

核呼吸因子-1 在神经系统中的研究进展

司二旺¹ 综述 叶钦勇² 审校

1. 福建医科大学协和临床医学院/福建医科大学附属协和医院/福建医科大学脑血管病研究所,福建省福州市 350001
2. 福建医科大学附属协和医院神经内科/福建医科大学脑血管病研究所,福建省福州市 350001

摘 要:核呼吸因子-1 (NRF-1) 是核基因编码的一个关键的转录因子,在协调细胞核和线粒体功能、DNA 的合成/修复、蛋白质的转录/翻译和细胞增殖等方面有重要意义。本文就 NRF-1 的结构、分布、调节、功能作简要介绍,并着重阐述近年来它在神经元及神经系统疾病中的研究进展。

关键词:核呼吸因子-1;过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 辅激活因子 1;线粒体;线粒体转录因子

线粒体是真核细胞能量供应的主要细胞器。线粒体呼吸链由线粒体基因组 (mitochondrial DNA, mtDNA) 和核基因组 (nuclear DNA, nDNA) 共同编码和调控^[1]。人类 mtDNA 拥有 37 个基因,编码了 13 个多肽亚基(包括细胞色素 C 氧化酶的 3 个亚基、ATP 合酶的 2 个亚基、NADPH 脱氢酶的 7 个亚基和细胞色素 b), 2 种 rRNA (12S rRNA 和 16S rRNA) 和 22 种 tRNA^[2]。nDNA 则编码其余 90% 以上的线粒体呼吸链复合体的蛋白质和所有参与线粒体呼吸链编码基因复制转录的酶类和调节因子的基因^[3]。核呼吸因子-1 (nuclear respiratory factor 1, NRF-1) 是由核基因编码的与 DNA 结合的核调节因子,在协调线粒体基因组和核基因组的表达中起着关键性的作用,它还参与了线粒体的再生与功能调节、DNA 的合成与修复、蛋白质的转录与翻译、细胞的生长与增殖以及神经元细胞突起生长的调控等细胞的基础活动^[4]。

1 NRF-1 的结构与分布

NRF-1 最早被认为是线粒体细胞色素 C 的转录激活因子。人的 NRF-1 蛋白含有 503 个氨基酸,以同源二聚体的形式存在,含有两个功能区域:一个是 DNA 结合区:以同源二聚体的形式与富含 GC 的回文结构结合,该回文结构位于转录起始位点周围,长约 40 ~ 50 bp^[5]。另一个是转录激活区:位于羧基端,富含疏水性氨基酸,可以形成多

种具有特定空间结构的疏水域,正是利用这些特异的疏水域激活转录。其中 DNA 结合区又可分为两个亚区:一是含有一个复杂的核定位信区,通过 3 个碱性氨基酸残基定位于 DNA;二是含有磷酸化位点的丝氨酸残基区,通过磷酸化丝氨酸残基,提高与富含 GC 的回文序列结合,并增加其转录活性功能^[6]。NRF-1 在生物体内被广泛表达,其中骨骼肌表达最为丰富。正常生理状态下的大鼠, NRF-1 mRNA 维持在较低的水平,其中在肺和睾丸组织含量最为丰富,其次为心脏、肾脏和脑组织。

2 NRF-1 的调节

过氧化物酶体增生生物激活受体 γ 共激活因子 1 (PGC-1) 家族是协调外界环境变化与线粒体生物合成的关键因子^[7],包括 PGC-1 α 、PGC-1 β 和 PRC (PGC-1 α -related co-activator),是目前发现对 NRF 家族的主要调节者。PGC-1 通过磷酸化激活或过表达不仅可以结合并激活 NRF-1,促进 NRF-1 下游靶基因线粒体转录因子 A (mitochondrial transcription factor A, TFAM)、TFB1M 等表达^[8],而且还可以促进 NRF-1 的转录和表达水平,来协调机体在不同能量供需状态时的线粒体呼吸链功能^[9]。在骨骼肌训练早期^[10]或 PGC-1 α 缺失的情况下,PRC 被迅速诱导表达,可能是对 PGC-1 家族其他成员功能的补充或替代作用。另外,PGC-1 还可以直接调节 NRF-1 下游靶基因的表达,如粒体转录因子 (mito-

基金项目:福建省青年科技人才创新项目 (2007F3035)

收稿日期:2012-07-02; **修回日期:**2012-10-02

作者简介:司二旺 (1985-),男,硕士,主要从事帕金森病的基础和临床研究。

通讯作者:叶钦勇 (1970-),男,主任医师,副教授,博士,主要从事帕金森病的基础和临床研究。E-mail:unionqyue@163.com。

chondrial transcription factor, mtTF)、细胞色素 C 等。内毒素脂多糖可通过核转录因子- κ B (NF- κ B) 和 cAMP 反应元件结合蛋白 (CREB) 与 NRF-1 的启动子结合,促进 NRF-1 的表达。此外,在老龄化、运动、低氧环境、甲状腺激素、雌激素、苯并芘^[10] 等外界因素作用下, NRF-1 mRNA 表达量增加,与结合 DNA 的能力增强。

3 NRF-1 对线粒体的调控

3.1 对线粒体转录因子的作用

TFAM 是由细胞核编码的决定着 mtDNA 转录和复制的转录因子,而 NRF-1 和 NRF-2 又是 TFAM 编码基因的关键启动子,其中 NRF-1 起着决定性的作用^[13],因此, NRF-1 使线粒体生物发生中 mtDNA 和 nDNA 之间的协调成为可能。但是从线粒体到细胞核的具体信号通路尚不太清楚, Miranda 等^[11] 证实 ROS 参与了线粒体——核信号通路的调节,这些 ROS 主要在电子转移链辅酶 Q 位点处产生。其中 ROS 的产生与 NRF-1 蛋白的水平密切相关^[12]。在脂多糖^[14] 或外源性氧化剂诱导的线粒体氧化损伤中, NRF-1 和 mtTF 都表达上调,可能因为 NRF-1 通过 mtTF 提高了 mtDNA 的水平和氧化磷酸化酶的活性,增强了氧化应激损害。在含有促氧化剂的环境中 NRF-1 与 mtTF 的启动子结合增加,相反在含有氧化还原剂的背景下, NRF-1 被 Akt 磷酸化,而抑制了与 mtTF 启动子的结合^[15]。这表明抗氧化剂可以通过磷酸化,来调节 NRF-1 目的基因的表达。在老年人的骨骼肌中, NRF-1 (DNA 结合活性和 mRNA) 和 mtTF (蛋白和 mRNA) 均增加,可能是对能量代谢降低的一种代偿反应^[16]。有意思的是在苯并芘诱导的 16HBE 细胞中, NRF-1 蛋白水平减少,而 NRF-1 的 mRNA 没有变化^[12]。这与先前的一些研究相矛盾: NRF-1 的 mRNA 水平和 NRF-1 蛋白水平变化一致^[17, 18, 22, 23]。其中潜在的机制有待进一步研究。

3.2 对细胞色素 c 氧化酶的调节

细胞色素 c 氧化酶 (cytochrome c oxidase, COX) 是线粒体内膜呼吸链上的终端酶,共含有 13 个亚基,其中 10 个亚基由 nDNA 编码,另外 3 个由线粒体 DNA 编码。且 10 个核编码亚基基因分别在不同的染色体上,对于它们之间的调节机制仍不明确。最近研究证实 NRF-1 在体内外均与 10 个亚基基因的启动子结合,这些结合位点在人类、小鼠、大鼠之间有高度的保守性^[19]。另外, NRF-1 可以通过调节 mtTFA 和 mtTFB 间接调节 3 个线粒体

编码的亚基。通过基因干扰抑制 NRF-1 表达后, COX 的 13 个亚基 mRNA 水平明显下降,因此, NRF-1 和 NRF-2 一样协调着神经元细胞内细胞色素 c 氧化酶的 13 个亚基的协调表达^[20, 21]。

4 NRF-1 对神经元细胞的活性影响

NRF-1 是线粒体呼吸链酶 (包括呼吸链的五个复合体) 和 COX 的 13 个亚基基因的关键转录激活因子,所以, NRF-1 在调节细胞的能量代谢中起着重要作用。神经元的活动与能量代谢是紧密耦联的过程,通过河豚毒素 (TTX) 抑制和氯化钾去极化刺激改变神经元细胞的活动, COX 的活性则根据细胞新的能量需求而发生改变,谷氨酸能神经递质和 NMDA 谷氨酸受体的表达也随之变化。同样, NRF-1 蛋白和 mRNA 水平在氯化钾刺激的环境中表达上调^[22],在 TTX 抑制的情况下表达下调^[23]。其中 NRF-1 的变化在其靶点基因 COX 的变化之前^[22, 23]。由此可以推测,神经细胞活动的变化可以直接通过调节 NRF-1,来协调细胞能量的产生。最新研究也表明在不断变化的神经元活动过程中, NRF1 通过联合 CREB 调解细胞色素 C (cytochrome c) 的转录,而使神经元的能量产生随之改变^[24]。驱动蛋白家族 KIF17 是 NMDA 谷氨酸受体亚基 2b (NR2b) 的转运蛋白,对 ATP 有高度的依赖性。在神经元细胞中, NRF-1 与驱动蛋白 KIF17 的启动子相结合,调节 KIF17 的表达^[25]。低表达 NRF-1 可引起 KIF17、NMDA 谷氨酸受体亚基 I (NR1)、2b (NR2b) 水平减少,可以阻止氯化钾对它们的上调;相反,高表达 NRF-1 可以解救 TTX 对它们的抑制。富含 KIF17、NR1 和 NR2b 的树突是大脑能量的主要消耗者,对氧化代谢有高度的依赖性, COX 在树突中含量也最高。因此, NRF-1 通过调控 NR1、NR2b 以及 COX 各亚基的表达将突触传递和能量的代谢过程相偶联,并协调它们之间的变化。除此之外, NRF-1 还可以通过调节人突触蛋白来调节神经细胞轴突的生长^[26]。

5 NRF-1 在神经系统疾病中的作用

5.1 帕金森病中的作用

目前,大量研究表明线粒体在家族性和散发性帕金森病 (PD) 的病因中有着关键作用,而 NRF-1 又是线粒体生物合成和功能调节的重要因子^[27]。在 MPTP 造模的帕金森病模型小鼠中, NRF-1 和 TFAM 在黑质和纹状体中表达均减少,在小脑和大脑皮质中无明显改变。在 SH-SY5Y 帕金森细胞模

型中通过过表达 NRF-1 或 TFAM 可以明显恢复 MPP+ 对线粒体和多巴胺能神经元的损伤。其机制包括:增加线粒体复合物 I 活性、恢复线粒体膜电位、提高 ATP 水平、减少 ROS 的产生,增加酪氨酸羟化酶 (TH) 的表达^[28]。

5.2 脑缺血中的保护作用

脑缺血时线粒体结构功能受损,通过释放促凋亡蛋白和生成大量 ROS 造成神经元继发性损伤。在小鼠脑缺血 24 h 后通过康复锻炼,可以明显引起 NRF-1 表达上升,促进线粒体生物合成,减少脑梗死面积并改善神经功能^[29, 30]。也有研究发现,在小鼠急性脑梗死周边区域, NRF-1 在 6 h 到 24 h 期间一过性表达升高,而 TFAM 从第 9 小时开始升高,并且 NRF-1 mRNA 高峰时间早于 TFAM,这与 NRF-1 是 TFAM 的上游调节因子的观点一致,此外 mtDNA、COX、热休克蛋白 60 和线粒体数目也明显增加,这些数据表明脑梗死后 NRF-1、TFAM 可能参与了线粒体的生物合成^[31]。PGC-1 作为 NRF-1 及线粒体合成的主要调节者,在该研究中没有发现其蛋白和 mRNA 在脑梗死 24 h 内发生变化,这可能是 NRF-1 对脑缺血的急性应激保护作用。

5.3 亨廷顿舞蹈病

近年来一些研究表明,PGC-1 α 功能障碍引起的线粒体功能失调在 HD 的发病机制中至关重要^[32]。NRF-1 作为 PGC-1 α 下游的调节因子,研究发现 HD 转基因小鼠成肌细胞中 NRF-1 mRNA 表达降低。在给予 HD 小鼠分解代谢应激因子[β -氨基丙酸 (GPA)——降低 ATP 水平的肌酸类似物]产生慢性能源匮乏后, NRF-1 明显降低;而在 GPA 处理的野生小鼠中 NRF-1 明显增加, NRF-2 变化不明显^[33]。另外,通过对 401 名亨廷顿病患者 NRF-1 的 15 个单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphisms, SNPs) 分析发现, HD 的发病年龄与 NRF-1 基因多态性密切相关,而与 NRF-2、PGC-1 β 、过氧化物酶体增生激活受体 γ (PPAR γ) 等基因多态性无关^[34]。因此,有专家认为 PGC-1 α 、NRF-1 体系有可能为 HD 的治疗带来新靶点。

6 总结

转录因子 NRF-1 是连接核基因组与线粒体基因组相互作用的纽带,在线粒体的生物合成和呼吸功能中起重要作用。除调节呼吸功能外,还对细胞生长、染色体维护、保持神经元的兴奋性、增强神经元抗凋亡等都具有意义。同时是老年性痴呆、帕

金森病、震颤麻痹、糖尿病脑病、乳腺癌^[35, 36]、肝癌以及遗传性遗传性疾病 (如遗传性叶酸吸收不良^[37]) 等多种疾病的重要原因。在人类大约 13000 个启动子中, NRF-1 就与其中 691 个启动子相结合^[38],说明了 NRF-1 作用广泛和功能复杂性。目前对于 NRF-1 更多的功能以及调节的具体途径还不十分清楚,有待于进一步研究。

参 考 文 献

- [1] Taanman JW. The mitochondrial genome: Structure, transcription, translation and replication. *Biochim Biophys Acta*, 1999, 1410(2): 103-123.
- [2] Bonawitz ND, Clayton DA, Shadel GS. Initiation and beyond: multiple functions of the human mitochondrial transcription machinery. *Mol Cell*, 2006, 24(6): 813-825.
- [3] Scarpulla RC. Nuclear Control of Respiratory Gene Expression in Mammalian Cells. *J Cell Biochem*, 2006, 97(4): 673-683.
- [4] Hossain MB, Ji P, Anish R, et al. Poly (ADP-ribose) Polymerase 1 Interacts with Nuclear Respiratory Factor 1 (NRF-1) and Plays a Role in NRF-1 Transcriptional Regulation. *J Biol Chem*, 2009, 284(13): 8621-8632.
- [5] Xi H, Yu Y, Fu Y, et al. Analysis of overrepresented motifs in human core promoters reveals dual regulatory roles of YY1. *Genome Res*, 2007, 17(6): 798-806.
- [6] Herzig RP, Scacco S, Scarpulla RC. Sequential serum-dependent activation of CREB and NRF-1 leads to enhanced mitochondrial respiration through the induction of cytochrome-c. *J Biol Chem*, 2000, 275(17): 13134-13141.
- [7] Scarpulla RC. Nuclear Control of Respiratory Chain Expression by Nuclear Respiratory Factors and PGC-1-Related Coactivator. *Ann N Y Acad Sci*, 2008, 1147: 321-334.
- [8] Wright DC, Han DH, Garcia-Roves PM, et al. Exercise-induced mitochondrial biogenesis begins before the increase in muscle PGC-1 α expression. *J Biol Chem*, 2007, 282(1): 194-199.
- [9] Short KR, Vittone JL, Bigelow ML, et al. Impact of aerobic exercise training on age-related changes in insulin sensitivity and muscle oxidative capacity. *Diabetes*, 2003, 52(8): 1888-1896.
- [10] Russell AP, Hesselink MK, Lo SK, et al. Regulation of metabolic transcriptional co-activators and transcription factors with acute exercise. *FASEB J*, 2005, 19(8): 986-988.
- [11] Miranda S, Foncea R, Guerrero J, et al. Oxidative stress and upregulation of mitochondrial biogenesis genes in mitochondrial DNA-depleted Hela cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 1999, 258(1): 44-49.
- [12] Zhang L, Bao Y, Li J. Nuclear respiratory factor-1 is in-

- involved in mitochondrial dysfunction induced by benzo (a) pyrene in human bronchial epithelial cells. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 2011, 109(2): 115-122.
- [13] Kraft CS, LeMoine CM, Lyons CN. Control of mitochondrial biogenesis during myogenesis. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2006, 290(4): C1119-C1127.
- [14] Suliman HB, Carraway MS, Welty-Wolf KE, et al. Lipopolysaccharide stimulates mitochondrial biogenesis via activation of nuclear respiratory factor-1. *J Biol Chem*, 2003, 278(42): 41510-41518.
- [15] Piantadosi CA, Suliman HB. Mitochondrial transcription factor A induction by redox activation of nuclear respiratory factor 1. *J Biol Chem*, 2006, 281(1): 324-333.
- [16] Lezza AMS, Pesce V, Cormio A, et al. Increased expression of mitochondrial transcription factor A and nuclear respiratory factor-1 in skeletal muscle from aged human subjects. *FEBS Lett*, 2001, 501(1): 74-78.
- [17] Dong X, Ghoshal K, Majumder S, et al. Mitochondrial transcription factor A and its downstream targets are up-regulated in a rat hepatoma. *J Biol Chem*, 2002, 277(45): 43309-43318.
- [18] Mendelev N, Witherspoon S, Li PA. Overexpression of human selenoprotein H in neuronal cells ameliorates ultraviolet irradiation-induced damage by modulating cell signaling pathways. *Exp Neurol*, 2009, 220(2): 328-334.
- [19] Dhar SS, Ongwijitwat S, Wong-Riley MT. Nuclear Respiratory Factor 1 Regulates All Ten Nuclear-encoded Subunits of Cytochrome c Oxidase in Neurons. *J Biol Chem*, 2008, 283(6): 3120-3129.
- [20] Ongwijitwat S, Wong-Riley MT. Is nuclear respiratory factor 2 a master transcriptional coordinator for all ten nuclear-encoded cytochrome c oxidase subunits in neurons? *Gene*, 2005, 360(1): 65-77.
- [21] Ongwijitwat S, Liang HL, Graboyes EM, et al. Nuclear respiratory factor 2 senses changing cellular energy demands and its silencing down-regulates cytochrome oxidase and other target gene mRNAs. *Gene*, 2006, 374: 39-49.
- [22] Yang SJ, Liang HL, Wong-Riley MT. Activity-dependent transcriptional regulation of nuclear respiratory factor-1 in cultured rat visual cortical neurons. *Neuroscience*, 2006, 141(3): 1181-1192.
- [23] Liang HL, Wong-Riley MT. Activity-dependent regulation of nuclear respiratory factor-1, nuclear respiratory factor-2, and peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator-1 in neurons. *Neuroreport*, 2006, 17(4): 401-405.
- [24] Delgado JY, Owens GC. The cytochrome c gene proximal enhancer drives activity-dependent reporter gene expression in hippocampal neurons. *Front Mol Neurosci*, 2012, 5: 31.
- [25] Dhar SS, Wong-Riley MT. The kinesin superfamily protein KIF17 is regulated by the same transcription factor (NRF-1) as its cargo NR2B in neurons. *Biochim Biophys Acta*, 2011, 1813(3): 403-411.
- [26] Wang JL, Chang WT, Tong CW, et al. Human synapsin I mediates the function of nuclear respiratory factor 1 in neurite outgrowth in neuroblastoma IMR-32 cells. *J Neurosci Res*, 2009, 87(10): 2255-2263.
- [27] Henchcliffe C, Beal MF. Mitochondrial biology and oxidative stress in Parkinson disease pathogenesis. *Nat Clin Pract Neurol*, 2008, 4(11): 600-609.
- [28] Piao Y, Kim HG, Oh MS, et al. Over expression of TFAM, NRF-1 and myr-AKT protects the MPP + -induced mitochondrial dysfunctions in neuronal cells. *Biochim Biophys Acta*, 2012, 1820(5): 577-585.
- [29] Zhang Q, Wu Y, Zhang P, et al. Exercise induces mitochondrial biogenesis after brain ischemia in rats. *Neuroscience*, 2012, 205: 10-17.
- [30] Zhang Q, Wu Y, Sha HY, et al. Early Exercise Affects Mitochondrial Transcription Factors Expression after Cerebral Ischemia in Rats. *Int J Mol Sci*, 2012, 13(2): 1670-1679.
- [31] Yin W, Signore AP, Iwai M, et al. Rapidly increased neuronal mitochondrial biogenesis after hypoxic-ischemic brain injury. *Stroke*, 2008, 39(11): 3057-3063.
- [32] Róna-Vörös K, Weydt P. The role of PGC-1 α in the pathogenesis of neurodegenerative disorders. *Curr Drug Targets*, 2010, 10: 1262-1269.
- [33] Chaturvedi RK, Adhiketty P, Shukla SM, et al. Impaired PGC-1 α function in muscle in Huntington's disease. *Hum Mol Genet*, 2009, 18(16): 3048-3065.
- [34] Taherzadeh-Fard E, Saft C, Akkad DA, et al. PGC-1 α downstream transcription factors NRF-1 and TFAM are genetic modifiers of Huntington disease. *Mol Neurodegener*, 2011, 6(1): 32.
- [35] Thompson C, MacDonald G, Mueller CR. Decreased expression of BRCA1 in SK-BR-3 cells is the result of aberrant activation of the GABP Beta promoter by an NRF-1-containing complex. *Mol Cancer*, 2011, 10: 62.
- [36] Niida A, Smith AD, Imoto S, et al. Integrative bioinformatics analysis of transcriptional regulatory programs in breast cancer cells. *BMC Bioinformatics*, 2008, 9: 404.
- [37] Gonen N, Assaraf YG. The obligatory intestinal folate transporter PCFT (SLC46A1) is regulated by nuclear respiratory factor 1. *J Biol Chem*, 2010, 285(44): 33602-33613.
- [38] Cam H, Balciunaite E, Blais A, et al. A common set of gene regulatory networks links metabolism and growth inhibition. *Mol Cell*, 2004, 16(3): 399-411.