

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2021.14.008
文章编号: 1005-8982 (2021) 14-0040-07

实验研究·论著

抗精神病药喹硫平对少突胶质细胞周期的影响及其作用机制研究*

王斓, 陈浙丽, 徐亮, 徐小明, 王轶虎

(湖州市第三人民医院 老年精神科, 浙江 湖州 313000)

摘要: **目的** 探讨抗精神病药喹硫平对少突胶质细胞周期的影响及其作用机制。**方法** 采用血小板源性生长因子(PDGF) 10 ng/ml、喹硫平 10 μ mol/L及两者混合物处理少突胶质前体细胞(OPCs) 48 h, 比较各组细胞周期、细胞周期退出指数及细胞分化情况。检测喹硫平干预后小鼠前额皮质8个细胞周期相关mRNA相对表达量。通过RNA干扰下调p21的表达, 并分析其对细胞增殖和分化的影响。**结果** PDGF可诱导G0/G1期细胞百分比下降($P < 0.05$), S期和G2期细胞百分比升高($P < 0.05$); 喹硫平可抑制PDGF诱导的S期或G2期细胞百分比升高, 并阻止G0/G1期细胞百分比降低($P < 0.05$)。PDGF抑制细胞周期退出($P < 0.05$); 喹硫平促进细胞周期退出($P < 0.05$), 并阻断PDGF对细胞周期退出的影响($P < 0.05$)。喹硫平可提高OPCs细胞的成熟率, 降低低分化细胞数($P < 0.05$)。喹硫平干预后p21表达升高($P < 0.05$); 下调p21可增加S期细胞百分比, 降低G2期细胞百分比($P < 0.05$), 增加溴脱氧尿苷阳性细胞数($P < 0.05$), 减少髓鞘碱性蛋白阳性细胞($P < 0.05$)。**结论** 喹硫平可能通过调节少突胶质细胞的细胞周期来调节细胞分化。

关键词: 少突胶质细胞; 细胞周期; 喹硫平; p21; 血小板源性生长因子

中图分类号: R744.5

文献标识码: A

The effect of quetiapine on the cell cycle of oligodendrocytes and its mechanism*

Lan Wang, Zhe-li Chen, Liang Xu, Xiao-ming Xu, Yi-hu Wang

(Department of Geriatric Psychiatry, Huzhou Third People's Hospital, Huzhou, Zhejiang 313000, China)

Abstract: **Objective** To investigate the effect of antipsychotic quetiapine on the cell cycle of oligodendrocytes and its mechanism. **Methods** The oligodendrocyte precursor cells (OPCs) were treated with platelet-derived growth factor (PDGF, 10 ng/ml), quetiapine (10 μ mol/L) or a mixture of the two for 48 h. Cell cycle, cell cycle exit index and cell differentiation were compared under different treatments. The relative mRNA expression levels of 8 cell cycle-related molecules in mice prefrontal cortex after intervention with quetiapine were measured. The effect of down-regulation of p21 by RNA interference on cell proliferation and differentiation was examined. **Results** PDGF induced a significant decrease in the percentage of cells in G0/ G1 phase ($P < 0.05$) and a significant increase in the percentage of cells in S phase and G2 phase ($P < 0.05$). Quetiapine inhibited the percentage increase of cells in S or G2 phase and prevented the percentage decrease of cells in G0/G1 phase induced by PDGF ($P < 0.05$). Treatment with PDGF inhibited cell cycle exit ($P < 0.05$), while quetiapine promoted cell cycle exit and blocked the influence of PDGF on cell cycle exit ($P < 0.05$). Quetiapine increased the maturation rate of OPCs and reduced the number of poorly-differentiated cells ($P < 0.05$). The expression of p21 was significantly

收稿日期: 2021-01-17

* 基金项目: 浙江省医药卫生科技计划项目(No: 2018KY787)

[通信作者] 王轶虎, E-mail: 372040500@qq.com; Tel: 13868293619

increased after quetiapine intervention ($P < 0.05$). Down-regulation of p21 increased the percentage of S-phase cells ($P < 0.05$), decreased the percentage of G2-phase cells ($P < 0.05$), increased the number of bromodeoxyuridine-positive cells ($P < 0.05$), and decreased the number of myelin basic protein-positive cells ($P < 0.05$). **Conclusions** Quetiapine may involve in the differentiation of oligodendrocytes by regulating the cell cycle.

Keywords: oligodendrocytes; cell cycle; p21; quetiapine; PDGF

精神分裂症患者中髓磷脂/少突胶质细胞相关基因显著下调, 并表现出白质异常^[1-3]。少突胶质细胞的主要功能是产生髓鞘, 而髓鞘起到包围并隔离轴突的作用^[4]。少突胶质细胞分化障碍可能导致精神分裂症中少突胶质细胞功能紊乱, 从而导致髓鞘缺失^[5]。细胞周期蛋白参与调控少突胶质细胞的增殖和分化。在细胞发育过程中, 少突胶质前体细胞 (oligodendrocyte precursor cell, OPCs) 需要退出细胞周期, 开始髓鞘相关基因的转录, 最终在有丝分裂后分化为成熟的少突胶质细胞^[6]。鉴于在精神分裂症患者的大脑中发现了异常的细胞周期进展, 可见细胞周期功能障碍可能参与精神分裂症患者少突胶质细胞分化的缺失^[7]。抗精神病药喹硫平可防止少突胶质细胞丢失和髓鞘破裂, 减轻草酸双引起的小鼠认知功能障碍^[8]。然而, 喹硫平抗精神疾病的作用机制尚未完全阐明。本研究主要通过探讨喹硫平是否参与调控少突胶质细胞的细胞周期, 为进一步了解喹硫平抗精神疾病的作用机制提供参考。

1 材料与方法

1.1 细胞及实验动物

1.1.1 少突胶质细胞的来源及培养 少突胶质细胞从新生的 Sprague-Dawley 大鼠大脑皮层组织中制备^[9], 其原代培养是基于 McCarthy 技术^[10]。实验前, 将 OPCs 接种于增殖培养基中培养 48 h。增殖培养基为 DMEM/F12, 并添加 2% B27、0.5% 胎牛血清、L-谷氨酰胺、抗生素、血小板源性生长因子 (platelet-derived growth factor, PDGF) 10 ng/ml 和碱性成纤维细胞生长因子 (basic fibroblast growth factor, bFGF) 10 ng/ml。

1.1.2 实验动物 雄性 CD-1 小鼠购自北京维通利华实验动物技术有限公司 [动物生产许可证号: SCXK (京) 2019-0013], 12 h 昼/夜循环照明。12 只小鼠随机分为对照组和喹硫平组, 每组 6 只。分别给予生理盐水和富马酸喹硫平 10 mg/(kg·d) 盐水溶解后腹腔注射 30 d。最后一次注射 12 h 后处死小

鼠, 解剖前额皮质进行基因表达分析。

1.2 主要仪器、试剂及药物

1.2.1 主要仪器 流式细胞仪 (美国 Becton Dickinson 公司), ViiA 7 实时荧光定量聚合酶链反应 (quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR) 系统 (美国应用生物系统公司)。

1.2.2 主要试剂与药物 B27 (美国 Thermo Fisher Scientific 公司), PDGF 和 bFGF (美国 Protech 公司), 大鼠单克隆 anti-溴脱氧尿苷 (Bromodeoxyuridine, BrdU) 和 p21 (英国 Abcam 公司), 兔多克隆 anti-Ki67 和 p21 shRNA 质粒 (美国 Santa Cruz 公司), 1% N2 和 β -actin (英国 Sigma 公司), Trizol 试剂 (美国 Invitrogen 公司), Trizol 试剂盒 (美国 Invitrogen 公司)。富马酸喹硫平 (英国 AstraZeneca UK Limited 公司, 批准文号: H20160665, 规格: 0.2g $\times$ 20 片)

1.3 细胞周期检测

将 OPCs 细胞按 5×10^5 个细胞/孔接种于聚-赖氨酸包覆的 6 孔板中。在增殖培养基中培养 48 h, 用碱性培养基 (含 2% B27 的 DMEM/F12 培养基) 替代培养, 并用喹硫平 (1 μ mol/L、10 μ mol/L、20 μ mol/L) 处理 48 h。为检测喹硫平对 PDGF 诱导的细胞周期激活的影响, 增殖培养基培养 48 h 后, 用基础培养基替代培养基, 并加入 PDGF (10 ng/ml)、喹硫平 (10 μ mol/L) 或两者的混合物培养 48 h。将 OPCs 细胞分为对照组 (培养 48 h)、PDGF 组 (加入 PDGF 10 ng/ml 培养 48 h)、喹硫平组 (加入喹硫平 10 μ mol/L 培养 48 h) 和 PDGF+喹硫平组 (加入 PDGF 10 ng/ml 和喹硫平 10 μ mol/L, 培养 48 h)。OPCs 用 0.25% 胰蛋白酶消化, 70% 乙醇固定, 采用流式细胞术测定细胞周期中 G0/G1、S、G2 期细胞百分比^[11], 使用 Cell Quest Pro 软件对数据进行分析。

1.4 细胞周期退出指数测定

OPCs 细胞可以在细胞周期中继续循环自我更新, 也可以退出细胞周期进行分化。细胞周期退出是少突胶质细胞分化的前提条件, 因此本实验

检测喹硫平和 PDGF 对细胞周期退出的影响。细胞周期分为静息期(G0)、准备期(G1)、DNA 复制期(S)、S 和 M 期之间的间隙(G2)和细胞分裂期(M)。采用 BrdU 抗体标记处于 S 期的细胞,使用 Ki-67 抗体标记除 G0 期外整个细胞周期的增殖细胞,计算细胞周期退出指数。BrdU⁺/Ki-67⁺ 双标记细胞表示细胞周期内的细胞比例,BrdU⁺/Ki-67 细胞表示细胞周期外的细胞比例。细胞周期退出指数以 BrdU⁺/Ki-67⁺ 细胞数除以 BrdU⁺ 细胞总数表示^[12]。将 OPCs 细胞接种在 24 孔板上,增殖培养 48 h。用基础培养基(含 2% B27 的 DMEM/F12 培养基)替代培养,加入 PDGF 10 ng/ml、喹硫平 10 μ mol/L 或两者的混合物培养 24 h,并分为对照组(培养 24 h)、PDGF 组(加入 PDGF 10 ng/ml 培养 24 h)、喹硫平组(加入喹硫平 10 μ mol/L 培养 24 h)和 PDGF+喹硫平组(加入 PDGF 10 ng/ml 和喹硫平 10 μ mol/L 培养 24 h)。固定 OPCs 细胞,细胞核 DNA 变性后,用大鼠单克隆 anti-BrdU (1:100)和兔多克隆 anti-Ki67 一级抗体(1:100)孵育,用结合荧光染料的二级抗体进行免疫细胞化学检测。

1.5 细胞分化分析

将 OPCs 细胞按 2.5×10^4 个细胞/孔接种于 24 孔板中,增殖培养 48 h。将增殖培养基替换为分化培养基,并在培养基中加入喹硫平后持续培养 3 d。将 OPCs 细胞分为对照组(培养 3 d)、喹硫平 10 μ mol/L 组(加入喹硫平 10 μ mol/L 培养 3 d)和喹硫平 20 μ mol/L 组(加入喹硫平 20 μ mol/L 培养 3 d)。少突胶质细胞分化培养基为 DMEM/F12,并添加 1% N2、L-谷氨酰胺、0.5% 胎牛血清、抗生素、三碘甲状腺氨酸 9.8 g/L、生物素 10 g/L 和转铁蛋白 25 g/L。使用抗体髓鞘碱性蛋白(myelin basic protein, MBP)(成熟少突胶质细胞的标志)对细胞培养物进行免疫细胞化学检测。使用激光扫描共聚焦显微镜获取图像,Image-Pro Plus 软件进行分析。在分化培养基中加入喹硫平后 3 d 和 4 d,采用少突胶质细胞标志物 MBP 固定并标记少突胶质细胞,根据形态复杂性将 MBP 阳性细胞分为低分化和高分化。

1.6 qRT-PCR

小鼠前额皮质区域表现出最明显的髓鞘特异性基因表达变化。为研究喹硫平对细胞周期的调控机制,本研究测定喹硫平干预(10 mg/kg,1 次/d)

小鼠 30 d 后,小鼠前额皮质中 8 个细胞周期相关 mRNA 相对表达量。其中包括细胞周期蛋白 D1(Cend1)、细胞周期依赖激酶 2(CDK2)、CDK4、转录因子 2(E2F2)和视网膜母细胞瘤蛋白 1(Rb1),其可正向调节细胞周期 G1/S、G2/M 转变、DNA 合成和有丝分裂。另外检测环独立激酶抑制剂 p21 和 p27 的相对表达量,以及 p21 的上游介质转录因子 p53 的相对表达量。按照 Trizol 试剂盒说明书进行操作提取总 RNA。利用 SuperScriptTM III 逆转录酶将总 RNA 1.5 μ g 合成 cDNA。通过 ViiA 7 qRT-PCR 系统进行 qRT-PCR 反应,引物序列见表 1。PCR 反应条件为:95 $^{\circ}$ C 预变性 10 min,95 $^{\circ}$ C 变性 15 s,60 $^{\circ}$ C 退火 1 min,共计 40 个循环。 β -actin 为 mRNA 表达的内参,每个样本检测 3 次,采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算相对表达量。

表 1 qRT-PCR 引物序列

基因	引物序列	长度/ bp
β -actin	正向: 5'-GTACCACCATGTACCCAGGC-3'	20
	反向: 5'-AACGCAGCTCAGTAACAGTCC-3'	21
<i>Cend1</i>	正向: 5'-CGCCCTCCGTATCTTACTTCA-3'	21
	反向: 5'-CTTCGCACTTCTGCTCCTCAC-3'	21
<i>E2f2</i>	正向: 5'-CCTGGTCTTTGCCGTTTAG-3'	19
	反向: 5'-ACTGAACTGAATCTGGACTGTA-3'	23
<i>Cdk2</i>	正向: 5'-CCTGTCCGAACCTTACACTCAT-3'	21
	反向: 5'-CAGCCACTTCTAGATAGGAGC3-3'	21
<i>Cdk4</i>	正向: 5'-GACCTGAGGACATACCTGGACAA-3'	23
	反向: 5'-CGCTTAGAACTGACGCATTAGA-3'	23
<i>Rb1</i>	正向: 5'-TTTTACAGTATGCCTCCACCA-3'	21
	反向: 5'-TGTCCCAAATGATTACCAA-3'	20
<i>p21</i>	正向: 5'-TACCGTGGGTGTCAAAGCA-3'	19
	反向: 5'-GTGCTGTCCCTTCTCGTGA-3'	19
<i>p27</i>	正向: 5'-AGGCAAACTCTGAGGACCG-3'	19
	反向: 5'-GGGGAACCGTCTGAAACATT-3'	20
<i>p53</i>	正向: 5'-GAACCGCCGACCTATCCTTAC-3'	21
	反向: 5'-ACAAACACGAACCTCAAAGCTG-3'	22

1.7 Western blotting

将 Vector shRNA 或 p21 shRNA 转染 OPCs 细胞 6 h,然后在分化培养基中培养 3 d。转染后第 4 天,用冷 PBS 洗涤少突胶质细胞,然后在 NP-40 裂解缓冲液中裂解。4 $^{\circ}$ C、12 000 r/min 离心 10 min,裂解液

通过 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳分离, 并转移到硝酸纤维素膜上。用 5% 牛奶封膜, 并用 p21 (1 : 200) 或 β -actin 的一抗检测, 用相应的二抗孵育膜。使用增强化学发光检测试剂盒对膜进行可视化检测。

1.8 shRNA 转染

为确定 p21 在少突胶质细胞周期调控中的作用, 本实验采用 shRNA 介导敲低 p21 的表达。用 p21 shRNA 或空载体进行 Western blotting 检测以确定转染效率。p21 shRNA 质粒由 3 个靶向特异性载体质粒组成。实验前, 将 OPCs 细胞在增殖培养基中保存 48 h。然后将增殖培养基替换为转染培养基。将共 1 μ g p21 shRNA 或 1 μ g 对照 shRNA 和转染试剂添加到培养基中。根据细胞转染情况将细胞分为对照组 (正常培养), 空载体组 (将 1 μ g 对照 shRNA 转染到细胞系中), p21 shRNA 组 (将 1 μ g p21 shRNA 转染到细胞系中), OPCs 孵育 6 h。增殖实验中, 转染 6 h 后用增殖培养基替换原培养基, 加入 BrdU 10 μ g/ml 孵育 12 h。在分化实验中, 转染 6 h 后将培养基换成含有 1 μ g/ml 嘌呤霉素抗生素的分化培养基, 以杀死未转染的细胞。第 4 天, 对 OPCs 细胞进行 Western blotting、细胞周期分布和免疫细胞化学检测。

1.9 统计学方法

数据分析采用 SPSS 21.0 和 GraphPad Prism version 7.0 统计软件。计量资料以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 比较用 t 检验或方差分析, 进一步两两比较用 Bonferroni 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 喹硫平对 PDGF 促进细胞有丝分裂有抑制作用

对照组、PDGF 组、喹硫平组和 PDGF+喹硫平组的 G0/G1 期、S 期和 G2 期细胞百分比比较, 经方差分析, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。进一步两两比较: 与对照组比较, PDGF 组 G0/G1 期细胞百分比低 ($P < 0.05$), S 期和 G2 期细胞百分比高 ($P < 0.05$), 说明 PDGF 促进细胞有丝分裂; 与 PDGF 组比较, PDGF+喹硫平组 G0/G1 期细胞百分比高 ($P < 0.05$), S 期和 G2 期细胞百分比低 ($P < 0.05$), 说明喹硫平对 PDGF 促进细胞有丝分裂有抑制作用。见表 2。

表 2 喹硫平抑制 PDGF 促进细胞有丝分裂作用 ($\%, \bar{x} \pm s$)

组别	G0/G1 期	S 期	G2 期
对照组	90.12 $\pm$ 9.23	5.14 $\pm$ 1.22	3.52 $\pm$ 0.21
PDGF 组	60.22 $\pm$ 6.54 ^①	18.53 $\pm$ 2.67 ^①	12.17 $\pm$ 2.12 ^①
喹硫平组	88.15 $\pm$ 8.33	6.09 $\pm$ 1.08	4.01 $\pm$ 0.33
PDGF+喹硫平组	72.46 $\pm$ 7.25 ^②	12.35 $\pm$ 1.33 ^②	8.53 $\pm$ 1.06 ^②
F 值	4.493	9.554	8.875
P 值	0.000	0.000	0.000

注: ①与对照组比较, $P < 0.05$; ②与 PDGF 组比较, $P < 0.05$ 。

2.2 喹硫平促进细胞周期退出并阻断 PDGF 的作用

对照组、PDGF 组、喹硫平组和 PDGF+喹硫平组的细胞周期退出指数分别为 (0.11 $\pm$ 0.02)、(0.06 $\pm$ 0.01)、(0.15 $\pm$ 0.02) 和 (0.11 $\pm$ 0.01), 经方差分析, 差异有统计学意义 ($F = 8.944, P = 0.000$)。进一步两两比较: 与对照组比较, PDGF 组细胞周期退出指数低 ($P < 0.05$), 喹硫平组细胞周期退出指数高 ($P < 0.05$), 说明 PDGF 抑制细胞周期退出, 喹硫平促进细胞周期退出; 与 PDGF 组比较, PDGF+喹硫平组细胞周期退出指数高 ($P < 0.05$), 说明喹硫平阻断 PDGF 对细胞周期退出的影响。

2.3 喹硫平促进 OPCs 细胞分化

在高分化细胞中, 对照组、喹硫平 10 μ mol/L 组和喹硫平 20 μ mol/L 组高分化和低分化细胞数比较, 经方差分析, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。进一步两两比较: 与对照组比较, 喹硫平 10 μ mol/L 组和喹硫平 20 μ mol/L 组高分化细胞数高 ($P < 0.05$), 低分化细胞数量低 ($P < 0.05$), 表明喹硫平可提高 OPCs 细胞的成熟率, 降低低分化细胞数。见表 3。

2.4 喹硫平上调 p21 mRNA 的表达

两组 p21 mRNA 相对表达量比较, 经 t 检验,

表 3 喹硫平促进 OPCs 细胞分化 ($\%, \bar{x} \pm s$)

组别	高分化细胞	低分化细胞
对照组	10.05 $\pm$ 1.02	63.12 $\pm$ 5.47
喹硫平 10 μ mol/L 组	30.13 $\pm$ 2.37 [†]	42.06 $\pm$ 4.32 [†]
喹硫平 20 μ mol/L 组	50.00 $\pm$ 5.15 [†]	21.07 $\pm$ 3.04 [†]
F 值	22.054	21.249
P 值	0.000	0.000

注: [†]与对照组比较, $P < 0.05$ 。

差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 喹硫平组高于对照组, 表明喹硫平干预后 p21 表达升高; 而其他 mRNA 相对表达量比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 4。

表 4 两组 mRNA 相对表达量比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	Cend1 mRNA	cdk2 mRNA	Cdk4 mRNA	P27 mRNA	P53 mRNA	P21 mRNA	E2f2 mRNA	Rb1 mRNA
对照组	0.03 ± 0.01	0.02 ± 0.01	0.08 ± 0.03	0.04 ± 0.02	0.07 ± 0.02	0.51 ± 0.03	0.03 ± 0.01	0.38 ± 0.03
喹硫平组	0.04 ± 0.02	0.03 ± 0.01	0.07 ± 0.01	0.03 ± 0.01	0.08 ± 0.03	1.15 ± 0.05 [†]	0.05 ± 0.03	0.41 ± 0.05
<i>t</i> 值	1.414	1.412	1.000	1.414	0.877	34.709	2.000	1.627
<i>P</i> 值	0.174	0.171	0.331	0.174	0.392	0.000	0.061	0.121

注: [†]与对照组比较, $P < 0.05$ 。

2.5 下调 p21 对 OPCs 细胞周期分布的影响

对照组、空载体组和 p21 shRNA 组 p21 蛋白相对表达量比较, 经方差分析, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。进一步两两比较: 与对照组和空载体组比较, p21 shRNA 组 p21 蛋白相对表达量低 ($P < 0.05$)。见表 5 和见图 1。

对照组、空载体组、p21 shRNA 组 S 期和 G2 期细胞百分比比较, 经方差分析, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。进一步两两比较: 与空载体组和对照组相比, p21 shRNA 组 S 期细胞百分比高 ($P < 0.05$), G2 期细胞百分比低 ($P < 0.05$), 表明下调 p21 可增加 S 期细胞百分比, 降低 G2 期细胞百分比。见表 5。

表 5 各组 p21 蛋白相对表达量和细胞周期比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	p21 蛋白	S 期/%	G2 期/%
对照组	0.38 ± 0.05 [†]	7.05 ± 0.72 [†]	3.02 ± 0.21 [†]
空载体组	0.36 ± 0.03 [†]	8.00 ± 0.85 [†]	2.85 ± 0.24 [†]
p21 shRNA 组	0.21 ± 0.02	13.12 ± 1.08	1.13 ± 1.13
<i>F</i> 值	9.983	14.788	5.206
<i>P</i> 值	0.000	0.000	0.000

注: [†]与 p21 shRNA 组比较, $P < 0.05$ 。

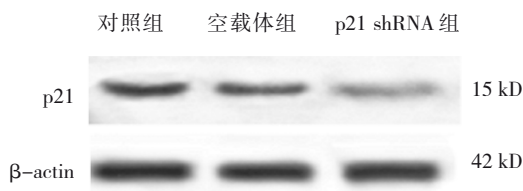


图 1 各组 p21 蛋白的表达

2.6 下调 p21 对少突胶质细胞增殖的影响

对照组、空载体组和 p21 shRNA 组的 BrdU 阳

性细胞率分别为 (30.12 ± 3.05)%、(33.21 ± 4.17)% 和 (44.25 ± 3.68)%, 经方差分析, 差异有统计学意义 ($F = 5.469, P = 0.000$)。进一步两两比较: p21 shRNA 组 BrdU 阳性细胞率高于对照组和空载体组 ($P < 0.05$), 表明下调 p21 可增加 BrdU 阳性细胞, 促进少突胶质细胞增殖。

2.7 下调 p21 对少突胶质细胞分化的影响

对照组、空载体组和 p21 shRNA 组 MBP 阳性细胞率分别为 (39.24 ± 4.07)%、(32.19 ± 3.33)% 和 (18.54 ± 2.28)%, 经方差分析, 差异有统计学意义 ($F = 9.762, P = 0.000$)。进一步两两比较: p21 shRNA 组 MBP 阳性细胞率低于对照组和空载体组 ($P < 0.05$), 表明下调 p21 可降低 MBP 阳性细胞, 抑制少突胶质细胞分化。

3 讨论

精神分裂症是一种临床上常见的慢性、致残性精神疾病, 主要特征表现为情感、思维、行为、意志障碍等^[13]。精神分裂症具有发病率高、致残率高、治愈率低等特点, 给临床治疗和护理造成巨大的压力, 同时也给社会 and 患者家庭带来沉重的经济负担^[14]。目前, 普遍认为精神分裂症是由遗传和环境因素相互作用所致, 但其发病机制仍尚未完全了解。本研究通过探讨非典型抗精神病药物奎硫平在体内外对少突胶质细胞周期调节的影响, 发现喹硫平可以促进细胞周期的退出, 加速少突胶质细胞的分化, 另外, 喹硫平治疗可使小鼠前额皮质 p21 mRNA 显著升高, 下调 p21 的表达增强细胞的增殖和延迟分化。

据报道, 在精神分裂症患者中, CyclinD1、D2、E 和 Cyclin A2 等细胞周期阳性调节因子的 mRNA 相

对表达量明显上调, 而周期蛋白依赖性激酶抑制剂 p27 mRNA 和 p57 mRNA 相对表达量显著下调^[15]。另有研究表明, 暴露在草酸双下的小鼠少突胶质细胞周期调节因子(包括 Cyclin A2、CyclinD1 和 CyclinF)的表达水平明显上调^[16]。由此可见, 细胞周期基因表达的异常可能是精神分裂症和铜中毒小鼠少突胶质细胞缺失的原因之一。此外, 经过草酸双干预的小鼠表现出较高水平的标记为 NG2 和血小板衍生的生长因子 α 的 OPCs, 以及成熟少突胶质细胞数的明显减少^[17-18]。而在草酸双诱导的去髓细胞模型中, OPCs 细胞为何不能进一步分化为成熟少突胶质细胞尚不清楚。生长因子的异常分泌和细胞周期的激活似乎是阻碍 OPCs 细胞分化的重要机制。PDGF 和 bFGF 可促进 OPCs 增殖, 抑制其分化^[19]。FGF2 甚至可以刺激有丝分裂后少突胶质细胞重新进入细胞周期的 S 期^[20]。细胞周期的激活可使 OPCs 处于增殖状态, 导致 OPCs 分化的缺失, 此外, 细胞周期退出失败可导致少突胶质细胞凋亡, 阻碍少突胶质细胞分化^[21]。有研究指出, 抑制 PDGF 受体信号可以促进少突胶质细胞分化^[22]。本研究发现, PDGF 可防止 OPCs 从细胞周期中退出(抑制细胞周期退出), 增加 S 期和 G2 期细胞数。10 $\mu\text{mol/L}$ 喹硫平可刺激 OPCs 细胞周期退出, 抑制 PDGF 诱导的细胞周期激活。由于细胞周期退出是细胞分化的前提条件, 喹硫平可通过调节少突胶质细胞的细胞周期进程, 促进少突胶质细胞分化, 减轻髓鞘脱髓。

p21 是一种细胞周期蛋白依赖性激酶 (CDK) 抑制剂, 能够影响所有的细胞周期蛋白复合物^[23]。p21 与细胞周期退出增加有关, 而下调 p21 可导致少突胶质细胞周期退出减少^[24]。与此相反, p21 还可以作为一种正向的细胞周期调节剂, 通过促进活性周期蛋白 D1/CDK4 复合物, 刺激少突胶质细胞的 S 期进入细胞周期^[25]。本实验使用 shRNA 敲低 p21 的表达, 观察到 OPCs 增殖数量明显增加 (BrdU⁺ 标记) 和成熟少突胶质细胞数量显著减少 (MBP 标记)。可见 p21 作为细胞周期的负调控因子, 可能有利于奎硫平促进 OPCs 细胞分化的作用。

既往研究表明, 非典型抗精神病药物奥氮平可通过阻滞胶质瘤干细胞(GSCs)周期, 抑制其增殖并诱导其向少突胶质细胞分化^[26]。此外, 喹硫平还能通过促进 GSCs 向少突胶质细胞分化, 有效抑制

GSCs 启动的肿瘤生长, 发挥抗胶质瘤的作用^[27]。由此可见, 抗精神病药物喹硫平可能是临床治疗脱髓鞘疾病和恶性胶质瘤的一种有效药物。虽然抗精神病药物喹硫平在体外能够有效调节少突胶质细胞的细胞周期进程, 促进少突胶质细胞分化, 减轻髓鞘脱髓, 但是在体内能否对 p21 起到有效的调节作用, 仍需要进一步的验证。综上所述, 喹硫平可能通过调节少突胶质细胞的细胞周期来调节少突胶质细胞的分化。

参考文献:

- [1] 刘珺, 管娟, 周聪. 3 种抗精神病药物治疗精神分裂症对糖脂代谢、肝功能及心功能的影响[J]. 川北医学院学报, 2020, 35(1): 61-64.
- [2] VIKHREVA O V, RAKHMANOVA V I, ORLOVSKAYA D D, et al. Ultrastructural alterations of oligodendrocytes in prefrontal white matter in schizophrenia: a post-mortem morphometric study[J]. Schizophr Res, 2016, 177(1/2/3): 28-36.
- [3] WHITE T, EHRLICH S, HO B C, et al. Spatial characteristics of white matter abnormalities in schizophrenia[J]. Schizophr Bull, 2013, 39(5): 1077-1086.
- [4] YAN Y, QIAO S, KIKUCHI C, et al. Propofol induces apoptosis of neurons but not astrocytes, oligodendrocytes, or neural stem cells in the neonatal mouse hippocampus[J]. Brain Sci, 2017, 7(10): 130.
- [5] KATSEL P, ROUSSOS P, FAM P, et al. The expression of long noncoding RNA NEAT1 is reduced in schizophrenia and modulates oligodendrocytes transcription[J]. NPJ Schizophr, 2019, 5(1): 3.
- [6] NEUMANN B, KAZANIS I. Oligodendrocyte progenitor cells: the ever mitotic cells of the CNS[J]. Front Biosci, 2016, 8(1): 29-43.
- [7] ABRAHAMSEN G, MCGRATH J J, MACKAY-SIM A. Altered cell cycle dynamics in schizophrenia[J]. Biol Psychiatry, 2012, 71(2): 129-135.
- [8] XU H, YANG H J, MCCONOMY B, et al. Behavioral and neurobiological changes in C57BL/6 mouse exposed to cuprizone: effects of antipsychotics[J]. Front Behav Neurosci, 2010, 4: 8.
- [9] XU H, YANG H J, LI X M. Differential effects of antipsychotics on the development of rat oligodendrocyte precursor cells exposed to cuprizone[J]. Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci, 2014, 264(2): 121-129.
- [10] MCCARTHY K D, DEVELLIS J. Preparation of separate astroglial and oligodendroglial cell cultures from rat cerebral tissue[J]. J Cell Biol, 1980, 85(3): 890-902.
- [11] WANG S C, LIAO L S, WANG M, et al. Regulated necrosis induced by glutamate in rat retinal neurons via CAST/Calpain2 pathway[J]. Front Cell Neurosci, 2018, 11: 425.

- [12] SIEGENTHALER J A, MILLER M W. Transforming growth factor beta 1 promotes cell cycle exit through the cyclin-dependent kinase inhibitor p21 in the developing cerebral cortex[J]. *J Neurosci*, 2005, 25(38): 8627-8636.
- [13] 左埏莲, 欧孜, 杨雪瑶, 等. 长链非编码RNA MALAT1在神经系统相关疾病中的作用[J]. *中南医学科学杂志*, 2020, 48(1): 1-4.
- [14] 谭梅娟, 李靖. 抗精神病药影响血脂代谢的巢式病例对照研究[J]. *热带医学杂志*, 2020, 9: 1203-1205.
- [15] KATSEL P, DAVIS K L, LI C, et al. Abnormal indices of cell cycle activity in schizophrenia and their potential association with oligodendrocytes[J]. *Neuropsychopharmacology*, 2008, 33(12): 2993-3009.
- [16] MI G Y, GAO Y Y, LIU S, et al. Cyclin-dependent kinase inhibitor flavopiridol promotes remyelination in a cuprizone induced demyelination model[J]. *Cell Cycle*, 2016, 15(20): 2780-2791.
- [17] ADILIJANG A, GUAN T, HE J, et al. The protective effects of areca catechu extract on cognition and social interaction deficits in a cuprizone-induced demyelination model[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2015, 2015: 426092.
- [18] GUDI V, GINGELE S, SKRIPULETZ T, et al. Glial response during cuprizone- induced deand remyelination in the CNS: lessons learned[J]. *Front Cell Neurosci*, 2014, 8(6): 73.
- [19] LOVESON K F, FILLMORE H L. Intersection of brain development and paediatric diffuse midline gliomas: potential role of microenvironment in tumour growth[J]. *Brain Sci*, 2018, 8(11): 200.
- [20] HAJKA D, DUDA P, WÓJCICKA O, et al. Expression of Fbp2, a newly discovered constituent of memory formation mechanisms, is regulated by astrocyte-neuron crosstalk[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(18): 6903.
- [21] BYRNES I, STOICA B, BYRNES K R, et al. Role of the cell cycle in the pathobiology of central nervous system trauma[J]. *Cell cycle*, 2005, 4(9): 1286-1293.
- [22] HUANG H, ZHAO X F, ZHENG K, et al. Regulation of the timing of oligodendrocyte differentiation: mechanisms and perspectives[J]. *Neurosci Bull*, 2013, 29(2): 155-164.
- [23] NAKAMURA M, OBATA T, DAIKOKU T, et al. The association and significance of p53 in gynecologic cancers: the potential of targeted therapy[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(21): 5482.
- [24] PALAZUELOS J, KLINGENER M, AGUIRRE A. TGF- β signaling regulates the timing of CNS myelination by modulating oligodendrocyte progenitor cell cycle exit through SMAD3/4/FoxO1/Sp1[J]. *J Neurosci*, 2014, 34(23): 7917-7930.
- [25] BANSAL R, MARIN-HUSSTEGE M, BRYANT M. S-phase entry of oligodendrocyte lineage cells is associated with increased levels of p21Cip1[J]. *J Neurosci Res*, 2005, 80(3): 360-368.
- [26] GUO Q H, YANG H J, WANG S D. Olanzapine inhibits the proliferation and induces the differentiation of glioma stem-like cells through modulating the Wnt signaling pathway in vitro[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 19(13): 2406-2415.
- [27] WANG Y, HUANG N, LI H, et al. Promoting oligodendroglial-oriented differentiation of glioma stem cell: a repurposing of quetiapine for the treatment of malignant glioma[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(23): 37511-37524.
- (童颖丹 编辑)
- 本文引用格式:** 王澜, 陈浙丽, 徐亮, 等. 抗精神病药喹硫平对少突胶质细胞周期的影响及其作用机制研究[J]. *中国现代医学杂志*, 2021, 31(14): 40-46.
- Cite this article as:** WANG L, CHEN Z L, XU L, et al. The effect of quetiapine on the cell cycle of oligodendrocytes and its mechanism[J]. *China Journal of Modern Medicine*, 2021, 31(14): 40-46.