

## ATP13A2 与帕金森病相关性的研究进展

马越<sup>1</sup>, 刘俊平<sup>2</sup> 综述 汤颖<sup>1</sup> 审校

1. 哈尔滨医科大学附属第一医院神经内科, 黑龙江省哈尔滨市 150001

2. 杭州师范大学衰老研究所, 浙江省杭州市 310000

**摘要:** ATP13A2 是常染色体隐性遗传性青年帕金森综合征 (Kufor-Rakeb 综合征, 简称 KRS 综合征) 的致病基因, 又称 PARK9 基因, 现已在早发型帕金森病 (EOPD) 患者中发现多种 ATP13A2 基因突变类型。其蛋白表达定位于溶酶体膜上, 而溶酶体功能异常可诱发细胞变性、衰老、死亡。近年来, 大量关于此基因与蛋白的研究, 为神经系统变性病的探讨提供了新的视角。本文就 ATP13A2 基因突变患者的临床表现, 基因蛋白表达, 突变后致病机制以及低氧对 ATP13A2 启动子活性和转录的影响等方面进展作一综述。

**关键词:** ATP13A2; 基因突变; 早发型帕金森病

帕金森病 (Parkinson's disease, PD) 是常见的神经系统退行性疾病, 发病机制复杂, 可能与衰老、环境因素和遗传相关, 其中遗传因素越来越受到重视。目前, 已定位 13 个 PD 疾病基因位点, 其中 9 个致病基因已被克隆。ATP13A2 则与常染色体隐性遗传性青年帕金森综合征相关<sup>[1]</sup>, 本文就 ATP13A2 在帕金森氏病中的研究作如下综述。

### 1 ATP13A2 基因突变类型的临床特点

2006 年 Ramirez 等<sup>[2]</sup> 首次发现, ATP13A2 基因为 KRS 综合征的致病基因。其在一个智利家系中发现了 2 种杂合的 ATP13A2 基因异常: 一为 26 号外显子 3057 位点胞嘧啶缺失造成的移码突变, 表达缺失 3 个 C 末端跨膜区域的 ATP13A2 截短蛋白; 二为 13 号外显子 1306 位点鸟嘌呤到腺嘌呤的错义突变, 导致 13 号外显子不表达, 致 ATP13A2 蛋白第 3 个跨膜区域半数缺失。Ramirez 等<sup>[1]</sup> 还在 1 个约旦家系中发现了 ATP13A2 基因的纯合突变, 为 16 号外显子 1632-1653 位点 22-bp 的重复突变, 表达缺失 6 个 C 末端跨膜区域的 ATP13A2 截短蛋白。疾病最初的临床症状多为疲乏、运动迟缓和智力下降, 以青少年发病、多巴胺反应性帕金森综合征、锥体束征、核上性凝视麻痹和痴呆为主要临床特征, 部分患者还有面部-咽喉-手指轻微肌肉震颤、眼肌阵挛和幻视<sup>[2]</sup>, 头颅 MRI 示苍白球和全脑萎缩。2008 年, Ning 等<sup>[3]</sup> 在 117 例散发性青年帕金森综合征患者中发现 1 例

日本患者存在 ATP13A2 基因的 F182L 纯合突变。该患者 22 岁发病, 病情进展缓慢, 左旋多巴治疗有效, MRI 表现为广泛的脑和脊髓萎缩, 推测 KRS 患者常见的锥体束征和下肢无力可能来源于脊髓萎缩,<sup>18</sup>F-dopa PET 显示双侧纹状体多巴胺摄取降低。Di Fonzo 等<sup>[4]</sup> 在两名意大利散发性 EOPD 患者中发现了两种 ATP13A2 基因杂合突变 (Thr12Met 和 Gly533Arg), 患者 30 岁后起病, 以运动迟缓、肌强直为特征, 左旋多巴治疗有效, 但无核上性凝视麻痹和痴呆, 头颅 MRI 示正常; 而后在一名巴西散发性 EOPD 患者中发现了 ATP13A2 基因 15 号外显子 Gly504Arg 的杂合错义突变, 患者 12 岁发病, 病情进展较快, 影像学检查同样显示了全脑萎缩。Di Fonzo 等报道的上述 ATP13A2 基因突变均产生 ATP13A2 蛋白在溶酶体膜内侧结构域的异常, 而非位于跨膜区。

此外, Lin 等<sup>[5]</sup> 在台湾和新加坡的散发 EOPD 患者中发现 ATP13A2 基因 A746T 杂合突变。2010 年, Chen 等<sup>[6]</sup> 在 65 例发病年龄小于 50 岁的台湾 PD 患者中也发现此类杂合突变以及一种新型 G1014S 杂合突变。这些患者临床表现、病情进展和药物疗效都与前期研究相仿, 但影像学显示未见明显皮质萎缩。<sup>99m</sup>Tc-TRODAT-1 单光子发射计算机断层摄影 (single photon emission computed tomography, SPECT) 成像显示基底节两侧<sup>99m</sup>Tc-TRODAT-1 摄取呈不对称性降低, 右侧纹状体降低尤为显著, 与特发

收稿日期: 2013-06-19; 修回日期: 2013-10-10

作者简介: 马越(1985-), 男, 在读硕士, 主要从事神经变性病的研究。

通讯作者: 汤颖(1973-), 女, 博士, 副主任医师, 主要从事神经变性病的研究。E-mail: hydtangying@hotmail.com。

性 PD 影像学表现一致。而在大样本对照研究中发现,正常对照组也存在 A746T 突变,突变者有轻度嗅觉减退,SPECT 扫描所见与 PD 患者相似,表现出黑质纹状体区多巴胺通路的缺陷,高度提示早期 PD 大脑病变,支持 *ATP13A2* 基因 A746T 突变增加了 PD 患病风险的观点。此项研究显示,*ATP13A2* 基因 A746T 突变不仅存在于 PD 患者中,而且也存在于正常人群,从而引起了 A746T 突变是否与 PD 发病相关的争论。而 Fei 等<sup>[7]</sup>对中国大陆 532 个 PD 患者和 480 个正常对照人群的研究发现,*ATP13A2* 基因 A746T 突变在汉族人群中罕见,没有证据支持该突变类型与 PD 发病相关。Carles 等<sup>[8]</sup>在突尼斯人群中也未发现 *ATP13A2* 基因与家族或非家族性 PD 发病相关,且发现 PD 患者大脑的 *ATP13A2* 基因 mRNA 表达量稍低于正常对照组。上述研究结果的不一致可能与人种背景、样本量和研究方法有关,仅局限于 *ATP13A2* 基因某一位点的研究不能反映全部 *ATP13A2* 基因的异常,*ATP13A2* 基因 mRNA 和蛋白表达的异常也是现有研究所缺乏的。

## 2 *ATP13A2* 蛋白

人类 *ATP13A2* 基因由于 mRNA 剪切位点不同而编码产生 3 种蛋白异形体 Isoform-1、Isoform-2 和 Isoform-3。Isoform-1 即通常所说的 *ATP13A2* 蛋白(1180 个氨基酸组成,含 10 个跨膜区,130 kDa); Isoform-2 与 Isoform-1 结构极为类似,仅 N 端缺失 5 个氨基酸,推测与 Isoform-1 功能相同; Isoform-3 由 1158 个氨基酸组成,C 端结构与 Isoform-1 不同,位于内质网,降解迅速<sup>[9]</sup>。这 3 种蛋白异形体的功能至今不清。*ATP13A2* 蛋白位于溶酶体膜,其突变体蛋白位于内质网,通过内质网应激诱发细胞死亡。DNA 数据库对比分析显示,*ATP13A2* 蛋白具有典型的 P-type ATPase 阳离子转运泵的特点,含有磷酸化位点、核酸结合位点、激活位点、跨膜区、金属离子结合位点和脂类结合位点。从结构上分析,它同时还可能是脂类翻转酶(lipid flippases),参与脂质转运<sup>[10]</sup>。*ATP13A2* 蛋白在各组织均有表达,中枢神经系统表达量最高,尤以脑内黑质区为首。

## 3 *ATP13A2* 在早发型帕金森病中的错义突变

*ATP13A2* 基因纯合子和杂合子错义突变已经在早发型帕金森病中得到证明。研究发现,纯合子 F182L、G504R 和 G877R 错义突变普遍损伤

*ATP13A2* 蛋白的稳定性,并通过蛋白酶体通路加快其降解。其中 F182L 和 G504R 突变切断了 *ATP13A2* 蛋白在溶酶体膜上的定位,促进 *ATP13A2* 蛋白错位聚集于内质网中<sup>[11]</sup>,从而引起青年型帕金森病(10~22 岁)。而杂合子 T12M、G533R 和 A746T 突变没有明显改变蛋白稳定性或者亚细胞定位,但损伤了 *ATP13A2* 的 ATP 酶活性从而致病<sup>[12]</sup>。过表达 *ATP13A2* 错义突变基因的人神经母细胞瘤 SH-SY5Y 细胞的生存能力不受影响,证明突变蛋白本身没有毒性。但在铬、镍等金属离子暴露条件下,过表达 *ATP13A2* 错义突变基因的皮质神经元更易发生轴突缩短<sup>[11]</sup>。

## 4 *ATP13A2* 突变的致病机制

### 4.1 *ATP13A2* 与锰离子

锰暴露是帕金森氏病的重要环境因素,锰中毒可引起帕金森综合征。Gerda 等<sup>[13]</sup>对意大利北部一个帕金森病高发区域人群的研究发现,单纯的 *ATP13A2* 突变对 PD 患者的运动协调性无太大影响,但是在锰暴露下,其运动协调性有所降低。而研究证明,*ATP13A2* 蛋白可能参与到细胞内多种二价阳离子转运,包括锰离子<sup>[12]</sup>,并可保护细胞抵抗高浓度金属离子的毒性。Gitler 等<sup>[14]</sup>进一步研究发现,*ATP13A2* 蛋白表达缺陷的酵母菌株对高浓度锰离子的毒性更为敏感,反之,高表达 *ATP13A2* 蛋白的酵母菌株可抵抗锰离子的毒性。由此推测,*ATP13A2* 蛋白能够对抗锰离子的毒性,对细胞起到保护作用。

### 4.2 *ATP13A2* 与 $\alpha$ -synuclein

$\alpha$ -synuclein 是一种突触前末梢蛋白,与遗传性和散发性 PD 的发病存在密切关系。 $\alpha$ -synuclein 通过溶酶体的自噬途径降解,自噬体的缺陷会导致  $\alpha$ -synuclein 降解受阻,从而使  $\alpha$ -synuclein 在细胞内聚集,成为 PD 发病机制中的重要因素<sup>[15]</sup>。*ATP13A2* 蛋白参与溶酶体降解  $\alpha$ -synuclein 的过程,研究发现在酵母和线虫中敲除 *ATP13A2* 同源基因后, $\alpha$ -synuclein 蛋白错折叠增加<sup>[14]</sup>,而过表达 *ATP13A2* 同源体可以减轻  $\alpha$ -synuclein 的神经毒性作用,挽救  $\alpha$ -synuclein 诱导的多巴胺能神经元的变性丢失<sup>[16]</sup>。

### 4.3 *ATP13A2* 与溶酶体

溶酶体功能障碍已在多种神经变性病包括帕金森病及相关的共核蛋白病中得到证实。*ATP13A2* 突变导致了 PD 病人成纤维细胞中溶酶

体功能改变,包括溶酶体蛋白酶和组织蛋白酶 B、D 的不完全成熟;溶酶体内 pH 值的升高;以及溶酶体介导的蛋白质降解途径的明显缺陷。溶酶体本身也呈现向核周聚集,且形态变大的改变<sup>[17]</sup>。近期,日本科学家利用 medaka 鱼来研究动物 PD 模型<sup>[18]</sup>,在 *ATP13A2* 突变的 medaka 鱼中同样观察到组织蛋白酶 D 量的减少以及活性的降低,证明了 *ATP13A2* 变异可能导致 medaka 鱼的神经细胞溶酶体功能的改变。同时纯合子突变的 medaka 鱼出现了多巴胺能和去甲肾上腺素能神经元丢失,此类神经元丢失是临床上 PD 患者典型的病理改变。Usenovic 等<sup>[19]</sup>认为,*ATP13A2* 蛋白可能携带一些辅助因子定位于溶酶体膜上,这些辅助因子增加了溶酶体活性,稳定了溶酶体的功能,使细胞更易于处理如氧化应激等不利的环境刺激,从而降低 PD 的发生。大量试验证明 *ATP13A2* 突变会导致溶酶体功能下降,修复后则可恢复溶酶体功能。通过调控 *ATP13A2* 表达状态进而调节神经细胞溶酶体的功能,可能为治疗神经系统退行性疾病提供新途径。

#### 4.4 *ATP13A2* 与线粒体

Grünewald 等<sup>[20]</sup>对 KRS 综合征病人成纤维细胞线粒体呼吸链的研究发现,*ATP13A2* 突变减少了线粒体膜蛋白和 ATP 的合成,同样的情况也见于 *PINK1*、*Parkin*、*LRK2* 突变患者的成纤维细胞。Bernard 等<sup>[21]</sup>发现,*ATP13A2* 变异患者的成纤维细胞中线粒体网状二维结构相互连接减少,这种现象可能与变异的细胞中 ATP 合成降低有关。相反,野生型 *ATP13A2* 的过表达可修复线粒体功能受损的上述表型,恢复呼吸链功能,提示过表达 *ATP13A2* 有助于维持线粒体功能稳态<sup>[19]</sup>,推测线粒体功能受损是重要的 KRS 综合征致病机制。

#### 4.5 *ATP13A2* 与神经元脂褐质沉积

神经元蜡样脂褐质沉积(neuronal ceroid lipofuscinosis, NCL)是神经退行性病变发展的一个重要特征,已有试验证明 *ATP13A2* 突变与 NCL 相关<sup>[19]</sup>。研究发现敲除 *ATP13A2* 基因的小鼠其脑部皮质神经元、海马和小脑中出现脂褐素沉积加速<sup>[16]</sup>。同样,在西藏犬脑中也发现了因 *ATP13A2* 基因单核苷酸遗传突变(外显子缺失或移码突变)而引起的广泛的 NCL 形成<sup>[22]</sup>。虽然目前尚无 *ATP13A2* 变异患者的脑部病理研究证据,但鉴于 KRS 综合征与 NCL 表型的重叠,共同的病因学特点,Farias 等<sup>[22]</sup>认为 KRS 综合征属于 NCL 疾病范畴。已有研

究从 KRS 综合征患者腓神经活检中发现了神经元的急性轴突变性以及在 Schwann 细胞中出现了大量类似胞浆包涵体的不规则溶酶体<sup>[23]</sup>,从而可以推测 NCL 在神经细胞内的病理变化。

#### 5 低氧对人类 *ATP13A2* 启动子活性和转录的影响

目前对 *ATP13A2* 蛋白功能的研究较少,但致病基因的转录调控在退行性疾病中已受到越来越多的重视。已有试验证明转录因子—缺氧诱导因子(hypoxia inducible factor 1, HIF-1)可能通过对 *ATP13A2* 的转录调节从而直接参与到 PD 的发病机制中<sup>[24]</sup>。研究发现低氧对 *ATP13A2* mRNA 的表达水平有重要影响<sup>[25]</sup>,研究者将 HEK293 细胞放入 2% 的低氧环境中,分别停留 0、12、24 和 48 h,随后用 RT-PCR 来测定 *ATP13A2* 基因 mRNA 水平。结果显示,暴露在缺氧环境中 24、48 h 的 *ATP13A2* mRNA 水平有明显的增高。推测在缺氧过程中, HIF-1 $\alpha$  蛋白与 *ATP13A2* 启动子区缺氧反应元件(hypoxia response element, HRE)位点相结合,上调 *ATP13A2* 基因的表达。此前已有研究表明 *ATP13A2* 基因的表达上调能够对抗锰离子和  $\alpha$ -synuclein 的细胞毒性<sup>[14]</sup>,进而推测缺氧引起的 *ATP13A2* 基因表达的上调作用可对多巴胺能神经元损伤起到保护性作用。因此转录因子 HIF-1 $\alpha$  的转录调控可能成为目前神经退行性疾病治疗研究的新热点<sup>[25]</sup>。

综上所述,*ATP13A2* 基因突变可能引起细胞内多种病理改变,包括溶酶体、线粒体功能异常等。过表达 *ATP13A2* 可逆转上述改变,保护多巴胺能神经元。未来对 *ATP13A2* 蛋白功能的进一步研究,将有助于阐明 PD 的发病机制,为治疗神经系统退行性病变提供新的思路。

#### 参 考 文 献

- [1] Ramirez A, Heimbach A, Grundemann J, et al. Hereditary parkinsonism with dementia is caused by mutations in *ATP13A2*, encoding a lysosomal type 5 P-type ATPase. *Nat Genet*, 2006, 38(10): 1184-1191.
- [2] Williams DR, Alial-Din H, Najim AS, et al. Kufor Rakeb Disease: Autosomal recessive, levodopa-responsive parkinsonism with pyramidal degeneration, supranuclear gaze palsy, and dementia. *Mov Dis*, 2005, 20(10): 1264-1271.
- [3] Ning YP, Kanai K, Tomiyama H, et al. Park9-Linked Parkinsonism in Eastern Asia: Mutation Detection in *Atp13a2*

- and Clinical Phenotype. *Neurology*, 2008, 70 ( Issue 16 , Part 2 ) : 1491-1493.
- [4] Di Fonzo A , Chien HF , Socal M , et al. ATP13A2 missense mutations in juvenile parkinsonism and young onset Parkinson disease. *Neurology*, 2007, 68 ( 19 ) : 1557-1562.
- [5] Lin CH , Tan EK , Chen ML , et al. Novel ATP13A2 variant associated with Parkinson disease in Taiwan and Singapore. *Neurology*, 2008, 71 ( 21 ) : 1727-1732.
- [6] Chen CM , Lin CH , Juan HF , et al. ATP13A2 variability in Taiwanese Parkinson's disease. *Am J Med Genetics Part B: Neuropsychiatr Genetics*, 2011, 156 ( 6 ) : 720-729.
- [7] Fei QZ , Cao L , Xiao Q , et al. Lack of association between ATP13A2 Ala746Thr variant and Parkinson's disease in Han population of mainland China. *Neurosci Lett*, 2010, 475 ( 2 ) : 61-63.
- [8] Vilarion-Guell C , Soto Alexandra I , Lincoln Sarah J , et al. ATP13A2 variability in Parkinson disease. *Human Mutation*, 2009, 30 ( 3 ) : 406-410.
- [9] Ugolino J , Fang S , Kubisch C , et al. Mutant ATP13A2 proteins involved in parkinsonism are degraded by ER-associated degradation and sensitize cells to ER-stress induced cell death. *Human Mol Genetics*, 2011, 20 ( 18 ) : 3565-3577.
- [10] Werner K. Biology, structure and mechanism of P-type ATPases. *Nature Rev Mol Cell Biol*, 2004, 5 ( 4 ) : 282-295.
- [11] Chu CT , Agata P , Alessandra M , et al. Common Pathogenic Effects of Missense Mutations in the P-Type ATPase ATP13A2 ( PARK9 ) Associated with Early-Onset Parkinsonism. *PLoS One*, 2012, 7 ( 6 ) : e39942.
- [12] Santoro L , Breedveld Guido J , Fiore M , et al. Novel ATP13A2 ( PARK9 ) homozygous mutation in a family with marked phenotype variability. *Neurogenetics*, 2010, 12 ( 1 ) : 33-39.
- [13] Rentschler G. , Loredana C , Amelia AH , et al. ATP13A2 ( PARK9 ) polymorphisms influence the neurotoxic effects of manganese. *Neurotoxicology*, 2012, 33 ( 4 ) : 697-702.
- [14] Gitler AD , Chesí A , Geddie ML , et al. Alpha-synuclein is part of a diverse and highly conserved interaction network that includes PARK9 and manganese toxicity. *Nat Genet*, 2009, 41 ( 3 ) : 308-315.
- [15] Rochet JC. New insights into lysosomal dysfunction in parkinson's disease: An emerging role for ATP13A2. *Mov Dis*, 2012, 27 ( 9 ) : 1092.
- [16] Schultheis PJ , Fleming SM , Clippinger AK , et al. Atp13a2-deficient mice exhibit neuronal ceroid lipofuscinosis, limited-synuclein accumulation and age-dependent sensorimotor deficits. *Human Mol Genetics*, 2013, 22 ( 10 ) : 2067-2082.
- [17] Usenovic M , Tresse E , Mazzulli JR , et al. Deficiency of ATP13A2 Leads to Lysosomal Dysfunction, -Synuclein Accumulation, and Neurotoxicity. *J Neurosci*, 2012, 32 ( 12 ) : 4240-4246.
- [18] Matsui H , Hidefumi I , Yoshihito T , et al. Proteasome inhibition in medaka brain induces the features of Parkinson's disease. *J Neurochem*, 2010, 115 ( 1 ) : 178-187.
- [19] Covy JP , Waxman EA , Giasson BI. Characterization of cellular protective effects of ATP13A2/PARK9 expression and alterations resulting from pathogenic mutants. *J Neurosci Res*, 2012, 90 ( 12 ) : 2306-2316.
- [20] Grunewald AV , Rakovic A , Kasten M , et al. Mutant Parkin Impairs Mitochondrial Function and Morphology in Human Fibroblasts. *PLoS ONE*, 2010, 5 ( 9 ) : e12962.
- [21] Benard G , Bellance N , James D , et al. Mitochondrial bioenergetics and structural network organization. *J Cell Sci*, 2007, 120 ( 5 ) : 838-848.
- [22] Farias FHG , Rong Z , Johnson Gary S , et al. A truncating mutation in ATP13A2 is responsible for adult-onset neuronal ceroid lipofuscinosis in Tibetan terriers. *Neurobiol Dis*, 2011, 42 ( 3 ) : 468-474.
- [23] Paisún-Ruiz C , Rocio G , Monica F , et al. Early-onset L-dopa-responsive parkinsonism with pyramidal signs due to ATP13A2 , PLA2G6 , FBXO7 and spatacsin mutations. *Mov Dis*, 2010, 25 ( 12 ) : 1791-1800.
- [24] Sun X , He G , Qing H , et al. Hypoxia facilitates Alzheimer's disease pathogenesis by up-regulating BACE1 gene expression. *Proc Natl Acad Sci*, 2006, 103 ( 49 ) : 18727-18732.
- [25] Xu Q , Guo HL , Zhang XJ , et al. Hypoxia regulation of ATP13A2 ( PARK9 ) gene transcription. *J Neurochem*, 2012, 122 ( 2 ) : 251-259.