

DOI: 10.13376/j.cbls/2020096

文章编号: 1004-0374(2020)08-0763-10

## 氨基酰-tRNA合成酶与神经系统疾病

李 光<sup>1,2</sup>, 周小龙<sup>1,2\*</sup>, 王恩多<sup>1,2,3\*</sup>

(1 中国科学院分子细胞科学卓越创新中心/生物化学与细胞生物学研究所, 分子生物学国家重点实验室, 上海 200031; 2 中国科学院大学, 北京 100864; 3 上海科技大学生命科学与技术学院, 上海 201210)

**摘 要:** 氨基酰-tRNA合成酶 (aminoacyl-tRNA synthetase, aaRS) 催化 tRNA 氨基酰化反应与编校反应, 合成正确的氨基酰-tRNA, 为蛋白质生物合成提供原料。高等生物的 aaRS 获得了除蛋白质合成之外的非经典功能。近年来, 随着基因组测序和外显子测序技术的发展和新增临床病例的发现, aaRS 基因突变被报道与多种神经系统疾病相关。该文将简要介绍已报道的与 aaRS 基因突变相关的神经系统疾病, 并总结 aaRS 基因突变导致神经系统疾病机制的研究进展; 还将讨论神经系统疾病模型在 aaRS 非经典功能研究和新药设计中的潜在应用。

**关键词:** 氨基酰-tRNA合成酶; 蛋白质合成; 非经典功能; 神经系统; 线粒体

**中图分类号:** Q559; R741 **文献标志码:** A

## Aminoacyl-tRNA synthetase in neuropathy

LI Guang<sup>1,2</sup>, ZHOU Xiao-Long<sup>1,2\*</sup>, WANG En-Duo<sup>1,2,3\*</sup>

(1 State Key Laboratory of Molecular Biology, CAS Center for Excellence in Molecular Cell Science, Shanghai Institute of Biochemistry and Cell Biology, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031, China;

2 University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100864, China;

3 School of Life Science and Technology, Shanghai Tech University, Shanghai 201210, China)

**Abstract:** Aminoacyl-tRNA synthetase (aaRS) supplies material for protein biosynthesis by catalyzing both the formation of correct aminoacyl-tRNA and editing process. AaRS from higher eukaryotes acquired non-canonical functions beyond translation. With the development of genome sequencing, whole-exome sequencing and increasing cases reported, mutations of aaRS genes are correlated with multiple neuropathies. In this review, we will briefly introduce the reported neuropathy cases correlated with aaRS gene mutations, and summarize the mechanism of aaRS gene mutations in neuropathy. The potential applications of neuropathy cases in research of aaRS's non-canonical functions and in novel drug design are also reviewed here.

**Key words:** aminoacyl-tRNA synthetase; protein biosynthesis; non-canonical functions; nervous system; mitochondria

氨基酰-tRNA合成酶 (aminoacyl-tRNA synthetase, aaRS) 在细胞内广泛存在, 它催化氨基酸与对应的 tRNA 之间发生酯化反应生成氨基酰-tRNA (aminoacyl-tRNA, aa-tRNA), 为蛋白质生物合成提供原料并保证遗传信息的准确传递<sup>[1]</sup>。大多数 aaRS 催化的氨基酰化反应分为两步, 即氨基酸活化和 tRNA 的氨基酰化<sup>[2]</sup>。此外, 某些 aaRS 还具有编校功能, 可以将误活化的氨基酸 (以氨基酰-AMP 形式存在) 或误氨基酰化的终产物 (以误氨基酰化的 tRNA 形

式存在) 去除, 以防止错误的氨基酸掺入新合成的肽链中。在细胞中, 一些氨基酸代谢产物与氨基酸

收稿日期: 2020-01-10; 修回日期: 2020-02-11

基金项目: 国家重点研发计划项目(2017YFA0504000);

国家自然科学基金项目(91440204, 31500644, 31570792, 31822015, 81870896, 31670801); 中科院先导B项目(XDB19010203)

\*通信作者: E-mail: xlzhou@sibcb.ac.cn(周小龙), edwang@sibcb.ac.cn(王恩多)

结构相似, 或者不同氨基酸之间结构相似, 例如亮氨酸 (Leucine, Leu)、异亮氨酸 (Isoleucine, Ile) 和缬氨酸 (Valine, Val)<sup>[3]</sup>。为了防止这些非对应的氨基酸因被 aaRS 误识别而掺入蛋白质组中, aaRS 通过“双筛”机制来清除非对应的氨基酸: 即在第一步的氨基酸活化反应中, 氨基酰化结构域就可以区分不同的氨基酸; 而对于已经被误活化的氨基酸或被误氨基酰化的 tRNA, aaRS 还会利用独立的编校结构域将误活化的氨基酸或误氨基酰化的产物水解清除<sup>[1,4]</sup>。

本文以氨基酸英文三字符后缀“RS”表示专一于某种氨基酸的 aaRS (例如 LeuRS 代表亮氨酸-tRNA 合成酶); 用氨基酸英文单字符后缀 ARS 或 ars 的斜体代表编码某一 aaRS 的基因, 例如人 GlyRS 的基因用 *GARS* 表示, 小鼠 GlyRS 的基因用 *Gars* 表示; 线粒体中对应的 aaRS 基因则加后缀“2”。人细胞内存在细胞质和线粒体两套蛋白质合成系统; 相应地, 核基因组编码全部的 37 种 aaRS, 分别参与细胞质和线粒体的蛋白质生物合成<sup>[5-6]</sup>。我们研究组前期研究结果发现, 核基因组编码的一个细胞质 ThrRS 相似蛋白 ThrRS-L 具有氨基酰化活力和编校活力, 被认为是核基因组编码的第 38 种 aaRS<sup>[7-9]</sup>。绝大多数细胞质和线粒体 aaRS 由不同基因编码; 而 *GARS* 和 *KARS* 则由同一基因分别通过不同翻译起始位点或 mRNA 可变剪接, 同时编码细胞质和线粒体两种形式的 aaRS<sup>[10]</sup>。

与原核生物的 aaRS 相比, 高等真核生物的 aaRS 蛋白质家族成员具有两个显著的特点: 第一, 具有附加结构域, 这些结构域有的是在人类蛋白质组中广泛存在的功能性结构域, 有的则是仅在 aaRS 或 aaRS 相关蛋白质家族中存在的特异性结构域; 第二, 形成高分子量的蛋白质复合物——多氨基酰-tRNA 合成酶复合物 (multiple synthetase complex, MSC), 而且这一蛋白质复合物的复杂程度随着宿主生物进化水平的提高而提高<sup>[11]</sup>。这些新的结构特征表明, 在高等真核细胞中, aaRS 具有除了参与蛋白质生物合成之外的其他功能, 如小分子代谢、细胞凋亡和肿瘤发生、组织发育、血管生成和免疫应答等<sup>[12-15]</sup>, 这些功能统称为 aaRS 的非经典功能 (non-canonical functions)。

aaRS 在蛋白质生物合成中具有基础地位, 其基因突变与神经系统的多种疾病相关。最早报道的与 aaRS 基因突变相关的疾病是 Charcot-Marie-Tooth 病 (Charcot-Marie-Tooth disease, CMT), 这一组以远端肢体功能受损为主要症状的疾病与 *GARS* 的错义

突变有关<sup>[16]</sup>。随着近年来遗传学检测技术 (如全基因组测序、全外显子组测序) 的发展和新增临床病例的发现, 目前有 6 个 aaRS 基因 (*GARS*、*YARS*、*AARS*、*HARS*、*WARS* 和 *MARS*) 的突变被报道与 CMT 相关, 使 aaRS 基因成为最大的 CMT 致病基因家族, 这一类突变被称为 aaRS 基因的 CMT 致病性突变 (突变基因型记为 *AARS*-CMT 或 *Aars*-CMT, 突变基因编码的蛋白质记为 aaRS-CMT)。除 CMT 之外, aaRS 基因突变还与中枢神经系统 (central nervous system, CNS) 疾病相关, 主要包括四类: 脑白质病、早发性大脑病变、婴儿致死性神经退行综合征和感觉神经异常<sup>[17]</sup>。在这些致病突变中, 有些突变导致 aaRS 的氨基酰化活力或编校活力受损, 或者基因的表达水平发生改变; 有的 CMT 致病突变则不影响 aaRS 的催化活力, 而是通过改变 aaRS 与其他蛋白质因子的相互作用影响 aaRS 的非经典功能<sup>[18]</sup>。

本文将简要介绍与 aaRS 基因突变相关的神经系统疾病, 重点总结目前对 aaRS 基因突变致病与其非经典功能之间关系的研究进展, 并讨论疾病模型在非经典功能研究和新药开发中的潜在应用。

## 1 aaRS基因突变导致的神经系统疾病

### 1.1 外周神经系统疾病

#### 1.1.1 CMT

CMT 的主要临床特征是肌肉萎缩、远端肢体受损、弓形足、深部腱反射减弱或消失以及感觉功能受损<sup>[19]</sup>。根据运动神经传导速度的不同, CMT 可以分为 CMT1 和 CMT2 两种分型, 每种分型下又有不同的亚型<sup>[20]</sup>; aaRS 基因突变导致的 CMT 以 CMT2 为主, 例如 CMT2D 与 *GARS* 突变相关, CMT2U 则与 *MARS* 突变相关<sup>[16,21-24]</sup>。与非综合征型 CMT 相关的 aaRS 基因突变均为单等位基因突变, 以显性方式遗传<sup>[18]</sup>。CMT 致病突变位点大部分位于 aaRS 的催化结构域; MetRS 的三个 CMT2U 相关的突变则全部位于 tRNA 反密码子结合结构域<sup>[21-25]</sup>。由于人细胞质 AlaRS 没有反密码子结合结构域, 因此除了催化结构域的突变之外, 其他的 CMT 致病突变分布于 AlaRS 的编校结构域和位于 C-端的 C-Ala 结构域<sup>[26-32]</sup> (图 1)。需要注意的是, *GARS* 编码细胞质和线粒体两种形式的 GlyRS<sup>[10]</sup>, 因此 *GARS* 的 CMT 突变也被报道与线粒体功能障碍相关。Boczonadi 等<sup>[33]</sup> 利用 *GARS*-CMT 患者来源的成纤维细胞获得了诱导型神经元祖细胞 (induced neuronal progenitor cells, iNPC),

发现 iNPC 的线粒体呼吸链复合物中酶组分含量下调, 并且线粒体基因组 DNA 拷贝数降低。除了 *GARS* 之外, 其他的 CMT 致病的 aaRS 突变基因仅编码细胞质 aaRS。

1.1.2 感觉功能障碍

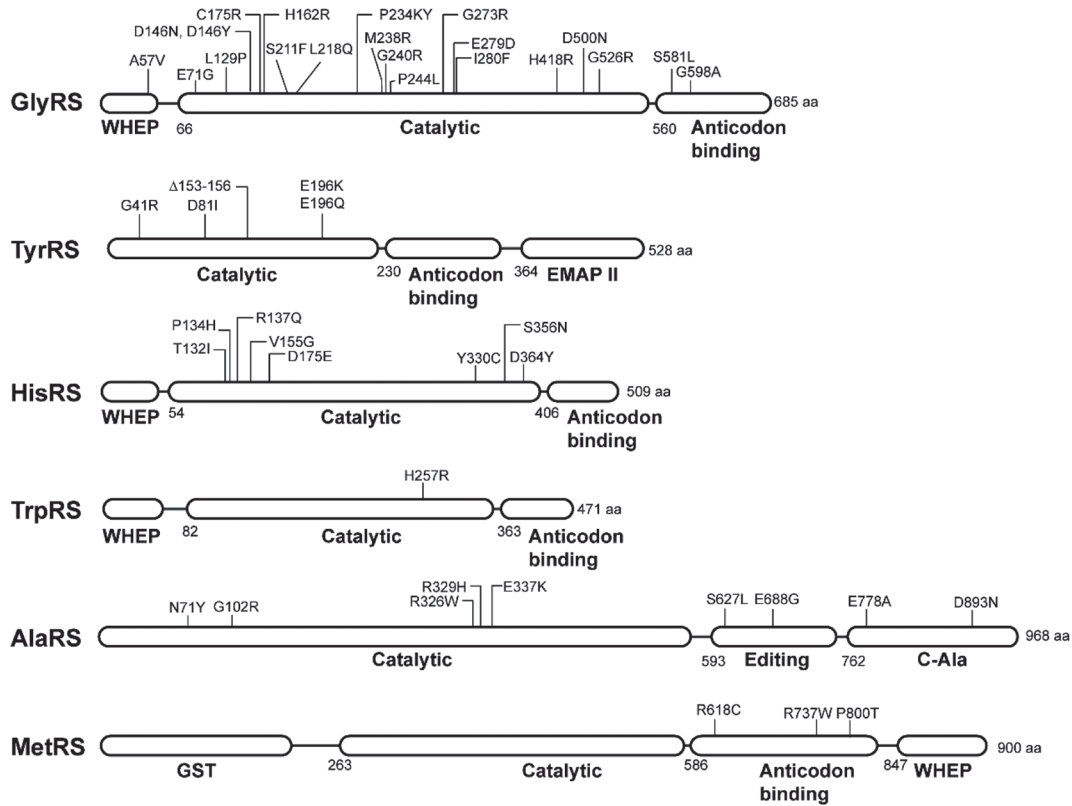
aaRS 基因突变导致的感觉功能障碍通常伴有系统病变, 具有进行性发病的特点; 这一类疾病与细胞质和线粒体 aaRS 基因突变均有关。有病例报道, 非综合征型常染色体隐性遗传听力损伤与 *KARS* 的纯合突变有关, 且患者没有肢体的神经病变<sup>[34]</sup>, 说明 *KARS* 的突变致病效应具有组织特异性。*HARS* 的纯合突变与 Usher 综合征 (Usher syndrome) 相关, 患者从童年时期出现进行性的视力和听力减退伴随生长迟缓、运动神经元发育不良、膝腱反射亢进、共济失调和步态不稳<sup>[35]</sup>。临床病例报道多种线粒体 aaRS 基因, 如 *HARS2*、*LARS2* 和 *MARS2* 的突变均可导致 Perrault 综合征 (Perrault syndrome); 患者除了感觉神经受损之外, 还伴有生

长迟缓、智力低下和女性卵巢发育不全<sup>[36-38]</sup>。我们研究组报道 *KARS* 的复合杂合突变分别编码 LysRS-R477H 和 LysRS-P505S 突变体, 该突变导致早发性听力损伤和脑白质病<sup>[39]</sup>。在肌阵挛性癫痫和肌红纤维破碎患者基因组中鉴定到 *CARS2* 的纯合突变导致 mRNA 发生剪接错误, 进而产生缺失了 28 个氨基酸残基的线粒体 CysRS 突变体<sup>[40]</sup>。我们研究组的合作研究结果发现, 两例单纯性遗传痉挛性截瘫 (hereditary spastic paraplegia, HSP) 患者携带 *FARS2* 纯和突变, 患者疾病表型包括进行性的下肢痉挛、锥体无力、反射亢进和剪刀步态; 突变后的 PheRS-D142Y 酶的氨基酸活化和氨基酰化活力下降; 研究者发现线粒体 PheRS 在大鼠小脑的 Purkinje 细胞中表达水平高, 暗示 *FARS2* 突变可能影响运动神经元发育<sup>[41]</sup>。

1.2 CNS疾病

1.2.1 脑白质病

白质缺陷是 aaRS 基因突变导致的 CNS 疾病的



突变位点的氨基酸以英文单字符表示。GlyRS 的 CMT 致病突变位点以其细胞质形式的蛋白质编号, 不包含 N-端 54 个氨基酸残基肽段的线粒体定位信号。Catalytic, 催化结构域; Anticodon binding, tRNA 反密码子结合结构域; Editing, 编校结构域; WHEP, TrpRS (WRS)-HisRS (HRS)-GluProRS (EPRS) 同源结构域; EMAP II, 内皮细胞活化多肽 II (endothelial monocyte activating polypeptide II) 结构域; C-Ala, AlaRS 特有的 C-端结构域。

图1 CMT致病突变位点在aaRS上的分布<sup>[17]</sup>



主要特征之一,该组疾病可在幼儿期或成年期发病。在小鼠中,*Aars*的纯合突变编码的AlaRS-A734E发生编校缺陷,携带该突变的小鼠具有皮毛不整、滤泡萎缩和斑块状皮毛脱落的*sticky*表型(突变基因型记为*Aars-sti*)。在6周龄时,*sticky*小鼠出现轻度阵挛并进而发展为共济失调,伴随小脑Purkinje细胞凋亡<sup>[42]</sup>。*DARS*的多个突变被报道与脑白质病变有关,临床症状为脑干和脊髓受累型髓鞘减少伴腿部痉挛(hypomyelination with brain stem and spinal cord involvement and leg spasticity, HBSL)<sup>[43]</sup>,遗传学检查发现患者携带*DARS*的纯合或复合杂合突变。Wolf等<sup>[44]</sup>在4例患有髓鞘形成不足症的患者中鉴定到*RARS*基因的复合杂合突变导致ArgRS的N-端延伸结构域和(或)C-端Add2结构域错义突变,全长形式ArgRS缺失和内含子剪接错误。Nafisinia等<sup>[45]</sup>则报道了三例Pelizaeus-Merzbacher样病(Pelizaeus-Merzbacher-like disease, PMLD)患者携带*RARS*突变,其中两例患者的纯合突变编码ArgRS-D2G突变体,另一例患者的突变基因分别编码来自母亲的ArgRS-S456L和新生的ArgRS-Y616Lfs\*6突变;两例基因纯合突变患者临床表现为双侧眼球震颤和共济失调,脑部核磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)检查发现胼胝体变薄,小脑白质和背侧脑干脱髓鞘化;而复合杂合突变携带患者则在10月龄时出现持续的惊厥、癫痫、小头症以及运动和语言发育迟缓。与细胞质aaRS相比,线粒体aaRS基因的突变与白质病变具有更广泛的联系:*DARS2*有11个错义突变、2个无义突变、3个缺失突变和2个移码突变被报道与脑干和脊髓受累型脑白质病变伴高乳酸血症(leukoencephalopathy with brain stem and spinal cord involvement and lactate elevation, LBSL)相关<sup>[46]</sup>; *EARS2*突变与丘脑和脑干受累型白质病变伴高乳酸血症(leukoencephalopathy with thalamus and brain stem involvement and high lactate, LTBL)相关<sup>[47-48]</sup>; *MARS2*突变与常染色体隐性遗传的痉挛性共济失调伴脑白质病(autosomal recessive spastic ataxia with leukoencephalopathy, ARSAL)相关<sup>[49]</sup>。Dallabona等<sup>[50]</sup>则报道了6例携带*AARS2*突变的患者患有幼儿期至成年期发病的神经功能恶化,包括共济失调、痉挛和认知功能下降, MRI检查见脑白质病变和小脑萎缩,且所有的女性患者均有卵巢功能衰退症状,但所有患者均没有发现心肌功能异常。*AARS2*突变最初被报道与新生儿线粒体肥大性心肌病相关<sup>[50]</sup>,因此,其导致CNS疾病的

组织特异性说明*AARS2*突变具有更广泛的致病表型谱和尚待研究的CNS致病机制。

### 1.2.2 早发性大脑病变

某些线粒体aaRS基因突变与严重的遗传性大脑病变有关,这类疾病在婴儿期或幼儿期发病。Edvardson等<sup>[51]</sup>在患有6型婴儿早发性小脑脑桥发育不全症(early-onset pontocerebellar hypoplasia type 6, PCH6)患者中鉴定到*RARS2*基因的内含子上纯合突变导致基因的2号外显子跳跃而发生移码突变,从而产生缺失催化活力的突变体酶;患者脑白质严重退化导致脑容量减少、小脑和脑蚓体退化;成纤维细胞中线粒体tRNA<sup>A<sup>trp</sup></sup>稳态含量和氨基酰化水平显著下降。在此之后,*RARS2*的多个致病突变被报道导致PCH6。虽然这组疾病由线粒体蛋白质翻译系统突变导致,但是有病例研究报道,在两例由*RARS2*复合杂合突变导致的PCH6患者的肌肉和成纤维细胞中,线粒体呼吸链复合物的组装和稳态蛋白质含量没有明显变化,且线粒体tRNA<sup>A<sup>trp</sup></sup>的氨基酰化水平正常<sup>[52]</sup>,表明*RARS2*的致病突变可能在不影响经典氨基酰化活力的机制。Li等<sup>[53]</sup>报道的两例PCH患者*RARS2*基因启动子上的纯合突变c.[-2A>G]导致基因的转录活性降低和细胞中mRNA表达水平下调。PCH致病基因不仅局限于*RARS2*,有研究报道*KARS*、*VARS2*、*FARS2*、*PARS2*和*NARS2*的突变均与PCH相关<sup>[54-57]</sup>。有些疾病虽然在临床上缺少具体的分型,但是大部分PCH的共同临床特征是在婴儿期即发生CNS器官的进行性退化或发育不全,病理检测均发现线粒体呼吸链复合物缺陷或呼吸链复合体中酶活力降低。

细胞质aaRS基因突变也被报道与早发性脑病变相关,说明细胞质蛋白质合成系统失调同样与CNS早期发育异常密切相关。Zhang等<sup>[58]</sup>报道来自两个家庭的4例PCH患者携带*QARS*的复合杂合突变,突变造成GlnRS的N-端结构域和催化结构域保守氨基酸的替换,使酶的氨基酰化活力降低。Kodera等<sup>[59]</sup>在2例早发性癫痫性脑病(early-onset epileptic encephalopathies, EOEE)患者基因组中鉴定到*QARS*的复合杂合突变导致GlnRS的N-端结构域保守氨基酸的替换和(或)翻译提前终止。*AARS*突变被报道与常染色体隐性遗传的EOEE伴髓鞘形成缺陷相关,患者*AARS*功能丧失型突变编码的酶对tRNA的氨基酰化活力降低<sup>[60]</sup>。

### 1.2.3 婴儿早发性综合征

aaRS基因突变导致的CNS疾病常常伴有多组

织或器官病变, 且这类重症疾病多数为婴儿期致死性的。*IARS2* 和 *NARS2* 突变被报道与 Leigh 综合征 (Leigh syndrome) 相关, 其复合杂合突变导致蛋白质保守氨基酸的缺失或替换<sup>[61-62]</sup>。*TARS2* 的复合杂合突变被报道与两例中轴张力减退和运动迟缓的新生儿致死性疾病相关, 两例患者出生数月后因代谢紊乱夭折, 其致病的 *TARS2* 复合杂合突变分别导致线粒体 ThrRS-P282L 错义突变和内含子剪接错误<sup>[55]</sup>。我们研究组后续研究表明, ThrRS-P282L 突变体酶的氨基酰化活力和编校活力明显下降<sup>[63]</sup>。这类多系统受累的早发性遗传性疾病是由于 aaRS 基因的功能丧失型突变造成细胞的蛋白质稳态合成受阻, 从而导致多器官或系统的衰竭和致死性的新生儿遗传病。

## 2 aaRS基因突变的致病机理

### 2.1 AlaRS编校缺陷导致蛋白质误折叠和降解

由于神经元是终末分化细胞, 细胞对误折叠的蛋白质不容易产生分裂稀释效应, 因此 aaRS 编校缺陷导致的误折叠蛋白质易于在神经元中累积; 如果这种误折叠蛋白质造成的压力超出细胞稳态应激反应的清除能力, 则可能导致细胞凋亡和神经退行性疾病。研究者发现在 3 周龄的 *sticky* 小鼠的小脑 Purkinje 细胞中, 细胞凋亡蛋白酶 3 (caspase 3) 及其底物多聚 ADP-核糖聚合酶 [poly (ADP-ribose) polymerase, PARP] 等凋亡标记物分子呈阳性, 表明小鼠 Purkinje 细胞显著凋亡; 小鼠胚胎成纤维细胞 (mouse embryonic fibroblasts, MEF) 在添加非对应氨基酸丝氨酸 (serine, Ser) 的培养基中存活率下降, 蛋白质泛素化水平和热休克蛋白-72 (heat shock protein 72, Hsp72) 显著上调, 表明 *Aars-sti* 突变可能导致细胞中非对应氨基酸误掺和蛋白质错误折叠; 进一步的体内研究证明, *sticky* 小鼠 Purkinje 细胞 Hsp72、Hsp70 及其共分子伴侣 Hsp40 和 HSC70 明显上调, 说明细胞中存在误折叠蛋白质的累积; 误折叠蛋白质在内质网中累积导致内质网压力, 激活非折叠蛋白质应激反应 (unfolded protein response, UPR) 诱导内质网伴侣分子热休克蛋白家族 A 成员 5 (heat shock protein family A member 5, HSPA5 或 BiP) 和内质网压力诱导转录因子 CCAAT/增强子结合同源蛋白 (CCAAT/enhancer-binding homologous protein, CHOP) 的上调<sup>[42]</sup>。结合体外生化实验, 研究者认为细胞中 AlaRS-A734E 突变体酶编校缺陷导致非对应氨基酸误掺入蛋白质组中, 细胞通过上调热休克蛋白和激活泛素化降解

帮助蛋白质重新折叠, 或者降解误折叠的蛋白质; 而当误折叠蛋白质的产量超过细胞的稳态调节能力, 神经元就会因毒性蛋白质累积而发生凋亡并使突变小鼠产生 *sticky* 表型。

有趣的是, 研究者发现 *Aars-sti* 突变导致的神经退行性疾病存在保护机制, 即在细胞中存在“修饰基因”, 通过与 AlaRS 的编校缺陷突变体相互作用而减少非对应氨基酸的误掺并抑制神经元的退化。研究者在 *sticky* 小鼠杂交后代中通过定位克隆鉴定到 *Aars-sti* 突变的修饰基因 *Ankrd16*, 其编码的锚定蛋白结构域重复蛋白-16 (ankyrin repeat domain 16, ANKRD16) 与 AlaRS 直接相互作用, 通过接受被误活化的 Ser 促进不依赖于 tRNA 的转移前编校, 从而抑制突变细胞中非对应氨基酸 Ser 的误掺并提高细胞存活率。通过体内实验, 研究者发现在野生型小鼠中敲除 *Ankrd16* 后, 小鼠的 CNS 和其他器官未出现疾病表型; 但是在 *sticky* 小鼠中, 敲除 *Ankrd16* 则导致胚胎死亡。在 Purkinje 细胞或胚胎期小脑原基细胞中条件性敲除 *Ankrd16*, 导致 *sticky* 小鼠的 Purkinje 细胞凋亡、泛素化水平上调和变性蛋白质聚集。*Ankrd16* 虽然在 CNS 中表达水平较低, 但是它可以有效地降低非对应氨基酸误掺和蛋白质误折叠; 这一突变基因修饰系统不同于广谱的调节基因 (如分子伴侣、泛素化降解相关的酶和组蛋白去乙酰化酶), 而是在高等动物中存在的一种简化的基因修饰体系<sup>[64]</sup>。

### 2.2 CMT相关的功能获得型突变

虽然 aaRS 基因在所有细胞中广泛表达, 但是 *GARS* 突变的致病效应具有高度的组织特异性, 即主要影响外周神经系统发育, 表明 GlyRS 在运动神经元的发育和功能维持中发挥非经典功能。对 CMT 模式生物表型的研究认为, 对单等位基因突变导致的 CMT, 如果过表达野生型 aaRS 基因可以回复表型, 则该表型是由基因的功能丧失型突变 (loss-of-function mutations) 引起的; 反之该表型是由基因的功能获得型突变 (gain-of-function mutations) 引起的。在 *Gars-CMT* 突变小鼠表型研究中发现, 虽然转入人基因 *GARS* 可以代替小鼠 *Gars* 发挥功能, 但是过表达野生型 *GARS* 无法补偿 *Gars-CMT* 杂合突变小鼠的疾病表型, 表明虽然 *Gars-CMT* 突变使基因丧失了部分功能, 但是主要致病机制是使突变基因获得了对细胞有害的新功能<sup>[65]</sup>。在果蝇中, 诱导表达人的 *GARS-CMT* 突变基因引起显著的运动神经元和感觉神经元缺陷; 虽然表达



*GARS-CMT* 的果蝇神经元中蛋白质翻译水平降低, 但是过表达野生型的 *GARS* 不能补偿 *CMT* 突变的致病表型<sup>[66]</sup>。

对 *CMT* 突变致病机理的早期研究认为, 这一类疾病可能是由 *aaRS* 突变体酶的催化活力受损引起的<sup>[16,67]</sup>; 但是近年来的研究表明, 某些 *aaRS* 突变体的酶催化活力丧失不是导致 *CMT* 的必要条件; 反之, *aaRS* 基因突变引起的 *CMT* 的严重程度也并不完全与 *aaRS* 活力丧失程度成正相关。*GARS*<sup>[68-69]</sup>、*YARS*<sup>[70-71]</sup> 和 *AARS*<sup>[30]</sup> 的多个 *CMT* 致病突变均不影响酶的催化活力, 暗示 *aaRS* 可能通过非经典途径对神经系统发育发挥关键的调控作用。

### 2.3 GlyRS-CMT突变体与Nrp1、Trk和HDAC6的异常相互作用

对 *CMT* 突变致病机理的研究发现了多种与 *aaRS* 的致病突变体存在异常相互作用的蛋白质因子, 它们参与感觉神经元和(或)血管系统的形成和发育。最早被鉴定到的与 *GlyRS-CMT* 相互作用的是神经纤毛蛋白-1 (*neuropilin 1, Nrp1*)<sup>[72]</sup>。*Nrp1* 是在运动神经元和血管内皮细胞中表达的细胞表面受体, 通过结合信号蛋白分子, 如 *semaphorin* 和血管内皮细胞生长因子 (*vascular endothelial growth factor, VEGF*) 而调控运动神经元和血管系统的发育<sup>[73]</sup>。在 *CMT* 小鼠的神经组织中, *GlyRS-CMT* 突变体与 *Nrp1* 存在异常的相互作用; *GlyRS-CMT* 与 *VEGF* 竞争结合 *Nrp1*, 从而抑制 *VEGF-Nrp1* 信号通路并导致运动神经元退化; 在 *CMT* 小鼠中过表达 *VEGF* 可以回复神经元缺陷的表型。有趣的是, *CMT* 小鼠的血管形成并未受到 *Gars-CMT* 突变影响<sup>[72,74]</sup>。

除了 *Nrp1* 受体分子之外, *GlyRS-CMT* 还与原肌球蛋白受体激酶 (*tropomyosin receptor kinase, Trk*) 的受体相互作用, 从而影响感觉神经元分化和发育。*Sleigh* 等<sup>[75]</sup> 发现 *Gars-CMT* 突变小鼠的背根神经节 (*dorsal root ganglion, DRG*) 在体外培养时感觉神经元面积比例减少; 在背部脊髓中发现感觉神经元面积比例减少, 而运动神经元并未受到突变影响。突变小鼠由于传入感觉神经末梢异常而出现发育性的感觉功能障碍。同时, 研究者发现在细胞内 *GlyRS-CMT* 与 *Trk* 受体相互作用并误激活 *Trk* 受体, 导致下游分子 *ERK1/2* 的磷酸化水平升高。由 *Trk* 受体被神经营养因子激活所介导的信号通路在成体的神经系统中调控神经突触的连接强度和可塑性<sup>[76]</sup>, 因此, *GlyRS-CMT* 与 *Trk* 受体相互作用并激活下游

信号通路可能与某些 *GARS-CMT* 突变患者缺乏感觉神经元受损的症状有关。

轴突运输功能异常是多种神经退行性疾病的共同特征。在长神经中, 信号分子和货物蛋白在细胞体和神经末梢之间的运输依赖于以微管为主要成分的细胞骨架系统<sup>[77]</sup>, 而构成微管的关键分子微管蛋白- $\alpha$  ( *$\alpha$ -tubulin*) 的乙酰化修饰则在微管系统的形态和功能维持中发挥关键作用<sup>[78]</sup>。在 *Gars-CMT* 小鼠组织中, *GlyRS-CMT* 与组蛋白去乙酰化酶 (*histone deacetylase 6, HDAC6*) 相互作用。研究者发现, 在细胞中, *GlyRS-CMT* 与 *HDAC6* 的相互作用使 *HDAC6* 对  *$\alpha$ -tubulin* 的去乙酰化活力提高; 而且在小鼠的坐骨神经中  *$\alpha$ -tubulin* 的乙酰化水平降低。突变小鼠在 *CMT* 症状出现之前, 体外培养的背根神经节由于 *HDAC6* 活力提高而出现轴突运输缺陷<sup>[79]</sup>。该研究的潜在应用是开发 *CMT* 治疗中用于靶向去乙酰化酶 *HDAC6* 及其相关蛋白质因子的抑制剂。

### 2.4 TyrRS-CMT与转录调控因子TRIM28存在异常的相互作用

在氧化压力和血管生成素刺激下, 细胞质中的 *TyrRS* 会定位到细胞核中; 通过与 *TRIM28* 及去乙酰化酶 *HDAC1* 相互作用, 提高转录因子 *E2F1* 的乙酰化水平, 激活 *DNA* 修复相关靶基因 *RAD51L1*、*BRCAL1* 和 *RAD51* 的表达, 并促进 *DNA* 的同源重组修复<sup>[80-81]</sup>。结构和生化研究结果表明, *TyrRS-CMT* 突变体蛋白质局部构象的变化暴露了 *TyrRS* 内部介导蛋白质-蛋白质相互作用的界面; 突变体蛋白质构象的改变促进 *TyrRS-CMT* 与 *TRIM28* 的相互作用<sup>[82]</sup>。这种由突变引起的错误的蛋白质-蛋白质相互作用可能是多种 *aaRS* 基因突变导致 *CMT* 的功能获得性突变的共同机制之一。

## 3 小结与展望

*aaRS* 在蛋白质生物合成过程中发挥的经典功能在细胞生命活动中具有基础地位。这一类管家基因在所有细胞内广泛表达, 然而其突变的致病表型常常具有组织特异性, 如 *GARS* 突变导致的 *CMT* 主要影响外周神经系统中的运动神经元或感觉神经元<sup>[16]</sup>。而同一 *aaRS* 基因的不同突变也可能导致不同组织或系统的病变。例如, *AARS2* 编校结构域的突变最初被报道与新生儿线粒体肥大性心肌病相关<sup>[83-84]</sup>。*Dallabona* 等<sup>[50]</sup> 则报道 *AARS2* 的隐性突变不引起心肌功能异常, 而是与脑白质营养不良伴女性卵巢发育不全相关, 表明 *aaRS* 基因突变导致的

组织或器官功能受损是大范围的、复杂的。由于神经系统是 aaRS 基因突变最常见的受累器官, 因此研究 aaRS 突变导致神经系统疾病的机制有望揭示 aaRS 在神经元发育中参与的非经典途径。已有的对 CMT 发病机理的研究暗示, aaRS 对神经系统的形成、分化和功能维持具有特殊的作用; 这些疾病模型的研究结果也可以为 aaRS 非经典功能研究提供新的思路。

虽然细胞质和线粒体 aaRS 基因致病突变的临床病例报道较多, 但是对于其致病机制, 尤其是非经典功能失调与疾病表型发生之间关系的研究尚有诸多问题需要解决, 主要包括以下两方面: 第一, 某些 aaRS 基因的 CMT 突变存在非自主型致病的机制, 即在某一组织中特异性表达突变基因, 会在模式动物的其他组织或器官中诱导产生 CMT 表型。例如, Grice 等<sup>[85]</sup>报道 *GARS-CMT* 在肌肉组织或胚胎的中胚层中特异表达可以引起神经毒性, 这可能与肌肉组织中表达的 GlyRS-CMT 在神经末梢突触中分泌并异常累积有关。而其他 aaRS 基因的 CMT 致病突变与其非经典功能之间的关系目前研究较少。第二, 线粒体 aaRS 基因突变导致线粒体蛋白质合成受损, 引起线粒体产能缺陷, 而这种缺陷的发生与线粒体-细胞核通讯之间的关系目前还缺少深入研究。有研究表明在小鼠心肌细胞中敲除 *Dars2* 后, 1 周龄时小鼠的心肌组织中即出现非折叠蛋白质的累积以及线粒体的应激反应, 并且线粒体非折叠蛋白应激标志物 *Atf5*、*Chop* 以及 *Fgf21* 表达水平上调; 而 3 周龄时小鼠心肌组织中才发生呼吸链酶复合物的缺失<sup>[86]</sup>。这表明 aaRS 基因突变导致的线粒体功能失调在呼吸链复合物缺失之前就已经发生; 呼吸链复合物缺陷可能是细胞对线粒体蛋白质合成系统的应激反应。虽然线粒体 aaRS 基因大多数致病突变可导致呼吸链复合物缺陷, 但是细胞应激反应是否先于疾病表型发生, 以及这种应激反应在机体发育的哪一阶段对细胞产生保护机制, 这些问题仍然有待于研究。

对 aaRS 基因突变致病机理研究的潜在应用是开发靶向于特定信号通路的小分子, 从而为晚发性 CNS 疾病患者提供药物治疗的希望。HDAC6 的抑制剂通过提高  $\alpha$ -tubulin 的乙酰化水平从而促进轴突的分子运输功能, 是最有效的轴突性神经系统疾病的一类药物靶标<sup>[87]</sup>。Benoy 等<sup>[88]</sup>以小热休克蛋白 B1 (small heat shock protein B1, HSPB1) 基因突变

引起的 CMT2F 小鼠为基础, 在  $\alpha$ -tubulin 乙酰化水平、DRG 细胞轴突运输功能以及小鼠运动神经元和感觉神经元功能三个方面筛选到了 HDAC6 的有效的选择性抑制剂, 说明 HDAC6 抑制剂是潜在的 CMT 药物分子, 有望被用于 CMT 疾病的药物设计和开发。在 *Gars-CMT* 小鼠 DRG 体外培养的细胞中, 研究者发现加入 HDAC6 的抑制剂 tubastatin A (Tub A) 不影响野生型 DRG 细胞的轴突瞬时运输速度, 但是可以显著改善 *Gars-CMT* 小鼠的 DRG 细胞的逆行轴突运输缺陷; 在 *Gars-CMT* 小鼠体内, Tub A 给药可以提高小鼠的肌肉强度, 并改善运动神经元功能; 所有表型均伴随给药处理后坐骨神经元中  $\alpha$ -tubulin 乙酰化水平的提高<sup>[79]</sup>。对于 *Gars-CMT* 突变导致的 CMT, 未来药物研发的方向是设计靶向 GlyRS-CMT 与 HDAC6 相互作用的小分子, 以解决目前多种传统的 HDAC6 抑制剂的低药效或高毒性的问题。

#### [参 考 文 献]

- [1] Ling J, Reynolds N, Ibba M. Aminoacyl-tRNA synthesis and translational quality control. *Annu Rev Microbiol*, 2009, 63: 61-78
- [2] Zhou XL, Wang ED. Transfer RNA: a dancer between charging and mis-charging for protein biosynthesis. *Sci China Life Sci*, 2013, 56: 921-32
- [3] Chen X, Ma JJ, Tan M, et al. Modular pathways for editing non-cognate amino acids by human cytoplasmic leucyl-tRNA synthetase. *Nucleic Acids Res*, 2011, 39: 235-47
- [4] Nureki O, Vassylyev DG, Tateno M, et al. Enzyme structure with two catalytic sites for double-sieve selection of substrate. *Science*, 1998, 280: 578-82
- [5] Antonellis A, Green ED. The role of aminoacyl-tRNA synthetases in genetic diseases. *Annu Rev Genomics Hum Genet*, 2008, 9: 87-107
- [6] Schimmel P. Aminoacyl tRNA synthetases: general scheme of structure-function relationships in the polypeptides and recognition of transfer RNAs. *Annu Rev Biochem*, 1987, 56: 125-58
- [7] Chen Y, Ruan ZR, Wang Y, et al. A threonyl-tRNA synthetase-like protein has tRNA aminoacylation and editing activities. *Nucleic Acids Res*, 2018, 46: 3643-56
- [8] Zhou XL, Ruan ZR, Huang Q, et al. Translational fidelity maintenance preventing Ser mis-incorporation at Thr codon in protein from eukaryote. *Nucleic Acids Res*, 2013, 41: 302-14
- [9] Zhou XL, Chen Y, Zeng QY, et al. Newly acquired N-terminal extension targets threonyl-tRNA synthetase-like protein into the multiple tRNA synthetase complex. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47: 8662-74
- [10] Bonnefond L, Fender A, Rudinger-Thirion J, et al. Toward

- the full set of human mitochondrial aminoacyl-tRNA synthetases: characterization of AspRS and TyrRS. *Biochemistry*, 2005, 44: 4805-16
- [11] Guo M, Yang XL. Architecture and metamorphosis. *Top Curr Chem*, 2014, 344: 89-118
- [12] Han JM, Jeong SJ, Park MC, et al. Leucyl-tRNA synthetase is an intracellular leucine sensor for the mTORC1-signaling pathway. *Cell*, 2012, 149: 410-24
- [13] Kwon NH, Kang T, Lee JY, et al. Dual role of methionyl-tRNA synthetase in the regulation of translation and tumor suppressor activity of aminoacyl-tRNA synthetase-interacting multifunctional protein-3. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108: 19635-40
- [14] Xu X, Shi Y, Zhang HM, et al. Unique domain appended to vertebrate tRNA synthetase is essential for vascular development. *Nat Commun*, 2012, 3: 681
- [15] Yannay-Cohen N, Carmi-Levy I, Kay G, et al. LysRS serves as a key signaling molecule in the immune response by regulating gene expression. *Mol Cell*, 2009, 34: 603-11
- [16] Antonellis A, Ellsworth RE, Sambuughin N, et al. Glycyl-tRNA synthetase mutations in Charcot-Marie-Tooth disease type 2D and distal spinal muscular atrophy type V. *Am J Hum Genet*, 2003, 72: 1293-9
- [17] Ognjenovic J, Simonovic M. Human aminoacyl-tRNA synthetases in diseases of the nervous system. *RNA Biol*, 2018, 15: 623-34
- [18] Wei N, Zhang Q, Yang XL. Neurodegenerative Charcot-Marie-Tooth disease as a case study to decipher novel functions of aminoacyl-tRNA synthetases. *J Biol Chem*, 2019, 294: 5321-39
- [19] Murakami T, Garcia CA, Reiter LT, et al. Charcot-Marie-Tooth disease and related inherited neuropathies. *Medicine (Baltimore)*, 1996, 75: 233-50
- [20] Dyck PJ, Lambert EH. Lower motor and primary sensory neuron diseases with peroneal muscular atrophy. II. Neurologic, genetic, and electrophysiologic findings in various neuronal degenerations. *Arch Neurol*, 1968, 18: 619-25
- [21] Rips J, Meyer-Schuman R, Breuer O, et al. *MARS* variant associated with both recessive interstitial lung and liver disease and dominant Charcot-Marie-Tooth disease. *Eur J Med Genet*, 2018, 61: 616-20
- [22] Hirano M, Oka N, Hashiguchi A, et al. Histopathological features of a patient with Charcot-Marie-Tooth disease type 2U/AD-CMTax-*MARS*. *J Peripher Nerv Syst*, 2016, 21: 370-4
- [23] Nam SH, Hong YB, Hyun YS, et al. Identification of genetic causes of inherited peripheral neuropathies by targeted gene panel sequencing. *Mol Cells*, 2016, 39: 382-8
- [24] Sagi-Dain L, Shemer L, Zelnik N, et al. Whole-exome sequencing reveals a novel missense mutation in the *MARS* gene related to a rare Charcot-Marie-Tooth neuropathy type 2U. *J Peripher Nerv Syst*, 2018, 23: 138-42
- [25] Hyun YS, Park HJ, Heo SH, et al. Rare variants in methionyl- and tyrosyl-tRNA synthetase genes in late-onset autosomal dominant Charcot-Marie-Tooth neuropathy. *Clin Genet*, 2014, 86: 592-4
- [26] Weterman MAJ, Kuo M, Kenter SB, et al. Hypermorphic and hypomorphic *AARS* alleles in patients with CMT2N expand clinical and molecular heterogeneities. *Hum Mol Genet*, 2018, 27: 4036-50
- [27] Lin KP, Soong BW, Yang CC, et al. The mutational spectrum in a cohort of Charcot-Marie-Tooth disease type 2 among the Han Chinese in Taiwan. *PLoS One*, 2011, 6: e29393
- [28] Motley WW, Griffin LB, Mademan I, et al. A novel *AARS* mutation in a family with dominant myeloneuropathy. *Neurology*, 2015, 84: 2040-7
- [29] Latour P, Thauvin-Robinet C, Baudalet-Mery C, et al. A major determinant for binding and aminoacylation of tRNA(Ala) in cytoplasmic alanyl-tRNA synthetase is mutated in dominant axonal Charcot-Marie-Tooth disease. *Am J Hum Genet*, 2010, 86: 77-82
- [30] McLaughlin HM, Sakaguchi R, Giblin W, et al. A recurrent loss-of-function alanyl-tRNA synthetase (*AARS*) mutation in patients with Charcot-Marie-Tooth disease type 2N (CMT2N). *Hum Mutat*, 2012, 33: 244-53
- [31] Bansagi B, Antoniadis T, Burton-Jones S, et al. Genotype/phenotype correlations in *AARS*-related neuropathy in a cohort of patients from the United Kingdom and Ireland. *J Neurol*, 2015, 262: 1899-908
- [32] Zhao Z, Hashiguchi A, Hu J, et al. Alanyl-tRNA synthetase mutation in a family with dominant distal hereditary motor neuropathy. *Neurology*, 2012, 78: 1644-9
- [33] Boczonadi V, Meyer K, Gonczarowska-Jorge H, et al. Mutations in glycyl-tRNA synthetase impair mitochondrial metabolism in neurons. *Hum Mol Genet*, 2018, 27: 2187-204
- [34] Santos-Cortez RL, Lee K, Azeem Z, et al. Mutations in *KARS*, encoding lysyl-tRNA synthetase, cause autosomal-recessive nonsyndromic hearing impairment DFNB89. *Am J Hum Genet*, 2013, 93: 132-40
- [35] Puffenberger EG, Jinks RN, Sougnéz C, et al. Genetic mapping and exome sequencing identify variants associated with five novel diseases. *PLoS One*, 2012, 7: e28936
- [36] Pierce SB, Chisholm KM, Lynch ED, et al. Mutations in mitochondrial histidyl tRNA synthetase *HARS2* cause ovarian dysgenesis and sensorineural hearing loss of Perrault syndrome. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108: 6543-8
- [37] Pierce SB, Gersak K, Michaelson-Cohen R, et al. Mutations in *LARS2*, encoding mitochondrial leucyl-tRNA synthetase, lead to premature ovarian failure and hearing loss in Perrault syndrome. *Am J Hum Genet*, 2013, 92: 614-20
- [38] Webb BD, Wheeler PG, Hagen JJ, et al. Novel, compound heterozygous, single-nucleotide variants in *MARS2* associated with developmental delay, poor growth, and sensorineural hearing loss. *Hum Mutat*, 2015, 36: 587-92
- [39] Zhou XL, He LX, Yu LJ, et al. Mutations in *KARS* cause early-onset hearing loss and leukoencephalopathy: potential pathogenic mechanism. *Hum Mutat*, 2017, 38: 1740-50
- [40] Hallmann K, Zsurka G, Moskau-Hartmann S, et al. A



- homozygous splice-site mutation in *CARS2* is associated with progressive myoclonic epilepsy. *Neurology*, 2014, 83: 2183-7
- [41] Yang Y, Liu W, Fang ZP, et al. A newly identified missense mutation in *FARS2* causes autosomal-recessive spastic paraplegia. *Hum Mutat*, 2016, 37: 165-9
- [42] Lee JW, Beebe K, Nangle LA, et al. Editing-defective tRNA synthetase causes protein misfolding and neurodegeneration. *Nature*, 2006, 443: 50-5
- [43] Taft RJ, Vanderver A, Leventer RJ, et al. Mutations in *DARS* cause hypomyelination with brain stem and spinal cord involvement and leg spasticity. *Am J Hum Genet*, 2013, 92: 774-80
- [44] Wolf NI, Salomons GS, Rodenburg RJ, et al. Mutations in *RARS* cause hypomyelination. *Ann Neurol*, 2014, 76: 134-9
- [45] Nafisinia M, Sobreira N, Riley L, et al. Mutations in *RARS* cause a hypomyelination disorder akin to Pelizaeus-Merzbacher disease. *Eur J Hum Genet*, 2017, 25: 1134-41
- [46] Scheper GC, van der Klok T, van Andel RJ, et al. Mitochondrial aspartyl-tRNA synthetase deficiency causes leukoencephalopathy with brain stem and spinal cord involvement and lactate elevation. *Nat Genet*, 2007, 39: 534-9
- [47] Gungor O, Ozkaya AK, Sahin Y, et al. A compound heterozygous *EARS2* mutation associated with mild leukoencephalopathy with thalamus and brainstem involvement and high lactate (LTBL). *Brain Dev*, 2016, 38: 857-61
- [48] Steenweg ME, Ghezzi D, Haack T, et al. Leukoencephalopathy with thalamus and brainstem involvement and high lactate 'LTBL' caused by *EARS2* mutations. *Brain*, 2012, 135: 1387-94
- [49] Bayat V, Thiffault I, Jaiswal M, et al. Mutations in the mitochondrial methionyl-tRNA synthetase cause a neurodegenerative phenotype in flies and a recessive ataxia (ARSAL) in humans. *PLoS Biol*, 2012, 10: e1001288
- [50] Dallabona C, Diodato D, Kevelam SH, et al. Novel (ovario) leukodystrophy related to *AARS2* mutations. *Neurology*, 2014, 82: 2063-71
- [51] Edvardson S, Shaag A, Kolesnikova O, et al. Deleterious mutation in the mitochondrial arginyl-transfer RNA synthetase gene is associated with pontocerebellar hypoplasia. *Am J Hum Genet*, 2007, 81: 857-62
- [52] Cassandrini D, Cilio MR, Bianchi M, et al. Pontocerebellar hypoplasia type 6 caused by mutations in *RARS2*: definition of the clinical spectrum and molecular findings in five patients. *J Inherit Metab Dis*, 2013, 36: 43-53
- [53] Li Z, Schonberg R, Guidugli L, et al. A novel mutation in the promoter of *RARS2* causes pontocerebellar hypoplasia in two siblings. *J Hum Genet*, 2015, 60: 363-9
- [54] McMillan HJ, Humphreys P, Smith A, et al. Congenital visual impairment and progressive microcephaly due to lysyl-transfer ribonucleic acid (RNA) synthetase (*KARS*) mutations: the expanding phenotype of aminoacyl-transfer RNA synthetase mutations in human disease. *J Child Neurol*, 2015, 30: 1037-43
- [55] Diodato D, Melchionda L, Haack TB, et al. *VARS2* and *TARS2* mutations in patients with mitochondrial encephalomyopathies. *Hum Mutat*, 2014, 35: 983-9
- [56] Almalki A, Alston CL, Parker A, et al. Mutation of the human mitochondrial phenylalanine-tRNA synthetase causes infantile-onset epilepsy and cytochrome c oxidase deficiency. *Biochim Biophys Acta*, 2014, 1842: 56-64
- [57] Mizuguchi T, Nakashima M, Kato M, et al. *PARS2* and *NARS2* mutations in infantile-onset neurodegenerative disorder. *J Hum Genet*, 2017, 62: 525-9
- [58] Zhang X, Ling J, Barcia G, et al. Mutations in *QARS*, encoding glutaminyl-tRNA synthetase, cause progressive microcephaly, cerebral-cerebellar atrophy, and intractable seizures. *Am J Hum Genet*, 2014, 94: 547-58
- [59] Koderia H, Osaka H, Iai M, et al. Mutations in the glutaminyl-tRNA synthetase gene cause early-onset epileptic encephalopathy. *J Hum Genet*, 2015, 60: 97-101
- [60] Simons C, Griffin LB, Helman G, et al. Loss-of-function alanyl-tRNA synthetase mutations cause an autosomal-recessive early-onset epileptic encephalopathy with persistent myelination defect. *Am J Hum Genet*, 2015, 96: 675-81
- [61] Schwartzenruber J, Buhas D, Majewski J, et al. Mutation in the nuclear-encoded mitochondrial isoleucyl-tRNA synthetase *IARS2* in patients with cataracts, growth hormone deficiency with short stature, partial sensorineural deafness, and peripheral neuropathy or with Leigh syndrome. *Hum Mutat*, 2014, 35: 1285-9
- [62] Simon M, Richard EM, Wang X, et al. Mutations of human *NARS2*, encoding the mitochondrial asparaginyl-tRNA synthetase, cause nonsyndromic deafness and Leigh syndrome. *PLoS Genet*, 2015, 11: e1005097
- [63] Wang Y, Zhou XL, Ruan ZR, et al. A human disease-causing point mutation in mitochondrial threonyl-tRNA synthetase induces both structural and functional defects. *J Biol Chem*, 2016, 291: 6507-20
- [64] Chen X, Burgoyne RD. Identification of common genetic modifiers of neurodegenerative diseases from an integrative analysis of diverse genetic screens in model organisms. *BMC Genomics*, 2012, 13: 71
- [65] Motley WW, Seburn KL, Nawaz MH, et al. Charcot-Marie-Tooth-linked mutant *GARS* is toxic to peripheral neurons independent of wild-type *GARS* levels. *PLoS Genet*, 2011, 7: e1002399
- [66] Niehues S, Bussmann J, Steffes G, et al. Impaired protein translation in *Drosophila* models for Charcot-Marie-Tooth neuropathy caused by mutant tRNA synthetases. *Nat Commun*, 2015, 6: 7520
- [67] Jordanova A, Irobi J, Thomas FP, et al. Disrupted function and axonal distribution of mutant tyrosyl-tRNA synthetase in dominant intermediate Charcot-Marie-Tooth neuropathy. *Nat Genet*, 2006, 38: 197-202
- [68] Seburn KL, Nangle LA, Cox GA, et al. An active dominant mutation of glycyl-tRNA synthetase causes neuropathy in a Charcot-Marie-Tooth 2D mouse model. *Neuron*, 2006, 51: 715-26
- [69] Nangle LA, Zhang W, Xie W, et al. Charcot-Marie-Tooth disease-associated mutant tRNA synthetases linked to

- altered dimer interface and neurite distribution defect. Proc Natl Acad Sci USA, 2007, 104: 11239-44
- [70] Storkebaum E, Leitao-Goncalves R, Godenschwege T, et al. Dominant mutations in the tyrosyl-tRNA synthetase gene recapitulate in *Drosophila* features of human Charcot-Marie-Tooth neuropathy. Proc Natl Acad Sci USA, 2009, 106: 11782-7
- [71] Froelich CA, First EA. Dominant intermediate Charcot-Marie-Tooth disorder is not due to a catalytic defect in tyrosyl-tRNA synthetase. Biochemistry, 2011, 50: 7132-45
- [72] He W, Bai G, Zhou H, et al. CMT2D neuropathy is linked to the neomorphic binding activity of glycyl-tRNA synthetase. Nature, 2015, 526: 710-4
- [73] Kumanogoh A, Kikutani H. Immunological functions of the neuropilins and plexins as receptors for semaphorins. Nat Rev Immunol, 2013, 13: 802-14
- [74] Sleigh JN, Gomez-Martin A, Wei N, et al. Neuropilin 1 sequestration by neuropathogenic mutant glycyl-tRNA synthetase is permissive to vascular homeostasis. Sci Rep, 2017, 7: 9216
- [75] Sleigh JN, Dawes JM, West SJ, et al. Trk receptor signaling and sensory neuron fate are perturbed in human neuropathy caused by *GARS* mutations. Proc Natl Acad Sci USA, 2017, 114: E3324-33
- [76] Huang EJ, Reichardt LF. Trk receptors: roles in neuronal signal transduction. Annu Rev Biochem, 2003, 72: 609-42
- [77] Millecamps S, Julien JP. Axonal transport deficits and neurodegenerative diseases. Nat Rev Neurosci, 2013, 14: 161-76
- [78] Janke C, Bulinski JC. Post-translational regulation of the microtubule cytoskeleton: mechanisms and functions. Nat Rev Mol Cell Biol, 2011, 12: 773-86
- [79] Mo Z, Zhao X, Liu H, et al. Aberrant GlyRS-HDAC6 interaction linked to axonal transport deficits in Charcot-Marie-Tooth neuropathy. Nat Commun, 2018, 9: 1007
- [80] Wei N, Shi Y, Truong LN, et al. Oxidative stress diverts tRNA synthetase to nucleus for protection against DNA damage. Mol Cell, 2014, 56: 323-32
- [81] Fu G, Xu T, Shi Y, et al. tRNA-controlled nuclear import of a human tRNA synthetase. J Biol Chem, 2012, 287: 9330-4
- [82] Blocquel D, Li S, Wei N, et al. Alternative stable conformation capable of protein misinteraction links tRNA synthetase to peripheral neuropathy. Nucleic Acids Res, 2017, 45: 8091-104
- [83] Gotz A, Tyynismaa H, Euro L, et al. Exome sequencing identifies mitochondrial alanyl-tRNA synthetase mutations in infantile mitochondrial cardiomyopathy. Am J Hum Genet, 2011, 88: 635-42
- [84] Euro L, Konovalova S, Asin-Cayuela J, et al. Structural modeling of tissue-specific mitochondrial alanyl-tRNA synthetase (*AARS2*) defects predicts differential effects on aminoacylation. Front Genet, 2015, 6: 21
- [85] Grice SJ, Sleigh JN, Motley WW, et al. Dominant, toxic gain-of-function mutations in *GARS* lead to non-cell autonomous neuropathology. Hum Mol Genet, 2015, 24: 4397-406
- [86] Dogan SA, Pujol C, Maiti P, et al. Tissue-specific loss of *DARS2* activates stress responses independently of respiratory chain deficiency in the heart. Cell Metab, 2014, 19: 458-69
- [87] Adalbert R, Kaieda A, Antoniou C, et al. Novel HDAC6 inhibitors increase tubulin acetylation and rescue axonal transport of mitochondria in a model of Charcot-Marie-Tooth type 2F. ACS Chem Neurosci, 2020, 11: 258-67
- [88] Benoy V, Vanden-Berghe P, Jarpe M, et al. Development of improved HDAC6 inhibitors as pharmacological therapy for axonal Charcot-Marie-Tooth disease. Neurotherapeutics, 2017, 14: 417-28