40和43的定位和表达出现异常, 并且肌小节也产生异常, 提示lamin A基因突变可能是通过引起心脏发育异常而产生扩张性心肌病的^[71]。在家族性的扩张性心肌病里, 人们发现lamin A/C蛋白是缺失的。通过转基因H222P的老鼠发现, 细胞内的ERK1/2和JNK激酶高度活化, 意味着ERK1/2信号通路被高度激活, 因此, 抑制此信号通路可能对治疗此病有一定疗效^[72]。

5 总结

目前, 关于核膜病征的研究引起了越来越多科学家的关注, 最近涌现出的一系列研究进展不仅对于核膜病征的机理分析和临床治疗有着重大意义, 更使得人们对核膜结构、各组分之间的相互作用以及其在机体发育过程中扮演的角色有了更深入的了解, 但其中留存的问题还有很多。许多典型核膜病的基因突变可能还没有被鉴定出来。现在的研究多以一两个病人的案例分析为主, 缺乏从突变如何演变为组织与机体的缺陷表型的过程。除此之外, 核膜病的组织特异性的产生机制也不清楚。一个核膜蛋白的突变或缺失应存在于机体中所有的细胞核内, 但为什么只有特定的组织产生了缺陷表型等问题值得进一步探讨。核膜蛋白及其突变体对于骨骼重建、脂肪代谢、随意肌发育、整体性的机体衰老的影响机制也值得更加深入地研究。

推动这个领域发展的另一个重要动因希望探讨这些罕见的早老和发育异常的疾病与正常的衰老之间究竟有着怎样的关系, 是否有着相同的原因, 或者只是时间尺度与速度进程不同的差异。能够比较有力地说明lamin A与正常衰老相关的证据是, 最近一项从不同年龄段的正常人体内取的成纤维细胞进行体外培养, 观察lamin A的定位异同, 研究发现随着人体的衰老, 体内与HGPS相似的剪切异常的lamin A含量会增加^[73-74]。用线虫作为模式生物进行研究, 发现核膜的结构改变也会发生在正常的衰老进程中^[75]。一系列的证据都在提示早老与正常衰老之间存在联系, 对早老与正常衰老机制的研究或许能够找到减缓衰老的有效方法。

致谢

本项工作受到国家科技部973项目(No.2010CB833705)的支持。感谢本实验室其他同学在本文写作过程中提出的宝贵意见和建议。

参考文献 (References)

- 1 Broers JL, Machiels BM, Kuijpers HJ, Smedts F, van den Kieboom R, Raymond Y, *et al.* A- and B-type lamins are differentially expressed in normal human tissues. *Histochem Cell Biol* 1997; 107(6): 505-17.
- 2 Krohne G. Lamin assembly *in vivo*. *Subcell Biochem* 1998; 31: 563-86.
- 3 Gotzmann J, Foisner R. Lamins and lamin-binding proteins in functional chromatin organization. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr* 1999; 9(3/4): 257-65.
- 4 van Steensel MA, Frank J. Lamin processing comes of age. *J Invest Dermatol* 2005; 125(5): xii-xiii.
- 5 Worman HJ, Courvalin JC. Nuclear envelope, nuclear lamina, and inherited disease. *Int Rev Cytol* 2005; 246: 231-79.
- 6 Broers JL, Hutchison CJ, Ramaekers FC. Laminopathies. *J Pathol* 2004; 204(4): 478-88.
- 7 Lee KK, Wilson KL. All in the family: Evidence for four new LEM-domain proteins Lem2 (NET-25), Lem3, Lem4 and Lem5 in the human genome. *Symp Soc Exp Biol* 2004; (56): 329-39.
- 8 Markiewicz E, Tilgner K, Barker N, van de Wetering M, Clevers H, Dorobek M, *et al.* The inner nuclear membrane protein emerin regulates beta-catenin activity by restricting its accumulation in the nucleus. *EMBO J* 2006; 25(14): 3275-85.
- 9 Salpingidou G, Smertenko A, Hausmanowa-Petruciewicz I, Hussey PJ, Hutchison CJ. A novel role for the nuclear membrane protein emerin in association of the centrosome to the outer nuclear membrane. *J Cell Biol* 2007; 178(6): 897-904.
- 10 Holaska JM, Kowalski AK, Wilson KL. Emerin caps the pointed end of actin filaments: Evidence for an actin cortical network at the nuclear inner membrane. *PLoS Biol* 2004; 2(9): E231.
- 11 Melcon G, Kozlov S, Cutler DA, Sullivan T, Hernandez L, Zhao P, *et al.* Loss of emerin at the nuclear envelope disrupts the Rb1/E2F and MyoD pathways during muscle regeneration. *Hum Mol Genet* 2006; 15(4): 637-51.
- 12 Van Berlo JH, Voncken JW, Kubben N, Broers JL, Duisters R, van Leeuwen RE, *et al.* A-type lamins are essential for TGF-beta1 induced PP2A to dephosphorylate transcription factors. *Hum Mol Genet* 2005; 14(19): 2839-49.
- 13 Liu J, Lee KK, Segura-Totten M, Neufeld E, Wilson KL, Gruenbaum Y. MAN1 and emerin have overlapping function(s) essential for chromosome segregation and cell division in *Caenorhabditis elegans*. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100(8): 4598-603.
- 14 Pekovic V, Harborth J, Broers JL, Ramaekers FC, van Engelen B, Lammens M, *et al.* Nucleoplasmic LAP2alpha-lamin A complexes are required to maintain a proliferative state in human fibroblasts. *J Cell Biol* 2007; 176(2): 163-72.
- 15 Somech R, Shaklai S, Geller O, Amariglio N, Simon AJ, Rechavi G, *et al.* The nuclear-envelope protein and transcriptional repressor LAP2beta interacts with HDAC3 at the nuclear

- periphery, and induces histone H4 deacetylation. *J Cell Sci* 2005; 118(Pt 17): 4017-25.
- 16 Zullo JM, Demarco IA, Piqué-Regi R, Gaffney DJ, Epstein CB, Spooner CJ, *et al.* DNA sequence-dependent compartmentalization and silencing of chromatin at the nuclear lamina. *Cell* 2012; 149(7): 1474-87.
 - 17 Ye Q, Callebaut I, Pezhman A, Courvalin JC, Worman HJ. Domain-specific interactions of human HP1-type chromodomain proteins and inner nuclear membrane protein LBR. *J Biol Chem* 1997; 272(23): 14983-9.
 - 18 Colella R, Hollensead SC. Understanding and recognizing the Pelger-Huet anomaly. *Am J Clin Pathol* 2012; 137(3): 358-66.
 - 19 Yu J, Lei K, Zhou M, Craft CM, Xu G, Xu T, *et al.* KASH protein Syne-2/Nesprin-2 and SUN proteins SUN1/2 mediate nuclear migration during mammalian retinal development. *Hum Mol Genet* 2011; 20(6): 1061-73.
 - 20 Talamas JA, Hetzer MW. POM121 and Sun1 play a role in early steps of interphase NPC assembly. *J Cell Biol* 2011; 194(1): 27-37.
 - 21 Löschberger A, van de Linde S, Dabauvalle MC, Rieger B, Heilemann M, Krohne G, *et al.* Super-resolution imaging visualizes the eightfold symmetry of gp210 proteins around the nuclear pore complex and resolves the central channel with nanometer resolution. *J Cell Sci* 2012; 125(Pt 3): 570-5.
 - 22 Gerace L, Blobel G. The nuclear envelope lamina is reversibly depolymerized during mitosis. *Cell* 1980; 19(1): 277-87.
 - 23 Lehner CF, Furstenberger G, Eppenberger HM, Nigg EA. Biogenesis of the nuclear lamina: *In vivo* synthesis and processing of nuclear protein precursors. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986; 83(7): 2096-9.
 - 24 Solovei I, Wang AS, Thanisch K, Schmidt CS, Krebs S, Zwerger M, *et al.* LBR and lamin A/C sequentially tether peripheral heterochromatin and inversely regulate differentiation. *Cell* 2013; 152(3): 584-98.
 - 25 Worman HJ, Lazaridis I, Georgatos SD. Nuclear lamina heterogeneity in mammalian cells. Differential expression of the major lamins and variations in lamin B phosphorylation. *J Biol Chem* 1988; 263(24): 12135-41.
 - 26 Kim Y, Sharov AA, McDole K, Cheng M, Hao H, Fan CM, *et al.* Mouse B-type lamins are required for proper organogenesis but not by embryonic stem cells. *Science* 2011; 334(6063): 1706-10.
 - 27 Coffinier C, Jung HJ, Nobumori C, Chang S, Tu Y, Barnes RH 2nd, *et al.* Deficiencies in lamin B1 and lamin B2 cause neurodevelopmental defects and distinct nuclear shape abnormalities in neurons. *Mol Biol Cell* 2011; 22(23): 4683-93.
 - 28 Farnsworth CC, Wolda SL, Gelb MH, Glomset JA. Human lamin B contains a farnesylated cysteine residue. *J Biol Chem* 1989; 264(34): 20422-9.
 - 29 Moir RD, Yoon M, Khuon S, Goldman RD. Nuclear lamins A and B1: Different pathways of assembly during nuclear envelope formation in living cells. *J Cell Biol* 2000; 151(6): 1155-68.
 - 30 Martin C, Chen S, Maya-Mendoza A, Lovric J, Sims PF, Jackson DA. Lamin B1 maintains the functional plasticity of nucleoli. *J Cell Sci* 2009; 122(Pt 10): 1551-62.
 - 31 Gruenbaum Y, Margalit A, Goldman RD, Shumaker DK, Wilson KL. The nuclear lamina comes of age. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2005; 6(1): 21-31.
 - 32 Zheng Y. A membranous spindle matrix orchestrates cell division. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2010; 11(7): 529-35.
 - 33 Laurell E, Beck K, Krupina K, Theerthagiri G, Bodenmiller B, Horvath P, *et al.* Phosphorylation of Nup98 by multiple kinases is crucial for NPC disassembly during mitotic entry. *Cell* 2011; 144(4): 539-50.
 - 34 Portier N, Audhya A, Maddox PS, Green RA, Dammermann A, Desai A, *et al.* A microtubule-independent role for centrosomes and aurora a in nuclear envelope breakdown. *Dev Cell* 2007; 12(4): 515-29.
 - 35 Gong D, Pomerening JR, Myers JW, Gustavsson C, Jones JT, Hahn AT, *et al.* Cyclin A2 regulates nuclear-envelope breakdown and the nuclear accumulation of cyclin B1. *Curr Biol* 2007; 17(1): 85-91.
 - 36 Beaudouin J, Gerlich D, Daigle N, Eils R, Ellenberg J. Nuclear envelope breakdown proceeds by microtubule-induced tearing of the lamina. *Cell* 2002; 108(1): 83-96.
 - 37 Zhang C, Clarke PR. Chromatin-independent nuclear envelope assembly induced by Ran GTPase in *Xenopus* egg extracts. *Science* 2000; 288(5470): 1429-32.
 - 38 Hetzer M, Gruss OJ, Mattaj IW. The Ran GTPase as a marker of chromosome position in spindle formation and nuclear envelope assembly. *Nat Cell Biol* 2002; 4(7): E177-84.
 - 39 Hetzer M, Meyer HH, Walther TC, Bilbao-Cortes D, Warren G, Mattaj IW. Distinct AAA-ATPase p97 complexes function in discrete steps of nuclear assembly. *Nat Cell Biol* 2001; 3(12): 1086-91.
 - 40 Lu L, Ladinsky MS, Kirchhausen T. Formation of the postmitotic nuclear envelope from extended ER cisternae precedes nuclear pore assembly. *J Cell Biol* 2011; 194(3): 425-40.
 - 41 Tseng LC, Chen RH. Temporal control of nuclear envelope assembly by phosphorylation of lamin B receptor. *Mol Biol Cell* 2011; 22(18): 3306-17.
 - 42 Lu X, Shi Y, Lu Q, Ma Y, Luo J, Wang Q, *et al.* Requirement for lamin B receptor and its regulation by importin {beta} and phosphorylation in nuclear envelope assembly during mitotic exit. *J Biol Chem* 2010; 285(43): 33281-93.
 - 43 Ma Y, Cai S, Lv Q, Jiang Q, Zhang Q, Sodmergen, *et al.* Lamin B receptor plays a role in stimulating nuclear envelope production and targeting membrane vesicles to chromatin during nuclear envelope assembly through direct interaction with importin beta. *J Cell Sci* 2007; 120(Pt 3): 520-30.
 - 44 Lu Q, Lu Z, Liu Q, Guo L, Ren H, Fu J, *et al.* Chromatin-bound NLS proteins recruit membrane vesicles and nucleoporins for nuclear envelope assembly via importin-alpha/beta. *Cell Res* 2012; 22(11): 1562-75.
 - 45 Burtner CR, Kennedy BK. Progeria syndromes and ageing: What is the connection? *Nat Rev Mol Cell Biol* 2010; 11(8): 567-78.
 - 46 Varela I, Cadiñanos J, Pendás AM, Gutiérrez-Fernández A, Folgueras AR, Sánchez LM, *et al.* Accelerated ageing in mice deficient in Zmpste24 protease is linked to p53 signalling activation. *Nature* 2005; 437(7058): 564-8.
 - 47 de Sandre-Giovannoli A, Levy N. Altered splicing in prelamin A-associated premature aging phenotypes. *Prog Mol Subcell Biol* 2006; 44: 199-232.
 - 48 Eriksson M, Brown WT, Gordon LB, Glynn MW, Singer J, Scott L, *et al.* Recurrent de novo point mutations in lamin A cause

- Hutchinson-Gilford progeria syndrome. *Nature* 2003; 423(6937): 293-8.
- 49 Goldman RD, Shumaker DK, Erdos MR, Eriksson M, Goldman AE, Gordon LB, *et al.* Accumulation of mutant lamin A causes progressive changes in nuclear architecture in Hutchinson-Gilford progeria syndrome. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101(24): 8963-8.
 - 50 Dahl KN, Scaffidi P, Islam MF, Yodh AG, Wilson KL, Misteli T. Distinct structural and mechanical properties of the nuclear lamina in Hutchinson-Gilford progeria syndrome. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; 103(27): 10271-6.
 - 51 Liu B, Wang J, Chan KM, Tjia WM, Deng W, Guan X, *et al.* Genomic instability in laminopathy-based premature aging. *Nat Med* 2005; 11(7): 780-5.
 - 52 Vaughan A, Alvarez-Reyes M, Bridger JM, Broers JL, Ramaekers FC, Wehnert M, *et al.* Both emerin and lamin C depend on lamin A for localization at the nuclear envelope. *J Cell Sci* 2001; 114(Pt 14): 2577-90.
 - 53 Puente XS, Quesada V, Osorio FG, Cabanillas R, Cadiñanos J, Fraile JM, *et al.* Exome sequencing and functional analysis identifies BANF1 mutation as the cause of a hereditary progeroid syndrome. *Am J Hum Genet* 2011; 88(5): 650-6.
 - 54 Barrowman J, Wiley PA, Hudon-Miller SE, Hrycyna CA, Michaelis S. Human ZMPSTE24 disease mutations: residual proteolytic activity correlates with disease severity. *Hum Mol Genet* 2012; 21(18): 4084-93.
 - 55 Ahmad Z, Phadke SR, Arch E, Glass J, Agarwal AK, Garg A. Homozygous null mutations in ZMPSTE24 in restrictive dermopathy: Evidence of genetic heterogeneity. *Clin Genet* 2012; 81(2): 158-64.
 - 56 Moulson CL, Go G, Gardner JM, van der Wal AC, Smitt JH, van Hagen JM, *et al.* Homozygous and compound heterozygous mutations in ZMPSTE24 cause the laminopathy restrictive dermopathy. *J Invest Dermatol* 2005; 125(5): 913-9.
 - 57 Navarro CL, de Sandre-Giovannoli A, Bernard R, Boccaccio I, Boyer A, Geneviève D, *et al.* Lamin A and ZMPSTE24 (FACE-1) defects cause nuclear disorganization and identify restrictive dermopathy as a lethal neonatal laminopathy. *Hum Mol Genet* 2004; 13(20): 2493-503.
 - 58 Leao LM, Alencar RC, Rodrigues Gda C, Bouzas I, Gallo P, Rossini A. Dunnigan-type familial partial lipodystrophy: Attention to precocious diagnosis. *Rev Bras Ginecol Obstet* 2011; 33(2): 99-103.
 - 59 Izumikawa Y. Mandibuloacral dysplasia. *Ryoikibetsu Shokogun Shirizu* 2001; (34 Pt 2): 132.
 - 60 Rajendran V, Purohit R, Sethumadhavan R. In silico investigation of molecular mechanism of laminopathy caused by a point mutation (R482W) in lamin A/C protein. *Amino Acids* 2012; 43(2): 603-15.
 - 61 Verstraeten VL, Caputo S, van Steensel MA, Duband-Goulet I, Zinn-Justin S, Kamps M, *et al.* The R439C mutation in LMNA causes lamin oligomerization and susceptibility to oxidative stress. *J Cell Mol Med* 2009; 13(5): 959-71.
 - 62 Garavelli L, D'Apice MR, Rivieri F, Bertoli M, Wischmeijer A, Gelmini C, *et al.* Mandibuloacral dysplasia type A in childhood. *Am J Med Genet A* 2009; 149A(10): 2258-64.
 - 63 Agarwal AK, Kazachkova I, Ten S, Garg A. Severe mandibuloacral dysplasia-associated lipodystrophy and progeria in a young girl with a novel homozygous Arg527Cys LMNA mutation. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93(12): 4617-23.
 - 64 Ben Yaou R, Navarro C, Quijano-Roy S, Bertrand AT, Massart C, de Sandre-Giovannoli A, *et al.* Type B mandibuloacral dysplasia with congenital myopathy due to homozygous ZMPSTE24 missense mutation. *Eur J Hum Genet* 2011; 19(6): 647-54.
 - 65 Ahmad Z, Zackai E, Medne L, Garg A. Early onset mandibuloacral dysplasia due to compound heterozygous mutations in ZMPSTE24. *Am J Med Genet A* 2010; 152A(11): 2703-10.
 - 66 Speckman RA, Garg A, Du F, Bennett L, Veile R, Arioglu E, *et al.* Mutational and haplotype analyses of families with familial partial lipodystrophy (Dunnigan variety) reveal recurrent missense mutations in the globular C-terminal domain of lamin A/C. *Am J Hum Genet* 2000; 66(4): 1192-8.
 - 67 Bonne G, Di Barletta MR, Varnous S, Bécane HM, Hammouda EH, Merlini L, *et al.* Mutations in the gene encoding lamin A/C cause autosomal dominant Emery-Dreifuss muscular dystrophy. *Nat Genet* 1999; 21(3): 285-8.
 - 68 Fidzianska A, Niebroj-Dobosz I, Madej-Pilarczyk A, Duong NT, Wehnert M. X-linked Emery-Dreifuss muscular dystrophy with lamin A deficiency and IBM inclusions. *Clin Neuropathol.* Mar-Apr 2010; 29(2): 78-83.
 - 69 Manilal S, Sewry CA, Pereboev A, Man N, Gobbi P, Hawkes S, *et al.* Distribution of emerin and lamins in the heart and implications for Emery-Dreifuss muscular dystrophy. *Hum Mol Genet* 1999; 8(2): 353-9.
 - 70 Mattout A, Pike BL, Towbin BD, Bank EM, Gonzalez-Sandoval A, Stadler MB, *et al.* An EDMD mutation in *C. elegans* lamin blocks muscle-specific gene relocation and compromises muscle integrity. *Curr Biol* 2011; 21(19): 1603-14.
 - 71 Sun LP, Wang L, Wang H, Zhang YH, Pu JL. Connexin 43 remodeling induced by LMNA gene mutation Glu82Lys in familial dilated cardiomyopathy with atrial ventricular block. *Chin Med J (Engl)* 2010; 123(8): 1058-62.
 - 72 Arimura T, Helbling-Leclerc A, Massart C, Varnous S, Niel F, Lacène E, *et al.* Mouse model carrying H222P-Lmna mutation develops muscular dystrophy and dilated cardiomyopathy similar to human striated muscle laminopathies. *Hum Mol Genet* 2005; 14(1): 155-69.
 - 73 Bertrand AT, Chikhaoui K, Ben Yaou R, Bonne G. Laminopathies: One gene, several diseases. *Biol Aujourd'hui* 2011; 205(3): 147-62.
 - 74 Scaffidi P, Misteli T. Lamin A-dependent nuclear defects in human aging. *Science* 2006; 312(5776): 1059-63.
 - 75 Haithcock E, Dayani Y, Neufeld E, Zahand AJ, Feinstein N, Mattout A, *et al.* Age-related changes of nuclear architecture in *Caenorhabditis elegans*. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102(46): 16690-5.