文章编号:1004-0374(2008)04-0496-10

线粒体疾病与核基因 - 线粒体基因的表达调控

严庆丰1*,管敏鑫2

(1 浙江大学生命科学学院,浙江 310058; 2 美国辛辛那提儿童医学中心人类遗传学系,俄亥俄 45229,美国)

摘 要:线粒体与疾病是当前生物医学领域最前沿之一。本文简单介绍线粒体生物医学的基础知识、 线粒体疾病的遗传模式,综述了近年来在线粒体 DNA(mtDNA)突变和疾病、核基因突变和疾病等领域 的研究进展,着重阐明核基因(特别是核修饰基因)调控 mtDNA 突变致病表达的分子机制。

关键词:线粒体;线粒体疾病;核修饰基因;线粒体 DNA

中图分类号:Q343.3+5 ;Q731 文献标识码:A

Nuclear genes and mitochondrial genes associated with mitochondrial diseases

YAN Qing-feng 1*, GUAN Min-xin 2

(1 College of Life Science, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China; 2 Division and Program in Human Genetics, Cincinnati Children's Hospital Medical Center, Cincinnati, Ohio 45229, USA)

Abstract: The study of mitochondria and diseases is a very hot field in biomedicine. We introduce here the basic knowledge of mitochondrial medicine and the hereditary character of mitochondrial diseases. In this review we highlight the most recent advances in the field, including the correlation of mitochondrial DNA (mtDNA) mutations and diseases, nuclear gene mutations and diseases. In particular, the molecular mechanisms of regulation of nuclear modifier genes on the phenotypic expression of mtDNA mutations are discussed in detail. **Key words:** mitochondria; mitochondrial diseases; nuclear modifier genes; mitochondrial DNA (mtDNA)

线粒体与疾病是当前生物医学领域最前沿之一。线粒体普遍存在于真核细胞,是进行能量转化的主要细胞器,也是细胞凋亡调控和活性氧产生的重要部位。线粒体功能障碍特别是氧化磷酸化缺陷将导致一系列临床表现多样性疾病即线粒体疾病,保守估计该病发生率约为 1/6500^[1]。

1962年 Luft 等^[2]报道了因线粒体电子传递和ATP 合成之间偶联松散导致代谢亢进的病例,第一次将线粒体功能与人类疾病联系在一起。随后,在多种脑肌病综合征患者中发现呼吸链功能缺陷和/或线粒体形态畸变,线粒体在人类疾病中的作用得到进一步确定。1988年 Holt 等^[3]在自发性神经肌肉疾病患者中发现线粒体 DNA(mtDNA)大片段缺失。几乎同时,Wallace等^[4]报道 Leber 氏遗传性视神经病(Leber's hereditary optic neuropathy, LHON)患者存在

mtDNA G11778A 点突变,标志着人们对线粒体疾病的认识深入到分子水平,从此开启了线粒体与疾病研究的新纪元。截至2008年4月底已发现超过320种致病 mtDNA 点突变,数百种致病 mtDNA 重排突变(http://www.mitomap.org)。1995年 Bourgeron等^[5]报道了第一例因核基因编码的氧化磷酸化亚单位基因突变导致 Leigh 综合征(Leigh syndrom, LS)及复合物 缺陷病例。我国科学界在线粒体疾病研究方面也有比较悠久的历史,20 世纪 80 年代杨福愉等提

收稿日期:2008-07-01

基金项目:教育部新世纪优秀人才支持计划(NCET-06-0526);浙江省新世纪151人才工程(06-2-008);

浙江省科技计划项目(2008C23028) *通讯作者:E-mail:qfyan@zju.edu.cn 出"克山病是一种心肌线粒体病"的观点,并认为与营养不足(特别是缺乏微量元素硒)密切相关^[6]。中国科学院动物研究所、温州医学院和天津体育学院三家单位曾共同发起组织了"2005线粒体生物医学学术研讨会:线粒体与细胞的生存和死亡"和"国际线粒体生物医学学术会议暨中国线粒体-2006会议"等,2008版国家自然科学基金申请中更是赋予了"线粒体与疾病"独立的学科代码(C060503)。线粒体与疾病研究在我国越来越受到广泛重视,正成为世界上有特色和影响力的学科领域。

本文将首先介绍线粒体生物医学的基础知识,然后综述 mtDNA 突变和疾病、核基因突变和疾病,以及核基因(特别是核修饰基因)调控mtDNA 突变致病表达分子机制等研究进展。

1 线粒体生物医学基础

1.1 核基因 - 线粒体基因共同调控线粒体功能 线粒体是一种半自主性细胞器,其生物合成和功能调控受核基因组和线粒体基因组两套遗传系统共同作用。通常人体细胞中含有 10³ - 10⁴ 个线粒体,每个线粒体携带多拷贝环状 DNA,mtDNA 由 16 569bp核苷酸组成,编码13种重要的氧化磷酸化(OXPHOS)酶复合体亚单位、22种tRNA和2种rRNA^[7]。线粒体中还含有 RNA (mRNA、tRNA、rRNA)、核糖体、氨基酸活化酶等自我繁殖所必需的基本组分;而线粒体蛋白质翻译又具有自身特点(如使用

非通用密码子和类似于原核细胞的 70S 核糖体等),表明线粒体具有独特的转录和翻译功能。另一方面,组成线粒体的蛋白质超过1000多种,除OXPHOS复合体受 mtDNA 和核基因双重编码外,其他蛋白质(如聚合酶、装配因子、装运蛋白、代谢酶等)均由核基因编码,在细胞质核糖体合成,然后转运到线粒体内。可见,细胞核与线粒体之间存在密切的、精确的、严格调控的生物学机制[8](图 1)。

1.2 线粒体疾病的遗传模式 线粒体疾病存在多种 遗传模式^[9]。许多核基因编码的 OXHPOS 结构蛋白 与线粒体功能密切相关,调节蛋白与 mtDNA 存在 相互作用,所有这些基因的突变可能导致 mtDNA 继 发性突变、mtDNA 缺失或 mtDNA 拷贝数减少,其 遗传模式遵循孟德尔遗传规律,表现为常染色隐性、常染色体显性或 X- 连锁遗传。另一方面,受精过程中,精子线粒体会被卵子中泛素水解酶特异性识别而降解^[10],因此受精卵及其发育的个体,其 mtDNA 仅仅来源于卵子,由原发性 mtDNA 突变导致的线粒体疾病呈现典型的母系遗传特征,也是线粒体疾病诊断的重要依据。而那些后天的、因体细胞 mtDNA 突变引起的病例多呈散发状态。

核基因突变产生纯合子(homozyote,等位基因 双双发生突变,突变含量为100%)或杂合子 (heterozygote,等位基因之一发生突变,突变含量 为50%)两种状况。线粒体基因突变则可产生突变

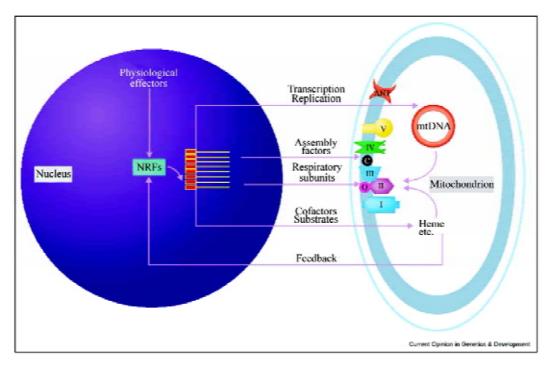


图1 核基因-线粒体基因共同调控线粒体功能图

含量介于 0 - 1之间的众多 mtDNA 突变体,只有当 突变含量超过一定范围即阈值(Threshold)时,野生型 mtDNA的数量不足以维持呼吸链的正常功能,组 织或器官异常出现临床表型。人体不同组织器官对 mtDNA 突变的易感性不同,能量需求高的部位(如骨骼肌、脑、心、肾和内分泌腺等)易受突变影响,即阈值低;而能量需求低的部位(如肺、皮肤和韧带等)对突变不敏感,即阈值高。

大部分核基因编码蛋白突变引起的线粒体疾病病情严重,而且多在婴儿期发病。相反,mtDNA 突变导致的疾病病情相对较轻,发病较晚,但也有些 mtDNA 相关的严重的早发病例报道。虽然有研究认为核 DNA 突变在儿童期疾病占优势,mtDNA 突变在成人期疾病中占优势,但是临床实践表明两个基因组在任何年龄段的线粒体病患者的发病中都同样重要。常见线粒体疾病的临床表型包括眼睑下垂、外眼肌麻痹、近端肌病、运动不耐受、心肌病、感觉神经性耳聋、视神经萎缩、色素性视网膜病、糖尿病、痉挛或惊厥、痴呆、偏头痛、类卒中样发作、舞蹈症和痴呆等多种症状。事实上,除少数线粒体疾病仅影响单一器官外,绝大多数可影响多器官系统。

2 线粒体基因突变与疾病

线粒体基因排列紧凑、没有内含子且部分区域存在重叠,任何位点突变都可能累及到基因组中的重要功能区域。另一方面,mt DNA 缺乏有效的 DNA 损伤修复系统及组蛋白的保护,加之 mt DNA 位于线粒体的内膜,很容易受活性氧攻击而发生突变,其突变频率约为核基因的 10 - 20 倍,mt DNA 对突变的固定也比核基因快 10 - 17 倍。此外体细胞 mt DNA 新生突变会随着年龄的上升而逐渐积累。

线粒体基因突变分为点突变和重排(包括缺失和重复)两大类。目前已报道的 mtDNA 点突变将近330种,涉及 mtDNA 编码的各个基因,其中结构基因突变 177种、tRNA 基因突变 137种、rRNA 基因突变 12种、D-Loop 区突变 2种、重排突变逾数百种(http://www.mitomap.org)。

目前大量的研究工作集中在mtDNA突变与线粒体疾病临床表型的相互关系上。其中与点突变相关的人类遗传性疾病主要有:LHON、线粒体脑肌病合并乳酸血征及卒中发作综合征(mitochondrial encephamyopathy, lactic nacidosis, and stroke-like symptom, MELAS)、肌阵挛癫痫和破碎红纤维病

(myoclonic epilepsy and ragged-red fiber disease, MERRF)、母系遗传糖尿病伴耳聋综合征(maternally inherited diabetes and deafness, MIDD)、氨基糖苷类抗菌素诱导的非综合征耳聋(aminoglycose-induced non-syndromic deafness, DEAF)、神经性肌无力共济失调色素性视网膜炎(neurogenic muscle weakness, ataxia, and retinitis pigmentosa, NARP)、慢性进行性眼外肌麻痹(chronic progressive external ophthalmoplegia, CPEO)、Leigh 氏综合征也称为亚急性坏死性脑病(Leigh syndrome, LS)、母系遗传肥大心肌症(maternally inherited hypertrophic cardiomyopathy, MHCM)、线粒体肌病(mitochondrial myopathy, MM)等。此外,mtDNA 点突变还与一些代谢疾病(如原发性高血压、糖尿病、高胆固醇血症等)和神经进行性疾病(如帕金森氏症、阿尔茨海默氏症等)的易感性相关[111](图 2)。

然而 mtDNA 突变与临床表型之间关系复杂,主要表现为同一种mtDNA突变可以引发多种不同的疾病表型,而同一种疾病表型又可以由多种不同的mtDNA 突变诱导。

大量研究报道携带tRNA^{Leu(UUR)}的mtDNA A3243G 突变既能出现在 MELAS 患者中, 也能出现在 CPEO、 MIDD、MM 等患者中;而许多 MELAS 患者的 mtDNA除能检测到最常见的tRNA^{Leu(UUR)} A3243G 突 变外,还可能检测到其他20多种突变位点,分别 位于编码 ND1、COX3、ND4、ND5 等 OXPHOS 亚基和编码tRNAs的线粒体基因上。与LHON相关 的 mtDNA 突变位点更是高达 60 余种, 这些突变均 位于结构基因上,其中有三个点被认为与发病最相 关,分别是编码 ND4的 G11778A 突变约占 LHON 患者的 69%, 在男性患者中的外显率高达 82%;编 码 ND1 的 G3460A 突变约占患者的 13%, 编码 ND6 的T14484C 突变约占患者的14%,其他数十种突变 的发生频率很低,甚至只有零星的单个家系或单个 病例报道。mtDNA 编码的 12S rRNA 基因是一个与 DEAF相关的突变位点比较集中的区域,其中A1555G 突变与许多来自不同遗传背景家系中 DEAF 有关, C1494T 突变与我国东北的一个 DEAF 有关, 961 位 插入突变、T961G 突变、T1095C 突变等也与听力 损伤有关[12,13]。

3 核基因突变与疾病

与线粒体疾病相关的核基因突变主要包括四大 类:(1)编码OXPHOS 复合物的结构亚单位;(2)编码OXPHOS 复合物的装配因子;(3)维持 mtDNA 结

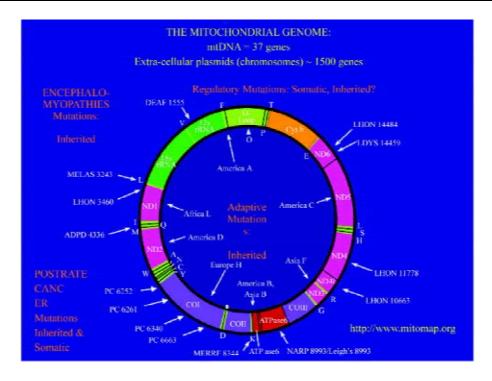


图2 线粒体基因突变与疾病[11]

构稳定性的因子;(4)参与线粒体生物合成的因子(如线粒体完整性、线粒体代谢、离子平衡、线粒体蛋白质输入相关因子、线粒体内蛋白质合成等)。目前已鉴定的核基因突变约 40 种(表 1)[14-62]。

3.1 编码线粒体结构蛋白的核基因突变与疾病 进 行性外眼肌麻痹(progressive external ophthalmoplegia, PEO), 临床上以进行性肌无力导致双侧眼睑下垂为 主要特征,发病年龄在20-40岁。其他征状包括共 济失调、感觉神经耳聋、白内障、帕金森氏症、 精神失常等,甚至出现吞咽困难、发声困难等; 生化检测显示呼吸链酶活性降低,骨骼肌呈 RRFs, 血浆中有高浓度乳酸盐。常染色体显性PEO 家族(adPEO)大多携带 ANT1[63]、Twinkle[43]或 POLG1^[40]基因杂合突变。ANT1 编码肌肉、心脏特 异性线粒体腺嘌呤核苷易位子, 2005年 Palmieri 首 次报道在肥大心肌病伴运动不耐受、破损红纤维和 乳酸性酸中毒患者中发现 ANT1 隐性突变 , 而 adPEO 患者中 ANT1 突变者占 7%。 Twinkle 编码 mtDNA螺旋酶, Twinkle 为同源六聚体与 mtDNA结 合。Twinkle 显性突变导致 adPEO,有些患者进一 步发展成 L- 多巴敏感性帕金森氏症; Twinkle 隐性 突变导致婴儿脊椎小脑共济失调(IOSCA),发病年 龄为 1-2 岁。POLG1 位于染色体 15q25,编码特异 性的 mtDNA 聚合酶γ催化亚基; POLG2 位于染色 体 17q,编码 2 个完全相同的附属亚基;三者共同组成一个 195K 的异源三聚体,催化 mtDNA 复制。POLG1 突变是 PEO 发生的主要原因,adPEO 患者中约有 50% 是由该基因突变引起的。目前已鉴定出POLG1 蛋白隔离区存在 A467T和 S748W 两个突变。小鼠 Pol-gA 包括一个 N- 端核酸外切酶区域(具校正功能)和一个聚合酶区域(具有初起 mtDNA 链模板指导合成功能),携带 POLG 校正缺陷的小鼠会积累mtDNA 突变,导致早衰^[8]。

线粒体神经肠胃脑肌病(mitochondrial neurogastrointestinal encephalo- myopathy, MNGIE), 临床上以胃麻痹、经常性腹泻、肠假阻为主要特征,严重影响肠胃运动,导致体质恶化,甚至死亡,多发于青年人。生化检测显示细胞色素 C 氧化酶缺陷,偶尔有 RRFs 出现。肌肉中常可发现多种 mtDNA 缺失及衰竭,还可出现胸腺嘧啶磷酸化酶(核编码)的常染色体隐性遗传的突变。1999 年 Nishino 等[41]报道 MNGIE 相关基因编码胸腺嘧啶核苷磷酸酶(TP),分解嘧啶,通过促胸腺嘧啶核苷脱磷酸成为胸腺嘧啶和脱氧核糖。TP 缺陷导致胸腺嘧啶核苷和脱氧尿嘧啶系统性积累,使得脱氧核苷库不平衡,mtDNA 不稳定,导致肌肉 mtDNA 缺失。

Leigh 氏综合征,也称为亚急性坏死性脑病,表现为脑神经异常、呼吸功能障碍及伴有基底神经

表 1 核基因与线粒体疾病

	表			
基因	染色体定位	临床表型	遗传模式*	参考文献
呼吸链亚单位				
NDUFS1 (复合物 I)	2q33 - q34	Leigh 氏综合征	AR	14
NDUFS2 (复合物 I)	1q23	脑病、心肌病	AR	15
NDUFS3 (复合物 I)	11p11.11	Leigh 氏综合征	AR	16
NDUFS4 (复合物 I)	5q11.1	Leigh 氏综合征	AR	17
NDUFS7 (复合物 I)	19p13.3	Leigh 氏综合征	AR	18
NDUFS8 (复合物 I)	11q13	Leigh 氏综合征	AR	19, 20
NDUFV1 (复合物 I)	11q13	Leigh 氏综合征	AR	18
NDUFV2 (复合物 I)	18p11	心肌病、肌肉张力减退、脑病	AR	21
SDH-A (复合物)	5p15	Leigh 氏综合征	AR	5
SDH-B (复合物)	1p36.1 - p35	嗜铬细胞瘤和副神经节细胞瘤	AD	22
SDH-C (复合物)	1q21	副神经节细胞瘤类型3	AD	23
SDH-D (复合物)	11q23	副神经节细胞瘤类型1、嗜铬细胞瘤	AD	24
UQCRB (复合物)	8q22	低血糖征、乳酸中毒	AR	25
装配因子	0 4 22		MX	
B17.2L (复合物 I)	5q12.1	早发性脑病	AR	26
BCS1L (复合物 III)	2q33	脑病、肝功能衰竭和肾小管病、Leigh	AR	27, 28
		氏综合征、GRACILE 综合征		
SURF1 (复合物)	9q34	Leigh 氏综合征	AR	29, 30
SCO1 (复合物)	17p13 - p12	新生儿肝功能衰竭和脑病	AR	31
SCO2 (复合物)	22q13	新生儿心脑肌病	AR	32
COX10 (复合物)	17p12 - p11.2	新生儿肾小管病和脑病、	AR	33
		Leigh 氏综合征、心肌病		
COX15 (复合物)	10q24	早发肥厚性心肌病、Leigh 氏综合征	AR	34, 35
LRPPRC (复合物)	2p21 - p16	法国 - 加拿大 Leigh 氏综合征	AR	36
ATPAF2 (复合物 V)	17p11.2	早发性脑病、乳酸中毒	AR	37
mtDNA 稳定	17 P 11.2			σ,
POLG	15q25	阿尔珀斯氏综合征、adPEOA1 和	AD/ AR	38-40
TOLG	13423	arPEO、男性不育、SANDO 氏综合	TID/ TIK	30-40
		征、SCAE		
ANIT 1	4.25		A.D.	4.1
ANT1	4q35	adPEOA2、多重 mtDNA 缺失	AD	41
C10ORF2	10q24	adPEOA3、SANDO 氏综合征	AD	42, 43
ECGF1	22q13.32 - qter	线粒体神经胃肠脑肌病	AR	41
DGUOK	2p13	肝脑 mtDNA 缺失综合征	AR	44
TK2	16q22	肌病 mtDNA 缺失	AR	45
线粒体蛋白质输入				
DDP	Xq22	耳聋相关肌张力障碍或 Mohr-	X-linked	46
		Tranebjaerg 综合征		
线粒体蛋白质合成				
EFG1	3q25	恶性肝脑病和乳酸中毒	AR	47
离子平衡	•			
FRDA	9q13	Friedreich 共济失调、神经病变、	AR	48, 49
	. 1	心肌病、糖尿病		10, 12
ABC7	Xq13.1 - q13.3	铁粒幼红细胞性贫血症伴共济失调	X-linked	50
SPG7	16q24.3	痉挛性截瘫	AR	51
5107 线粒体完整性	10427.3	1.T (T. E. M.)		J1
3位本元聖日 OPA1	3q28 - q29	视神经萎缩	AD	52, 53
MFN2	1p36.2	Charcot-Maria-Tooth disease-2A2	AD	54, 55
C45 (ofoggin)	V~20	(CMT2A2)	V limber J	56 57
G4.5 (afazzin)	Xq28	Barth 综合征、心肌病	X-linked	56, 57
RMRP	9p21 - p12	干骺软骨发育异常或软骨毛发发育不全	AR	58, 59
线粒体代谢		· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·		
PDHA1	Xp22.2 - p22.1	_	X-linked	60
ETHE1	19q13	脑病、乙基丙二酸尿征	AR	61, 62

^{*}AD:常染色体显性遗传;AR:常染色体隐性遗传;X-linked:X-连锁遗传

节、小脑或脑干的高强度信号的共济失调。和其他 线粒体病相似,LS 通常并非进行性或致死性疾病, 在感染时才会出现恶化。其遗传具有典型的多样 性,两种基因组都出现突变。常见病因有线粒体上 的T8993G/C突变(通常达到95%以上),以及核DNA 上的某些基因缺陷,包括复合体 I(NDUFV1 突变) [18]、复合体 IV(如 SURF1 突变)[29,30]及 PDHC[61]等 3.2 线粒体蛋白质翻译相关的核基因突变与疾病 图 3 示核基因和 mtDNA 共同参与线粒体蛋白质翻 译[64]。核基因编码蛋白包括线粒体核糖体蛋白(29 个小亚基蛋白和48个大亚基蛋白),tRNA成熟酶(如 亚尿苷合成酶), 氨基酰 tRNA 合成酶, 翻译起始 因子、延伸因子、终止因子和大量核糖体装配因子 等。目前已被克隆并测序鉴定的包括2种起始因子 IF2、IF3,4种延伸因子EFTU、EFTS、ETG1 和 EFG2,和1种释放因子 RF1。和原核翻译系统 一样, 当存在 mRNA 模板和 GTP 时, IF2 促甲酰 甲硫氨酸 tRNA(fMet-tRNA)与核糖体小亚基结合; 而 IF3 促核糖体大小亚基解离,以形成游离小亚基 用于翻译起始。EFTu与GTP、氨基酰-tRNA结合 形成三元复合物,运送氨基酰-tRNA到核糖体A位 点。EFTs 催化 GTP 替代 GDP, 重新形成 EFTu-GTP。EFG1 则具有 GTPase 活性,当肽键形成后,催化肽酰 tRNA 易位到核糖体 P 位点,并暴露出mRNA 的下一个密码子。RF1 识别终止密码子,促使合成完成的肽链释放。

2004年 Miller 等[65]首次报道核基因编码的线粒 体核糖体蛋白亚单位 16(MRPS16)纯合突变,导致 先天畸形伴张力衰竭、四肢水肿、肝转氨酶活性升 高并乳酸亚基中毒症,该女婴在出生后3天死亡。 Bykhovskaya 等[66]报道在一个波斯 - 犹太人 MLASA 家系中发现假尿苷合成酶 PUS1 错义突变,导致 MLASA 综合征伴肌病、乳酸性酸中毒和成高铁红 细胞贫血症, Fernandez-Vizarra 等[67]则在患 MLASA 综合征的意大利系中发现 PUS1 纯合终止突变,这 是因为 PUS1 可以同时催化核基因和 mtDNA 编码的 tRNA 尿嘧啶核苷位点发生假尿苷修饰,对维持 tRNA 稳定和功能有重要作用。Coenen 等[47]发现 EFG1 突变导致严重的乳酸性酸中毒, 肝衰竭、纤 维原细胞线粒体蛋白质合成降低。Valente 等[68]则报 道,在LS患者中发现EFG1基因的错义和无义突 变。目前认为核基因编码的线粒体蛋白突变导致组

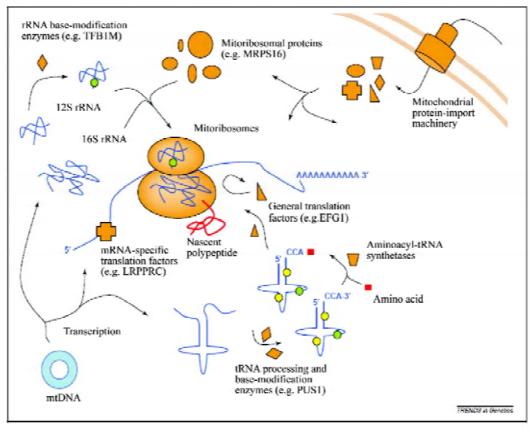


图3 线粒体蛋白质翻译相关组分[64]

织特异性疾病发生,可能是由于:不同组织中,蛋白质不同区域的特定突变对线粒体翻译的影响不同;或该蛋白存在异构体,分别在不同组织或不同生理条件下执行同一功能;或由于患者的适应机制不同,如编码线粒体翻译延伸因子 EFTs 的核基因TSFM 纯合突变,可能导致婴儿患上两种完全不同的疾病,脑肌病和肥大性心肌病。

4 核修饰基因调控 mtDNA 突变致病表达的分子机制 核修饰基因是指其编码的蛋白质本身并不诱导 任何病变,但是可以抑制或增强 mtDNA 突变的致 病性,也可能是定位于线粒体的一种组织特异性蛋 白质的功能多态性,对mtDNA 突变引起的致病表 达有重要调控作用。1993年 Fischel-Ghodsian 等首 次报道一个母系遗传的 Arab-Israeli 非综合征耳聋家 系携带 mtDNA 编码 12S rRNA A1555G 突变,但是 母系成员的临床表型有很大差异[69]。事实上,早在 1991年卜行宽等就曾报道了一个母系遗传性耳聋的 中国大家系,后证实该家系就携带 A1555G 突变[70]。 氨基糖苷类抗生素与 mtDNA 编码的 12S rRNA A1555G 或C1494T突变位点具有很强的亲和力,阻 碍了氨基酰 tRNA 的正常结合,抑制线粒体蛋白质 合成,暨呼吸链障碍,ATP产量下降。同时,这 些氧化磷酸化的缺陷导致大量活性氧(ROS)产生, 损害线粒体和细胞内的蛋白质、脂类和核酸,造成 线粒体膜通透性增加,启动细胞凋亡途径。Guan 等四研究发现, Arab-Israeli 家系成员淋巴细胞系的 线粒体功能障碍程度与其来源个体是否有耳聋表型 相关,而核背景一致的胞质杂合细胞系(将淋巴细 胞系线粒体导入到 ρ0 细胞)的线粒体功能仅与导入 的 mtDNA是否携带 A1555G 突变相关,表明核基因背景调控 A1555G 突变的表型表达。Bykhovskaya 等[^{72]} 曾通过连锁分析和非参数分析方法把具有核修饰可能的区段定位于常染色体 D8S277 周围,但是没能鉴定出明确的候选基因。

核修饰基因 TRMU/MTO2 是 E. coli trmU 的同 源基因,编码5-甲基-氨甲基-2-硫甲基转移相关 酶。在 E. coli 中, trmU 催化 tRNA 反密码子摇摆 碱基 U34 进行 2- 硫化修饰,参与合成 5- 甲基-氨 甲基 -2- 硫脲嘧啶(mnm5s2 U34), 增强 tRNA 结构 稳定性,提高密码子-反密码子间的识别效率。Yan 等[73-75]率先克隆鉴定了人、小鼠和酵母的核修饰基 因 TRMU/MTO2,其中人 TRMU 基因定位于染色体 22q13 区域,由11个外显子和10个内含子组成, 开放阅读框全长 1266 bp, 编码 421 个氨基酸,蛋白 质相对分子质量约47K。进一步研究表明TRMU/ MTO2 编码进化上高度保守的线粒体功能蛋白,该 基因在心脏、肾脏、骨骼肌等新陈代谢旺盛的组织 有更高的表达活性,暨具有组织特异性。Umeda 等[76]利用siRNA干扰技术降低HeLa细胞TRMU表达 活性,发现线粒体膜通透性障碍,细胞耗氧率降 低。2006年Guan等[77]首次报道核修饰基因 TRMU G28T 纯合突变,研究发现,该纯合突变与 mtDNAA1555G 突变同时存在时,一定导致非综合征耳聋 发生,从而第一次把核修饰基因与线粒体疾病直接 联系在一起, TRMU 也成为第一个鉴定了生化功能 和遗传学功能的核修饰基因。研究结果初步揭示了 核修饰基因 TRMU/MTO2 G28T 致病的分子机制, 即 TRMU G28T 突变首先造成线粒体 tRNA Lys、

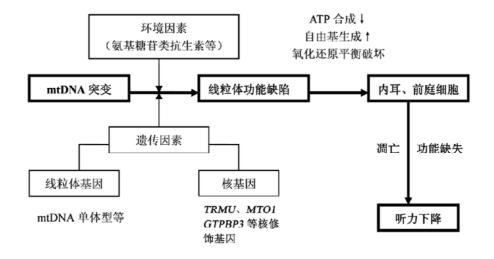


图4 线粒体DNA突变致聋的可能致病机制

tRNA^{Glu}和tRNA^{Glu}等反密码子摇摆碱基U34硫化修饰水平降低,使得线粒体 tRNA 结构稳定性下降,密码子和反密码子识别削弱,从而影响线粒体蛋白质合成,造成线粒体功能障碍。Colby等^[78]研究发现,当酵母 mtDNA 编码的 15S rRNA 存在 C1409G突变(类似于人 12S rRNA A1555G),即巴龙霉素抗性突变(P^R454/par^R)时,核修饰基因 MTO1 或 MSS1 突变株显示呼吸缺陷表型。Yan 等构建了核修饰基因 TRMU/MTO2 和/或线粒体 DNA P^R454 突变的系列酵母菌株,通过转化人 TRMU 基因可以功能互补酵母 MTO2 基因缺陷。Liu等^[79]通过腺伴随病毒介导转化抗凋亡基因 Bcl-xL,显著抑制小鼠 DEAF 发生。

Guan等提出了核修饰基因调控mtDNA突变致聋假说(图 4),认为 mtDNA A1555G 或 C1494T 突变造成线粒体核糖体小亚基构像变化是导致听力损失的主要原因,但不足以产生临床表型,需要其他修饰因子(包括氨基糖苷类抗生素、mtDNA 单体型、核修饰基因)等共同参与,导致线粒体功能障碍,耳蜗和前庭细胞功能丧失或细胞凋亡,最终听力损失。

5 结束语

综上所述,线粒体功能缺陷是引起神经肌肉疾病、心血管病、糖尿病、帕金森氏症和肿瘤等多种疾病的重要原因,有关核基因和/或线粒体基因突变与线粒体疾病临床表型的相互关系研究已取得长足进展,从分子水平阐明核基因-线粒体基因突变的致病机制将是未来研究的重点。

[参考文献]

- [1] Schaefer AM, Taylor RW, Turnbull DM, et al. The epidemiology of mitochondrial disorders-past, present and future. Biochim Biophys Acta, 2004, 1659(2-3):115-20
- [2] Luft R, Ikkos D, Palmieri G, et al. A case of severe hypermetabolism of nonthyroid origin with a defect in the maintenance of mitochondrial respiratory control: a correlated clinical, biochemical, and morphological study. J Clin Invest, 1962, 41(9):1776-804
- [3] Holt IJ, Harding AE, Morgan-Hughes JA. Deletions of muscle mitochondrial DNA in patients with mitochondrial myopathies. Nature, 1988, 331: 717-9
- [4] Wallace DC, Singh G, Lott MT, et al. Mitochondrial DNA mutation associated with Leber's hereditary optic neuropathy. Science, 1988, 242:1427-30
- [5] Bourgeron T, Rustin P, Chretien D, et al. Mutation of a nuclear succinate dehydrogenase gene results in mitochondrial respiratory chain deficiency. Nat Genet, 1995, 11(2): 144-9
- [6] 黄有国、林其谁. 中国膜生物学的开拓者 杨福愉院士-- 庆贺杨福愉院士八十华诞. 生物物理学报, 2007,

- 23(5): 330-2
- [7] Anderson S, Bankier AT, Barrell BG, et al. Sequence and organization of the human mitochondrial genome. Nature, 1981, 290(5806): 457-65
- [8] Zeviani M, Spinazzola A, Carelli V. Nuclear genes in mitochondrial disorders. Curr Opin Genet Dev, 2003, 13(3):262-70
- [9] 陈 刚, 杜卫东, 曹慧敏, 等.线粒体 DNA 突变与相关人类疾病. 遗传, 2007, 29(11): 1299-308
- [10] Sutovsky P, Moreno RD, Ramalho-Santos J, et al. Ubiquitin tag for sperm mitochondria. Nature, 1999, 402(6760):371-2
- [11] Wallace DC. The mitochondrial genome in human adaptive radiation and disease: On the road to therapeutics and performance enhancement. Gene, 2005, 354:169-80
- [12] Guan MX. Molecular pathogenetic mechanism of maternally inherited deafness. Ann N Y Acad Sci, 2004, 1011:259-71
- [13] Zhao H, Li R, Wang Q, et al. Maternally inherited aminoglycoside-induced and nonsyndromic deafness is associated with the novel C1494T mutation in the mitochondrial 12S rRNA gene in a large Chinese family. Am J Hum Genet, 2004, 74:139-52
- [14] Benit P, Chretien D, Kadhom N, et al. Large-scale deletion and point mutations of the nuclear NDUFV1 and NDUFS1 genes in mitochondrial complex I deficiency. Am J Hum Genet, 2001, 68(6):1344-52
- [15] Loeffen J, Elpeleg O, Smeitink J, et al. Mutations in the complex I NDUFS2 gene of patients with cardiomyopathy and encephalomyopathy. Ann Neurol, 2001, 49(2):195-201
- [16] Benit P, Slama A, Cartault F, et al. Mutant NDUFS3 subunit of mitochondrial complex I causes Leigh syndrome. J Med Genet, 2004, 41(1):14-7
- [17] van den Heuvel L, Ruitenbeek W, Smeets R, et al. Demonstration of a new pathogenic mutation in human complex I deficiency: a 5-bp duplication in the nuclear gene encoding the 18-kD (AQDQ) subunit. Am J Hum Genet, 1998, 62(2): 262-8
- [18] Smeitink J, van den Heuvel L. Human mitochondrial complex I in health and disease. Am J Hum Genet, 1999, 64(6): 1505-10
- [19] Loeffen J, Smeitink J, Triepels R, et al. The first nuclearencoded complex I mutation in a patient with Leigh syndrome. Am J Hum Genet, 1998, 63(6):1598-608
- [20] Procaccio V, Wallace DC. Late-onset Leigh syndrome in a patient with mitochondrial complex I NDUFS8 mutations. Neurology, 2004, 62(10):1899-901
- [21] Benit P, Beugnot R, Chretien D, et al. Mutant NDUFV2 subunit of mitochondrial complex I causes early onset hypertrophic cardiomyopathy and encephalopathy. Hum Mutat, 2003, 21(6):582-6
- [22] Astuti D, Latif F, Dallol A, et al. Gene mutations in the succinate dehydrogenase subunit SDHB cause susceptibility to familial pheochromocytoma and to familial paraganglioma. Am J Hum Genet, 2001, 69(1):49-54
- [23] Niemann S, Muller U. Mutations in SDHC cause autosomal dominant paraganglioma, type 3. Nat Genet, 2000, 26(3): 268-70

- [24] Baysal BE, Ferrell RE, Willett-Brozick JE, et al. Mutations in SDHD, a mitochondrial complex II gene, in hereditary paraganglioma. Science, 2000, 287(5454):848-51
- [25] Haut S, Brivet M, Touati G, et al. A deletion in the human QP-C gene causes a complex III deficiency resulting in hypoglycaemia and lactic acidosis. Hum Genet, 2003, 113(2): 118-22
- [26] Ogilvie I, Kennaway NG, Shoubridge EA. A molecular chaperone for mitochondrial complex I assembly is mutated in a progressive encephalopathy. J Clin Invest, 2005, 115(10): 2784-92
- [27] de Lonlay P, Valnot I, Barrientos A, et al. A mutant mitochondrial respiratory chain assembly protein causes complex III deficiency in patients with tubulopathy, encephalopathy and liver failure. Nat Genet, 2001, 29(1): 57-60
- [28] Visapaa I, Fellman V, Vesa J, et al. GRACILE syndrome, a lethal metabolic disorder with iron overload, is caused by a point mutation in BCS1L. Am J Hum Genet, 2002, 71(4): 863-76
- [29] Tiranti V, Hoertnagel K, Carrozzo R, et al. Mutations of SURF-1 in Leigh disease associated with cytochrome c oxidase deficiency. Am J Hum Genet, 1998, 63(6):1609-21
- [30] Zhu Z, Yao J, Johns T, et al. SURF1, encoding a factor involved in the biogenesis of cytochrome c oxidase, is mutated in Leigh syndrome. Nat Genet, 1998, 20(4):337-43
- [31] Valnot I, Osmond S, Gigarel N, et al. Mutations of the SCO1 gene in mitochondrial cytochrome c oxidase deficiency with neonatal-onset hepatic failure and encephalopathy. Am J Hum Genet, 2000, 67(5):1104-9
- [32] Papadopoulou LC, Sue CM, Davidson MM, et al. Fatal infantile cardioencephalomyopathy with COX deficiency and mutations in SCO2, a COX assembly gene. Nat Genet, 1999, 23(3):333-7
- [33] Antonicka H, Leary SC, Guercin GH, et al. Mutations in COX10 result in a defect in mitochondrial heme A biosynthesis and account for multiple, early-onset clinical phenotypes associated with isolated COX deficiency. Hum Mol Genet, 2003, 12(20):2693-702
- [34] Antonicka H, Mattman A, Carlson CG, et al. Mutations in COX15 produce a defect in the mitochondrial heme biosynthetic pathway, causing early-onset fatal hypertrophic cardiomyopathy. Am J Hum Genet, 2003, 72(1): 101-14
- [35] Oquendo CE, Antonicka H, Shoubridge EA, et al. Functional and genetic studies demonstrate that mutation in the COX15 gene can cause Leigh syndrome. J Med Genet, 2004, 41(7):540-4
- [36] Mootha VK, Lepage P, Miller K, et al. Identification of a gene causing human cytochrome c oxidase deficiency by integrative genomics. Proc Nat Acad Sci USA, 2003, 100(2): 605-10
- [37] De Meirleir L, Seneca S, Lissens W, et al. Respiratory chain complex V deficiency due to a mutation in the assembly gene ATP12. J Med Genet, 2004, 41(2):120-4
- [38] Naviaux RK, Nguyen KV. POLG mutations associated with Alpers' syndrome and mitochondrial DNA depletion. Ann Neurol, 2004, 55(5):706-12
- [39] Rovio AT, Marchington DR, Donat S, et al. Mutations at

- the mitochondrial DNA polymerase (POLG) locus associated with male infertility. Nat Genet, 2001, 29(3):261-2
- [40] Van Goethem G, Dermaut B, Lofgren A, et al. Mutation of POLG is associated with progressive external ophthalmoplegia characterized by mtDNA deletions. Nat Genet, 2001, 28 (3):211-2
- [41] Nishino I, Spinazzola A, Hirano M. Thymidine phosphorylase gene mutations' in MNGIE, a human mitochondrial disorder. Science, 1999, 283(5402):689-92
- [42] Hudson G, Deschauer M, Busse K, et al. Sensory ataxic neuropathy due to a novel C10Orf2 mutation with probable germline mosaicism. Neurology, 2005, 64(2): 371-3
- [43] Spelbrink JN, Li FY, Tiranti V, et al. Human mitochondrial DNA deletions associated with mutations in the gene encoding Twinkle, a phage T7 gene 4- like protein localized in mitochondria. Nat Genet, 2001, 28(3):223-31
- [44] Mandel H, Szargel R, Labay V, et al. The deoxyguanosine kinase gene is mutated in individuals with depleted hepatocerebral mitochondrial DNA. Nat Genet, 2001, 29(3): 337-41
- [45] Saada A, Shaag A, Mandel H, et al. Mutant mitochondrial thymidine kinase in mitochondrial DNA depletion myopathy. Nat Genet, 2001, 29(3):342-4
- [46] Jin H, May M, Tranebjaerg L, et al. A novel X-linked gene, DDP, shows mutations in families with deafness (DFN-1), dystonia, mental deficiency and blindness. Nat Genet, 1996, 14(2):177-80
- [47] Coenen MJ, Antonicka H, Ugalde C, et al. Mutant mitochondrial elongation factor G1 and combined oxidative phosphorylation deficiency. N Engl J Med, 2004, 351(20): 2080-6
- [48] Campuzano V, Montermini L, Molto MD, et al. Friedreich's ataxia: autosomal recessive disease caused by an intronic GAA triplet repeat expansion. Science, 1996, 271(5254): 1423-7
- [49] Rotig A, de Lonlay P, Chretien D, et al. Aconitase and mitochondrial iron-sulphur protein deficiency in Friedreich ataxia. Nat Genet, 1997, 17(2):215-7
- [50] Allikmets R, Raskind WH, Hutchinson A, et al. Mutation of a putative mitochondrial iron transporter gene (ABC7) in X-linked sideroblastic anemia and ataxia (XLSA/A). Hum Mol Genet, 1999, 8(5):743-9
- [51] Casari G, De Fusco M, Ciarmatori S, et al. Spastic paraplegia and OXPHOS impairment caused by mutations in paraplegin, a nuclear-encoded mitochondrial metalloprotease. Cell, 1998, 93(6): 973-83
- [52] Alexander C, Votruba M, Pesch UEA, et al. OPA1, encoding a dynamin-related GTPase, is mutated in autosomal dominant optic atrophy linked to chromosome 3q28. Nat Genet, 2000, 26(2):211-5
- [53] Delettre C, Lenaers G, Griffoin JM, et al. Nuclear gene OPA1, encoding a mitochondrial dynamin-related protein, is mutated in dominant optic atrophy. Nat Genet, 2000, 26(2):207-10
- [54] Kijima K, Numakura C, Izumino H, et al. Mitochondrial GTPase mitofusin 2 mutation in Charcot-Marie-Tooth neuropathy type 2A. Hum Genet, 2005, 116(1-2):23-7
- [55] Zuchner S, Mersiyanova IV, Muglia M, et al. Mutations in

- the mitochondrial GTPase mitofusin 2 cause Charcot-Marie-Tooth neuropathy type 2A. Nat Genet, 2004, 36(5):449-51
- [56] Bione S, D'Adamo P, Maestrini E, et al. A novel X-linked gene, G4.5. is responsible for Barth syndrome. Nat Genet, 1996, 12(4):385-9
- [57] D'Adamo P, Fassone L, Gedeon A, et al. The X-linked gene G4.5 is responsible for different infantile dilated cardiomyopathies. Am J Hum Genet, 1997, 61(4): 862-7
- [58] Ridanpaa M, Sistonen P, Rockas S, et al. Worldwide mutation spectrum in cartilage-hair hypoplasia: ancient founder origin of the major70A-->G mutation of the untranslated RMRP. Eur J Hum Genet, 2002, 10(7): 439-47
- [59] Ridanpaa M, van Eenennaam H, Pelin K, et al. Mutations in the RNA component of RNase MRP cause a pleiotropic human disease, Cartilage-Hair Hypoplasia. Cell, 2001, 104 (2): 195-203
- [60] Matthews PM, Marchington DR, Squier M, et al. Molecular genetic characterization of an X-linked form of Leigh's syndrome. Ann Neurol, 1993, 33(6): 652-55
- [61] Tiranti V, Briem E, Lamantea E, et al. ETHE1 mutations are specific to ethylmalonic encephalopathy. J Med Genet, 2006, 43(4): 340-6
- [62] Tiranti V, D'Adamo P, Briem E, et al. Ethylmalonic encephalopathy is caused by mutations in ETHE1, a gene encoding a mitochondrial matrix protein. Am J Hum Genet, 2004, 74 (2): 239-52
- [63] Kaukonen J, Juselius JK, Tiranti V, et al. Role of adenine nucleotide translocator 1 in mtDNA maintenance. Science, 2000, 289(5480): 782-5
- [64] Jacobs HT, Turnbull DM. Nuclear genes and mitochondrial translation: a new class of genetic disease. Trends Genet, 2005, 21(6): 312-4
- [65] Miller C, Saada A, Shaul N, et al. Defective mitochondrial translation caused by a ribosomal protein (MRPS16) mutation. Ann Neurol, 2004, 56(5): 734-8
- [66] Bykhovskaya Y, Casas K, Mengesha E, et al. Missense mutation in pseudouridine synthase 1 (PUS1) causes mitochondrial myopthy and sideroblastic anemia (MLASA). Am J Hum Genet, 2004, 74(6): 1303-8
- [67] Fernandez-Vizarra E, Berardinelli A, Valente L, et al. Nonsnese mutation in pseudouridylate synthase 1 (PUS1) in two brothers affected by myopathy, lactic acidosis and sideroblastic anemia (MLASA). J Med Genet, 2007, 44(3): 173-80
- [68] Valente L, Tiranti V, Marsano RM, et al. Infantile encephalopathy and defective mitochondrial DNA translation in

- patients with mutations of mitochondrial elongation factors EFG1 and EFTu. Am J Hum Genet, 2007, 80(1): 44-58
- [69] Prezant TR, Agapian JV, Bohlman MC, et al. Mitochondrial ribosomal RNA mutation associated with both antibiotic? induced and non?syndromic deafness. Nat Genet, 1993, 4: 289-94
- [70] 严 明, 刘宁生, 单祥年, 等. 一个非氨基糖苷类抗生素 致聋家系 mRNA 突变研究. 南京铁道医学院学报, 1999, 18:188-91
- [71] Guan MX, Fischel-Ghodsian N, Attardi G. Biochemical evidence for nuclear gene involvement in phenotype of nonsyndromeic deafness associated with mitochondrial 12S rRNA mutation. Hum Mol Genet, 1996, 6:963-72
- [72] Bykhovskaya Y, Estivill X, Taylor K, et al. Candidate locus for a nuclear modifier gene for maternally inherited deafness. Am J Hum Genet, 2000, 66: 1905-10
- [73] Yan Q, Bykhovskaya Y, Li R, et al. Human TRMU encoding the mitochondrial 5-methylaminomethyl-2- thiouridylate-methyltransferase is a putative nuclear modifier gene factor for the phenotypic expression of the deafness-associated 12 S rRNA mutations. Biochem Biophys Res Commun, 2006, 342:1130-6
- [74] Yan Q, Guan MX. Identification and characterization of mouse TRMU gene encoding the mitochondrial 5methylaminomethyl-2-thiouridylate-methyltransferase. Biochim Biophys Acta, 2004, 1676:119-26
- [75] Yan Q, Li X, Faye G, et al. Mutations in the MTO2 related to tRNA modification impair mitochondrial gene expression and protein synthesis in the presence of a paromomycinresistance mutation in mitochondrial 15S rRNA. J Biol Chem, 2005, 280:29151-7
- [76] Umeda N, Suzuki T, Yukawa M, et al. Mitochondria-specific RNA-modification enzymes responsible for the biosynthesis of the wobble base in mitochondrial tRNAs. J Biol Chem, 2005, 280(2):1613-24
- [77] Guan MX, Yan Q, Li X, et al. Mutation in TRMU related to mitochondrial tRNA modification modulates the phenotypic expression of the deafness-associated mitochondrial 12S rRNA mutations. Am J Hum Genet, 2006, 79:291-302
- [78] Colby G, Wu M, Tzagolof A. MTO1 codes for a mitochondrial protein required for respiration in paromomycin-resistant mutants of *Saccharomyces cerevisiae*. J Biol Chem, 1998, 273(43): 27945-52
- [79] Liu YH, Ke XM, Qin Y, et al. Adeno-associted virus-mediated Bcl-XL prevents aminoglycoside-induced hearing loss in mice. Chin Med J, 2007, 120(14):1236-40