

文章编号: 1004-0374(2010)10-1043-04

# *PKHD1* 基因缺陷与常染色体隐性遗传性 多囊肾病的研究进展

孙丽萍, 张欣洲\*

(暨南大学第二临床医学院深圳市人民医院肾内科, 深圳 518020)

**摘要** *PKHD1*是目前所知人类常染色体隐性遗传多囊肾病(autosomal recessive polycystic kidney disease, ARPKD)的惟一致病基因。ARPKD 临床病变以双肾多发性进行性充液囊泡为主要特征。目前对 *PKHD1* 基因在 ARPKD 发病中的作用了解并不多。该文对 ARPKD 的发病机制和 *PKHD1* 基因功能最新研究进展进行综述。

**关键词:** 人类遗传性隐性多囊肾疾病; *PKHD1*; 基因缺陷

**中图分类号:** R596; R692      **文献标识码:** A

## Recent progress of *PKHD1* gene defect and human autosomal recessive polycystic kidney disease

SUN Li-ping, ZHANG Xin-zhou\*

(Department of Nephrology, Shenzhen People's Hospital, Second Clinical Medical College, Jinan University, Shenzhen 518020, China)

**Abstract:** Mutation of the polycystic kidney and hepatic disease gene 1 (*PKHD1*) was identified as the cause of autosomal recessive polycystic kidney disease (ARPKD), which is characterized typically by massive enlargement of fluid-filled renal cysts. However, the precise mechanisms by which *PKHD1* functions on the pathogenesis of ARPKD remain unclear. In this article we will give an overview on the basic information about recent progresses of *PKHD1* and summarize the possible role of defects of *PKHD1* on the pathogenesis of ARPKD.

**Key words:** human autosomal recessive polycystic kidney disease (ARPKD); *PKHD1*; gene defect

常染色体隐性遗传多囊肾疾病(autosomal recessive polycystic kidney disease, ARPKD), 也称多囊肾肝病(polycystic kidney and hepatic disease, PKHD), 是一种多发于儿童肾脏及肝脏的严重单基因遗传病, 发病率为1:20000~1:40000<sup>[1]</sup>。该病主要临床表现为双肾形成多个进行性增大的囊肿, 并伴有不同程度的肝囊肿和肝硬化、胆管扩张以及先天的肝门静脉纤维化。*PKHD1* 是目前所知人类常染色体隐性遗传性多囊肾病的惟一致病基因, 其具体功能目前还不十分清楚。本文对 ARPKD 的发病机制和 *PKHD1* 基因功能最新研究进展进行综述。

### 1 *PKHD1* 基因

*PKHD1* 是目前所知 ARPKD 的惟一致病基因, 其编码的产物被称为纤囊素(fibrocytin/polycystin, FPC)。早在1994年 Zerres 等<sup>[2]</sup>通过连锁分析, 首先将 *PKHD1* 基因定位于人6号染色体6p2~cen之间。到2002年 Onuchic 等<sup>[3]</sup>使用经典的定点克隆方法, 证实 *PKHD1* 位于6p21.1-p12区。对 *PKHD1* 基因的

收稿日期: 2010-05-06; 修回日期: 2010-05-31

基金项目: 深圳市科技计划项目(200802092)

\*通讯作者 E-mail: xin.zhou@medmail.com.cn;  
Tel: 0755-25533018-3516

分析表明,它最长的开放阅读框长12 222 bp,由67个外显子组成,5'端和3'端的非编码区分别为275 bp和3738 bp,并有17 bp的Poly A信号区位于Exon 67上。如图1所示,PKHD1基因编码的蛋白C端位于胞内,由192个氨基酸组成,并含有3个潜在的酪氨酸激酶磷酸化位点。由约3 900个氨基酸组成一个非常大的细胞外区,从N端顺序排列着串联的IPT(Ig-like Plexin Transcription factor)区域和PBH1(parallel  $\beta$ -Helix 1 repeats)重复区组成的TEME同源结构以及一个跨膜区<sup>[3,4]</sup>(图1)。PKHD1编码一个由4 074个氨基酸残基组成的蛋白——纤囊素。

PKHD1有多种剪接方式而构成多种不同的异构体,因为不同的拼接而形成从8.5~13 kb大小不等的mRNA。有几种转录产物所编码的蛋白缺少跨膜区,推测它们可能是分泌蛋白。FPC是一个全新的蛋白,尚无已知的蛋白与其总体结构类似。最近发现了FPC蛋白质家族的另一个成员——fibrocystin-L(FPC-L),基因名为PKHDL1,与FPC的一致性为25%,相似性达41.5%<sup>[5]</sup>。人和小鼠的FPC在结构和序列上都非常保守,两者蛋白质序列的整体一致性和相似性分别达72%和82%,而胞内区的一致性仅为55%<sup>[6]</sup>。

## 2 PKHD1基因表达

人组织的RNA印迹或原位杂交表明,PKHD1高表达于肾脏,在肝、胰腺和肺也有适度表达。小鼠模型的原位杂交分析表明,PKHD1在老鼠发育过程中的肾脏、成熟肾脏的集合管,以及肝内胆管均表达,发育中的胰腺管、气管、支气管和骨骼肌中检测到微弱表达,还有大血管、睾丸、交感神经节也有少量表达,其中一些组织或器官的表达产物可能是特殊的拼接产物,但在心脏、脑、肺和胎盘等组织都没有检测到其表达。免疫组化结果

显示,FPC分布于肾集合管、胃肠道、气管/支气管等管道结构的上皮细胞,在脑室的室管膜细胞也能检测其表达<sup>[7]</sup>。荧光免疫检测和免疫电镜研究表明,该蛋白定位于髓质集合管基底纤毛,在细胞膜的顶膜也有表达。抗体免疫组化表明,在小鼠的发育过程中,E9.5时FPC即开始表达于神经管上皮细胞,E10.5时在支气管和原肠腔表达,E11.5时FPC表达于中肾导管和正在发育的输尿管芽,随着肾脏的发育,FPC特异表达于正在分支的输尿管芽和正在形成的集合管<sup>[4-6]</sup>。

由于其同源基因PKHDL1编码的蛋白是一种受体,可以启动一系列细胞内的信号传导。它在T淋巴细胞中高度表达,而且FPC的IPT区与肝细胞生长因子受体具有相似的结构,提示它可能作为一种受体在细胞免疫中起作用。PKHD1产物主要定位于上皮细胞的顶膜区,提示PKHD1编码的产物功能可能与管腔形成及维持管腔结构有关<sup>[6,8]</sup>。

## 3 PKHD1基因突变与ARPKD

ARPKD的临床表现在家族内外有较大差异,如在婴儿期出现巨肾、羊水过少以及先天性肺发育不良等。新生儿及围产期出现的症状以肾脏表现为主,婴儿期或儿童期出现的症状以肝脏表现为主<sup>[9]</sup>。ARPKD主要临床表现为腹部肿块、尿路感染、尿浓缩功能下降及酸化功能减退;90%患儿有高血压、肺发育不良,出现肾衰时则有贫血、肾性骨病等尿毒症表现;在胎早期发病的患儿常有羊水过少以及难产史,约30%的患者出生后很快就因为肺发育不全导致的呼吸功能障碍而死亡。

有人认为PKHD1突变的多样性可能是ARPKD临床表征多样性的原因。PKHD1的突变散布于整个基因,没有明显的突变集中位点。PKHD1基因的突变检测存在3个限制因素:基因很大、突变杂

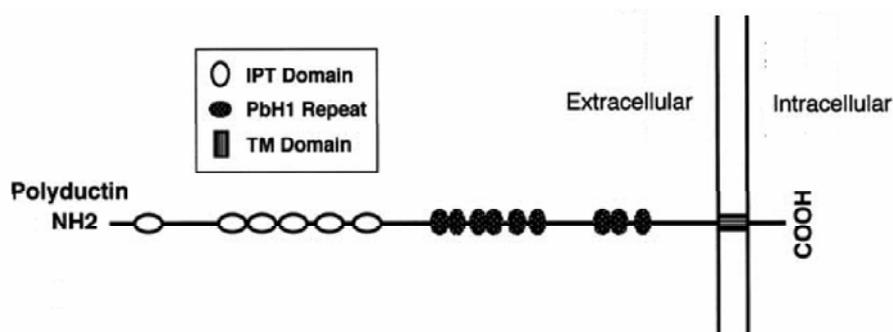


图1 FPC结构示意图<sup>[3]</sup>

合子多以及存在不同的转录本, 所以研究者们还难以明确阐明突变与疾病表型之间的关系。目前已经报道了至少 300 种 *PKHD1* 突变<sup>[10]</sup>, 其中包括错义突变、无义突变、插入或缺失(移码)突变以及剪接位点突变。在突变谱方面, 大约 45% 的是使多肽链提前终止的无义突变。突变的类型比突变的位点更能反应预后。临床分析表明, 编码截短突变的患儿比编码错义突变的患儿表现出更为严重的临床表型。凡一对等位基因均含有截短突变的患儿大多在围产期和新生儿期即死亡, 而度过新生儿期能存活下来的患儿多携带有至少一个错义的突变<sup>[11]</sup>。在同一个家系中, 不同患者的临床表现及预后比较接近。

#### 4 *PKHD1* 研究进展

近年的多项研究表明, 纤毛功能缺陷与多囊肾病存在一定关系。当下调 *PKHD1* 的表达后, 出现内髓质集合管(inner medullary collecting duct, IMCD) 细胞株 IMCD3 细胞不能形成管状结构、细胞间黏附异常、细胞骨架紊乱、细胞增殖和凋亡异常和细胞的原发纤毛变短及减少<sup>[12, 13]</sup>等状况在肾脏发育中纤毛装配缺陷可导致多囊肾病<sup>[14]</sup>。FPC 参与了调控体内各管道上皮细胞的分化、增殖、极化和移行, 进而调节各种生理管道的形成。纤毛调节的钙离子浓度功能缺失可能是导致 ARPKD 集合管结构异常的原因<sup>[15]</sup>。

Kim 等<sup>[16]</sup>研究发现, FPC 与 Polycystin-2 (PC2) 共定位于纤毛和基体内, FPC 是 ARPKD 致病基因 *PKHD1* 的产物, PC2 是常染色体显性遗传多囊肾 (ADPKD) 致病基因 *PKD2* 的产物, 这一结果提示这两种致病基因产物有可能相互关联。抑制 *PKHD1* 基因表达能降低细胞内钙离子浓度, 表明 FPC 参与了细胞内钙的调节。FPC 的胞内 C 端和 PC2 的胞内 N 端直接相互作用, 可能通过 Kinesin-2 与 PC2 形成一个大的蛋白复合体, 影响 PC2 的离子通道功能<sup>[7]</sup>, FPC 可能通过调控 PC2 的活性调节胞内的钙稳态。

在肾单位、胆管和胰腺导管中, *PKHD1* 基因产物 FPC 能与 CAML (calcium modulating cyclophilin ligand) 相互作用。CAML 是一种钙离子信号相关蛋白<sup>[17]</sup>。与正常肾小管上皮细胞比较, 肾囊肿细胞中 MAP kinase (ERK1/2) 活性明显升高。EGF/EGFR 信号通路过度活化是 ARPKD 的一个特征, FPC 有可能是通过调节细胞内钙离子浓度, 参与了 MAPK 途径导致肾小管上皮细胞的异常增生。在 ARPKD 患者肾集合管上皮细胞中, 由于 *PKHD1* 基因突变导致

的 FPC 表达缺失可引起细胞内  $Ca^{2+}$  浓度降低, 细胞内  $Ca^{2+}$  浓度的改变可导致控制细胞生长和分化的基因表达发生变化<sup>[10-12]</sup>。继而, 通过 EGF (epidermal growth factor) 诱导 ERK1/2 (extracellular signal-regulated kinase) 信号通路过度活化, 导致 ARPKD 肾上皮细胞异常增生<sup>[18]</sup>, 这可能是导致 ARPKD 肾囊肿发生的机制之一。

FPC 还可能与平面细胞极化 (planar cell polarity, PCP) 的形成有关。在肾脏发育过程中 FPC 作为纤毛-基体-中心体复合物的组成型蛋白, 可能通过各种信号通路调控其管道沿轴向延伸<sup>[19]</sup>。在正常的肾集合管上皮细胞有丝分裂过程中, 细胞纺锤体的方向与集合管的轴向是平行的, 而在 *PKHD1* 突变的大鼠模型 Pck 的集合管内, 细胞体则不具有其特定的方向。

Sjöblom 等<sup>[20]</sup>通过癌细胞基因组测序和统计发现, *PKHD1* 在结直肠癌的细胞黏附和运动基因中 CaMP 值 (cancer mutation prevalence score) 位居第一。研究结果提示, *PKHD1* 基因可能与结直肠癌中细胞黏附、信号转导和转录调控等功能高度相关。但 *PKHD1* 在结直肠癌的发生发展过程中的作用还需要进一步的研究。

#### 5 展望

ARPKD 是一种常见的以婴幼儿为主要发病人群的遗传性疾病, 目前还没有有效的治疗方法。*PKHD1* 基因的克隆及其编码蛋白 FPC 的探索使我们对 ARPKD 发病机制有了进一步的了解, 对机体上皮组织的形成和发育的调控机制有更深入的认识。未来几年内对 FPC 的功能研究将集中在 FPC 的配基, 各功能结构域的作用、定位及其功能, 以及其在器官组织中管道形成中的作用。深入研究疾病致病基因的功能将有助于寻找新的有效的治疗药物和途径, 相信在不久的将来人类终将能克服 ARPKD 带来的危害。

#### [参 考 文 献]

- [1] Guay-Woodford LM, Desmond RA. Autosomal recessive polycystic kidney disease: the clinical experience in North America. *Pediatrics*, 2003, 111 (5Pt1): 1072-80
- [2] Zerres K, Mücherl G, Bachner L, et al. Mapping of the gene for autosomal recessive polycystic kidney disease (ARPKD) to chromosome 6p21-cen. *Nat Genet*, 1994, 7(3): 429-32
- [3] Onuchic LF, Furu L, Nagasawa Y, et al. *PKHD1*, the polycystic kidney and hepatic disease 1 gene, encodes a novel large protein containing multiple immunoglobulin-like plexin-

- transcription factor domains and parallel  $\beta$ -helix 1 repeats. *Am J Hum Genet*, 2002, 70(5):1305-17
- [4] Al-Bhalal L, Akthar M. Molecular basis of autosomal recessive polycystic kidney disease (ARPKD). *Adv Anat Pathol*, 2008, 15(1): 54-8
- [5] Hogan MC, Griffin MD, Rossetti S, et al. *PKHD1*, a homolog of the autosomal recessive polycystic kidney disease gene, encodes a receptor with inducible T lymphocyte expression. *Hum Mol Genet*, 2003, 12(6): 685-98
- [6] Zhang MZ, Mai W, Li C, et al. PKHD1 protein encoded by the gene for autosomal recessive polycystic kidney disease associates with basal bodies and primary cilia in renal epithelial cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101(8): 2311-6
- [7] Kim I, Fu Y, Hui K, et al. Fibrocystin/polyductin modulates renal tubular formation by regulating polycystin-2 expression and function. *J Am Soc Nephrol*, 2008, 19(3): 455-68
- [8] Wang S, Luo Y, Wilson PD, et al. The autosomal recessive polycystic kidney disease protein is localized to primary cilia, with concentration in the basal body area. *J Am Soc Nephrol*, 2004, 15(3):592-602
- [9] Torres VE, Harris PC, Pirson Y. Autosomal dominant polycystic kidney disease. *Lancet*, 2007, 369(9569):1287-301
- [10] Sharp AM, Messiaen LM, Page G, et al. Comprehensive genomic analysis of PKHD1 mutations in ARPKD cohorts. *J Med Genet*, 2005, 42(4): 336-49
- [11] Igarashi P, Somlo S. Polycystic kidney disease. *J Am Soc Nephrol*, 2007, 18(5):1371-3
- [12] Wegierski T, Steffl D, Kopp C, et al. TRPP2 channels regulate apoptosis through the  $Ca^{2+}$  concentration in the endoplasmic reticulum. *EMBO J*, 2009, 28(5): 490-9
- [13] Mai W, Chen D, Ding T, et al. Inhibition of Pkhd1 impairs tubulomorphogenesis of cultured IMCD cells. *Mol Biol Cell*, 2005, 16(9): 4398-409
- [14] Harris PC, Torres VE. Polycystic kidney disease. *Annu Rev Med*, 2009, 60: 321-37
- [15] Siroky BJ, Ferguson WB, Fuson AL, et al. Loss of primary cilia results in deregulated and unabated apical calcium entry in ARPKD collecting duct cells. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2006, 290(6): F1320-8
- [16] Kim I, Li C, Liang D, et al. Polycystin-2 expression is regulated by a PC2-binding domain of intracellular portion of fibrocystin. *J Biol Chem*, 2008, 283(46): 31559-66
- [17] Nagano J, Kitamura K, Hujer KM, et al. Fibrocystin interacts with CAML, a protein involved in  $Ca^{2+}$  signaling. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, 338(2): 880-9
- [18] Kandilci A, Grosveld GC. SET-induced calcium signaling and MAPK/ERK pathway activation mediate dendritic cell-like differentiation of U937 cells. *Leukemia*, 2005, 19(8): 1439-45
- [19] Aguiari G, Varani K, Bogo M, et al. Deficiency of polycystic kidney disease-1 gene (PKD1) expression increases A(3) adenosine receptors in human renal cells: Implications for cAMP dependent signalling and proliferation of PKD1-mutated cystic cells. *Biochim Biophys Acta*, 2009, 1792(6): 531-40
- [20] Sjöblom T, Jones S, Wood LD, et al. The consensus coding sequences of human breast and colorectal cancers. *Science*, 2006, 314(5797): 268-74