

综述

细胞周期蛋白依赖性蛋白激酶 5 在中枢神经系统发育和神经退行性疾病中的作用

陈洁, 王中峰*

复旦大学脑科学研究院, 神经生物学研究所, 医学神经生物学国家重点实验室, 上海 200032

摘要: 脯氨酸诱导的丝/苏氨酸蛋白酶——细胞周期蛋白依赖性蛋白激酶 5 (cyclin-dependent kinase 5, Cdk5) 是细胞周期素依赖的蛋白酶家族中一个特殊成员。Cdk5 不参与细胞周期调控, 其活化需要与神经元内广泛表达的激活因子——p35 或 p39 相结合。正常情况下, Cdk5 的转录及活性受到体内相关机制的严格调控。在神经系统发育及成熟阶段, Cdk5 通过磷酸化细胞骨架蛋白、信号分子以及调节蛋白等众多底物蛋白的特异性丝/苏氨酸位点, 在神经元的迁移分化、存活和突触的发生、信息传递、可塑性等诸多方面发挥重要的作用。此外, 在一些病理条件下, p35 的病理性剪切和 Cdk5/p25 的形成所导致的 Cdk5 活性失调及其亚细胞分布改变则促进了神经元的凋亡或死亡, 参与了阿尔茨海默氏病 (Alzheimer's disease, AD)、帕金森氏病 (Parkinson's disease, PD)、亨廷顿氏病 (Huntington's disease, HD) 以及脊髓侧索硬化症 (amyotrophic lateral sclerosis, ALS) 等众多神经退行性疾病的发生发展过程。本文综述了 Cdk5 在中枢神经系统发育和神经退行性疾病中的作用研究方面的进展。

关键词: 细胞周期蛋白依赖性蛋白激酶 5; p35; p25; 突触传递; 突触可塑性; 神经元存活; 神经元死亡; 神经退行性疾病

中图分类号: R363.1+3; R363.2+1

Roles of cyclin-dependent kinase 5 in central nervous system development and neurodegenerative diseases

CHEN Jie, WANG Zhong-Feng*

Institutes of Brain Science, Institute of Neurobiology and State Key Laboratory of Medical Neurobiology, Fudan University, Shanghai 200032, China

Abstract: Cyclin-dependent kinase 5 (Cdk5) is a proline-directed serine/threonine kinase, and plays multiple roles in neuron development and synaptic plasticity. The active form of Cdk5 is found primarily in the central nervous system (CNS) due to its activator proteins p35 or p39 ubiquitously expressed in neuronal cells. Normally, the transcription and activity of Cdk5 are strictly regulated by several ways. In the physiological condition, Cdk5 plays a key role in the CNS development by phosphorylating the specific serine or threonine site of numerous substrate proteins that are closely associated with the neuronal migration, synaptogenesis, synaptic transmission as well as synaptic plasticity. Under pathological conditions, p35 can be truncated into p25, which can strongly and consistently activate Cdk5, change the cellular localization of Cdk5 and lead to neuronal death ultimately. The increasing evidence has showed that Cdk5 is involved in the pathogenesis of many neurodegenerative diseases, such as Alzheimer's disease, Parkinson's disease, Huntington's disease and amyotrophic lateral sclerosis etc., indicating that Cdk5 may be a potential target in the treatment of the neurodegenerative diseases. In this article, we reviewed the recent progress regarding the roles of Cdk5 in CNS development and neurodegenerative diseases.

Received 2010-06-30 Accepted 2010-07-30

This work was supported by the National Basic Research Development Program of China (No. 2006CB500805, 2007CB512205), the National Natural Science Foundation of China (No. 30870803, 30930034, 30900427), Pujiang Talent Project of the Shanghai Science and Technology Committee (No. 08PJ14016), and the 211 Project of the Ministry of Education of China.

*Corresponding author. Tel: +86-21-54237810; Fax: +86-21-54237643; E-mail: zfwang@fudan.edu.cn

Key words: cyclin-dependent kinase 5; p35; p25; synaptic transmission; synaptic plasticity; neuronal survival; neuronal death; neurodegenerative diseases

1 引言

细胞周期蛋白依赖性蛋白激酶 5 (cyclin-dependent kinase 5, Cdk5) 从 1992 年开始被多个实验室先后发现, 并被予以不同的命名。1992 年 Hellmich 等报道, 从大鼠脑组织 cDNA 文库中克隆出一种细胞周期依赖性蛋白激酶, 这是 Cdk2 家族中继 p34^{Cdc2} (又称 Cdk1) 和 Cdk2 之后的第 3 个成员, 称为 neuronal-Cdc2 样蛋白激酶 (NCLK), 其氨基酸序列有 58% 与小鼠的 Cdk1 同源, 有 61% 与人类的 Cdk2 同源^[1]。此前的体外生化实验报道, Cdk1 可以磷酸化哺乳动物神经纤维重型和中等类型亚基上的氨基酸序列上重复出现的 KSP (Lys-Ser-Pro) 模序^[2], 而 NCLK 与 Cdk1 在结构上的相似性, 以及其高表达于分化的细胞(神经元)上的特性, 提示了其不参与细胞周期调节, 而在神经元活动和神经系统中起重要作用的可能性。同一时期, Meyerson 等利用 Hela 细胞 mRNA 和 RT-PCR 技术也在寻找真核细胞系统中可能起重要作用的 Cdk5, 其中包括 PSSALARE 激酶^[3], 即后来被命名的 Cdk5。而在同一年, Lew 等在牛的脑组织中发现了结构上与 Cdc2 相似的分子, 他们称之为脑脯氨酸引导的蛋白激酶 (brain proline-directed protein kinase, BDPK)^[4, 5]。而 Ishiguro 等所发现的 Tau 蛋白激酶 II (TPKII) 亦为同一物质, 它可以磷酸化用来检测 Ser/Thr 脯氨酸蛋白激酶活性的 tau 片段肽段^[6]。直到 1993 年, Kobayashi 等的报道证实, TPKII 中 30 kDa 大小的亚基与之前备受关注的一种 Cdc2 相关激酶 (PSSALRE/cdk5) 高度同源, 两者在微管相关蛋白 tau 上具有相同的磷酸化位点^[7]。其后, 学界统一这些名称为 Cdk5, 用来定义以上活化的酶中这种 30 kDa 的蛋白亚基。

Cdk5 基因定位于 7 号染色体, 具体为 7q36, 是一个 3.95 kb 长度的 DNA 序列。它含有 12 个外显子, 控制 987 bp 的转录。Cdk5 蛋白分子量为 33 kDa。单体 Cdk5 无活性, 当与其激活因子结合之后, Cdk5 特异性磷酸化其底物蛋白的丝氨酸和苏氨酸位点。但这种磷酸化的发生对底物蛋白的氨基酸序列有一定要求, 即丝/苏氨酸的下游(+1 位)必需紧接脯氨酸, 而且在 +3 位最好有碱性基团(赖氨酸和精氨酸)。综合来说, Cdk5 的磷酸化底物一般都

有特定的 S/TPXK/R 序列^[8]。

作为 Cdc2 家族的一员, Cdk5 的结构与其它 Cdk5 有明显的序列相似性。它与大部分真核细胞蛋白激酶类似, 由一个催化结构域 (ePK) 和周围的调节基团所构成。在这个催化结构域上有一个由 β 折叠构成的 N-端区域和 α 螺旋组成的 C 区, 这两个区域之间有一个袋状 ATP 结合区。

在神经系统发育及成熟阶段, Cdk5 通过磷酸化细胞骨架蛋白、信号分子以及调节蛋白等众多底物蛋白的特异性丝/苏氨酸位点, 而在神经元的迁移分化、存活和突触的发生、信息传递、可塑性等诸多方面起到了重要的作用。此外, 在一些病理条件下, p35 的病理性剪切和 Cdk5/p25 的形成所导致的 Cdk5 活性失调及其亚细胞分布改变则促进了神经元的凋亡或死亡, 参与了阿尔茨海默氏病 (Alzheimer's disease, AD)、帕金森氏病 (Parkinson's disease, PD)、亨廷顿氏病 (Huntington's disease, HD) 以及脊髓侧索硬化症 (amyotrophic lateral sclerosis, ALS) 等众多神经退行性疾病的发生发展过程。本文就 Cdk5 在中枢神经系统 (central nervous system, CNS) 发育中的生理作用, 以及在一些病理条件下的功能改变做一综述。

2 Cdk5 的活化及调控

尽管 Cdk5 与其它 Cdk5 在分子结构上比较类似, 但其活化方式却明显不同于其它 Cdk5 家族成员。早期研究发现, 单体形态的 Cdk5 在真核细胞体内各组织均有分布, 但只有脑组织中的 Cdk5 呈现高度的激酶活性。进一步的研究结果显示, Cdk5 需要与 p35、p39 等激活因子相结合而被激活, 而这些激活因子只特异地分布在 CNS^[9, 10]。近来有研究表明, Cdk5 的活化并不局限于 CNS^[11]。例如, Cdk5 在神经肌肉接头的部位可被乙酰胆碱活化从而导致突触后乙酰胆碱受体聚集体的解离^[12, 13]。亦有研究报道, cyclin E 和 RINGO 等也可以调节 Cdk5 的活性^[14]。但大量研究表明, Cdk5 在 CNS 发挥着尤为重要的作用; 而 p35 和 p39, 作为 Cdk5 最主要的激活因子, 在 Cdk5 介导的众多生理功能中起着不可替代的作用^[15, 16]。

2.1 p35、p39 —— Cdk5 的激活因子

p35或p39的蛋白表达量是神经元中Cdk5活性的主要决定因素,而前两者的量则由其合成和降解平衡来决定^[17]。Cdk5活化需要同两者之一结合,但两者共存对于Cdk5活性调节的意义尚不明确。

据报道,在大鼠CNS发育的不同阶段,Cdk5、p35以及p39的表达呈现明显的区域和时空特异性。例如,在成年大鼠的大脑部位,p35的mRNA表达水平要明显高于脊髓,但p39的表达分布特性则刚好相反^[18]。Cdk5蛋白表达量从E12直至出生后7天开始增加,然后维持在这一水平直到18月龄,但Cdk5酶活性以及p35的mRNA和蛋白水平在E12时低,继而在E18至出生后14天显著增高,而后却在成年至老年阶段下降。而p39的表达特性与Cdk5和p35刚好相反^[19]。

众多研究揭示p35可通过自身合成与代谢平衡来调节Cdk5的活性,但目前对于p39如何代谢,又如何进而调节Cdk5的活性还知之甚少。Yamada等报道:Cdk5-p39与Cdk5-p35具有相同的底物特异性,但它们对去垢剂的敏感性则相反。在去垢剂存在的情况下,p39与Cdk5的结合力低于p35;较之于Cdk5-p35,p39与Cdk5形成的复合物要不稳定的多^[20]。这种稳定性的差异提示两者可能在神经元调节机制中起不同作用。另有研究发现,p35-Cdk5主要分布在胞浆,而p39-Cdk5则主要分布于胞核,p39和p35在核聚集的这种差异也提示两者功能的隔离^[21]。

但已知的是p35或p39对Cdk5的活化方式存在相似之处,例如,两者都可以被calpain所剪切,去除N端的十四烷酰基化(myristoylation)序列,成为更为稳定的p25或p29,进而改变Cdk5在细胞内的定位及活性^[17, 21, 22]。

2.2 p35对Cdk5活性调节的主要形式

p35对Cdk5的活性有着极为重要的调节作用。最早研究发现,p39基因敲除小鼠没有检测出明显的表型异常,与野生型小鼠无异;但p35基因敲除小鼠则发生明显的神经发育障碍^[15],具体表现为皮层分层障碍、癫痫和死亡^[23]。而这些病理改变与Cdk5基因特定靶点破坏的小鼠模型有着极其相似的表型^[24]。所不同的是,p35基因敲除后产生的神经病理局限在皮层,而Cdk5基因敲除或破坏后产生的病理改变除皮层外,在海马和小脑也很严重。

根据Amin等的研究报道,Cdk5的活化需要与

p35的三个位点相结合^[16]。有研究报道,在整个发育阶段,Cdk5的蛋白表达量没有显著的变化,稳定在一个相对丰富的水平。Cdk5活性变化以及后续对生理的调控或病理状态下引发的反应,主要靠p35以及p39的表达或分布变化来实现。

2.2.1 p35的时空表达特性 Delalle等研究了p35在胚胎期、出生后早期和成年时期小鼠CNS中的表达和时空分布特性。他们发现,p35的mRNA在有丝分裂后期的细胞离开其增殖区后就开始表达。发育过程中的大脑神经轴突束中也有p35的mRNA的表达。而Cdk5的mRNA在整个胚胎期的分裂后期和增殖期的CNS细胞中都有表达。至出生后早期,p35的mRNA表达下降,而Cdk5的mRNA则表达增高。而在成年小鼠的脑组织中,两者都相对高表达于一些特定脑区,如边缘系统。这些研究提示,Cdk5/p35在神经元发育早期与神经元的迁移、轴突的生长密切相关;而在成年时期,则更多的是参与边缘系统及相关脑区神经元的突触可塑性^[25]。

Hallows等在p35基因敲除小鼠脑内发现,Cdk5的活性下降了38%。而且p35的缺失使得Cdk5向周围神经突起结构发生了再分布。同时,与Cdk5相关的骨架蛋白tau和MAP2B从细胞胞体和突触近段向神经纤维网的远端发生分布转移^[26]。这些发现提示,p35可以调节Cdk5的活性以及亚细胞分布,而Cdk5的亚细胞分布改变会对其特异磷酸化底物的功能及后续细胞事件产生重要的影响。

2.2.2 p35的病理性剪切 众多文献表明,在某些因素,如炎症、氧化应激和兴奋性毒性刺激等促发钙稳态失衡或兴奋性毒性的情况下,p35和p39可被特定蛋白酶(如calpain)剪切,失去锚定在细胞膜上的N端序列,形成半衰期更长的p25和p29^[27-29]。p25和p29与Cdk5结合形成的复合物可以在胞浆和胞核内更广泛的分布,从而从时空上扩大Cdk5对其底物的磷酸化调节作用。Tarricone等首次报道了Cdk5-p25复合物的晶体结构示意图^[30]。如图1所示,p25与Cdk5的PSSALRE螺旋区域相结合。另外,两者在Cdk5的T-loop活化区还有更广泛的接触。

p25与cyclins在结构上有部分相似,但它对Cdk5的酶活具有特异的调节方式。Cdk5上的Ser159氨基酸残基,相当于Cdk2上的Thr160位残基,决定了Cdk5与p25的特异性结合;如果用苏氨酸替代该位点,则可阻止两者的结合。另外有

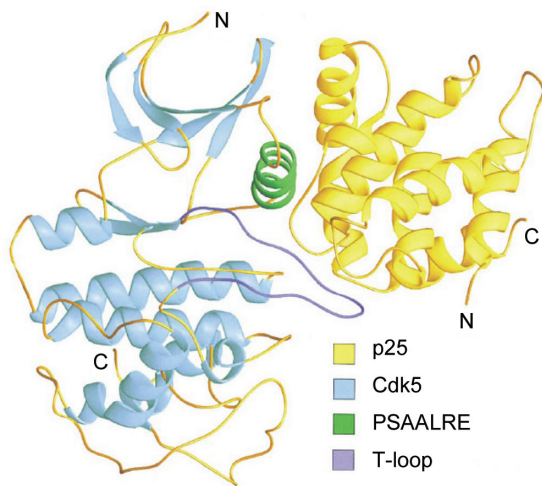


图 1. Cdk5-p25 复合物的带状结构前观示意图
Fig. 1. Structure of the Cdk5-p25 complex from the front view (reproduced from Tarricone *et al.*^[30]). N and C represent N and C termini, respectively.

证据表明, Cdk5/p25 采取了一些不同于 phospho-Cdk2-cyclin A复合物的机制来决定其底物的特异性。

2.2.3 p35 的降解 Patrick 等发现, p35 可通过泛素-蛋白酶体途径而被降解^[31]。在体情况下, 特异的蛋白酶体抑制剂 lactacystin 可以显著增强 p35 蛋白的稳定性。而 Cdk5 与 p35 结合以后对后者的磷酸化正是启动泛素-蛋白酶体降解途径的信号之一。实验显示, 用特异的 Cdk 激酶抑制剂 roscovitine, 或者过表达显性负相的 Cdk5, 都可以使得 p35 的稳定性提高 2~3 倍。同时, p35 的磷酸化位点突变型亦能增加其稳定性 2~3 倍。这些结果提示, 活化的 Cdk5 会导致 p35 磷酸化, 进而影响 p35 通过泛素-蛋白酶体途径被降解。

此外, Wei 等发现谷氨酸可以通过调节 p35 稳定性来间接调节 Cdk5 的活性^[32]。谷氨酸通过作用于其 NMDA 或 KA 受体, 诱发一个瞬变的 Ca^{2+} /calmodulin 依赖的对 Cdk5 的活化, 进而增强 p35 自体磷酸化和蛋白酶体降解, 最终下调 Cdk5 的活性。

2.3 Cdk5 和 p35 的转录调控机制

Cdk5 的转录受转录因子 Δ FosB 的调控。后者是 c-Jun 家族蛋白中的一员。Chen 等报道, 过表达 Δ FosB 的转基因小鼠脑内 Cdk5 mRNA 和蛋白表达水平上调^[33]。

p35 的转录可受 laminin 的调节。神经生长因子 (NGF) 和脑源性神经营养因子 (BDNF) 诱导了胞外信号调节激酶 (ERK) 所介导的 p35 的表达, 这个过程需

要转录因子早期生长反应蛋白 1 (EGR-1) 的参与。EGR-1 与 p35 的表达启动子相结合, 从而诱导 p35 的转录^[34]。

此外, 转录因子 Brn-1 和 Brn-2 也涉及到 p35 和 p39 的表达调控中。因为有文献报道, Brn-1 和 Brn-2 基因敲除小鼠表现有和 Cdk5 缺失小鼠相同的皮层分层缺陷。原位杂交研究进一步证实, 这些小鼠皮层和海马迁移期的神经元中没有 p35 和 p39 的表达。这些结果提示了 Brn-1 和 Brn-2 对 p35 和 p39 的表达具有重要的调控作用^[35]。

另据报道, 核蛋白 SET 可与 p35 的 N 端相结合并增强 Cdk5-p35 的活性^[36]。核糖体蛋白 L34 是 Cdk5 活性抑制剂^[37]。DNA 结合蛋白 dpba 亦可与 Cdk5 结合并抑制其活性^[38]。此外, 同其它 Cdc 家族激酶一样, Cdk5 特定位点磷酸化也可以调节其活性。Sharma 等报道, Cdk5 上 Ser159 位点磷酸化可影响其催化活性, 酪氨酸蛋白激酶 Casein-1 可以在体外磷酸化并激活 Cdk5^[39]。

3 Cdk5 在 CNS 发育过程中的表达与作用

3.1 发育过程中 Cdk5 的表达与分布变化

根据 Tsai 等的报道, 在胚胎期小鼠的前脑中发现 Cdk5 的表达及其活性都随增殖周期后细胞数目的增加而呈进行性的增加^[40]。这一点明显不同于 Cdc2 和 Cdk2 等周期相关蛋白的表达变化(在 E11 表达最盛, 继而减弱到 E17 几乎检测不到)。免疫组化检测结果显示, Cdk5 表达在分裂周期后的神经元, 而不表达于胶质细胞或者有丝分裂活跃的细胞中。更进一步的分析发现, Cdk5 主要分布于分裂周期后神经元成簇的轴突部位。以上揭示在胚胎期神经系统的发育阶段, Cdk5 可能不参与细胞周期分裂而是在神经元的分化过程中起作用。

Hirooka 等对发育阶段大鼠视网膜中 Cdk5 的表达变化做了研究^[41]。他们发现, 大鼠出生后 1~3 周, Cdk5 和 p35 的表达开始增加, 直至 4 周开始降低; Cdk5 的活性变化与蛋白表达变化趋势相一致。免疫组织化学研究结果显示, 在视网膜发育早期, Cdk5 表达在视网膜神经节细胞和内核层 (INL) 的一些细胞上; 随发育进展, 也可以在网膜状层 (IPL) 发现有 Cdk5 的表达。而在成年, Cdk5 的表达则局限于 IPL 和内核层的一些细胞。另一方面, 在视网膜发育阶段, p35 的表达局限于神经元的胞体上。这种亚细胞分布特征与发育时期 p35 在大鼠大脑组织上的表

达特征相一致。暗环境下生后3周的大鼠视网膜中 Cdk5 表达及活性都要低于对照组, 这些结果提示 Cdk5/p35 在大鼠视网膜发育期参与神经元可塑性的调控。

3.2 Cdk5 在 CNS 发育过程中的作用

在发育阶段, Cdk5 参与神经元分化、迁移, 轴突生长以及突触发生。其作用广泛, 原因在于它可以磷酸化多种含 KSPXK 序列的细胞骨架蛋白, 包括神经纤维、微管相关蛋白 tau 和有丝分裂原激活蛋白 MAPs 等。磷酸化调节了细胞骨架蛋白之间的动态结合及稳态维持, 在神经元发生和轴突辐射生长的各个方面都起到了重要作用^[42]。

3.2.1 神经元的迁移与分化 神经元的迁移经历了三个阶段: 前导延伸、核易位(又名核运动)和后续的回缩过程。前导延伸发生在轴突远端, 始于生长锥的形成; 或是发生于树突, 始于树突棘的形成。这个过程由微丝聚合主导完成, 它整合胞外信号并受 Rho-GTP 激酶家族调控。而第二阶段的核易位, 则需要依靠微管网络来完成, 其中涉及的关键分子有: PAFAH1B1(又名 Lis1)和 doublecortin (DCX)。已有研究证实, 人类这两个基因的突变会导致 I 型无脑回症。Lis1 和 DCX 都可与微管相结合; 而且两种 Lis1 相关蛋白, Nudel 和哺乳动物 NudE 蛋白, 皆是 dynein 运动复合物的构成成分, 它们构成了微管组织的中心。Niethammer 等报道, 哺乳动物 Lis1 可以调节 dynein 的功能。而 Nudel 作为一种 Lis1 相关蛋白, 在中心粒和神经元的生长锥部位大量表达; 另一方面 Nudel 是 Cdk5 的底物, 所以 Lis1、Nudel、dynein 均与 Cdk5 直接或间接相联系, 进而在神经突的生长和神经元的迁移过程中发挥作用^[43]。另有研究报道, Cdk5 或 p35 突变的小鼠会出现类似核运动受损的迁移障碍。而在迁移的收尾阶段, 整个皮层结构的形成则需要整合 Reelin 信号途径的作用。这些信号途径包括脂蛋白受体家族, 胞内转接子 Dab1 以及其他。整合素 $\alpha_3\beta_1$ 也很可能参与其中。而 Reelin 信号缺损会导致另一表型的无脑回症^[44]。

近来发现 Cdk5、p35、Reelin、Disabled 和 LDL 受体超家族成员都参与调控神经元的迁移过程^[45, 46]。Gliimore 等发现, II-V 层皮层锥体神经元的迁移可因 Cdk5 的缺乏而被完全阻断, 而只有 I 和 VI 层中一些 GABA 能的神经元和细胞的迁移可以不依赖于 Cdk5^[47]。Aboitiz 等提出 Reelin、Cdk5 和 p35 在哺

乳动物皮层发育“inside-out”型分层形成过程中起关键作用的假说。他们认为, Cdk5/p35 激酶途径和 Reelin 两者协同促成哺乳动物皮层“inside-out”型结构的形成。活化的 Cdk5/p35 参与调节迁移神经元越过先前已存在的皮层, 而同时 Reelin 则发挥阻止神经元向边缘皮层(皮层 I)过度迁移的作用^[46]。另据 Xie 等报道, Cdk5 可以通过磷酸化 FAK (focal adhesion kinase)的 Ser732 位点, 而对神经元的迁移过程中核定位和移动时微管结构叉的形成发挥着关键的调节作用^[48]。此外, 在体情况下, Cdk5 磷酸化 DCX 的 Ser297 位点可以降低 DCX 结合于稳定微管的能力^[49]。

3.2.2 神经突生长和轴突延伸 Cdk5/p35 的活性在 CNS 神经发生过程中呈逐增趋势。早在 1996 年, Nikolic 等就提出, Cdk5/p35 激酶是神经元分化过程中神经突生长所必需的因素。他们发现 Cdk5 和 p35 蛋白表达于发育阶段神经元的生长锥部位; Cdk5 的显性负相(dominant-negative)突变(cdk5N144 和 cdk5T33)表达则抑制了神经突的生长^[50]。1999 年, Kwon 等研究报道了 p35 缺乏之后会影响胼胝体神经轴突的成簇化和导向生长^[51]。

细胞与胞外基质之间的黏附及相关信息传递主要由 α/β 异构的整合素蛋白家族所介导。2001 年, Li 等报道, 整合素 $\alpha_1\beta_1$ 介导的 Cdk5 的活化参与了神经突的生长和人类神经纤维蛋白 H Lys-Ser-Pro 尾端区域的磷酸化^[52]。

根据 Zukerberg 等的报道, 活化的 c-AbI 酪氨酸激酶可以磷酸化 Cdk5 的 Y15 酪氨酸位点, 进而调节 Cdk5/p35 的酶活性。而 Cables 蛋白可以增强这种磷酸化。抑制 Cables 可以阻抑神经突的生长。而活性 c-AbI 的表达则促进神经突的延伸生长。所有这些结果提示 Cdk5 在神经突生长过程中可能起促进作用^[53]。

3.2.3 突触发生 Cdk5 可以调节 Rho GTP 酶的活性, 影响细胞骨架网络的动力学特性, 从而在突触的发生与维持中也起重要作用。Fu 等发现, Cdk5 可以通过一种 ephexin1 依赖性的机制参与调节突触发育过程中 EphA4 所介导的树突棘的回缩。他们发现阻断 Cdk5 的活性可以抑制 ephrin-A4 依赖的树突棘的回缩, 降低小鼠海马区微小兴奋型突触后电流(mEPSC)的频率, 由此得出 EphA4 介导树突棘回缩的机制在于: 活化的 EphA4 可以募集并结合 Cdk5, 从而磷酸化 Cdk5 酪氨酸位点并使之活化。两者进

一步增强一种鸟苷酸转换因子 ephexin1 的活性, 而后者可以调节小 Rho GTP 酶家族蛋白 RhoA 活性。同时, 他们发现 ephrin-A1 所介导的对树突棘密度的调控作用同样需要 Cdk5 对 ephexin1 的活化作用的参与^[54]。

2007年, Cheung 等研究发现 Cdk5 参与了 BDNF 所诱导的海马神经元的树突生长变化过程。Neurotrophins 是神经元存活和发育分化过程中一种重要的调节因子。它与其同源受体, 一种酪氨酸蛋白激酶家族(RTKs)受体——Trk 受体相结合, 进而作用于下游的信号途径和效应分子。而他们发现 Cdk5 可以通过磷酸化这种 Trk 受体特定位点来调控 RTK 信号通路。例如, Cdk5 可以磷酸化 TrkB 受体胞内近膜区域的 Ser478 位点而参与调节 BDNF 所诱发的树突生长过程^[55]。

同年, Cheung 和 Ip 总结提出, 除了通过调节 Rho GTP 酶活性之外, Cdk5 还可以通过磷酸化众多参与神经突延伸、突触和树突棘成熟的胞外信号和营养因子下游通路中的底物蛋白来发挥其对神经突触发生与维持的调节作用^[56]。

4 Cdk5 在成熟期 CNS 中的作用

在成熟期 CNS 中, Cdk5 通过磷酸化涉及突触传递和突触可塑性的调控蛋白或受体, 调控神经递质释放及突触后结合效应, 参与调节学习记忆、痛觉感知及药物成瘾等过程。而在某些刺激状态下, 亦对神经元存活和死亡中起重要调控作用。

4.1 突触传递

神经元之间的信息交流有赖于有效的突触信息传递。突触传递包括神经递质的释放(由 exocytosis 介导)、内吞循环以及突触囊泡的运输等方面。

4.1.1 递质释放 Fletcher 等发现, Cdk5 可以通过磷酸化 Munc18a 上 Thy574 位点, 影响它与 syntaxin1a 的结合, 从而调节囊泡 SNARE 和 syntaxin1a 之间结合的水平以及后继的分泌反应^[57]。Tomizawa 等的研究工作提示, Cdk5/p35 可以通过磷酸化作用下调 P/Q 型电压依赖性钙通道的活性, 从而调节神经递质的释放^[58]。Chergui 等报道 Cdk5 可以在纹状体调节多巴胺能和谷氨酸能递质释放^[59]。Cdk5 负性调节纹状体多巴胺的突触后效应, 对突触前多巴胺的递质释放也有负性调节作用。另据 Amin 等的报道, Cdk5/p35 可以通过磷酸化 septin5 在 327 位的丝氨酸位点, 抑制其与 syntaxin-1 的结合, 从

而调节神经递质的出胞分泌^[60]。

4.1.2 递质囊泡的内吞循环 Amphiphysin 1 是在神经元内高表达的一种磷蛋白, 它参与突触囊泡的内吞和神经突的生长过程。有报道提出, amphiphysin 1 具有被 Cdk 激酶家族磷酸化的特性(包括 Cdk5)^[61]。

突触囊泡内吞(synaptic vesicle endocytosis, SVE)由 calcineurin 介导的 dephosphins 蛋白脱磷酸化事件所触发。该过程的维持需要一些激酶继发调节 dephosphins 的重新磷酸化。而 Cdk5 就是在神经末梢发现的第一个 dephosphins 激酶, 它在 SVE 循环中起关键作用^[62]。他们发现, 体外实验条件下, Cdk5 可以磷酸化 dynamin1 的 Ser774 和 Ser778 位点。而 Cdk5 的拮抗剂或显性负相突变则阻断 dynamin1 的磷酸化, 继而抑制 SVE。

Synaptojanin1 是在突触前的神经末梢高浓度表达的一种聚磷酸肌醇磷酸酶, 它可以使得 4, 5-二磷酸磷脂酰肌醇脱磷酸化, 从而在突触囊泡的回收循环中发挥作用。而有研究发现, Cdk5 可以磷酸化 synaptojanin1 的 Ser1144 位点, 调节其在突触部位的募集及活性, 从而在突触递质释放过程中对 4, 5-二磷酸磷脂酰肌醇的循环起调节作用^[63]。

2007年, Evans 和 Cousin 研究发现, Cdk5 调节活性依赖的慢型 SVE^[64]。强刺激过程中, 抑制 calcineurin 或 Cdk5 则会阻断活性依赖的膜标记蛋白 FM1-43 的摄取, 而 FM2-10 的摄取则不受影响, 但在刺激后, FM2-10 的摄取则对 Cdk5 和 calcineurin 的抑制比较敏感。这些结果提示突触末梢刺激之后有一种缓慢的内吞摄取持续进行。强刺激中抑制 Cdk5 则大大降低了胞膜来源的神经末梢内含体, 但突触囊泡的内吞回收不受影响。而在中等刺激过程中, FM1-43 的回收摄取不受影响, 但突触囊泡膜则通过单一的突触囊泡路线被特异摄取。结果提示内含体对膜的摄取途径受活性调控。这项研究提示 calcineurin/Cdk5 依赖性的 dephosphins 的磷酸化循环特异地调控一种缓慢的内含体摄取通路, 而这条通路可在神经末梢被较强的生理刺激所激活。

4.1.3 囊泡运输 2001年, Paglini 等的报道揭示, Cdk5/p35 激酶与 Golgi 复合体相关, 参与调节细胞膜的运输。用 olomoucine 抑制 Cdk5 的活性则阻断了细胞膜囊泡在 Golgi 复合体的形成^[65]。2002年, Smith 和 Tsai 等通过对 Cdk5 活性与细胞骨架蛋白, 胞膜和粘附蛋白系统之间联系的分析, 推测

Cdk5 在神经元的突触发生、神经递质传递及运输过程中可能具有重要作用^[66]。随后在 2004 年, Shea 等在鸡背根神经节神经元上的研究工作提示, Cdk5 调节轴突运输及神经纤维 NF 的磷酸化。他们发现 Cdk5 的过表达使得 NF 磷酸化增加, 但抑制了 NF 的轴突转运^[67]。

4.2 突触可塑性

越来越多的证据表明, Cdk5 可以通过磷酸化多种突触蛋白的特异位点而参与调节递质释放或突触后结合效应。Cdk5 通过蛋白-蛋白相互作用和对底物的磷酸化作用, 调节突触联系中受体的通道特性, 从而调节递质释放和结合效力。

Fu 等报道 Cdk5 在 neuregulin 所诱导的神经肌肉接头乙酰胆碱受体转录上调的过程中起到了重要的调控作用^[68]。

谷氨酸 N-甲基-D-天冬氨酸(NMDA)受体在突触可塑性、学习记忆长时程增强(long-term potentiation, LTP)的诱导, 以及痛感觉、药物成瘾等过程中都发挥着关键性的作用。而 Cdk5 在上述诸多方面也同样发挥着重要作用。

4.2.1 学习和记忆

最初 Cdk5 被推测可能参与突触可塑性以及学习记忆是起因于有关 Cdk5 可以调控 NMDA 受体表达及功能的研究。2001 年, Li 等在体外生化和分离细胞上的研究结果显示, Cdk5 可以直接结合并磷酸化 NMDA 受体 NR2A 亚基上 1232 位点的丝氨酸残基, 从而调控 NMDA 受体所介导的谷氨酸电流。Cdk5 抑制剂 roscovitine 孵育大鼠海马脑片之后, 影响了 CA1 区 NMDA 受体依赖的 LTP 的诱导及 NMDA 受体介导的电流。这些结果提示 Cdk5 通过上调 NMDA 受体的活性, 参与突触递质释放和可塑性的调控^[69]。

Bibb 等报道, Cdk5 条件性基因敲除小鼠空间学习和记忆能力都明显优于对照组, 其原因在于 Cdk5 可易化 calpain 对 NMDA 受体 NR2B 亚基的降解作用, 而 Cdk5 基因敲除之后, 脑组织中总体和膜表面 NR2B 的蛋白表达量增加, NR2B 亚基所介导的兴奋性突触后电流增强, 从而参与对学习和突触可塑性的调节^[70]。另外, Zhang 等报道, Cdk5 可以调节 NR2B 亚基 1472 位酪氨酸位点的磷酸化, 从而调控膜表面的 NMDA 受体的表达^[71]。

2002 年, Fischer 等报道, 联合型学习需要 Cdk5 的参与^[72], 这是首次提出 Cdk5 参与调控学习和记忆观点的研究工作。此后, Fischer 等发现 Cdk5 也参

与场景恐惧记忆的调节^[73]。紧接着, 又有一些在体实验的证据支持 Cdk5 参与了与学习和记忆相关的一些突触可塑性的调控。例如, Ohshima 等发现 p35 基因敲除的小鼠其 LTD 的诱导及空间学习能力都明显受损^[74]。另外, p35 基因敲除小鼠 LTP 诱导的阈值也降低^[32]; 而短暂性过表达 p25 可以增强 LTP 及小鼠的联合型学习能力^[75]。这些发现提示, Cdk5 对突触可塑性、学习和记忆有着重要的调节作用。

4.2.2 痛感觉

痛觉的感知涉及一类被称为伤害性感受器(nociceptors)的受体的参与。涉及这种伤害性感受器调控的信号通路主要有 MAPK 和钙-钙调蛋白(CAMKII)激酶途径。而 Cdk5/p35 与这两条激酶途径都有密切联系。 Δ FosB, Cdk5 的一个转录调节子, 已知在痛感觉过程中发生上调。Pareek 等将 Cdk5 列入了疼痛调节子的归类中^[76]。Cdk5 和 p35 在感受器神经元上有表达; 炎症刺激之后, Cdk5 活性增加。p35 基因敲除小鼠则对伤害性热刺激表现出延迟的反应, 而 p25 过表达的转基因小鼠则对伤害性热刺激比较敏感。这些结果提示, Cdk5 参与初级痛觉信息的输入。Wang 等的研究发现, 用 Roscovitine 抑制 Cdk5 活性之后, 减弱了大鼠对 formalin 所诱导的伤害性刺激的反应^[77]。

4.2.3 药物成瘾

根据 Bibb 等的报道, Cdk5 是转录因子 Δ FosB 的一个下游目标基因^[78]。可卡因戒断之后很长时间, 这个转录因子都会持续在纹状体表达。因此, 在可卡因慢性摄取导致的药物成瘾过程中, Δ FosB 持续激活, 它可以长时间调节 Cdk5 的转录, 提高纹状体部位 Cdk5 的 mRNA 和蛋白表达水平, 上调 Cdk5 的活性, 进而调控该区域 D1 多巴胺受体信号通路^[78, 79]。

4.3 神经元存活和死亡

4.3.1 促神经元死亡作用

Cdk5 及其激活蛋白 p35 对神经元的存活或死亡具有重要的调控作用。自 1997 年开始, 即有研究发现 Cdk5 与发育中细胞凋亡及组织重塑相关^[80]。Gao 等研究发现 Cdk5 可以促进热休克刺激后星形细胞瘤的凋亡^[81]。先前有文献报道, 针对 CDKs 的小分子的抑制剂能发挥神经元保护作用。Weishaupt 等选用更为特异的一组 CDKs 的抑制剂进行尝试, 发现只有能阻断 Cdk5 活性的抑制剂才有神经元保护作用^[82]。另一方面, 众多学者发现, Cdk5 的激活蛋白 p35 也参与调控神经元的凋亡。已知 p35 的剪切产物——p25 可以更持久地活化 Cdk5, 并介导后者在细胞中更广泛的分

布; 而且这一剪切过程倾向于由 calpain 蛋白酶所介导。Lee 等研究发现, 在原代培养的大鼠皮层神经元, 兴奋性毒性处理、低氧刺激和钙超载都能诱导这种由 calpain 介导的对 p35 蛋白的剪切^[27]。先前研究发现, AD 病人脑中 p25 蛋白的累积能促进 tau 蛋白的过磷酸化, 破坏细胞骨架, 促进特定脑区神经元的凋亡。2001 年, Neystat 报道了 Cdk5 和 p35 表达于纹状体注射 6-羟多巴和轴突离断术后发生凋亡性死亡的黑质神经元, 尤其是具有凋亡后期形态改变特征的神经元中^[83]。Lin 等报道, Cdk5/p25 促进了地高辛所触发的前列腺癌细胞的细胞凋亡^[84]。2005 年, Hamdane 等在一种神经元细胞系上的研究发现, Cdk5/p25 磷酸化视网膜母细胞瘤蛋白 (retinoblastoma protein, pRb) 是神经元细胞死亡过程中的一个早期事件^[85]。Saito 等的研究成果提示, Cdk5/p25 促进了内质网应激刺激下细胞的死亡进程; 同时, p25 发生由胞浆到核的分布转移^[86]。

2006 年, Camins 等总结了 Cdk5/p25 的形成及抑制在神经退行性病变过程中的意义^[87]。Cdk5 涉及到的凋亡途径有: p35 经 calpain 病理性剪切后生成 p25, 进而诱导凋亡。另外, calpain 激活引起胞内钙内流大量增加, 以及 Cdk5/p25 复合物的形成亦介导了一种凋亡途径。继之, Cdk5/p25 再磷酸化核转录因子 myocyte enhancer factor (MEF2), 抑制其抗凋亡作用。同时, Cdk5/p25 还可磷酸化其他底物蛋白, 比如骨架蛋白 tau、p53 以及 pRb。以上这些机制提示 Cdk5/p25 是神经元存活与死亡的重要调控者。另外, Cdk5/p25 与多种信号途径, 如糖原合成激酶 3 β (GSK-3 β) 和 c-Jun 激酶途径都相互联系, 因此可以抑制 Cdk5/p25 形成或活性的药物, 如 roscovitine、flavopiridol、calpain 抑制剂、kenpaullone 和 induribins 等, 无疑为神经元退行性病变的治疗提供了新的视角与可能。

除上述 calpain-p25 信号途径之外, Cdk5 还可以通过其他机制介导神经元死亡病理。例如, 根据 Wang 等的研究报道, Cdk5 的活化可以通过直接结合并磷酸化 NMDA 受体, 从而诱导缺血后大鼠海马 CA1 区神经元的死亡^[88]。Cdk5 也可以通过抑制抗凋亡因素的作用诱导神经元的凋亡。Gong 等的研究揭示, 促存活转录因子 MEF2 是 Cdk5 在核内的直接调节底物, Cdk5 可以通过磷酸化 MEF2 上某一特定丝氨酸位点来抑制其对神经元的保护作用, 从而诱发凋亡^[89]。

4.3.2 促神经元存活作用 然而, 正如 Cruz 和 Tsai 等所总结的那样, Cdk5 是一个 "Jekyll and Hyde" 激酶^[90, 91], 其作用底物广泛而复杂, 涉及信号途径多种多样, 所以在不同的条件下, 它可能发挥不同甚至相反的作用。

2003 年, Li 等报道, Cdk5 可以通过 neuregulin 介导的磷脂酰肌醇 3 激酶 (PI3K) 信号途径, 调节 Akt 的活性和神经元存活^[92]。Cheung 等发现, Cdk5 可以通过磷酸化 Bcl-2 的 Ser70 位点来促进神经元的存活^[93]。Wang 等的研究结果显示, Cdk5 可以通过 ERK 介导的上调 Bcl-2 的作用机制来阻抑神经元的凋亡^[94]。2001 年, Tanaka 等在 Cdk5 基因敲除小鼠上所开展的工作揭示, Cdk5 在调节和维持神经元存活中起重要作用^[95]。而 Li 等发现 Cdk5 可以磷酸化 c-Jun N-末端激酶 3 (JNK3) 的 Thr131 位点, 从而负性调节其酶活性, 发挥阻止神经元凋亡的作用^[96]。

4.3.3 神经元损伤过程中 Cdk5 的表达及分布变化特征

2001 年, Cai 等报道了在癫痫诱发过程中, 大鼠海马神经元的 Cdk5 的酶活明显高于正常成年对照组; 酶活变化与 p35 的表达变化相一致。Cdk5 蛋白表达量几无变化, 但其亚细胞定位发生了由轴突到胞体的转移。这种亚细胞分布的转移可能是 Cdk5 调节自身酶活性的一种方式^[97]。

1997 年, Green 等报道了大鼠全脑缺血 15 min 以后, Cdk5 的激酶活性增加^[98]。2005 年, Rashidian 等发现, 在体和离体水平, 多种 Cdk 激酶信号均在缺血/缺氧所致神经元死亡过程中起关键的调控作用^[99]。Cdk4 及其活性辅酶 cyclin D1, 通过对肿瘤抑制子 pRb 蛋白的调控而在缺血/缺氧刺激所致细胞死亡的延迟相起关键作用。而在缺血/缺氧兴奋性毒性刺激期, 神经元的存活主要受 Cdk5 和 p35 调控。

O'Hare 等还对在凋亡和兴奋性毒性所致神经元死亡事件中, Cdk5 在胞核和胞浆中所起的不同作用进行了分析^[100]。结果显示, 用 DNA 损伤剂 camptothecin 所诱导的神经元凋亡性死亡机制在于, 凋亡早期转录介导的 p35 的缺失以及后期依赖于 Bax、Apaf1 和 Caspases 的 p25 的产生。而形成对照的是, 在谷氨酸所诱导的兴奋性神经元死亡过程中, 神经元可以不依赖于线粒体途径很快地产生 p25。胞内定位分析发现, p35 大多分布于胞浆, 而 p25 则选择性地聚集在胞核部位。Cdk5 在核内发挥促神经元死亡活性, 这种活性为兴奋性毒性所致神经元死亡而非凋亡性死亡过程所必需。胞浆中的

Cdk5 则参与调节促细胞存活信号途径, 而且调控这些信号可以阻止兴奋性毒性或DNA损伤所致的细胞死亡。

5 Cdk5 在神经退行性疾病中的作用

5.1 Cdk5 在视网膜损伤及退变中的作用

如前所述, 大鼠的神经节细胞上也表达有大量的 Cdk5 和 p35。Lefevre 等发现 Cdk5 (很可能是 Cdk5) 的激活参与了轴突切断术后神经节细胞死亡的病理过程, 而且 Cdk5 的抑制剂 indolinone A 能明显有效地抑制这种神经节细胞的凋亡。同样, 根据 Namgung 等的报道, 在视神经压伤之后的再生过程中, Cdk5 蛋白水平和活性均有一个明显的上调^[101]。而我们的研究发现(待发表数据), 慢性眼内压增高之后, 大鼠视网膜中的 Cdk5 及 p35 蛋白表达上调, 且与神经节细胞的凋亡时程相一致。这些结果提示 Cdk5 表达和活性的上调可能在眼压增高、轴突损伤等病理状态下促进了神经节细胞的凋亡。但 Cheung 等的研究结果提示, Cdk5 可以通过磷酸化 Bcl-2 而在大鼠神经节细胞的存活中起保护作用, 玻璃体腔注射 Cdk5 的抑制剂 roscovitine 之后观察到 GCL 层细胞内核片段化的增多, 提示 Cdk5 促 RGC 存活的作用^[93]。但该工作主要是在 *Cdk5*^{-/-} 的神经元上进行的, 所以它的意义更倾向于揭示生理状态下 Cdk5 对视网膜神经节细胞存活的意义。

5.2 Cdk5 在神经退行性疾病中的作用

Alvarez 等在大鼠海马原代培养细胞上的研究工作提示, 抑制 tau 蛋白的磷酸酶 II 系统(TPK II, 包括 Cdk5 的催化亚单位和调节成分 p35)可以阻止 A β 所诱导的神经元死亡^[102]。2001 年, 他们进一步研究发现, A β 处理所致的海马神经元的凋亡病理直接与 Cdk5 活性的异常增高以及 Cdk5-p35 的异常活化直接相关^[103]。另据 Kesavapany 等报道, Cdk5 可以磷酸化 β -catenin, 降低后者与早老素蛋白 presenilin 的结合, 从而可能参与或调节 AD 病理^[104]。

2002 年, Tseng 等利用 AD 患者大脑尸检组织, 研究了在额叶、内侧顶叶以及海马部位的 p25/p35 的比例。结果发现, 三个部位的 p25/p35 比率都要明显高于对照。其结论支持 p25 在 AD 患者大脑异常累积的发现, 同时也提示 Cdk5 活性异常可能参与 AD 病理发展^[105]。同年, Augustinack 等利用免疫组化和荧光共振能量转移(fluorescence resonance energy transfer, FRET)技术研究了 AD 患者和正常老

年大脑。结果显示 Cdk5 与标志 pre-tangle 阶段的标记抗体 AT-8 (标记在 Ser199、Ser202 和 Thr205 位点磷酸化修饰的 tau 蛋白)有阳性共标。这些结果反映 Cdk5 与磷酸化 tau 蛋白之间存在紧密而稳定的联系, 提示 Cdk5 酶活失调在 AD 病理中的重要意义^[106]。

2002 年, Otth 等首次利用 AD 转基因小鼠 Tg2576 研究了淀粉样斑块前体蛋白 APP 对 tau 蛋白过磷酸化的调节作用。他们发现 p25 在转基因小鼠中表达增加, 推测该模型中增强的 tau 蛋白过磷酸化状态很可能跟 Cdk5 活性失调相关^[96]。尽管在原代培养细胞上的研究揭示, p25 可导致细胞凋亡和 tau 蛋白的过磷酸化, 但在 p25 过表达的转基因小鼠脑内并没能很好重现这一结果。2003 年, Cruz 等利用一种 p25 可诱导性过表达的转基因小鼠模型进一步研究了 AD 病理中 Cdk5 及 p35 的参与机制。结果发现, 该小鼠模型的皮层和海马有神经元的丢失, 同时伴有前脑萎缩、星形胶质激活征象以及 Caspase-3 的激活。内源性 tau 蛋白多个抗原决定簇均呈过磷酸化状态, 异常聚集之后逐渐形成神经纤维缠结。其研究首次在在体情况证实 Cdk5 酶活异常调节可导致神经退行性变和神经纤维缠结病理^[107]。同年, Noble 等利用 p25 和 tauP301L 双重转基因小鼠所做的研究工作也证明, 在体情况下 Cdk5 是 tau 聚集和神经纤维缠结形成过程中的一个重要调节因素^[108]。

Smith 等在 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) 注射所致小鼠 PD 模型中发现, Cdk5 的表达和活性都明显上调。其结果提示, Cdk5 很可能介导了 PD 病理中多巴胺能神经元的凋亡^[109]。

Progressive supranuclear palsy (PSP) 是一种主要涉及基底神经节和脑干核团的神经纤维 tau 病理改变。Borghini 等研究发现, 在 PSP 疾病中, Cdk5 的增加与其神经纤维病理相关^[110]。

NPC-1 基因的突变导致了 Niemann-Pick C 疾病的产生。它可以导致胎儿未成熟期死亡。其病理特征是球形膨大的神经元, 轴突球状结构形成以及脱髓鞘和广泛的神经元死亡。Bu 等在该疾病的小鼠模型上发现 Cdk5 酶活的失调、过磷酸化以及细胞骨架病理改变^[111]。

HD 起因于 Huntingtin (htt) 蛋白中多聚谷氨酰胺 (poly Q) 的膨大扩张。突变的 htt 在被 Caspases 酶切之后即可表现出毒性。Luo 等发现, Cdk5 和 htt 蛋白共存于细胞的胞膜组分中。Cdk5 对 htt 蛋白 Ser434

位点的磷酸化修饰可以降低 Caspases 酶类对 htt 蛋白的剪切, 影响后续的截短型 htt 蛋白的聚集, 起到保护神经元的作用^[112]。

ALS 是一种大脑和脊髓运动神经元选择性受累的中枢神经系统病变。家族性肌萎缩性(脊髓)侧索硬化症(FALS)与铜/锌结合的超氧化物歧化酶(Cu/Zn-binding superoxide dismutase, SOD1)基因突变密切相关^[113]。

2002 年, Patzke 和 Tsai 报道, 在 ALS 的病理发生过程中, Cdk5 活性失调^[114]。Krieger 等也报道, Cdk5 在 ALS 病理中活性发生异常改变^[115]。2003 年, Nguyen 等的研究工作显示, Cdk5 参与了 ALS 病变中神经元死亡病理^[116, 117]。

6 总结

丝/苏氨酸蛋白酶 Cdk5 只在 CNS 终末分裂期细胞(神经元)内高活性表达。作为细胞周期素依赖的蛋白酶家族的一个特殊成员, Cdk5 不参与细胞周期调控, 而是通过磷酸化细胞骨架蛋白、信号分子、调节蛋白等众多底物, 在 CNS 发育过程中的神经元迁移分化、突触发生和成熟 CNS 中突触信息传递、突触可塑性、神经元存活和死亡等方面起重要的调控作用。在神经损伤和缺血等病理状态下, Cdk5 激活因子 p35 发生病理性剪切生成 p25; Cdk5/p25 复合物的形成调节 Cdk5 活性及其亚细胞分布变化, 从而促进神经元的凋亡或死亡, 参与众多神经退行性疾病的发生发展过程。这些研究成果提示, Cdk5 可以作为神经损伤和神经退行性病变的治疗靶点, 针对 Cdk5 的治疗方法在抑制神经元损伤与丢失方面会起到重要作用。

参考文献

- Hellmich MR, Pant HC, Wada E, Battey JF. Neuronal cdc2-like kinase: a cdc2-related protein kinase with predominantly neuronal expression. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1992; 89 (22): 10867-10871.
- Hisanaga S, Kusubata M, Okumura E, Kishimoto T. Phosphorylation of neurofilament H subunit at the tail domain by CDC2 kinase dissociates the association to microtubules. *J Biol Chem* 1991; 266 (32): 21798-21803.
- Meyerson M, Enders GH, Wu CL, Su LK, Gorka C, Nelson C, Harlow E, Tsai LH. A family of human cdc2-related protein kinases. *EMBO J* 1992; 11 (8): 2909-2917.
- Lew J, Beaudette K, Litwin CM, Wang JH. Purification and characterization of a novel proline-directed protein kinase from bovine brain. *J Biol Chem* 1992; 267 (19): 13383-13390.
- Lew J, Winkfein RJ, Paudel HK, Wang JH. Brain proline-directed protein kinase is a neurofilament kinase which displays high sequence homology to p34cdc2. *J Biol Chem* 1992; 267 (36): 25922-25926.
- Ishiguro K, Takamatsu M, Tomizawa K, Omori A, Takahashi M, Arioka M, Uchida T, Imahori K. Tau protein kinase I converts normal tau protein into A68-like component of paired helical filaments. *J Biol Chem* 1992; 267 (15): 10897-10901.
- Kobayashi S, Ishiguro K, Omori A, Takamatsu M, Arioka M, Imahori K, Uchida T. A cdc2-related kinase PSSALRE/cdk5 is homologous with the 30 kDa subunit of tau protein kinase II, a proline-directed protein kinase associated with microtubule. *FEBS Lett* 1993; 335 (2): 171-175.
- Dhariwala FA, Rajadhyaksha MS. An unusual member of the Cdk family: Cdk5. *Cell Mol Neurobiol* 2008; 28 (3): 351-369.
- Lew J, Huang QQ, Qi Z, Winkfein RJ, Aebersold R, Hunt T, Wang JH. A brain-specific activator of cyclin-dependent kinase 5. *Nature* 1994; 371 (6496): 423-426.
- Tsai LH, Delalle I, Caviness VS Jr, Chae T, Harlow E. p35 is a neural-specific regulatory subunit of cyclin-dependent kinase 5. *Nature* 1994; 371 (6496): 419-423.
- Rosales JL, Lee KY. Extraneuronal roles of cyclin-dependent kinase 5. *Bioessays* 2006; 28 (10): 1023-1034.
- Lin W, Dominguez B, Yang J, Aryal P, Brandon EP, Gage FH, Lee KF. Neurotransmitter acetylcholine negatively regulates neuromuscular synapse formation by a Cdk5-dependent mechanism. *Neuron* 2005; 46 (4): 569-579.
- Chen F, Qian L, Yang ZH, Huang Y, Ngo ST, Ruan NJ, Wang J, Schneider C, Noakes PG, Ding YQ, Mei L, Luo ZG. Rapsyn interaction with calpain stabilizes AChR clusters at the neuromuscular junction. *Neuron* 2007; 55 (2): 247-260.
- Donnellan R, Chetty R. Cyclin E in human cancers. *FASEB J* 1999; 13 (8): 773-780.
- Ko J, Humbert S, Bronson RT, Takahashi S, Kulkarni AB, Li E, Tsai LH. p35 and p39 are essential for cyclin-dependent kinase 5 function during neurodevelopment. *J Neurosci* 2001; 21 (17): 6758-6771.
- Amin ND, Albers W, Pant HC. Cyclin-dependent kinase 5 (cdk5) activation requires interaction with three domains of p35. *J Neurosci Res* 2002; 67 (3): 354-362.
- Hisanaga S, Saito T. The regulation of cyclin-dependent kinase 5 activity through the metabolism of p35 or p39 Cdk5 activator. *Neurosignals* 2003; 12 (4-5): 221-229.
- Zheng M, Leung CL, Liem RK. Region-specific expression of cyclin-dependent kinase 5 (cdk5) and its activators, p35 and p39, in the developing and adult rat central nervous

- system. *J Neurobiol* 1998; 35 (2): 141-159.
- 19 Wu DC, Yu YP, Lee NT, Yu AC, Wang JH, Han YF. The expression of Cdk5, p35, p39, and Cdk5 kinase activity in developing, adult, and aged rat brains. *Neurochem Res* 2000; 25 (7): 923-929.
- 20 Yamada M, Saito T, Sato Y, Kawai Y, Sekigawa A, Hamazumi Y, Asada A, Wada M, Doi H, Hisanaga S. Cdk5-39 is a labile complex with the similar substrate specificity to Cdk5-35. *J Neurochem* 2007; 102 (5): 1477-1487.
- 21 Asada A, Yamamoto N, Gohda M, Saito T, Hayashi N, Hisanaga S. Myristoylation of p39 and p35 is a determinant of cytoplasmic or nuclear localization of active cyclin-dependent kinase 5 complexes. *J Neurochem* 2008; 106 (3): 1325-1336.
- 22 Patrick GN, Zukerberg L, Nikolic M, de la Monte S, Dikkes P, Tsai LH. Conversion of p35 to p25 deregulates Cdk5 activity and promotes neurodegeneration. *Nature* 1999; 402 (6762): 615-622.
- 23 Chae T, Kwon YT, Bronson R, Dikkes P, Li E, Tsai LH. Mice lacking p35, a neuronal specific activator of Cdk5, display cortical lamination defects, seizures, and adult lethality. *Neuron* 1997; 18 (1): 29-42.
- 24 Ohshima T, Ward JM, Huh CG, Longenecker G, Veeranna, Pant HC, Brady RO, Martin LJ, Kulkarni AB. Targeted disruption of the cyclin-dependent kinase 5 gene results in abnormal corticogenesis, neuronal pathology and perinatal death. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996; 93 (20): 11173-11178.
- 25 Delalle I, Bhide PG, Caviness VS Jr, Tsai LH. Temporal and spatial patterns of expression of p35, a regulatory subunit of cyclin-dependent kinase 5, in the nervous system of the mouse. *J Neurocytol* 1997; 26 (5): 283-296.
- 26 Hallows JL, Chen K, DePinho RA, Vincent I. Decreased cyclin-dependent kinase 5 (cdk5) activity is accompanied by redistribution of cdk5 and cytoskeletal proteins and increased cytoskeletal protein phosphorylation in p35 null mice. *J Neurosci* 2003; 23 (33): 10633-10644.
- 27 Lee MS, Kwon YT, Li M, Peng J, Friedlander RM, Tsai LH. Neurotoxicity induces cleavage of p35 to p25 by calpain. *Nature* 2000; 405 (6784): 360-364.
- 28 Kusakawa G, Saito T, Onuki R, Ishiguro K, Kishimoto T, Hisanaga S. Calpain-dependent proteolytic cleavage of the p35 cyclin-dependent kinase 5 activator to p25. *J Biol Chem* 2000; 275 (22): 17166-17172.
- 29 Nath R, Davis M, Probert AW, Kupina NC, Ren X, Schielke GP, Wang KK. Processing of cdk5 activator p35 to its truncated form (p25) by calpain in acutely injured neuronal cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2000; 274 (1): 16-21.
- 30 Tarricone C, Dhavan R, Peng J, Areces LB, Tsai LH, Musacchio A. Structure and regulation of the CDK5-p25 (nck5a) complex. *Mol Cell* 2001; 8 (3): 657-669.
- 31 Patrick GN, Zhou P, Kwon YT, Howley PM, Tsai LH. p35, the neuronal-specific activator of cyclin-dependent kinase 5 (Cdk5) is degraded by the ubiquitin-proteasome pathway. *J Biol Chem* 1998; 273 (37): 24057-24064.
- 32 Wei FY, Tomizawa K, Ohshima T, Asada A, Saito T, Nguyen C, Bibb JA, Ishiguro K, Kulkarni AB, Pant HC, Mikoshiba K, Matsui H, Hisanaga S. Control of cyclin-dependent kinase 5 (Cdk5) activity by glutamatergic regulation of p35 stability. *J Neurochem* 2005; 93 (2): 502-512.
- 33 Chen J, Zhang Y, Kelz MB, Steffen C, Ang ES, Zeng L, Nestler EJ. Induction of cyclin-dependent kinase 5 in the hippocampus by chronic electroconvulsive seizures: role of [Delta]FosB. *J Neurosci* 2000; 20 (24): 8965-8971.
- 34 Tokuoka H, Saito T, Yorifuji H, Wei F, Kishimoto T, Hisanaga S. Brain-derived neurotrophic factor-induced phosphorylation of neurofilament-H subunit in primary cultures of embryo rat cortical neurons. *J Cell Sci* 2000; 113 (Pt 6): 1059-1068.
- 35 Smith DS, Greer PL, Tsai LH. Cdk5 on the brain. *Cell Growth Differ* 2001; 12 (6): 277-283.
- 36 Qu D, Li Q, Lim HY, Cheung NS, Li R, Wang JH, Qi RZ. The protein SET binds the neuronal Cdk5 activator p35nck5a and modulates Cdk5/p35nck5a activity. *J Biol Chem* 2002; 277 (9): 7324-7332.
- 37 Moorthamer M, Chaudhuri B. Identification of ribosomal protein L34 as a novel Cdk5 inhibitor. *Biochem Biophys Res Commun* 1999; 255 (3): 631-638.
- 38 Moorthamer M, Zumstein-Mecker S, Chaudhuri B. DNA binding protein dbpA binds Cdk5 and inhibits its activity. *FEBS Lett* 1999; 446 (2-3): 343-350.
- 39 Sharma P, Sharma M, Amin ND, Albers RW, Pant HC. Regulation of cyclin-dependent kinase 5 catalytic activity by phosphorylation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999; 96 (20): 11156-11160.
- 40 Tsai LH, Takahashi T, Caviness VS Jr, Harlow E. Activity and expression pattern of cyclin-dependent kinase 5 in the embryonic mouse nervous system. *Development* 1993; 119 (4): 1029-1040.
- 41 Hirooka K, Tomizawa K, Matsui H, Tokuda M, Itano T, Hasegawa E, Wang JH, Hatase O. Developmental alteration of the expression and kinase activity of cyclin-dependent kinase 5 (Cdk5)/p35nck5a in the rat retina. *J Neurochem* 1996; 67 (6): 2478-2483.
- 42 Grant P, Sharma P, Pant HC. Cyclin-dependent protein kinase 5 (Cdk5) and the regulation of neurofilament metabolism. *Eur J Biochem* 2001; 268 (6): 1534-1546.
- 43 Niethammer M, Smith DS, Ayala R, Peng J, Ko J, Lee MS, Morabito M, Tsai LH. NUDEL is a novel Cdk5 substrate

- that associates with LIS1 and cytoplasmic dynein. *Neuron* 2000; 28 (3): 697-711.
- 44 Lambert de Rouvroit C, Goffinet AM. Neuronal migration. *Mech Dev* 2001; 105 (1-2): 47-56.
- 45 Feng Y, Walsh CA. Protein-protein interactions, cytoskeletal regulation and neuronal migration. *Nat Rev Neurosci* 2001; 2 (6): 408-416.
- 46 Aboitiz F, Montiel J, Lopez J. An hypothesis on the early evolution of the development of the isocortex. *Brain Res Bull* 2002; 57 (3-4): 481-483.
- 47 Gilmore EC, Herrup K. Neocortical cell migration: GABAergic neurons and cells in layers I and VI move in a cyclin-dependent kinase 5-independent manner. *J Neurosci* 2001; 21 (24): 9690-9700.
- 48 Xie Z, Sanada K, Samuels BA, Shih H, Tsai LH. Serine 732 phosphorylation of FAK by Cdk5 is important for microtubule organization, nuclear movement, and neuronal migration. *Cell* 2003; 114 (4): 469-482.
- 49 Tanaka T, Serneo FF, Tseng HC, Kulkarni AB, Tsai LH, Gleeson JG. Cdk5 phosphorylation of doublecortin ser297 regulates its effect on neuronal migration. *Neuron* 2004; 41 (2): 215-227.
- 50 Nikolic M, Dudek H, Kwon YT, Ramos YF, Tsai LH. The cdk5/p35 kinase is essential for neurite outgrowth during neuronal differentiation. *Genes Dev* 1996; 10 (7): 816-825.
- 51 Kwon YT, Tsai LH, Crandall JE. Callosal axon guidance defects in p35(-/-) mice. *J Comp Neurol* 1999; 415 (2): 218-229.
- 52 Li BS, Zhang L, Gu J, Amin ND, Pant HC. Integrin alpha(1) beta(1)-mediated activation of cyclin-dependent kinase 5 activity is involved in neurite outgrowth and human neurofilament protein H Lys-Ser-Pro tail domain phosphorylation. *J Neurosci* 2000; 20 (16): 6055-6062.
- 53 Zukerberg LR, Patrick GN, Nikolic M, Humbert S, Wu CL, Lanier LM, Gertler FB, Vidal M, Van Etten RA, Tsai LH. Cables links Cdk5 and c-Abl and facilitates Cdk5 tyrosine phosphorylation, kinase upregulation, and neurite outgrowth. *Neuron* 2000; 26 (3): 633-646.
- 54 Fu WY, Chen Y, Sahin M, Zhao XS, Shi L, Bikoff JB, Lai KO, Yung WH, Fu AK, Greenberg ME, Ip NY. Cdk5 regulates EphA4-mediated dendritic spine retraction through an ephexin1-dependent mechanism. *Nat Neurosci* 2007; 10 (1): 67-76.
- 55 Cheung ZH, Chin WH, Chen Y, Ng YP, Ip NY. Cdk5 is involved in BDNF-stimulated dendritic growth in hippocampal neurons. *PLoS Biol* 2007; 5 (4): e63.
- 56 Cheung ZH, Ip NY. The roles of cyclin-dependent kinase 5 in dendrite and synapse development. *Biotechnol J* 2007; 2 (8): 949-957.
- 57 Fletcher AI, Shuang R, Giovannucci DR, Zhang L, Bittner MA, Stuenkel EL. Regulation of exocytosis by cyclin-dependent kinase 5 via phosphorylation of Munc18. *J Biol Chem* 1999; 274 (7): 4027-4035.
- 58 Tomizawa K, Ohta J, Matsushita M, Moriwaki A, Li ST, Takei K, Matsui H. Cdk5/p35 regulates neurotransmitter release through phosphorylation and downregulation of P/Q-type voltage-dependent calcium channel activity. *J Neurosci* 2002; 22 (7): 2590-2597.
- 59 Chergui K, Svenningsson P, Greengard P. Cyclin-dependent kinase 5 regulates dopaminergic and glutamatergic transmission in the striatum. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101 (7): 2191-2196.
- 60 Amin ND, Zheng YL, Kesavapany S, Kanungo J, Guszczynski T, Sihag RK, Rudrabhatla P, Albers W, Grant P, Pant HC. Cyclin-dependent kinase 5 phosphorylation of human septin SEPT5 (hCDCrel-1) modulates exocytosis. *J Neurosci* 2008; 28 (14): 3631-3643.
- 61 Floyd SR, Porro EB, Slepnev VI, Ochoa GC, Tsai LH, De Camilli P. Amphiphysin 1 binds the cyclin-dependent kinase (cdk) 5 regulatory subunit p35 and is phosphorylated by cdk5 and cdc2. *J Biol Chem* 2001; 276 (11): 8104-8110.
- 62 Tan TC, Valova VA, Malladi CS, Graham ME, Berven LA, Jupp OJ, Hansra G, McClure SJ, Sarcevic B, Boadle RA, Larsen MR, Cousin MA, Robinson PJ. Cdk5 is essential for synaptic vesicle endocytosis. *Nat Cell Biol* 2003; 5 (8): 701-710.
- 63 Lee SY, Wenk MR, Kim Y, Nairn AC, De Camilli P. Regulation of synaptojanin 1 by cyclin-dependent kinase 5 at synapses. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101 (2): 546-551.
- 64 Evans GJ, Cousin MA. Activity-dependent control of slow synaptic vesicle endocytosis by cyclin-dependent kinase 5. *J Neurosci* 2007; 27 (2): 401-411.
- 65 Paglini G, Peris L, Diez-Guerra J, Quiroga S, Caceres A. The Cdk5-p35 kinase associates with the Golgi apparatus and regulates membrane traffic. *EMBO Rep* 2001; 2 (12): 1139-1144.
- 66 Smith DS, Tsai LH. Cdk5 behind the wheel: a role in trafficking and transport? *Trends Cell Biol* 2002; 12 (1): 28-36.
- 67 Shea TB, Yabe JT, Ortiz D, Pimenta A, Loomis P, Goldman RD, Amin N, Pant HC. Cdk5 regulates axonal transport and phosphorylation of neurofilaments in cultured neurons. *J Cell Sci* 2004; 117 (Pt 6): 933-941.
- 68 Fu AK, Fu WY, Cheung J, Tsim KW, Ip FC, Wang JH, Ip NY. Cdk5 is involved in neuregulin-induced AChR expression at the neuromuscular junction. *Nat Neurosci* 2001; 4 (4): 374-381.
- 69 Li BS, Sun MK, Zhang L, Takahashi S, Ma W, Vinade L, Kulkarni AB, Brady RO, Pant HC. Regulation of NMDA receptors by cyclin-dependent kinase-5. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001; 98 (22): 12742-12747.

- 70 Hawasli AH, Benavides DR, Nguyen C, Kansy JW, Hayashi K, Chambon P, Greengard P, Powell CM, Cooper DC, Bibb JA. Cyclin-dependent kinase 5 governs learning and synaptic plasticity via control of NMDAR degradation. *Nat Neurosci* 2007; 10 (7): 880-886.
- 71 Zhang S, Edelman L, Liu J, Crandall JE, Morabito MA. Cdk5 regulates the phosphorylation of tyrosine 1472 NR2B and the surface expression of NMDA receptors. *J Neurosci* 2008; 28 (2): 415-424.
- 72 Fischer A, Sananbenesi F, Schrick C, Spiess J, Radulovic J. Cyclin-dependent kinase 5 is required for associative learning. *J Neurosci* 2002; 22 (9): 3700-3707.
- 73 Fischer A, Sananbenesi F, Schrick C, Spiess J, Radulovic J. Regulation of contextual fear conditioning by baseline and inducible septo-hippocampal cyclin-dependent kinase 5. *Neuropharmacology* 2003; 44 (8): 1089-1099.
- 74 Ohshima T, Ogura H, Tomizawa K, Hayashi K, Suzuki H, Saito T, Kamei H, Nishi A, Bibb JA, Hisanaga S, Matsui H, Mikoshiba K. Impairment of hippocampal long-term depression and defective spatial learning and memory in p35 mice. *J Neurochem* 2005; 94 (4): 917-925.
- 75 Fischer A, Sananbenesi F, Pang PT, Lu B, Tsai LH. Opposing roles of transient and prolonged expression of p25 in synaptic plasticity and hippocampus-dependent memory. *Neuron* 2005; 48 (5): 825-838.
- 76 Pareek TK, Keller J, Kesavapany S, Pant HC, Iadarola MJ, Brady RO, Kulkarni AB. Cyclin-dependent kinase 5 activity regulates pain signaling. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103 (3): 791-796.
- 77 Wang CH, Chou WY, Hung KS, Jawan B, Lu CN, Liu JK, Hung YP, Lee TH. Intrathecal administration of roscovitine inhibits Cdk5 activity and attenuates formalin-induced nociceptive response in rats. *Acta Pharmacol Sin* 2005; 26 (1): 46-50.
- 78 Bibb JA, Chen J, Taylor JR, Svenningsson P, Nishi A, Snyder GL, Yan Z, Sagawa ZK, Ouimet CC, Nairn AC, Nestler EJ, Greengard P. Effects of chronic exposure to cocaine are regulated by the neuronal protein Cdk5. *Nature* 2001; 410 (6826): 376-380.
- 79 Bibb JA. Role of Cdk5 in neuronal signaling, plasticity, and drug abuse. *Neurosignals* 2003; 12 (4-5): 191-199.
- 80 Zhang Q, Ahuja HS, Zakeri ZF, Wolgemuth DJ. Cyclin-dependent kinase 5 is associated with apoptotic cell death during development and tissue remodeling. *Dev Biol* 1997; 183 (2): 222-233.
- 81 Gao C, Negash S, Wang HS, Ledee D, Guo H, Russell P, Zelenka P. Cdk5 mediates changes in morphology and promotes apoptosis of astrocytoma cells in response to heat shock. *J Cell Sci* 2001; 114 (Pt 6): 1145-1153.
- 82 Weishaupt JH, Kussmaul L, Grottsch P, Heckel A, Rohde G, Romig H, Bahr M, Gillardon F. Inhibition of CDK5 is protective in necrotic and apoptotic paradigms of neuronal cell death and prevents mitochondrial dysfunction. *Mol Cell Neurosci* 2003; 24 (2): 489-502.
- 83 Neystat M, Rzhetskaya M, Oo TF, Kholodilov N, Yarygina O, Wilson A, El-Khodori BF, Burke RE. Expression of cyclin-dependent kinase 5 and its activator p35 in models of induced apoptotic death in neurons of the substantia nigra *in vivo*. *J Neurochem* 2001; 77 (6): 1611-1625.
- 84 Lin H, Juang JL, Wang PS. Involvement of Cdk5/p25 in digoxin-triggered prostate cancer cell apoptosis. *J Biol Chem* 2004; 279 (28): 29302-29307.
- 85 Hamdane M, Bretteville A, Sambo AV, Schindowski K, Begard S, Delacourte A, Bertrand P, Buee L. p25/Cdk5-mediated retinoblastoma phosphorylation is an early event in neuronal cell death. *J Cell Sci* 2005; 118 (Pt 6): 1291-1298.
- 86 Saito T, Konno T, Hosokawa T, Asada A, Ishiguro K, Hisanaga S. p25/cyclin-dependent kinase 5 promotes the progression of cell death in nucleus of endoplasmic reticulum-stressed neurons. *J Neurochem* 2007; 102 (1): 133-140.
- 87 Camins A, Verdaguer E, Folch J, Canudas AM, Pallas M. The role of CDK5/P25 formation/inhibition in neurodegeneration. *Drug News Perspect* 2006; 19 (8): 453-460.
- 88 Wang J, Liu S, Fu Y, Wang JH, Lu Y. Cdk5 activation induces hippocampal CA1 cell death by directly phosphorylating NMDA receptors. *Nat Neurosci* 2003; 6 (10): 1039-1047.
- 89 Gong X, Tang X, Wiedmann M, Wang X, Peng J, Zheng D, Blair LA, Marshall J, Mao Z. Cdk5-mediated inhibition of the protective effects of transcription factor MEF2 in neurotoxicity-induced apoptosis. *Neuron* 2003; 38 (1): 33-46.
- 90 Cruz JC, Tsai LH. A Jekyll and Hyde kinase: roles for Cdk5 in brain development and disease. *Curr Opin Neurobiol* 2004; 14 (3): 390-394.
- 91 Dhavan R, Tsai LH. A decade of CDK5. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2001; 2 (10): 749-759.
- 92 Li BS, Ma W, Jaffe H, Zheng Y, Takahashi S, Zhang L, Kulkarni AB, Pant HC. Cyclin-dependent kinase-5 is involved in neuregulin-dependent activation of phosphatidylinositol 3-kinase and Akt activity mediating neuronal survival. *J Biol Chem* 2003; 278 (37): 35702-35709.
- 93 Cheung ZH, Gong K, Ip NY. Cyclin-dependent kinase 5 supports neuronal survival through phosphorylation of Bcl-2. *J Neurosci* 2008; 28 (19): 4872-4877.
- 94 Wang CX, Song JH, Song DK, Yong VW, Shuaib A, Hao C. Cyclin-dependent kinase-5 prevents neuronal apoptosis through ERK-mediated upregulation of Bcl-2. *Cell Death Differ* 2006; 13 (7): 1203-1212.
- 95 Tanaka T, Veeranna, Ohshima T, Rajan P, Amin ND, Cho A, Sreenath T, Pant HC, Brady RO, Kulkarni AB. Neuronal

- cyclin-dependent kinase 5 activity is critical for survival. *J Neurosci* 2001; 21 (2): 550-558.
- 96 Otth C, Concha, II, Arendt T, Stieler J, Schliebs R, Gonzalez-Billault C, Maccioni RB. AbetaPP induces cdk5-dependent tau hyperphosphorylation in transgenic mice Tg2576. *J Alzheimers Dis* 2002; 4 (5): 417-430.
- 97 Cai X, Tang D, Xu R. Neuronal cdc-2 like kinase in developing kindling rat hippocampus. *Chin Med J (Engl)* 2001; 114 (3): 248-252.
- 98 Green SL, Kulp KS, Vulliet R. Cyclin-dependent protein kinase 5 activity increases in rat brain following ischemia. *Neurochem Int* 1997; 31 (4): 617-623.
- 99 Rashidian J, Iyirhiaro G, Aleyasin H, Rios M, Vincent I, Callaghan S, Bland RJ, Slack RS, During MJ, Park DS. Multiple cyclin-dependent kinases signals are critical mediators of ischemia/hypoxic neuronal death *in vitro* and *in vivo*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102 (39): 14080-14085.
- 100 O'Hare MJ, Kushwaha N, Zhang Y, Aleyasin H, Callaghan SM, Slack RS, Albert PR, Vincent I, Park DS. Differential roles of nuclear and cytoplasmic cyclin-dependent kinase 5 in apoptotic and excitotoxic neuronal death. *J Neurosci* 2005; 25 (39): 8954-8966.
- 101 Namgung U, Choi BH, Park S, Lee JU, Seo HS, Suh BC, Kim KT. Activation of cyclin-dependent kinase 5 is involved in axonal regeneration. *Mol Cell Neurosci* 2004; 25 (3): 422-432.
- 102 Alvarez A, Toro R, Caceres A, Maccioni RB. Inhibition of tau phosphorylating protein kinase cdk5 prevents beta-amyloid-induced neuronal death. *FEBS Lett* 1999; 459 (3): 421-426.
- 103 Alvarez A, Munoz JP, Maccioni RB. A Cdk5-p35 stable complex is involved in the beta-amyloid-induced deregulation of Cdk5 activity in hippocampal neurons. *Exp Cell Res* 2001; 264 (2): 266-274.
- 104 Kesavapany S, Lau KF, McLoughlin DM, Brownlees J, Ackerley S, Leigh PN, Shaw CE, Miller CC. p35/cdk5 binds and phosphorylates beta-catenin and regulates beta-catenin/presenilin-1 interaction. *Eur J Neurosci* 2001; 13 (2): 241-247.
- 105 Tseng HC, Zhou Y, Shen Y, Tsai LH. A survey of Cdk5 activator p35 and p25 levels in Alzheimer's disease brains. *FEBS Lett* 2002; 523 (1-3): 58-62.
- 106 Augustinack JC, Sanders JL, Tsai LH, Hyman BT. Colocalization and fluorescence resonance energy transfer between cdk5 and AT8 suggests a close association in pre-neurofibrillary tangles and neurofibrillary tangles. *J Neuropathol Exp Neurol* 2002; 61 (6): 557-564.
- 107 Cruz JC, Tseng HC, Goldman JA, Shih H, Tsai LH. Aberrant Cdk5 activation by p25 triggers pathological events leading to neurodegeneration and neurofibrillary tangles. *Neuron* 2003; 40 (3): 471-483.
- 108 Noble W, Olm V, Takata K, Casey E, Mary O, Meyerson J, Gaynor K, LaFrancois J, Wang L, Kondo T, Davies P, Burns M, Veeranna, Nixon R, Dickson D, Matsuoka Y, Ahljianian M, Lau LF, Duff K. Cdk5 is a key factor in tau aggregation and tangle formation *in vivo*. *Neuron* 2003; 38 (4): 555-565.
- 109 Smith PD, Crocker SJ, Jackson-Lewis V, Jordan-Sciutto KL, Hayley S, Mount MP, O'Hare MJ, Callaghan S, Slack RS, Przedborski S, Anisman H, Park DS. Cyclin-dependent kinase 5 is a mediator of dopaminergic neuron loss in a mouse model of Parkinson's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; 100 (23): 13650-13655.
- 110 Borghi R, Giliberto L, Assini A, Delacourte A, Perry G, Smith MA, Strocchi P, Zaccaro D, Tabaton M. Increase of cdk5 is related to neurofibrillary pathology in progressive supranuclear palsy. *Neurology* 2002; 58 (4): 589-592.
- 111 Bu B, Li J, Davies P, Vincent I. Deregulation of cdk5, hyperphosphorylation, and cytoskeletal pathology in the Niemann-Pick type C murine model. *J Neurosci* 2002; 22 (15): 6515-6525.
- 112 Luo S, Vacher C, Davies JE, Rubinsztein DC. Cdk5 phosphorylation of huntingtin reduces its cleavage by caspases: implications for mutant huntingtin toxicity. *J Cell Biol* 2005; 169 (4): 647-656.
- 113 Rosen DR, Siddique T, Patterson D, Figlewicz DA, Sapp P, Hentati A, Donaldson D, Goto J, O'Regan JP, Deng HX, Rahmani Z, Krizus A, McKenna-Yasek D, Cayabyab A, Gaston SM, Berger R, Tanzi RE, Halperin JJ, Herzfeldt B, Van den Bergh R, Hung WY, Bird T, Deng G, Mulder DW, Smyth C, Laing NG, Soriano E, Pericak-Vance MA, Haines J, Rouleau GA, Gusella JS, Horvitz HR, Brown RH Jr. Mutations in Cu/Zn superoxide dismutase gene are associated with familial amyotrophic lateral sclerosis. *Nature* 1993; 362 (6415): 59-62.
- 114 Patzke H, Tsai LH. Cdk5 sinks into ALS. *Trends Neurosci* 2002; 25 (1): 8-10.
- 115 Krieger C, Hu JH, Pelech S. Aberrant protein kinases and phosphoproteins in amyotrophic lateral sclerosis. *Trends Pharmacol Sci* 2003; 24 (10): 535-541.
- 116 Nguyen MD, Boudreau M, Kriz J, Couillard-Despres S, Kaplan DR, Julien JP. Cell cycle regulators in the neuronal death pathway of amyotrophic lateral sclerosis caused by mutant superoxide dismutase 1. *J Neurosci* 2003; 23 (6): 2131-2140.
- 117 Nguyen MD, Julien JP. Cyclin-dependent kinase 5 in amyotrophic lateral sclerosis. *Neurosignals* 2003; 12 (4-5): 215-220.