

线粒体转录因子 A 与神经系统疾病关系的研究进展

陈纯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:线粒体转录因子 A (TFAM) 是由核基因编码的一种多功能的线粒体 mtDNA 蛋白,在线粒体拟核中与 mtDNA 结合,广泛参与 mtDNA 转录,复制和损伤修复,维持线粒体的稳定。线粒体功能障碍是包括帕金森病、阿尔茨海默病在内的多种神经变性疾病的特点,TFAM 基因突变和蛋白水平的变化在疾病中起重要作用。本文总结了国内外学者针对 TFAM 及其相关的神经系统疾病最新研究进展。

关键词:线粒体转录因子 A; 过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 辅激活因子 1; 线粒体; 氧化应激; 帕金森病

线粒体是真核细胞中重要的细胞器,其代谢活动对细胞中 ATP 生成至关重要。线粒体拥有自身的线粒体 DNA (mtDNA), 包含 37 个无内含子的基因,编码氧化应激途径中的各个亚单位及自身蛋白表达所需的 tRNA 和 rRNA^[1]。细胞正常活动所需的大多数 ATP 来自线粒体呼吸链氧化磷酸化,故维护正常的 mtDNA 是健康的必要条件。线粒体转录因子 A (mitochondrial transcription factor A, TFAM or mTFA), 是由核基因编码的高迁移率族蛋白,作为线粒体 DNA 的重要转录因子之一,通过参与线粒体 DNA 转录启动、DNA 复制,在维持胞内 mtDNA 功能稳定中扮演重要角色^[2]。

1 TFAM 的结构和功能

1.1 线粒体拟核

人类 mtDNA 呈双链环状,分为重链 H 和轻链 L,均为编码链。mtDNA 的调节因子主要集中在非编码区,包括三个转录启动子,轻链启动子 (light-strand promoter, LSP), 重链启动子 1 (high-strand promoter 1, HSP1) 和重链启动子 2 (heavy-strand promoter 2, HSP2)。在启动子的参与下, mRNA 进行转录和转录后加工。单个或多个 mtDNA 的拷贝,与调节蛋白,伴侣蛋白及介导代谢的酶一起共同形成的结构称为线粒体拟核。在每个线粒体中都存在几个这样的遗传单位^[3]。

1.2 TFAM 结构和转录

线粒体转录调节机制包括线粒体 RNA 聚合酶 (mtRNAP)、转录因子 B2 (TFBM2) 以及不可缺少的转录因子 A (TFAM)^[4]。TFAM 由核基因编码,属 HMG (high mobility group) 蛋白超家族成员,由串联的两个 HMG 结构域 HMG1 和 HMG2 及含有 25 个氨基酸的羧基末端构成,具有较高的迁移率和 DNA 亲和力。其中, HMG 结构域与 LSP 结合并大幅度弯曲 DNA, 形成 U 型结构^[5], 羧基末端则结合 TFBM (见图 1)。

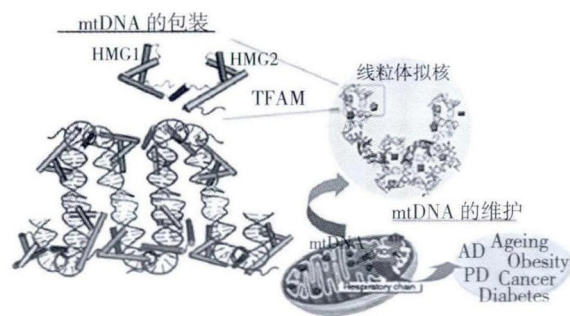


图 1 TFAM 通过 HMG 结构域折叠 DNA 链形成 U 型结构,参与 mtDNA 的包装和维护^[6]

TFAM 识别 HSP1 或 LSP 启动子 (-35 到 -15) 上游约 15 bp 的位点,募集 mtRNAP 和 TFBM 并形成复合物,迅速与转录起始位点下游结合。若除去

基金项目:国家自然科学基金项目(81271414)

收稿日期:2014-03-17;修回日期:2014-05-24

作者简介:陈纯(1988-),女,硕士,主要从事帕金森病的基础和临床研究。E-mail: purechen@me.com

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: unionqyye@163.com。

TFBM, 仅有 mtRNAP 存在的情况下, TFAM 激活启动子非依赖性的非特异性转录^[7]。Huu 等^[8]学者在研究 mtDNA 的 U 型结构时发现, 若 DNA 链不是 U 型弯曲的, TFAM 的羧基端将背离转录起始位点, 使转录不能顺利启动。故推断, TFAM 折叠 DNA 的目的之一是为羧基端参与转录过程提供必要条件, 而 TFAM 的羧基段亦被认为在 TFAM 与 DNA 的特异性结合及转录启动中起关键作用。

1.3 TFAM 与线粒体拟核

在研究线粒体 D 环结构中发现, 大约每个 mtDNA 基因组共含有 1000 个 TFAM 分子, 足以覆盖 mtDNA 全部区域^[9]。裸露的 DNA 和游离的 TFAM 在线粒体中都是极不稳定而易被降解。新的研究表明, 存在于线粒体基质中的 ATP 依赖 Lon 蛋白能降解游离的 TFAM^[10]。高等真核生物的 mtDNA 几乎均被 TFAM 包裹, 而人类 TFAM 分子与 mtDNA-蛋白复合体紧密相连, 且似乎成为线粒体拟核结构的主要成分, 并不仅作为一个转录因子。

研究表明, 过表达或抑制 TFAM 基因, 将相应地引起 mtDNA 水平升高或致命的减少, 提示 TFAM 是 mtDNA 一个剂量依赖性的影响因子。过多的 TFAM 抑制转录和 mtDNA 复制, 可能与 TFAM 非特异性的黏附增加 mtDNA 致密性有关^[11]。因哺乳动物 mtDNA 转录与复制过程相耦联, TFAM 致命性的降低, 使 LSP 的转录活动减少, 复制提前终止, 并失去 TFAM 在稳定、维护、组装 mtDNA 的保护作用。而适当增加 TFAM 能平衡 HSP1 和 LSP 的转录, 调节 LSP 依赖的 mtDNA 复制, 使拟核结构更为致密^[12]。因此, TFAM 和 mtDNA 通过相互作用来保持动态平衡, 故 mtDNA 在线粒体内只能以拟核的形式存在。

1.4 TFAM 与 mtDNA 的相互作用

近年研究提示, TFAM 单体以被动扩散的形式沿着 DNA 链快速进行滑动, 直至形成 TFAM 集落, 与 mtDNA 充分交联。TFAM 饱和的 DNA 呈现出更高的灵活性而非更高的密度, 因 TFAM 蛋白具有灵活的空间结构, 其与 DNA 交联部位存在几个 bp 的解旋, 既不影响蛋白间相互作用, 又能稳定地解旋和压缩, 形成弹性的弯曲而不僵硬^[13]。而 mtDNA 的转录调节、复制及损伤修复必须依靠此种 TFAM 的滑动和解链。

2 TFAM 与神经系统疾病

2.1 TFAM 与帕金森病

线粒体功能障碍是包括帕金森病 (Parkinson's

disease, PD) 在内的多种神经变性病的特点之一。PD 相关的几种常见基因, 如 PARKIN、DJ-1、LRRK2 和 Pink1, 均与线粒体功能密切相关。其中 DJ-1 基因能抑制活性氧簇 (reactive oxygen species, ROS) 生成而起保护作用, PARKIN 则通过提高 TFAM 的表达增强线粒体再生, 这两种基因的突变导致胞内 ROS 水平增加, TFAM 结合 DNA 的能力减弱, 影响线粒体的再生^[14]。一方面, TFAM 基因敲除小鼠出现帕金森病样的运动障碍, 且该症状能被左旋多巴缓解, 提示 TFAM 功能障碍与 PD 有关。研究亦证实, 诱导 TFAM 的过表达能逆转 1-甲基-4-苯基-四氢吡啶离子 (MPP⁺) 对多巴胺能神经元细胞造成的损伤, 包括呼吸链复合体 I 的活力, mtDNA 的表达, ATP 含量和 ROS 水平^[15]。因此可将 TFAM 视为未来治疗 PD 的靶点之一。另一方面, 学者对部分 PD 患者和正常人群进行线粒体单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphism, SNP) 位点分析, 并未发现常见的几种 TFAM 的 SNP 与 PD 之间存在联系, 受试 PD 患者中亦没有发现 TFAM 基因突变^[16]。不过, 新的研究^[17]提示其有可能是帕金森病痴呆的危险因素。与对照组相比, 男性受试者中, rs23066604 基因型频率存在较大的差异, 前额叶皮质线粒体的拷贝数亦大量减少。但这种变化在路易体痴呆 (dementia with lewy bodies, DLB) 患者体内并未发现。

近期 Kent 等^[18]发现, 在 PD 的转基因小鼠模型及 MPTP 小鼠模型中, 中脑组织的 TFAM 水平下降, TFAM 和 ERK_{1/2} 的磷酸化水平均升高。细胞外调节蛋白 ERK (extracellular regulated protein kinases) 是胞内信号转导的关键。TFAM 是 ERK2 的直接目标, 具有潜在的磷酸化位点, 其 HMG1 结构域的磷酸化将削弱 TFAM 结合 mtDNA 的能力, 而易被降解, 影响 mtDNA 的转录。认为, TFAM 的磷酸化具有重大的生物学意义, 明确 TFAM 表达的调控机制可能有助于阐明与疾病相关的线粒体自稳和细胞生存。

值得关注的是, 据统计, 50% ~ 80% 的 PD 患者出现代谢综合征和胰岛素抵抗。线粒体损伤和胰岛素信号转导之间的紧密联系已得到了证实, 例如胰岛素分泌障碍的胰岛 β 细胞中发现 TFAM 的缺失, 故认为 PD 患者 TFAM 的波动并非局限于黑质中, 似乎累及多系统, 符合线粒体疾病的特点, 具体机制尚不清楚。

2.2 TFAM 与阿尔茨海默病

TFAM 过表达能抑制 β -淀粉样蛋白 (β -amyloid, A β) 引起的呼吸链活性降低, ATP、细胞色素 C 氧化酶含量减少及 ROS 水平升高, 保护 mtDNA 免受 A β 的毒性作用。人 TFAM 编码基因定位于染色体区 10q21.1, 与晚发型阿尔茨海默病 (late-onset Alzheimer's disease, LOAD) 位点相同。目前, 已证实存在两个 TFAM 的 SNP 在 mtDNA 主要序列的变异与 LOAD 相关。其中, 外显子 1 即 rs1937 (+35G/C) 是唯一的错义突变 (Ser12Thr), 带有该基因型的患者和正常个体均出现了极高频率的 GG 纯合子, 被视为 LOAD 的中度危险因素^[19]。内含子 4 即 4rs23606604 (+113G/A), 其等位基因 A 能增加 AD 发生的风险, 也被证实为 LOAD 的另一个中度危险因素。

2.3 TFAM 与亨廷顿病

在亨廷顿病 (Huntington disease, HD) 发病机制中, 转录辅助活化因子 1 α (PGC-1 α) 受损引起的线粒体功能障碍^[20]受到重视。PGC-1 α 基因敲除的小鼠脑中观察到纹状体的海绵状变性, 与 HD 临床表现相符^[21]。TFAM 是 PGC-1 α 通过下游调控因子核呼吸因子 1 (NRF-1) 调节线粒体功能最重要的靶点之一。在 HD 转基因小鼠肌肉、纹状体和 HD 病人肌肉活检中均观察到明显的 PGC-1 α 表达降低及相应的 NRF-1 和 TFAM 表达下降^[22]。而 Elahe 等^[23]亦认为, TFAM 在调控 HD 发病年龄中发挥重要作用。已证实 TFAM 的 2 个 SNP 能够影响 HD 患者运动症状的发病时间, 分别为 3' 端的 rs1049432 和 rs11006132, 均表现出中度的连锁不平衡性, 后者更为重要。不仅如此, 相关的 SNP 间还存在复杂的联合作用和相互关系, 可能为未来阐明线粒体损伤与 HD 的关系提供新的基因学证据。

2.4 TFAM 与线粒体脑肌病

Tess 等^[24]首次报道了 TFAM 数量异常与线粒体功能障碍相关的病例, 在一个活检证实含破碎红纤维的患者肌肉组织中发现, mtDNA 存在 4100 个碱基对缺失及高水平的 TFAM 和一个额外的 TFAM 产物。有研究证实 TFAM 涉及 MELAS 等线粒体病, 在患者肌肉中检测到 PGC-1 α 和 TFAM 水平增加提示线粒体再生或通过某种潜在的代偿机制激发^[25], 但该机制可能广泛存在于多种病理变化中, 故近年来更专注于另一个突变位点酪氨酸-核糖体 RNA 合成酶 (YARS) 表型变异对 MELAS 特异的

致病性^[26]。

3 结语

TFAM 作为线粒体重要的转录因子, 在维持 mtDNA 稳定中起关键作用, 其缺失和突变导致 mtDNA 结构和功能的紊乱, 引起呼吸链和线粒体的损伤, 这一变化存在于多种神经系统疾病中。TFAM 的 SNP 突变参与到痴呆、亨廷顿等疾病的演变过程中。适当的 TFAM 水平升高能够逆转神经元损伤, 视为一个潜在的药物靶点, 未来可能参与到相关疾病的防治当中。深入了解 TFAM 的作用及调控机制对阐明疾病的发生发展有重要意义, TFAM 的磷酸化及其具体的调控途径是近年研究热点。

参考文献

- [1] Kang D, Hamasaki N. Maintenance of mitochondrial DNA integrity: repair and degradation. *Curr Genet*, 2002, 41: 311-322.
- [2] Larsson NG, Wang J, Wilhelmsson H, et al. Mitochondrial transcription factor A is necessary for mtDNA maintenance and embryogenesis in mice. *Nat Genet*, 1998, 18: 231-236.
- [3] Brown TA, Tkachuk AN, Shtengel G, et al. Superresolution fluorescence imaging of mitochondrial nucleoids reveals their spatial range, limits, and membrane interaction. *Mol Cell Biol*, 2011, 31: 4994-5010.
- [4] Shi Y, Dierckx A, Wanrooij PH, et al. Mammalian transcription factor A is a core component of the mitochondrial transcription machinery. *Proc Natl Acad Sci U. S. A*, 2012, 109: 16510-16515.
- [5] Sologub M, Litonin D, Anikin M, et al. TFB2 is a transient component of the catalytic site of the human mitochondrial RNA polymerase. *Cell*, 2009, 139: 934-944.
- [6] Rubio-Cosials A, Sola M. U-turn DNA bending by human mitochondrial transcription factor A. *Curr Opin Struct Biol*, 2013, 23(1): 6-24.
- [7] McCulloch V, Shadel GS. Human mitochondrial transcription factor B1 interacts with the C-terminal activation region of h-mtTFA and stimulates transcription independently of its RNA methyltransferase activity. *Mol Cell Biol*, 2003, 23: 5816-5824.
- [8] Ngo HB, Kaiser JT, Chan DC. Tfam, a mitochondrial transcription and packaging factor, imposes a U-turn on mitochondrial DNA. *Nat Struct Mol Biol*, 2011, 18: 1290-1296.
- [9] Takamatsu C, Umeda S, Ohsato T, et al. Regulation of mitochondrial D-loops by transcription factor A and single-stranded DNA-binding protein. *EMBO Rep*, 2002, 3(5):

- 451-456.
- [10] Lu B, Lee J, Nie XB, et al. Phosphorylation of human TFAM in mitochondria impairs DNA binding and promotes degradation by the AAA + Lon protease. *Mol Cell*, 2013, 49(1): 121-132.
 - [11] Furukawa R, Yamada Y, Matsushima Y, et al. The manner in which DNA is packaged with TFAM has an impact on transcription activation and inhibition. *FEBS Open Bio*, 2012, 2: 145-150.
 - [12] Campbell CT, Kolesar JE, Kaufman BA. Mitochondrial transcription factor A regulates mitochondrial transcription initiation, DNA packaging, and genome copy number. *Biochim Biophys Acta*, 2012, 1819: 921-929.
 - [13] Farge G, Laurens N, Broekmans OD, et al. Protein sliding and DNA denaturation are essential for DNA organization by human mitochondrial transcription factor A. *Nat Commun*, 2012, 3: 1013.
 - [14] Thomas KJ, McCoy MK, Blackinton J, et al. Dj-1 acts in parallel to the PINK1/parkin pathway to control mitochondrial function and autophagy. *Human Molecular Genetics*, 2011, 20: 40-50.
 - [15] Piao Y, Kim HG, Oh MS, et al. Overexpression of TFAM, NRF-1 and myr-AKT protects the MPP(+) -induced mitochondrial dysfunctions in neuronal cells. *Biochim Biophys Acta*, 2012, 1820(5): 577-585.
 - [16] Alvarez V, Corao AI, Sánchez-Ferrero E, et al. Mitochondrial transcription factor A (TFAM) gene variation in Parkinson's disease. *Neurosci Lett*, 2008, 432: 79-82.
 - [17] Gatt AP, Jones EL, Francis PT, et al. Association of a polymorphism in mitochondrial transcription factor A (TFAM) with Parkinson's disease dementia but not dementia with Lewy bodies. *Neurosci Lett*, 2013, 12: 557.
 - [18] Wang KZ, Zhu JH, Dagda R, et al. Mitochondrial Dysfunction Accompanied by ERK-Dependent Phosphorylation of TFAM in a Chronic MPP+ Model. *Biophysical J*, 2013, 1: 104.
 - [19] Alvarez V, Corao AI, Alonso-Montes C, et al. Mitochondrial transcription factor A (TFAM) gene variation and risk of late-onset Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*, 2008, 13(3): 275-280.
 - [20] Chaturvedi RK, Adihetty P, Shukla S, et al. Impaired PGC-1alpha function in muscle in Huntington's disease. *Hum Mol Genet*, 2009, 18: 3048-3065.
 - [21] Lin J, Wu PH, Tarr PT, et al. Defects in adaptive energy metabolism with CNS-linked hyperactivity in PGC-1alpha null mice. *Cell*, 2004, 119: 121-135.
 - [22] Cui L, Jeong H, Borovecki F, et al. Transcriptional repression of PGC-1alpha by mutant huntingtin leads to mitochondrial dysfunction and neurodegeneration. *Cell*, 2006, 127: 59-69.
 - [23] Taherzadeh-Fard E, Saft C, Akkad DA, et al. PGC-1alpha downstream transcription factors NRF-1 and TFAM are genetic modifiers of Huntington disease. *Mol Neurodegener*, 2011, 6(1): 32.
 - [24] Tessa A, Manca ML, Mancuso M, et al. Abnormal H-Tfam in a single mtDNA deletion. *Funct Neurol*, 2000, 15(4): 211-214.
 - [25] Joseph AM, Runqi AA, Robinson BH, et al. Compensatory responses of protein import and transcription factor expression in mitochondrial DNA defects. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2004, 286(4): C867-C875.
 - [26] Riley LG, Menezes MJ, Rudinger-Thirion J, et al. Phenotypic variability and identification of novel YARS2 mutations in YARS2 mitochondrial myopathy, lactic acidosis and sideroblastic anaemia. *Orphanet J Rare Dis*, 2013, 17(8): 193.