

文章编号: 1004-0374(2010)10-1009-04

# Parkin、PINK1、DJ-1 和线粒体功能障碍与帕金森病

杨 辉, 左 伋, 刘 雯\*

(复旦大学上海医学院细胞与遗传医学系, 上海200032)

**摘 要:** 帕金森病(Parkinson's disease, PD)是一种常见的神经退行性疾病, 但到目前为止发病机制尚不明确, 环境和遗传等因素与其发病有密切关系。研究表明, 蛋白质异常积聚(泛素/蛋白酶体途径)和线粒体氧化损伤(线粒体途径), 可能是导致PD患者发病的关键分子机制。Parkin、PINK1和DJ-1等基因突变与常染色体隐性的家族性PD有关, 这些相关基因编码的蛋白对于维持线粒体形态和功能起着重要的作用。本文将主要从Parkin、PINK1、DJ-1和线粒体功能障碍与帕金森病的关系进行综述。

**关键词:** Parkin; PINK1; DJ-1; 线粒体功能障碍; 帕金森病

**中图分类号:** R742.5      **文献标识码:** A

## Parkin, PINK1, DJ-1 and mitochondria dysfunction with Parkinson's disease

YANG Hui, ZUO Ji, LIU Wen\*

(Department of Cellular and Genetic Medicine, Shanghai Medical College, Fudan University, Shanghai 200032, China)

**Abstract:** Parkinson's disease (PD) is a common neurodegenerative disease, but so far its pathogenesis remains unclear, environmental and genetic factors are closely related to the disease. Recent studies have shown that the accumulation of abnormal proteins (ubiquitin/proteasome pathway) and mitochondrial oxidative damage (mitochondrial pathway) may lead to the impairments of dopaminergic neurons in PD patients. Mutations of Parkin, PINK1 (PTEN-induced kinase 1) and DJ-1 have been found in autosomal recessive PD. The three proteins encoded by Parkin, PINK1 and DJ-1 play an important role in improving the mitochondrial functions. This review will focus on Parkin, PINK1, DJ-1 and mitochondrial dysfunction as well as overview of progress made in recent years.

**Key words:** Parkin; PINK1; DJ-1; Mitochondria dysfunction; Parkinson's disease

帕金森病(Parkinson's disease, PD)是一种常见的神经退行性病变, 在中国65岁以上人群中发病率约为1.7%, 且发病率随着年龄的增加而增加<sup>[1]</sup>。典型的临床表现为静止性震颤、肌强直、运动减少和姿势异常, 特征性病理表现为黑质纹状体区多巴胺神经元细胞凋亡以及Lewy小体的形成。PD的发病机制尚不清楚, 但环境、遗传以及线粒体功能障碍等都可能与其发病有密切的联系。目前已发现13个基因连锁位点与家族性帕金森病的发病相关。*Parkin*、*PINK1*(PTEN-induced putative kinase 1)、*DJ-1*等基因突变与常染色体隐性的家族性PD有

关, 而 $\alpha$ -synuclein、UCH-L1(Ubiquitin carboxy-terminal hydrolase L1)、LRRK2(leucine-rich repeat kinase 2, LRRK2)等与常染色体显性遗传的家族性PD有关。众多研究均表明, 某些家族性PD相关基因编码蛋白对维持线粒体的形态和功能发挥重要作用。

研究证实线粒体功能障碍可导致PD的发病。线粒体复合物1功能障碍及氧化应激等对线粒体损

收稿日期: 2010-04-19; 修回日期: 2010-05-24

\*通讯作者: E-mail: liuwen@shmu.edu.cn; Tel: 021-54237311

伤与PD的发病有密切联系,此外线粒体介导的程序化细胞死亡与PD患者多巴胺神经元变性有关。

## 1 PINK1/Parkin通路与线粒体功能障碍

1997年,Matsumine等<sup>[2]</sup>在研究日本13个常染色体隐性遗传性青少年型帕金森综合征家系(autosomal recessive juvenile parkinsonism, AR-JP)时,运用连锁分析将AR-JP的致病基因定位于6q25-27。1998年,Kitada等<sup>[3]</sup>首先克隆并且命名AR-JP的致病基因为*Parkin*,该基因有12个外显子,全长约为1.5 Mb,开放阅读框架编码465氨基酸的产物。*Parkin*几乎在人体所有组织中都有不同程度表达,果蝇、鼠中均可发现蛋白*Parkin*的同源物,表明*Parkin*在不同种属之间高度保守。*Parkin*的N末端与泛素有30%的同源性,称为泛素样结构域(ubiquitin-like domain, UBL)。C末端两侧由环指样结构域(RING finger-like motif)及中段环间结构(in-between ring, IBR)组成。泛素(ubiquitin)是一类由76个氨基酸组成的保守蛋白质,通过级联反应形成多聚泛素链,并与底物共价连接,使底物被蛋白酶体识别并降解。由泛素E1激活酶和E2结合酶协助,*Parkin*首先通过其连接酶活性,共价连接泛素分子与底物并形成底物多聚泛素化链。*Parkin*除了参与底物降解,还通过单泛素化底物或由泛素内第63位的赖氨酸形成泛素化长链,在信号传导以及转录后调控中发挥重要作用<sup>[4]</sup>。

除了在泛素蛋白酶体途径发挥作用外,*Parkin*还参与线粒体的形态维持和功能调控。Kuroda等<sup>[5]</sup>实验证明,*Parkin*定位于增殖性细胞中的线粒体嵴并与线粒体转录因子A结合,增强线粒体活性,在增殖状态的细胞中过表达*Parkin*可以检测到线粒体膜电位加强,线粒体复合物I亚单位表达的选择性增加,活性氧的积聚减少。Narendra等<sup>[6]</sup>指出*Parkin*选择性募集至线粒体膜电位降低的线粒体,发挥其泛素E3连接酶活性并介导这些失功能的线粒体经自噬体途径降解。通过染色质免疫共沉淀(chromatin immunoprecipitation, ChIP)发现在分化型的SH-5Y5Y细胞或者小鼠/人脑组织中,*Parkin*可以与线粒体DNA直接结合,保护线粒体DNA免受活性氧的损伤并激发线粒体的自我修复过程<sup>[7]</sup>。*Parkin*功能缺失或者降低的果蝇模型中,发现明显的线粒体缺陷,包括线粒体肿胀和线粒体嵴断裂,这一现象在

能量消耗大的组织中更为明显<sup>[8]</sup>。*Parkin*敲除的小鼠中并无明显的线粒体形态异常,却发现线粒体氧化呼吸链的活性降低和持续性的活性氧对脑组织的损伤<sup>[9]</sup>。有趣的是,线粒体氧化呼吸链的活性降低在*Parkin*突变的患者外周组织中同样可以检测到<sup>[10]</sup>。这些研究都表明,*Parkin*对于维持线粒体形态、功能和线粒体DNA的稳定发挥着重要的作用。

*PINK1*基因作为另一个与常染色体隐性遗传PD相关的常见致病基因,编码的蛋白质具有丝氨酸-苏氨酸激酶活性。*PINK1*的N末端存在线粒体信号序列(mitochondrial target sequence, MTS),提示*PINK1*主要在线粒体发挥功能。在人及小鼠的脑中内源性*PINK1*与线粒体内外膜标记一致,免疫电镜也证实*PINK1*与线粒体内膜紧密结合。相对分子质量为65 k的全长*PINK1*主要定位于线粒体,而经过剪切去除线粒体信号序列后的55 k片段,主要存在于胞浆和微粒体内并发挥功能。*PINK1*通过其激酶活性磷酸化一种线粒体分子伴侣TRAP1(TNF receptor-associated protein 1),并使TRAP1发挥拮抗氧化应激导致的细胞色素C释放,而G309D、L347P和W437X突变型的*PINK1*该功能丧失<sup>[11]</sup>。

*PINK1*通过其激酶活性,磷酸化*Parkin*并调节其转位至线粒体,并维持*Parkin*的连接酶活性<sup>[12]</sup>。一系列关于果蝇以及细胞的实验都证实,*PINK1*作为*Parkin*的上游分子调控*Parkin*的功能且两者存在相互作用,并在维持线粒体形态和功能发挥重要作用<sup>[13]</sup>。*PINK1*/*Parkin*通路与线粒体自噬有关,当线粒体膜电位去极化*Parkin*选择性汇集至损伤的线粒体,依赖其泛素E3连接酶的活性,泛素化线粒体外膜蛋白VDAC1,并通过蛋白酶体降解,阻止线粒体依赖的细胞凋亡通路的继续传递,关键的是该过程是*PINK1*依赖的<sup>[14,15]</sup>。研究证实过表达野生型*PINK1*的细胞中,*Parkin*降解热应激相关蛋白的能力加强,而过表达突变性*PINK1*的细胞中则未发现上述现象,且*Parkin*、*PINK1*和DJ-1能形成复合物并加速异常折叠的蛋白质降解过程,而*PINK1*和DJ-1的突变导致*Parkin*底物泛素化减少和异常蛋白质的积聚<sup>[16]</sup>。当线粒体膜电位降低时,野生型*PINK1*选择性的聚集至失功能的线粒体表面,并导致*Parkin*的识别并降解失功能的线粒体<sup>[17]</sup>。

*PINK1*除了调节*Parkin*连接酶活性以外还可以调控其亚细胞定位。免疫化学方法证实*Parkin*定位

于高尔基体、线粒体和胞浆中。在诸如神经元之类的静止性细胞中, Parkin聚集至线粒体则需要线粒体膜电位去极化或Parkin的磷酸化<sup>[6]</sup>。Kim等<sup>[12]</sup>研究发现在PINK1和Parkin共转染细胞后, Parkin被PINK1磷酸化, 并转位至线粒体上, 且线粒体呈簇状聚集于细胞核周围。

PINK1/Parkin通路对于维持线粒体的重塑也发挥重要作用。线粒体分裂(fission)由线粒体分裂蛋白(mfn)和视神经萎缩蛋白(optic atrophy 1, opa1)调控, 而融合(fusion)则由发动相关蛋白1(dynamin-related protein 1, drp1)调控, PINK1与Parkin可以增强线粒体分裂并抑制其融合<sup>[18]</sup>。

## 2 DJ-1与线粒体功能障碍

DJ-1 同样是常染色体隐性遗传PD相关的基因, 其编码的蛋白在不同种属中高度保守, 与原核细胞中的分子伴侣ThiJ/PfpI有部分同源性。DJ-1在外周组织、神经元以及胶质细胞中都有表达, 小脑、下丘脑和嗅球中则高表达。DJ-1亚细胞定位于线粒体内膜、基质和其他细胞器中。目前对于DJ-1的功能还不是十分清楚, 主要认为DJ-1在对抗氧化应激以及调控细胞凋亡等方面发挥重要作用。有研究证实在氧化应激下DJ-1被转运至线粒体外膜, 抵抗氧化应激对机体的损伤。果蝇和小鼠中的DJ-1突变导致ATP生成减少, 且上调表达DJ-1可以拮抗由PINK1突变导致的抗氧化功能障碍<sup>[19]</sup>。

## 3 线粒体功能障碍与帕金森病

线粒体有细胞的“动力工厂”之称, 通过氧化磷酸化生成ATP, 并为细胞提供90%以上的能量。线粒体还具有包括调节细胞凋亡、信号传导和活性氧生成等重要生物学功能。在细胞中线粒体不断进行分裂、融合、增殖和降解, 从而维持线粒体的生物发生(biogenesis)。线粒体功能低下与机体的衰老、肿瘤、糖尿病和老年痴呆等密切相关。

线粒体对外界环境变化十分敏感, 其结构和功能会随着环境的改变而改变。另一方面, 线粒体的异常也可能成为疾病发生的原因。线粒体形态异常与功能障碍是帕金森病的主要机制之一。支持该理论的最直接证据源自尸检病理证实的帕金森病患者中, 线粒体形态及功能存在异常, 且线粒体损伤随着年龄的增长而加剧, 尤其在PD患者黑质纹状体区的神经元中更为显著。因为脑组织内神经元对

能量匮乏十分敏感, 一旦ATP生成减少则会不同程度导致神经元细胞的死亡。泛素-蛋白酶体途径(the ubiquitin-proteasome pathway)降解蛋白质是一个能量依赖的过程。此外, 线粒体自身合成蛋白质的能力有限, 大量线粒体蛋白在细胞质中合成, 定向转运到线粒体。这些蛋白质在运输以前, 以未折叠的前体形式存在, 与之结合的分子伴侣(hsp70家族)保持前体蛋白质处于非折叠状态, 这一过程也是消耗ATP的。线粒体功能障碍势必导致能量供给减少从而大量异常蛋白质积聚, 加剧线粒体的损伤, 进而导致神经元细胞的死亡。

PD患者中存在线粒体复合物I及氧化还原能力降低, 活性氧簇生成增加及氧化应激的发生。上述现象导致线粒体膜电位(mitochondrial membrane potential, MMP)去极化进而诱导线粒体膜通透性转运孔道(mitochondrial permeability transition pore, mPTP)开放, 大量小分子蛋白质物质包括细胞色素C、BAX和凋亡诱导因子(apoptosis induced factor, AIF)等从线粒体膜通透性转运通道释放出来, 激活半胱冬酰胺酶依赖性和非依赖性细胞凋亡的发生(图1)。

虽然线粒体DNA突变与帕金森病的关系尚未明了, 但研究发现线粒体基因突变与PD的发生有着密切的关系。线粒体DNA(mitochondrial DNA)是一个长16.6 kb的环形双链分子, 编码13种与氧化磷酸化相关的酶。在PD患者中发现complex I的活性降低, 推测线粒体基因组编码complex I的基因发生突变导致其活性降低。由核基因编码的线粒体聚合酶 $\gamma$ 突变导致线粒体DNA复制障碍以及线粒体基因组缺失, 在一些典型的患者中导致渐进性眼外肌麻痹和帕金森病症状的出现<sup>[20]</sup>。

## 4 结语

线粒体广泛存在, 并且是人体的能量工厂。线粒体功能障碍与帕金森病发病有着密切的关系, 而一些家族性PD相关的基因在调控线粒体形态、结构和功能上发挥重要作用, 进一步阐明线粒体功能障碍与PD发病机制的关系, 不但可以更加清晰的了解帕金森病, 也为我们治疗这一“不治之症”带来希望。

### [参 考 文 献]

- [1] Zhang ZX, Roman GC, Hong Z, et al. Parkinson's disease in China: prevalence in Beijing, Xi'an, and Shanghai. *Lancet*, 2005, 365(9459): 595-97

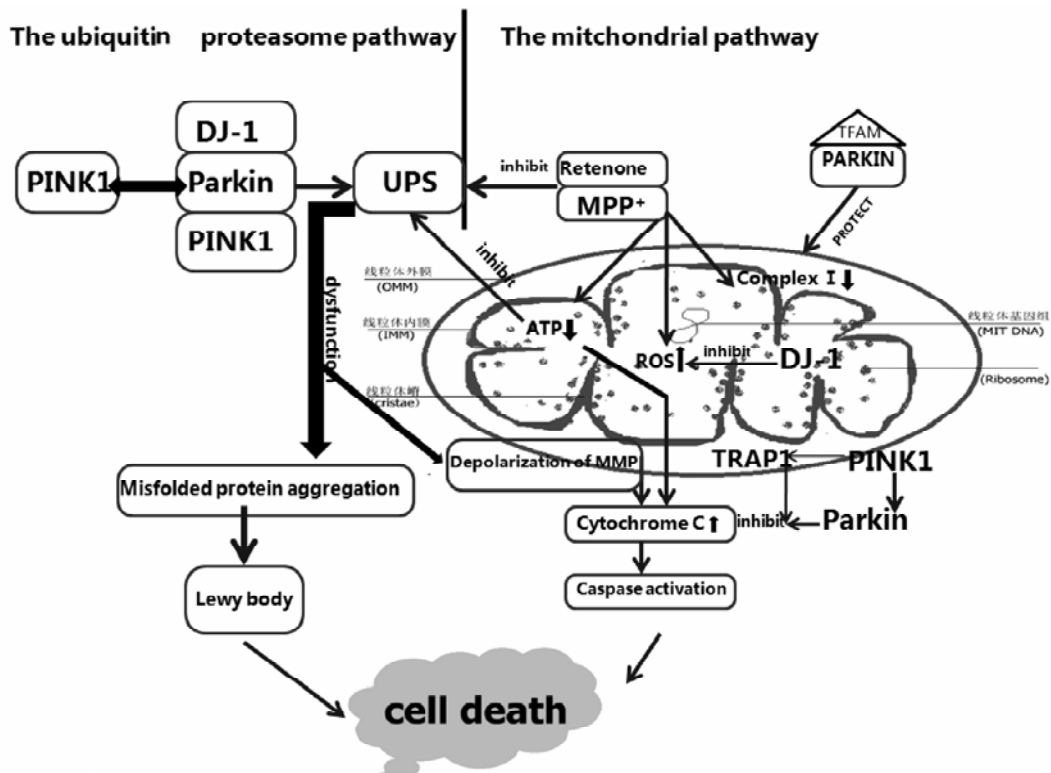


图1 泛素蛋白酶体通路和线粒体通路与帕金森病

- [2] Matsumine H, Saito M, Shimoda-Matsubayashi S, et al. Localization of a gene for an autosomal recessive form of juvenile Parkinsonism to chromosome 6q25. 2-27. *Am J Hum Genet*, 1997, 60(3): 588-96
- [3] Kitada T, Asakawa S, Hattori N, et al. Mutations in the *parkin* gene cause autosomal recessive juvenile parkinsonism. *Nature*, 1998, 392(6676): 605-8
- [4] Mukhopadhyay D, Riezman H. Proteasome-independent functions of ubiquitin in endocytosis and signaling. *Science*, 2007, 315(5809): 201-5
- [5] Kuroda Y, Mitsui T, Kunishige M, et al. Parkin enhances mitochondrial biogenesis in proliferating cells. *Hum Mol Genet*, 2006, 15(6): 883-95
- [6] Narendra D, Tanaka A, Suen DF, et al. Parkin is recruited selectively to impaired mitochondria and promotes their autophagy. *J Cell Biol*, 2008, 183(5): 757-9
- [7] Rothfuss O, Fischer H, Hasegawa T, et al. Parkin protects mitochondrial genome integrity and supports mitochondrial DNA repair. *Hum Mol Genet*, 2009, 18(20): 3832-50
- [8] Greene JC, Whitworth AJ, Kuo I, et al. Mitochondrial pathology and apoptotic muscle degeneration in *Drosophila* parkin mutants. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100(7): 4078-83
- [9] Palacino JJ, Sagi D, Goldberg MS, et al. Mitochondrial dysfunction and oxidative damage in parkin-deficient mice. *J Biol Chem*, 2004, 279(18): 18614-22
- [10] Müftüglu M, Elibol B, Dalın İ. Mitochondrial complex I and IV activities in leukocytes from patients with parkin mutations. *Mov Disord*, 2003, 19(5): 544-8
- [11] Pridgeon JW, Olzmann JA, Chin LS, et al. PINK1 protects against oxidative stress by phosphorylating mitochondrial chaperone TRAP1. *PLoS Biol*, 2007, 5(7): e172
- [12] Kim Y, Park J, Kim S, et al. PINK1 controls mitochondrial localization of Parkin through direct phosphorylation. *Biochem Biophys Res Commun*, 2008, 377(3): 975-80
- [13] Park J, Lee G, Chung J. The PINK1-Parkin pathway is involved in the regulation of mitochondrial remodeling process. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009, 378(3): 518-23
- [14] Geisler S, Holmström MKM, Skujat D, et al. PINK1/Parkin-mediated mitophagy is dependent on VDAC1 and p62/SQSTM1. *Nat Cell Biol*, 2010, 12(2): 119-31
- [15] Vives-Bauza C, Zhou C, Huang Y, et al. PINK1-dependent recruitment of Parkin to mitochondria in mitophagy. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107(1): 378-83
- [16] Xiong H, Wang D, Chen L, et al. Parkin, PINK1, and DJ-1 form a ubiquitin E3 ligase complex promoting unfolded protein degradation. *parkin, PINK1, and DJ-1 form a ubiquitin E3 ligase complex promoting unfolded protein degradation. J Clin Invest*, 2009, 119(3): 650-60
- [17] Narendra DP, Jin SM, Tanaka A, et al. PINK1 is selectively stabilized on impaired mitochondria to activate Parkin. *PLoS Biol*, 2010, 8(1): e1000298
- [18] Park J, Lee G, Chung J. The PINK1-Parkin pathway is involved in the regulation of mitochondrial remodeling process. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009, 378(3): 518-23
- [19] Hao LY, Giasson BI, Bonini NM. DJ-1 is critical for mitochondrial function and rescues PINK1 loss of function. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107(21): 9747-52
- [20] Luoma P, Melberg A, Rinne JO, et al. Parkinsonism, premature menopause, and mitochondrial DNA polymerase  $\gamma$  mutations: clinical and molecular genetic study. *Lancet*, 2004, 364(9437): 875-82