



电子、语音版

·综述·

## 原发性家族性脑钙化症的分子遗传学研究进展

卜维婷<sup>1</sup>, 刘小民<sup>2</sup>

1. 潍坊医学院临床医学院, 山东 潍坊 261000

2. 山东第一医科大学第一附属医院(山东省千佛山医院)神经内科, 山东 济南 250014

**摘要:**原发性家族性脑钙化症是一种罕见的具有临床和遗传异质性的神经变性性疾病,其临床特点为双侧基底节区钙化。该病发病年龄范围广,临床表现复杂多样。目前该病已发现至少7种致病基因,包括*SLC20A2*基因、*PDGFRB*基因、*PDGFB*基因、*XPR1*基因、*MYORG*基因、*JAM2*基因和*CMPK2*基因,但具体发病机制仍不清。该文就近年来有关该病的分子遗传学研究进展进行了综述,以期有助于该病的鉴别与诊断。

[国际神经病学神经外科学杂志, 2023, 50(5): 94-98]

**关键词:**原发性家族性脑钙化症;基因;突变;发病机制

中图分类号:R742

DOI:10.16636/j.cnki.jinn.1673-2642.2023.05.018

### Research advances in molecular genetics of primary familial brain calcification

BU Weiting<sup>1</sup>, LIU Xiaomin<sup>2</sup>

1. School of Clinical Medicine, Weifang Medical University, Weifang, Shandong 261000, China

2. Department of Neurology, The First Affiliated Hospital of Shandong First Medical University (Shandong Provincial Qianfoshan Hospital), Jinan, Shandong 250014, China

Corresponding author: LIU Xiaomin, Email: bosucn@163.com

**Abstract:** Primary familial brain calcification (PFBC) is a rare neurodegenerative disorder with clinical and genetic heterogeneity, and calcification of bilateral basal ganglia is the main clinical feature of this disease. PFBC has a wide range of age of onset and complex and diverse clinical manifestations. To date, at least seven pathogenic genes have been identified, i.e., *SLC20A2* gene, *PDGFRB* gene, *PDGFB* gene, *XPR1* gene, *MYORG* gene, *JAM2* gene, and *CMPK2* gene, but the specific pathogenesis of this disease remains unclear. This article reviews the recent research advances in the molecular genetics of this disease, in order to provide a reference for the diagnosis and differential diagnosis of PFBC.

[Journal of International Neurology and Neurosurgery, 2023, 50(5): 94-98]

**Keywords:** primary familial brain calcification; gene; mutation; pathogenesis

原发性家族性脑钙化症(primary familial brain calcification, PFBC),又称特发性基底节区钙化或Fahr病,是以双侧基底节区及其他脑区钙化为特征的神经退行性疾病。该病发病中位年龄为31岁,大多数PFBC患者在童年和青年时期无症状<sup>[1-2]</sup>。该病主要临床表现为多种形式的运动障碍、精神症状和认知障碍,包括帕金森病症状、言语障碍、头晕、头痛、双相情感障碍和痴呆

等<sup>[3]</sup>。PFBC可呈常染色体显性遗传和常染色体隐性遗传,具有高度的遗传异质性。目前已发现至少7种致病基因,包括*SLC20A2*基因、*PDGFRB*基因、*PDGFB*基因、*XPR1*基因、*MYORG*基因、*JAM2*基因和*CMPK2*基因,前4种基因突变呈常染色体显性遗传模式,后3种基因突变呈常染色体隐性遗传模式<sup>[1,4]</sup>(表1)。在这些基因中,*SLC20A2*基因突变最常见,导致约61%的PFBC病例<sup>[3]</sup>。

基金项目:山东省自然科学基金项目(ZR2021MH059);山东省重点研发计划项目(2015GGH318011)。

收稿日期:2023-03-07;修回日期:2023-07-24

作者简介:卜维婷(1997—),女,在读硕士研究生,主要从事神经遗传变性病的研究。Email:buweiting@163.com。

通信作者:刘小民(1978—),男,主任医师,医学博士,硕士生导师,主要从事神经遗传变性病的研究。Email:bosucn@163.com。

表1 PFBC相关致病基因

致病基因	遗传方式	染色体定位	基因相关功能
<i>SLC20A2</i>	常染色体显性遗传	8p11.21	细胞钙磷代谢异常
<i>PDGFRB</i>	常染色体显性遗传	5q32	血脑屏障功能异常、直接调控 <i>SLC20A2</i> 基因表达
<i>PDGFB</i>	常染色体显性遗传	22q13.1	血脑屏障功能异常
<i>XPR1</i>	常染色体显性遗传	1q25.3	细胞钙磷代谢异常
<i>MYORG</i>	常染色体隐性遗传	9p13.3	神经血管单元异常
<i>JAM2</i>	常染色体隐性遗传	21q21.3	神经血管单元异常
<i>CMPK2</i>	常染色体隐性遗传	GRCh38	神经元线粒体功能异常

## 1 常染色体显性遗传模式致病基因

### 1.1 *SLC20A2* 基因

2012年, Wang等<sup>[5]</sup>在7个PFBC家系中发现7个不同的*SLC20A2*基因杂合突变,即c.1492G>A、c.1802C>G、c.1802C>T、c.124\_126delGTG、c.1723G>A、c.1784C>T和c.1409delC,首次证实*SLC20A2*基因为PFBC的第一个常染色体显性遗传模式的致病基因。有研究表明,在167例携带*SLC20A2*基因突变的患者中,错义突变占47%,是最常见的突变类型;其次是移码突变占18%;无义突变占16%;剪接位点突变占10%,其中c.1723G>A突变最常见,共被报道5次<sup>[3]</sup>。到目前为止,发现了至少145个*SLC20A2*基因突变,其中75个为错义/无义突变,15个为剪接位点突变,其余的为小的/大的删除/插入突变<sup>[6]</sup>。

*SLC20A2*基因位于8p11.21染色体上,含11个外显子,编码652个氨基酸长的Ⅲ型钠依赖性磷酸盐转运蛋白2 (type-Ⅲ sodium-dependent inorganic phosphate transporter 2, PiT2),在神经元、星形胶质细胞、血管平滑肌细胞和血管内皮细胞中高表达<sup>[7]</sup>。PiT2由12个跨膜结构域组成,可摄取无机磷酸盐(inorganic phosphate, Pi)进入细胞,对维持细胞内Pi稳态中起着重要作用,是三磷酸腺苷合成所必需的,与*SLC20A1*基因编码的PiT1共同调节细胞内外Pi的转运<sup>[1,7]</sup>。

*SLC20A2*基因突变导致PiT2失去Pi导入功能,Pi稳态紊乱被认为是PFBC发病机制的主要因素之一<sup>[1]</sup>。有研究发现,*SLC20A2*纯合子敲除小鼠的脑脊液中Pi的含量明显高于对照组的同窝小鼠,提示PiT2通过将脑脊液的Pi输出到血液,在维持脑脊液中低水平的Pi中发挥作用<sup>[8]</sup>。目前认为单体型不足和显性负效应均可能导致PFBC<sup>[1]</sup>。Wang等<sup>[5]</sup>将6个突变体(p.S601W、p.S601L、p.T595M、p.E575K、p.G498R和p.V42del)导入非洲爪鼠卵母细胞,发现与野生型相比其Pi转运水平明显下降,将野生型与突变型(p.S601W或p.E575K)导入非洲爪鼠卵母细胞,发现突变体的表达对野生型PiT2蛋白的Pi转运活性没有明显影响,说明单倍体剂量不足是*SLC20A2*基因突变导致PFBC的分子机制之一。Larsen等<sup>[9]</sup>将野生型PiT2载体和PiT2 E575K突变载体分别以1:1、1:3和1:4转入*SLC20A2*基因纯合敲除的小鼠中,与对照组相比,发

现3组含突变载体的细胞PiT2转运活性下降,进一步发现编码D28N、H502A和E575K的*SLC20A2*基因突变对Pi转运活性发挥显性负性效应。Sakai等<sup>[10]</sup>研究发现,发生*SLC20A2*基因错义突变的DNA区域对应PiT2蛋白的大结构域(R254-V483),该结构域具有潜在的磷酸化位点,可能对Pi转运活性的调节很重要,推断PFBC可能源于PiT2蛋白大结构域的错义突变,导致大脑中PiT2蛋白表达的区域性下降。

### 1.2 *PDGFRB* 基因

2013年, Nicolas等<sup>[11]</sup>对1个法国3代家系进行全外显子组测序,发现*PDGFRB*基因上的c.1973T>C与疾病共分离,随后对10个PFBC家系和9个散发患者进行*PDGFRB*基因的一代测序,发现了一种潜在的致病突变c.2959C>T,这是第二个被报道的常染色体显性遗传模式的PFBC致病基因。目前发现有13个*PDGFRB*基因突变,分别为c.1126C>T、c.2209G>A、c.3212A>T、c.2083C>T、c.3G>A、c.460C>T、c.676C>T、c.1787C>T、c.1834G>A、c.1976T>C、c.2476G>T、c.2531A>G和c.2959C>T,其中前3种为良性或可能良性的突变,第4种为意义不明的突变,剩余9种为致病或可能致病的突变<sup>[12]</sup>。

*PDGFRB*基因位于5q32染色体,含有23个外显子,编码血小板衍生生长因子(platelet-derived growth factor, PDGF)受体β(PDGF receptor β, PDGFRβ),在血管成纤维细胞、血管平滑肌细胞、周细胞和星形胶质细胞中表达<sup>[13]</sup>。PDGFRβ是PDGF家族成员的细胞表面酪氨酸激酶受体,该受体激活后诱导二聚体形成和酪氨酸残基自磷酸化,随后激活下游信号通路,诱导细胞增殖、分化、存活和迁移<sup>[8,12]</sup>。PDGF信号通路受损与PFBC之间的联系尚不清楚,目前提出两种可能机制,一种是PDGFRβ功能的丧失可通过破坏血脑屏障(blood brain barrier, BBB)的完整性诱发脑内钙沉积。PDGFRβ信号转导对周细胞和血管平滑肌细胞的增殖和迁移非常重要,周细胞是BBB的主要组成部分,而且其他BBB细胞也可能参与其中,如星形胶质细胞。另一种是PDGFRβ信号的缺陷可能导致*SLC20A2*基因的表达减少,导致细胞外腔内Pi的积累和钙化的形成,这一机制可以用PDGF直接调控*SLC20A2*基因的表达来解释<sup>[14]</sup>。

### 1.3 PDGFB 基因

2013年, Keller等<sup>[15]</sup>对6个家系进行外显子测序,发现第三个常染色体显性遗传模式的PFBC致病基因PDGFB基因,突变包括c.356C>T、c.26T>G、c.726G>C、c.3G>A、c.433C>T、c.445C>T,其中前3种为错义突变,后2种为无义突变。错义和移码突变在PDGFB相关病例中更为常见,其次也发现了一些点突变,剪接位点突变、缺失和插入<sup>[16]</sup>。

PDGFB基因位于22q13.1染色体,编码PDGFB,是PDGFR $\beta$ 的主要配体,主要在内皮细胞、小胶质细胞,以及某些兴奋性和胆碱能神经元表达<sup>[13]</sup>。一般来说,PDGFB/PDGFR $\beta$ 信号通路在PFBC的发病机制中是以一个整体发挥功能的,但在PDGFB和PDGFR $\beta$ 基因突变的患者中还是能观察到差异。与PDGFB基因突变的PFBC患者相比,PDGFR $\beta$ 基因突变的PFBC患者往往表现出较低的无症状率、较晚的发病年龄和较少的精神症状,表型差异明显,因此PDGFB/PDGFR $\beta$ 功能丧失可能不是所有PDGFB和PDGFR $\beta$ 相关PFBC病例的唯一解释<sup>[16]</sup>。在Pdgfb<sup>ret/ret</sup>(PDGFB低变形,保留基序敲除)小鼠中大脑周细胞数量严重减少,BBB功能失调,钙沉积的发生取决于PDGFB基因的丢失,并与周细胞和BBB缺陷的程度相关<sup>[15]</sup>。然而,后续研究表明,在Pdgfb<sup>ret/ret</sup>小鼠中,与不钙化的皮质血管相比,血管钙化相关的大脑区域脑深部血管的周细胞覆盖率更高,BBB通透性显著降低,不支持周细胞缺乏是PDGFB小鼠模型血管钙化的原因<sup>[13]</sup>。

### 1.4 XPR1 基因

2015年, Legati等<sup>[17]</sup>在1个法国3代家系进行全外显子组测序,发现XPR1基因上的C.434T>C突变与疾病共分离,并且检测到另外3个位于SPX结构域及其附近的突变c.407G>A、C.419T>C和C.653T>C都具有致病性,这是继SLC20A2基因之后,第二个编码磷酸盐转运蛋白的PFBC相关基因。目前,错义突变是XPR1中唯一突变类型<sup>[3]</sup>。

XPR1基因位于1q25.3染色体上,有15个外显子,编码一种细胞表面多通道膜蛋白,在脑组织中广泛表达<sup>[13]</sup>。该膜精氨酸末端包含一个SPX结构域,是一种广泛表达的膜集成Pi输出体,与PiT2类似,在Pi稳态中发挥重要作用<sup>[8, 17]</sup>。Pi转运障碍被认为是由XPR1基因突变引起的PFBC的主要致病机制,与SLC20A2基因突变不同, XPR1基因突变主要阻碍Pi的细胞外流,增加细胞内Pi水平,从而触发磷酸钙积累<sup>[8]</sup>。转染p.D164Y的细胞中XPR1基因表达显著降低,转染野生型或突变XPR1质粒的细胞中未观察到mRNA表达水平的显著差异,提示XPR1蛋白的调控可能与翻译后机制有关<sup>[18]</sup>。

## 2 常染色体隐性遗传模式致病基因

### 2.1 MYORG 基因

2018年, Yao等<sup>[19]</sup>在6个中国家系的12名患者中通过全基因组测序发现第一个常染色体隐性遗传模式的PFBC致病基因MYORG基因,该基因上的1个纯合突变c.225G>A和1对复合杂合突变c.1328G>A和c.103A>G分别在2个家系内与疾病共分离。当前,已经报道了MYORG基因中超过46个突变可引起PFBC,致病性突变分布在MYORG基因的整个编码区,包括无义突变、错义突变、插入和删除<sup>[20]</sup>。

MYORG基因位于9p13.3染色体上,由6744个碱基组成,包含2个外显子,编码一种可能调节脑星形胶质细胞内质网蛋白糖基化的蛋白质,在星形胶质细胞中特异性表达<sup>[20-21]</sup>。MYORG基因突变可能导致星形胶质细胞功能障碍,而星形胶质细胞、周细胞和内皮细胞是神经血管单元(neurovascular unit, NVU)的重要组成部分,因此,认为NVU损伤可能是PFBC发病的根本原因<sup>[22]</sup>。针对MYORG的协同进化分析表明,MYORG与几个可能与PDGFR $\beta$ 相互作用的基因共同进化,包括抑制PDGFR $\beta$ 降解的PDCD6IP/ALIX基因,但这些发现还没有经过实验验证,MYORG基因和PDGFR $\beta$ 基因之间是否存在功能关系还有待测试<sup>[21]</sup>。

### 2.2 JAM2 基因

2020年, Cen等<sup>[23]</sup>利用纯合子定位和全基因组测序,在1个近亲PFBC家系中检测到JAM2基因的纯合子移码突变c.140delT,随后对398个PFBC先证者进行该基因的一代测序验证,又发现纯合子错义突变c.1A>G和复合杂合突变c.504G>C和c.(67+1\_68-1)\_(394+1\_395-1),这是继MYORG基因后第二个常染色体隐性遗传模式的PFBC致病基因。

JAM2基因位于21q21.3染色体上,编码的蛋白属于JAM家族,该家族包括几个经典成员(JAM1、JAM2和JAM3),与其他紧密连接蛋白(如闭塞蛋白)相互作用,对调节细胞极性、内皮细胞通透性、白细胞迁移和BBB功能起重要作用,是内皮细胞中负责细胞间黏附的紧密连接蛋白,在NVU相关细胞类型中高度表达,主要定位于质膜<sup>[23-25]</sup>。Schottlaender等<sup>[24]</sup>发现,JAM2敲除小鼠的大脑皮质、丘脑和小脑有明显空泡化,特别是中脑广泛的空泡化,伴有显著的星形胶质细胞增生、轻度微胶质细胞激活和神经元密度中度降低。结合PDGFB的受体PDGFR $\beta$ 在周细胞和平滑肌细胞中表达和MYORG在星形胶质细胞中特异性表达,这些脑钙化相关的致病基因均在NVU相关的细胞类型中表达<sup>[23]</sup>。因此,JAM2基因可能通过与PDGFR $\beta$ 基因和MYORG基因相似的机制参与PFBC,其中正常NVU功能受到干扰,细胞间黏附缺陷和溶质在

NVU旁间隙的运动障碍可能是中枢神经系统钙化的关键机制<sup>[23]</sup>。

### 2.3 *CMPK2* 基因

2022年,Zhao等<sup>[4]</sup>对2个中国家系进行了全外显子测序,发现破坏线粒体功能的*CMPK2*基因中的c.1A>C(p.M1?)、c.2T>C(p.M1?)和c.1241A>G与脑钙化表型共分离,这是最新发现的第三个常染色体隐性遗传模式的PFBC致病基因。

*CMPK2*基因位于染色体GRCh38上,在神经元和血管内皮细胞中有很强的表达,编码一种含有449个氨基酸的蛋白质,称为UMP-CMP激酶2,其作为一种单磷酸激酶,参与线粒体基因组DNA复制所必需的脱氧尿三磷酸和脱氧胞苷二磷酸的产生<sup>[4]</sup>。有研究发现,*CMPK2*敲除小鼠的神经元线粒体DNA拷贝更少,线粒体蛋白下调,ATP生成减少,神经元细胞内Pi水平升高。然而,*CMPK2*敲除小鼠的脑脊液和血清中没有发现明显的Pi浓度变化,表明*CMPK2*的缺失破坏了线粒体功能和细胞内Pi稳态<sup>[4]</sup>。目前认为*CMPK2*富集在神经元或血管内皮细胞的线粒体中,这是一种不同的细胞器和不同的脑钙化发病机制的细胞类型。与*PDGFRB*基因、*PDGFB*基因、*JAM2*基因和*MYORG*基因可能影响BBB结构完整性受损或周细胞覆盖减少,导致BBB通透性增加,或与*SLC20A2*基因和*XPR1*基因通过高磷血症或大脑中Pi运输中断而损害脑Pi稳态,没有明显的联系<sup>[4, 8, 23]</sup>。

### 3 小结

近年来,人们对PFBC研究逐渐深入,各种分子机制的研究、细胞及动物的模型越来越多,各种新基因的检测越来越丰富。Pi稳态异常及BBB和NUV的损伤是PFBC两种潜在的主要致病机制,但仍然没有一个明确的机制来解释致病突变如何导致脑钙化,未来需要更多研究。

#### 参 考 文 献

- [1] INDEN M, KURITA H, HOZUMI I. Characteristics and therapeutic potential of sodium - dependent phosphate cotransporters in relation to idiopathic basal ganglia calcification [J]. J Pharmacol Sci, 2022, 148(1): 152-155.
- [2] NICOLAS G, CHARBONNIER C, CAMPION D, et al. Estimation of minimal disease prevalence from population genomic data: application to primary familial brain calcification [J]. Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet, 2018, 177(1): 68-74.
- [3] BALCK A, SCHAAKE S, KUHNKE NS, et al. Genotype - phenotype relations in primary familial brain calcification: systematic MDSGene review[J]. Mov Disord, 2021, 36(11): 2468-2480.
- [4] ZHAO M, SU HZ, ZENG YH, et al. Loss of function of *CMPK2* causes mitochondria deficiency and brain calcification[J]. Cell Discov, 2022, 8(1): 128.
- [5] WANG C, LI YL, SHI L, et al. Mutations in *SLC20A2* link familial idiopathic basal ganglia calcification with phosphate homeostasis[J]. Nat Genet, 2012, 44(3): 254-256.
- [6] CEYLAN AC, KIREKER KÖYLÜ O, ÖZYÜREK H, et al. Homozygous *SLC20A2* mutations cause congenital CMV infection - like phenotype[J]. Acta Neurol Belg, 2022. DOI: 10.1007/s13760-022-02044-6. Epub ahead of print.
- [7] PETERS MEM, DE BROUWER EJM, BARTSTRA JW, et al. Mechanisms of calcification in Fahr disease and exposure of potential therapeutic targets[J]. Neurol Clin Pract, 2020, 10(5): 449-457.
- [8] WESTENBERGER A, BALCK A, KLEIN C. Primary familial brain calcifications: genetic and clinical update[J]. Curr Opin Neurol, 2019, 32(4): 571-578.
- [9] LARSEN FT, JENSEN N, AUTZEN JK, et al. Primary brain calcification causal PiT2 transport - knockout variants can exert dominant negative effects on wild - type PiT2 transport function in mammalian cells[J]. J Mol Neurosci, 2017, 61(2): 215-220.
- [10] SAKAI K, ISHIDA C, HAYASHI K, et al. Familial idiopathic basal ganglia calcification with a heterozygous missense variant (c. 902C>T/p. P307L) in *SLC20A2* showing widespread cerebrovascular lesions[J]. Neuropathology, 2022, 42(2): 126-133.
- [11] NICOLAS G, POTTIER C, MALTÊTE D, et al. Mutation of the *PDGFRB* gene as a cause of idiopathic basal ganglia calcification[J]. Neurology, 2013, 80(2): 181-187.
- [12] LENGLEZ S, SABLON A, FÉNELON G, et al. Distinct functional classes of *PDGFRB* pathogenic variants in primary familial brain calcification[J]. Hum Mol Genet, 2022, 31(3): 399-409.
- [13] MAHESHWARI U, HUANG SF, SRIDHAR S, et al. The interplay between brain vascular calcification and microglia[J]. Front Aging Neurosci, 2022, 14: 848495.
- [14] GUÉRIT E, ARTS F, DACHY G, et al. PDGF receptor mutations in human diseases[J]. Cell Mol Life Sci, 2021, 78(8): 3867-3881.
- [15] KELLER A, WESTENBERGER A, SOBRIDO MJ, et al. Mutations in the gene encoding PDGF - B cause brain calcifications in humans and mice[J]. Nat Genet, 2013, 45(9): 1077-1082.
- [16] DUAN RN, ZHAO DD, LIU YM, et al. A heterozygous deletion of *PDGFB* gene causes paroxysmal kinesigenic dyskinesia with primary familial brain calcification[J]. Parkinsonism Relat Disord, 2021, 92: 83-87.
- [17] LEGATI A, GIOVANNINI D, NICOLAS G, et al. Mutations in *XPR1* cause primary familial brain calcification associated with altered phosphate export[J]. Nat Genet, 2015, 47(6): 579-581.
- [18] GUO XX, ZOU XH, WANG C, et al. Spectrum of *SLC20A2*, *PDGFRB*, *PDGFB*, and *XPR1* mutations in a large cohort of patients with primary familial brain calcification[J]. Hum Mutat, 2019, 40(4): 392-403.

- [19] YAO XP, CHENG XW, WANG C, et al. Biallelic mutations in *MYORG* cause autosomal recessive primary familial brain calcification[J]. *Neuron*, 2018, 98(6): 1116-1123.e5.
- [20] MEEK RW, BROCKERMAN J, FORDWOUR OB, et al. The primary familial brain calcification-associated protein MYORG is an  $\alpha$ -galactosidase with restricted substrate specificity[J]. *PLoS Biol*, 2022, 20(9): e3001764.
- [21] BAUER M, RAHAT D, ZISMAN E, et al. *MYORG* mutations: a major cause of recessive primary familial brain calcification[J]. *Curr Neurol Neurosci Rep*, 2019, 19(10): 70.
- [22] GAO L, CHEN J, DONG HF, et al. A novel mutation in *MYORG* leads to primary familial brain calcification and cerebral infarction[J]. *Int J Neurosci*, 2022, 132(12): 1182-1186.
- [23] CEN ZD, CHEN Y, CHEN S, et al. Biallelic loss-of-function mutations in *JAM2* cause primary familial brain calcification[J]. *Brain*, 2020, 143(2): 491-502.
- [24] SCHOTTLAENDER LV, ABETI R, JAUNMUKTANE Z, et al. Bi-allelic *JAM2* variants lead to early-onset recessive primary familial brain calcification[J]. *Am J Hum Genet*, 2020, 106(3): 412-421.
- [25] MARINHO WLVA, DE OLIVEIRA JRM. *JAM2*: a new culprit at the pathophysiology of primary familial brain calcification[J]. *J Mol Neurosci*, 2021, 71(9): 1723-1724.

责任编辑:龚学民