

线粒体转录因子A及其相关疾病

张纪亮^{1,2,3#} 张宜家^{4#} 王杰^{1,3#} 武芝^{1,2,3} 张雅^{1,2,3} 曾淋^{1,3} 马萝燕^{1,3}
陈腾飞^{1,3} 王璐^{1,2,3} 刘永章^{1,2,3*} 吕斌^{1,2,3*}

(¹温州医学院生物物理研究所, 温州 325035; ²温州医学院Attardi线粒体生物医学研究院, 温州 325035;
³温州医学院检验医学与生命科学学院, 温州 325035; ⁴四川大学华西临床医学院, 成都 610041)

摘要 线粒体转录因子A(mitochondrial transcription factor A, TFAM, 也称为mTFA)是由核基因编码的高迁移率族蛋白, 主要定位于线粒体中。TFAM在调节线粒体DNA(mtDNA)的复制和转录及维护mtDNA上均发挥了重要作用。大量研究表明, TFAM的缺失可导致mtDNA的突变及其拷贝数的减少, 从而导致线粒体功能的紊乱和疾病的产生。近年来的许多研究已表明了TFAM的多态性及其蛋白水平变化对相关疾病的影响, 但具体机制还有待于进一步阐明。该文将简要介绍近年来国内外在TFAM与其相关疾病上的最新研究进展。

关键词 线粒体; 线粒体转录因子A; 线粒体DNA; 线粒体疾病

Mitochondrial Transcription Factor A and Related Diseases

Zhang Jiliang^{1,2,3#}, Zhang Yijia^{4#}, Wang Jie^{1,3#}, Wu Zhi^{1,2,3}, Zhang Ya^{1,2,3}, Zeng Lin^{1,3}, Ma Luoyan^{1,3},
Chen Tengfei^{1,3}, Wang Lu^{1,2,3}, Liu Yongzhang^{1,2,3*}, Lü Bin^{1,2,3*}

(¹Institute of Biophysics, Wenzhou Medical College, Wenzhou 325035, China; ²Attardi Institute of Mitochondrial Biomedicine, Wenzhou Medical College, Wenzhou 325035, China; ³Department of Biology, School of Laboratory Medicine and Life Science, Wenzhou Medical College, Wenzhou 325035, China; ⁴West China Medical School, Sichuan University, Chengdu 610041, China)

Abstract A high-mobility group (HMG) protein, the human mitochondrial transcription factor A (TFAM) is encoded in the nucleus and imported into mitochondria, where it plays an important role in regulating mtDNA copy number, transcription and maintenance. Numerous studies indicated that depletion of TFAM protein leads to mtDNA mutation and decreased mtDNA copy number, which can cause the mitochondrial dysfunction and diseases. Many published papers have shown the effect of TFAM gene polymorphism and the change of its protein expression level on related diseases, but the mechanism needed to be further clarified. In this review, we provide a brief summary of current insights of mitochondrial transcription factor A and its related diseases.

Key words mitochondria; mitochondrial transcription factor A; mitochondrial DNA; mitochondrial diseases

线粒体是一种广泛存在于各类真核细胞中的细胞器, 主要参与细胞内能量(ATP)的合成、自由基生成和细胞凋亡等生物学过程。线粒体基因组能独立进行复制、转录及蛋白质的合成, 但必须在

收稿日期: 2012-12-13 接受日期: 2013-01-22

浙江省大学生科技创新活动计划(新苗人才计划, 批准号: 2011R413012), 国家自然科学基金(批准号: 31070710、31171345), 浙江省钱江人才B基金(批准号: 2010R10045), 温州医学院科研启动基金(批准号: QJTJ09010), 教育部留学回国人员科研启动基金和浙江省自然科学基金(批准号: Y2110097)资助的课题

*共同第一作者。*通讯作者。Tel: 0577-86699722, E-mail: lyz@wzmc.edu.cn; E-mail: lubmito@wzmc.edu.cn

Received: December 13, 2012 Accepted: January 22, 2013

This work was supported by the Undergraduate Student Science & Technology Innovation Research Program of Zhejiang Province (Grant No.2011R413012), the National Natural Science Foundation of China (Grant No.31070710, 31171345), Zhejiang Qianjiang Talent Project B Grant (Grant No.2010R10045), Wenzhou Medical College Foundation (Grant No.QJTJ09010), Scientific Research Foundation for the Returned Overseas Chinese Scholar, State Education Ministry and the Natural Science Foundation of Zhejiang Province (Grant No.Y2110097)

*These authors contributed equally to this work. *Corresponding author. Tel: +86-577-86699722, E-mail: lyz@wzmc.edu.cn; E-mail: lubmito@wzmc.edu.cn

网络出版时间: 2013-04-09 17:12 URL: http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20130409.1712.001.html

核基因组编码的各种蛋白质因子的参与调控下才能完成^[1]。其中, 线粒体转录因子A(mitochondrial transcription factor A, TFAM或称为mTFA)是一种能影响线粒体DNA(mtDNA)转录和复制的重要调节子, 对于mtDNA的维护以及在胚胎形成上发挥至关重要的作用^[2]。TFAM的缺失会导致线粒体功能的紊乱, 而线粒体功能紊乱则与许多线粒体疾病, 肿瘤的发生发展、神经退行性疾病和衰老等密切相关, 因此研究TFAM与其相关疾病的关联对这些疾病的治疗有很重要的指导意义。

1 TFAM的结构及基本功能

TFAM是线粒体的一个DNA结合蛋白, 在mtDNA的转录、复制和维护上处于中心地位, 它在线粒体呼吸链氧化磷酸化(oxidative phosphorylation, OXPHOS)产生ATP的过程中也是必不可少的^[3]。哺乳动物线粒体基因组包括位于D环区的3个启动子-轻链启动子(light-strand promoter, LSP)、重链启动子1(heavy-strand promoter 1, HSP1)、重链启动子2(heavy-strand promoter 2, HSP2), 由它们启动mtDNA转录本的表达^[3-4]。TFAM通过结合在mtDNA轻链和重链启动子的上游来促进mtDNA的转录^[5]。线粒体启动子的起始由TFAM的量调节, 所以TFAM可影响基因的表达和mtDNA的转录起始^[6]。由于LSP处的顿挫型转录体(truncated RNA transcripts)可启动DNA的复制, 所以TFAM对于mtDNA的复制处于较次要的地位。TFAM基因编码246个氨基酸的蛋白(约25 kDa), 其中包含42个氨基酸的线粒体靶向序列。首先, 在胞浆中合成前体形式, 转运到线粒体后TFAM的线粒体靶向序列被切除, 从而产生204个氨基酸的成熟的线粒体形式TFAM, 它包括一个氨基端的HMG结构域(high mobility group 1, HMG1), 一个链接区, 第二个HMG结构域(high mobility group 2, HMG2)和一个羧基端尾区^[5,7](图1)。其中, HMG结构域具有非特异性结合DNA的特性, 而羧基端尾区具有特异性的DNA结合和转录活性, 这表明TFAM

或许通过这一结构域与涉及转录起始的其它因子相互作用^[8]。人TFAM与其它HMG结构域家族的蛋白相似, 它能以非序列特异性的方式有效的弯曲和包装DNA^[9]。我们最新的研究表明^[10], 在线粒体中, 游离的TFAM很快被位于线粒体基质中的ATP-依赖的Lon蛋白酶降解, 而结合在mtDNA上的TFAM却不被Lon蛋白酶降解。我们发现, 线粒体中成熟TFAM的HMG1结构域可以被cAMP依赖性蛋白激酶(cAMP-dependent protein kinase, PKA)磷酸化, HMG1结构域的磷酸化削弱了TFAM结合mtDNA的能力, 进而影响mtDNA的转录。这一结构域的磷酸化也导致TFAM被Lon蛋白酶降解。此外, 当mtDNA发生严重缺陷时, 非磷酸化的TFAM也会被降解, 因为此时TFAM不再结合mtDNA, 已经成为游离的TFAM。

据报道, 在哺乳动物细胞中, TFAM与mtDNA的摩尔比约为每10 bp的mtDNA对应1分子的TFAM蛋白, 这一非常高的比例表明, 或许mtDNA的表面已被TFAM蛋白完全覆盖^[11]。TFAM蛋白在DNA上的滑动(sliding)和DNA的解链对于TFAM有效、特异性的转录调节都是必须的^[12]。越来越多的证据表明, TFAM在维护mtDNA稳定和调节它的拷贝数上发挥着重要的作用, 大部分TFAM蛋白可维护mtDNA的高级结构。mtDNA的拷贝数与TFAM蛋白的量紧密相关, 而与其转录水平无关, mtDNA缺失的细胞(ρ^0 细胞)可表达TFAM的mRNA, 但缺乏TFAM蛋白^[13]。这也进一步表明, TFAM蛋白和mtDNA之间的相互关系是动态的, 一种组分的存在会增加另一组分的稳定性, 从调节上来说, 这种相互作用或许是有益的, 因为TFAM蛋白或mtDNA水平的微小改变可使二者快速调节到最佳比率^[12]。其它一些蛋白, 如线粒体单链DNA结合蛋白、丙酮酸脱氢酶硫辛酰基E2亚单位、腺嘌呤核苷酸转运蛋白1、支链 α -酮酸脱氢酶和抑制素2等都可与TFAM一起直接与mtDNA相互作用形成拟核^[11]。研究表明, 只需单独增加TFAM蛋白的表达就足以增加mtDNA的水平, 表明TFAM蛋白是这些mtDNA结合蛋白构成拟核的限制性因子^[14]。

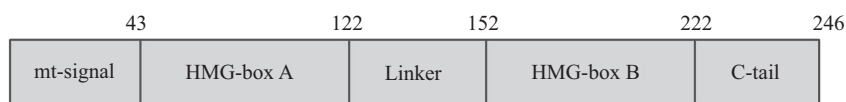


图1 TFAM的结构域(根据参考文献[30]修改)

Fig.1 The domain structure of TFAM(modified from reference [30])

TFAM在小鼠mtDNA的维护和胚胎形成上发挥了重要作用。研究表明, *TFAM*^{-/-}鼠可导致mtDNA减少约30%~40%, *TFAM* mRNA及其蛋白的水平减少约50%, 还可导致mtDNA编码多肽的减少和严重的呼吸链缺陷, 但线粒体RNA(mtRNA)的水平并未改变。由于细胞所需的大部分能量由线粒体呼吸链通过氧化磷酸化产生, 所以呼吸链的功能紊乱可涉及多种疾病的发生, 如心力衰竭、神经退行性疾病、糖尿病、癌症甚至是老化问题。*TFAM*^{-/-}小鼠可在胚胎第8.5天(E8.5)到胚胎第10.5天(E10.5)导致胚胎的死亡, 突变的胚胎在E8.5表现出体积缩小和一些突变表型, 如延迟的神经发育、模糊不清的体节、视神经盘和心脏结构的缺失^[2]。过表达TFAM的转基因小鼠可使mtDNA的拷贝数和线粒体tRNA的表达水平增加^[14-16]。Bengtsson等^[17]的研究表明, 有氧运动可以增加TFAM蛋白的表达和mtDNA的拷贝数, 显著增加线粒体的含量可以减弱*TFAM*基因敲除小鼠的能量产生障碍^[18]。*TFAM*基因敲除小鼠肌肉由于肌钙蛋白-1(calsequestrin-1)表达量的下降, 导致肌质网(sarcoplasmic reticulum, SR)中Ca²⁺储存能力的减少, 从而使肌肉收缩时SR Ca²⁺释放减少, 进而减少ATP的消耗并可导致肌无力。*TFAM*敲除小鼠还表现有线粒体Ca²⁺的增高, 进而剧烈的刺激线粒体的代谢并可能会引发细胞的损伤^[19]。另有研究表明, 咖啡因可增加胞浆中Ca²⁺的水平, 进而增加过氧化物酶体增殖物激活受体共激活因子1 α (peroxisome proliferator-activated receptor-gamma coactivator 1 α , *PGC1 α*)基因的表达, 从而增加TFAM和呼吸链亚基来增加线粒体的生物发生^[20]。另外, TFAM过表达的果蝇, 其寿命比正常果蝇短。但用1%过氧化氢(H₂O₂)

处理后, 其寿命要比正常果蝇长。表明过表达的TFAM虽对寿命有不利影响, 但在强氧化应激(H₂O₂)下可起到对机体的防御作用^[21]。

2 TFAM与肾病及心脏病

线粒体疾病是由细胞中的致病突变mtDNA积聚, 进而引起线粒体呼吸链活性的下降引起的。有趣的是, 呼吸链活性的下降与突变mtDNA的比例并不成简单的线性关系, 当突变mtDNA的比例超过特定的阈值之后才会导致线粒体疾病^[16,22]。线粒体疾病涉及三个基本的病理生理学机制: (1)能量产生障碍; (2)活性氧(reactive oxygen species, ROS)的产生, 进而导致氧化应激; (3)线粒体中过多Ca²⁺的积累, 导致细胞的损害或死亡, 其过程或许还涉及到线粒体通透性转换孔(mitochondrial permeability transition pore, mtPTP)的开放^[23-24]。线粒体的呼吸链是ROS产生的主要位点, 一旦损伤, 呼吸链可诱导产生较多的ROS并导致线粒体的氧化损伤。mtDNA对氧化应激高度敏感, 主要是因为它比较靠近线粒体内膜上的呼吸链, 并缺少类组蛋白的保护作用, 且线粒体自身对mtDNA损伤修复能力薄弱^[25]。对于线粒体疾病, 至今尚未发现有效的治疗方法, 用线粒体靶向的限制性核酸内切酶来消化突变的mtDNA已被报道^[26], 但由于限制性位点的特异性不高, 所以很难应用于实践中。考虑到TFAM与mtDNA拷贝数的关联, TFAM或许可作为治疗线粒体疾病的一个有效靶点(图2)。大部分的线粒体疾病模型小鼠(mitochondrial diseases model mice, mito-mice)都有较高浓度的血尿素氮(blood urea nitrogen, BUN)(表明肾功能不全), 并最终死于肾衰竭^[16], 而在TFAM过表达的线粒体疾病模型小鼠(TFAM/EGFP

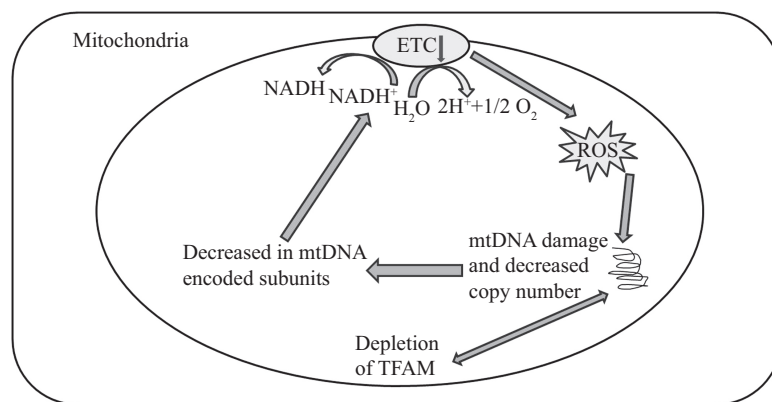


图2 TFAM缺失对线粒体功能紊乱的影响(根据参考文献[31]修改)

Fig.2 The effect of TFAM-deficiency on the mitochondrial dysfunction(modified from reference [31])

over-expressing mito-mice, Tg-mito-mice)中, BUN显著地受到抑制。含有80%突变mtDNA的mito-mice肾表现为局部缺血、体积增大并伴有颗粒性表面^[16]; 然而含有89% mtDNA Tg-mito-mice的肾mtDNA的拷贝数增加约2.99倍, 轻微的体积增大, 肾表面正常, 表明线粒体功能的维护取决于野生型mtDNA的量, 野生型mtDNA拷贝数的增加能使肾功能恢复^[16,27]。研究还表明, Tg-mito-mice相比于mito-mice有更长的寿命^[27]。由此可以推测, 即使在致病突变mtDNA比例不变的情况下, 增加野生型mtDNA的拷贝数也可修复线粒体的功能。但此疗法有一定的局限性, 虽然提高mtDNA的水平可提高Tg-mito-mice的发病阈值, 但当突变mtDNA的比例超过这一阈值时, 也可引起线粒体功能紊乱, 所以, 即使改善小鼠的表型和延长小鼠的寿命, 也不能使小鼠完全康复^[27]。Larsson等^[2]称TFAM基因敲除鼠的心肌细胞表现出mtDNA拷贝数, 线粒体转录本和细胞色素C氧化酶水平的减少。Wang等^[28]的研究表明, 心肌中TFAM基因的靶向断裂小鼠表现出扩张性心肌病, 并伴有mtDNA和线粒体转录本的减少。而TFAM的过表达却产生相反的作用, 过表达的TFAM靠直接结合mtDNA来增加mtDNA的水平, TFAM在小鼠中的过表达能阻止mtDNA拷贝数的减少和心肌梗死后线粒体呼吸链缺陷, TFAM还能明显地改善心腔扩张及其功能紊乱, 同时也可减少心肌肥大、间质性纤维化和细胞凋亡^[15]。研究产生了一种新的重组人TFAM蛋白(recombinant human TFAM protein, rhTFAM), 它可快速进入心肌线粒体, 增加mtDNA的拷贝数并阻遏活化T细胞的核因子(nuclear factor of activated T cells, NFAT), 进而改善心肌细胞肥大^[29]。

3 TFAM与神经系统疾病

3.1 TFAM与脑功能

前脑神经细胞中TFAM的基因敲除可导致mtDNA和线粒体转录本的减少以及严重的呼吸链缺陷, 从而导致神经退行性疾病和明显的行为失调^[32]。Gutsaeva等^[33]研究表明, 前惊厥剂量(pre-convulsive dose)的高压氧可以增强TFAM基因的表达, 进而激活海马区mtDNA的复制、转录和线粒体的生物发生。短暂性前脑或全脑缺血后, 海马CA1区神经元凋亡细胞的死亡最终都会发生线粒体的通透性转换(mitochondrial permeability transition,

mPT), TFAM的过表达可阻止前脑缺血后线粒体孔径的打开, 进而抑制缺血后线粒体细胞色素C的释放, TFAM的过表达也可以减少海马CA1区的迟发性神经原死亡。所以, 过表达的TFAM在前脑缺血后可减少mtDNA的缺陷和线粒体的功能紊乱, 进而阻止海马区神经元的损伤, 但TFAM的过表达在mPT上游信号通路的效应仍不清楚, 需进一步研究阐明TFAM在维持脑线粒体功能上的作用来开发新的缺血性脑卒中的疗法^[34]。

野生型老年小鼠脑线粒体中复合物I和复合物IV的活性降低(约1/3)可诱导过多ROS的产生, 进一步导致DNA的氧化损伤, 脂质过氧化和NF- κ B(nuclear factor- κ B)激活的白介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)的产生。Hela细胞中TFAM的过表达能显著抑制鱼藤酮诱导的线粒体ROS的产生和NF- κ B的核转运。TFAM转基因鼠(TFAM transgenic mice, TG)对脑中年龄依赖性脂质过氧化产物的积聚有显著的改善作用, 并可减少脑线粒体复合物I和复合物IV的活性, 老年TG小鼠的运动学习记忆、工作记忆、海马长时程增强效应(long-term potentiation, LTP)的缺陷也得到显著改善, 老年TG小鼠小神经胶质细胞中IL-1 β 的表达水平和mtDNA的损伤也显著降低^[35]。另外, 巨噬细胞中线粒体在脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)诱导ROS的产生过程中发挥了重要作用^[36], 相比用LPS处理的野生型小鼠, 用LPS处理的TG小鼠脑中的IL-1 β 量有显著性降低。可以认为, TFAM的过表达通过阻止小神经胶质细胞中的氧化应激和线粒体的功能紊乱来改善年龄依赖性脑功能的损伤^[35]。

3.2 TFAM与阿尔兹海默病

在中枢神经系统(central nervous system, CNS)中, TFAM和神经退行性疾病(如阿尔兹海默病、亨廷顿病和帕金森疾病)之间存在着某种关联^[37-38]。在阿尔兹海默病(Alzheimer's disease, AD)的发病机理中, β -淀粉样蛋白(β -amyloid, A β)是引起AD病程的重要因子。A β 可导致氧化应激, 诱导线粒体的功能紊乱, 破坏线粒体电子传递链(electron-transport chain, ETC), 降低细胞色素C氧化酶(cytochrome C oxidase, COX)的活性并抑制线粒体ATP的产生^[39-40], 但TFAM的过表达却可显著地抑制A β 诱导细胞ROS水平的增高并将COX和ATP的量恢复到正常水平, 进而减弱A β 诱导的细胞损伤和凋亡。另外, 缺失C

末端TFAM的过表达不能刺激mtDNA的转录,但依然能维护mtDNA拟核的形成和mtDNA的拷贝数,防止A β 对细胞的毒性作用。过表达的TFAM在保护mtDNA免受A β 神经毒性的过程中发挥多重作用。一方面,过表达的TFAM可维护mtDNA拟核的形成和mtDNA的拷贝数^[41];另一方面,TFAM的过表达可完全覆盖mtDNA的整个区域形成拟核结构,保护mtDNA免受A β 诱导的氧化修饰或损伤^[25]。

*TFAM*定位于人染色体区10q21.1,而这正是迟发性阿尔兹海默病(late-onset Alzheimer's disease, LOAD)的位点。研究发现,*TFAM*多态性rs1937(外显子1, +35G/C)是一个错义突变(Ser12Thr),这一错义突变可影响限制性内切酶*Dde* I位点,多态性的基因分型表明在病人中有较高频率GG纯合子的出现,研究表明Ser12对LOAD是一个中度致病因素,也就是说其等位基因12Thr对LOAD是一个保护因子^[42]。另外,*TFAM*等位基因12Thr不仅可防御AD,还可抵御左心室肥大,并且与受试者较长的身体忍耐力和较好的体能相关^[43]。另外,*TFAM*另一个多态性——外显子4rs2306604(IVS4, +113G/A)对LOAD也是一个中度致病因素^[37]。

3.3 TFAM与帕金森病

线粒体的功能紊乱是神经退行性疾病如帕金森病(Parkinson's disease, PD)的显著特征,在PD的黑质神经细胞中有较高水平mtDNA的缺失和突变,并伴有线粒体呼吸链的缺陷^[44]。1-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氢吡啶(1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine, MPTP)及其毒性代谢物1-甲基-4-苯基吡啶离子(1-methyl-4-phenylpyridinium, MPP⁺)可抑制线粒体呼吸链复合物I的活性并被广泛地用来构建PD模型。在神经母细胞瘤细胞(SH-SY5Y)中,MPP⁺抑制核呼吸因子-1(nuclear respiratory factor-1, NRF-1)和TFAM介导的线粒体活性及其基因表达,而SH-SY5Y中*TFAM*的瞬时转染可改善MPP⁺对细胞的损伤^[45]。

4 TFAM与糖尿病

在血糖浓度增高的刺激下,胰岛 β 细胞线粒体的功能紊乱可损害胰岛素的分泌^[46],所以线粒体的功能紊乱还涉及糖尿病及其并发症的病理过程。研究表明,在糖尿病大鼠的胰腺中,mtRNA的含量减少^[47]。在链脲佐菌素(streptozotocin)诱导的糖尿病大鼠中,线粒体基因编码的ATP合成酶亚单位6及细

胞色素B的mRNA水平下降,而核基因编码的细胞色素C和TFAM的水平并未下降。虽然*TFAM*的mRNA和蛋白含量在糖尿病鼠和正常鼠之间无显著性差异,但在糖尿病大鼠心脏中TFAM对D环区的结合活性显著下降,可能是由于调节位点的异常所导致,如TFAM到线粒体的转运、TFAM的修饰和mtDNA的各种突变,而相关研究表明,糖尿病中TFAM转运到线粒体的过程中并未受到损伤^[9]。TFAM通过蛋白-DNA复合体的形成包装和弯曲DNA^[9],诱导mtDNA的构象改变,进而有利于RNA聚合酶起始转录过程,因此可以认为TFAM的减少不足以使RNA聚合酶进入转录起始位点,从而导致糖尿病大鼠心肌线粒体转录活性的下降^[48]。通过RNA干扰减少脂肪细胞中TFAM的表达可导致线粒体呼吸链功能的减弱、ATP合成的减少,甚至引起胰岛素刺激葡萄糖转运的特异性损伤^[49]。另外,在糖尿病大鼠心肌线粒体中发现了过氧化氢和脂质过氧化物含量的增高,而过氧化氢可减少糖尿病大鼠心肌中mtDNA的转录活性,表明TFAM在糖尿病诱导的氧化应激下发生了不正常的修饰,如蛋白的氧化。TFAM结合DNA能力的减弱可导致糖尿病大鼠心肌线粒体功能的紊乱及较多ROS的产生,较多ROS的产生可进一步减弱TFAM结合DNA的能力,这样糖尿病中TFAM结合DNA能力的减弱由此会进入一个恶性循环,而使病情更加严重^[48]。

研究表明,在胰岛 β 细胞中转录因子Pdx1(pancreatic duodenal homeobox 1)调控*TFAM*的转录,Pdx1的突变可引起青少年的成年发病型糖尿病4(maturity-onset diabetes of the young 4, MODY4)。Pdx1在成年小鼠中的抑制可导致TFAM水平的下降,从而损害胰岛素的分泌,产生高血糖症^[50]。相反,在*Pdx1*^{+/-}小鼠的胰岛中,*Pdx1*转录水平的中度减少(约23%)并不引起*TFAM* mRNA的显著减少^[51],而在*Pdx1*严重缺失的小鼠或转导有*Pdx1*显性负性突变体(dominant-negative variant)的大鼠胰岛中*TFAM* mRNA的水平减少了50%~60%,这种差异可能与*Pdx1*缺失的基因剂量效应(gene dosage effect)有关^[50,52]。TFAM在胰岛 β 细胞中的特异性缺失可导致胰岛素的分泌缺陷和 β 细胞的时间依赖性减少^[53],许多mtDNA编码的呼吸链多肽,如复合物I的Nd1亚单位在Pdx1缺陷的大鼠胰岛中有转录水平的下调^[52],而TFAM的过表达可修复*Nd1*的拷贝数和mRNA水平。尤为重要

的是, 只靠TFAM在Pdx1功能缺陷胰岛中的过表达就能完全修复葡萄糖诱导的ATP产生和胰岛素分泌^[50]。近年来发现, 一种肥胖相关新基因NYGGF4的过表达可损害线粒体的功能, 进而引起肥胖相关的胰岛素抗性。而脂肪细胞中过表达的TFAM通过IRS/PI3K/Akt信号通路的激活可修复由NYGGF4过表达引起的线粒体功能紊乱^[54]。

在外周血白细胞中, mtDNA含量的减少与青少年的胰岛素耐受性有关^[55]。Choi等^[56]发现, 在体外, TFAM启动子的甲基化可抑制报告基因的转录活性。TFAM启动子上甲基化DNA与未甲基化DNA的比值和胰岛素抗性相关的生化指标(如空腹血浆胰岛素)呈相反的关联。当启动子出现DNA的甲基化后, 基因的表达通常会减少, 因为它可通过染色体凝聚的方式来抑制启动子的活性, 由此推测TFAM启动子上DNA的甲基化或许是导致青少年胰岛素抗性的一个重要因素^[57]。

5 TFAM与肿瘤

mtDNA拷贝数和线粒体酶活性的下降在多种肿瘤细胞株及肿瘤组织中已被检测到, 如肝癌、肾癌、乳腺癌、结肠癌等^[58-60]。研究还发现, mtDNA D环区的体细胞突变连同mtDNA拷贝数的减少或许在肝癌早期发挥了重要的作用^[59]。TFAM还可以和p53相互作用^[61], 虽然TFAM在p53信号通路上的作用尚不明确, 但p53基因的突变在癌症中很常见, 表明TFAM或许在癌症的治疗上发挥了潜在的重要作用。

研究发现, 在散发性结直肠癌(sporadic colorectal cancer, CRC)细胞系和微卫星不稳定性(microsatellite instability, MIS)原发性肿瘤中已鉴定到有TFAM频繁的移码突变, 但在微卫星稳定性(microsatellite stable, MSS)的CRC细胞系和肿瘤中尚未发现。MIS的CRC细胞中TFAM截断突变(truncating mutation)的存在可减少TFAM蛋白的表达水平, 进而可导致mtDNA的缺失。含有TFAM截断突变的RKO细胞(人结肠癌细胞)中野生型TFAM的过表达能抑制细胞的增殖并抑制RKO细胞诱导的裸鼠移植瘤生长, 而且TFAM过表达的RKO细胞由于细胞色素B的表达及其从线粒体中的释放而对顺铂诱导的凋亡更加敏感。而突变的TFAM对HSP(heat shock protein)的结合能力下降, 导致细胞色素B转录的减少。这些都表明, TFAM的截断突变可导致mtDNA拷贝数

的减少和线粒体的不稳定性, 从而在大部分MIS的CRC肿瘤发生和顺铂诱导的凋亡抗性上发挥重要作用^[60]。另外, 在弥漫性浸润星形细胞瘤中, mtDNA的拷贝数随恶性程度的增加而明显减少。在多形性胶质母细胞瘤(glioblastoma multiforme, GBM)病人中, 相对于TFAM低表达的病人组, TFAM高表达的病人组有较长的生存时间^[62]。由此可推测, TFAM可作为治疗MIS的CRC和星形细胞瘤的一个潜在靶点。

TFAM的过表达增强肿瘤细胞的生长, 而下调TFAM的表达可诱导p21依赖性G1细胞周期停滞, 抑制肿瘤细胞的生长^[63]。TFAM在子宫内膜癌中的表达与临床病理分期、子宫肌层浸润、淋巴血管浸润、宫颈浸润和淋巴结转移显著相关。免疫组化研究表明, TFAM阳性表达的子宫内膜癌病人相比于TFAM阴性表达的病人有较差的10年存活率^[64]。另外, 在浆液性卵巢癌中, 细胞核中TFAM阳性表达的病人相比于核TFAM阴性表达的病人也有较差的5年存活率^[65]。此外, TFAM的阳性表达与结直肠癌(CRC)的淋巴结转移、远处转移及临床病理分期显著相关, TFAM阳性表达的病人比阴性表达的病人有较差的预后^[66]。这些表明, 无论在线粒体中还是核中, TFAM都可作为癌症患者有价值的预后因子, 推测TFAM可作为癌症治疗的有效分子靶点。

6 展望

TFAM作为线粒体转录和复制的重要调节子, 在mtDNA和线粒体功能的维护上发挥着重要的作用, TFAM的缺失可导致mtDNA拷贝数的减少和严重的呼吸链缺陷, 从而引起线粒体功能紊乱及一系列的疾病, 而TFAM的过表达可显著改善线粒体的功能缺陷, 进而起到缓解疾病的作用。进一步了解TFAM在细胞内的调控对于线粒体疾病的治疗有重要意义。TFAM的多态性不仅与疾病相关, 还与个体的体能^[43]和寿命^[21]相关, 因此, TFAM可作为疾病治疗和改善身体机能的一个潜在靶点。另外, TFAM启动子DNA的甲基化对相关疾病的产生也有影响, 进一步阐明TFAM在相关疾病中的作用机理对于疾病的治疗有很重要的指导意义。

参考文献 (References)

- 1 刘珊珊, 李钰. 哺乳动物细胞线粒体基因的转录与调控. 细胞生物学杂志(Liu Shanshan, Li Yu. Regulation of mitochondrial genes transcription in mammalian cells. Chinese Journal of Cell

- Biology) 2009; 31(6): 811-6.
- 2 Larsson NG, Wang J, Wilhelmsson H, Oldfors A, Rustin P, Lewandoski M, *et al.* Mitochondrial transcription factor A is necessary for mtDNA maintenance and embryogenesis in mice. *Nat Genet* 1998; 18(3): 231-6.
 - 3 Falkenberg M, Larsson NG, Gustafsson CM. DNA replication and transcription in mammalian mitochondria. *Annu Rev Biochem* 2007; 76: 679-99.
 - 4 Fisher RP, Clayton DA. Purification and characterization of human mitochondrial transcription factor I. *Mol Cell Biol* 1988; 8(8): 3496-509.
 - 5 Parisi MA, Clayton DA. Similarity of human mitochondrial transcription factor 1 to high mobility group proteins. *Science* 1991; 252(5008): 965-9.
 - 6 Campbell CT, Kolesar JE, Kaufman BA. Mitochondrial transcription factor A regulates mitochondrial transcription initiation, DNA packaging, and genome copy number. *Biochim Biophys Acta* 2012; 1819(9/10): 921-9.
 - 7 Rantanen A, Jansson M, Oldfors A, Larsson NG. Downregulation of Tfam and mtDNA copy number during mammalian spermatogenesis. *Mamm Genome* 2001; 12(10): 787-92.
 - 8 Dairaghi DJ, Shadel GS, Clayton DA. Addition of a 29 residue carboxyl-terminal tail converts a simple HMG box-containing protein into a transcriptional activator. *J Mol Biol* 1995; 249(1): 11-28.
 - 9 Fisher RP, Lisowsky T, Parisi MA, Clayton DA. DNA wrapping and bending by a mitochondrial high mobility group-like transcriptional activator protein. *J Biol Chem* 1992; 267(5): 3358-67.
 - 10 Lu B, Lee J, Nie XB, Li M, Morozov YI, Venkatesh S, *et al.* Phosphorylation of human TFAM in mitochondria impairs DNA binding and promotes degradation by the AAA+ Lon protease. *Mol Cell* 2013; 49(1): 121-32.
 - 11 Alam TI, Kanki T, Muta T, Ukaji K, Abe Y, Nakayama H, *et al.* Human mitochondrial DNA is packaged with TFAM. *Nucleic Acids Res* 2003; 31(6): 1640-5.
 - 12 Farge G, Laurens N, Broekmans OD, van den Wildenberg SM, Dekker LC, Gaspari M, *et al.* Protein sliding and DNA denaturation are essential for DNA organization by human mitochondrial transcription factor A. *Nat Commun* 2012; 3: 1013.
 - 13 Larsson NG, Oldfors A, Holme E, Clayton DA. Low levels of mitochondrial transcription factor A in mitochondrial DNA depletion. *Biochem Biophys Res Commun* 1994; 200(3): 1374-81.
 - 14 Ekstrand MI, Falkenberg M, Rantanen A, Park CB, Gaspari M, Hultenby K, *et al.* Mitochondrial transcription factor A regulates mtDNA copy number in mammals. *Hum Mol Genet* 2004; 13(9): 935-44.
 - 15 Ikeuchi M, Matsusaka H, Kang D, Matsushima S, Ide T, Kubota T, *et al.* Overexpression of mitochondrial transcription factor A ameliorates mitochondrial deficiencies and cardiac failure after myocardial infarction. *Circulation* 2005; 112(5): 683-90.
 - 16 Inoue K, Nakada K, Ogura A, Isobe K, Goto Y, Nonaka I, *et al.* Generation of mice with mitochondrial dysfunction by introducing mouse mtDNA carrying a deletion into zygotes. *Nat Genet* 2000; 26(2): 176-81.
 - 17 Bengtsson J, Gustafsson T, Widegren U, Jansson E, Sundberg CJ. Mitochondrial transcription factor A and respiratory complex IV increase in response to exercise training in humans. *Pflugers Arch* 2001; 443(1): 61-6.
 - 18 Wredenberg A, Wibom R, Wilhelmsson H, Graff C, Wiener HH, Burden SJ, *et al.* Increased mitochondrial mass in mitochondrial myopathy mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99(23): 15066-71.
 - 19 Aydin J, Andersson DC, Hänninen SL, Wredenberg A, Tavi P, Park CB, Larsson NG, *et al.* Increased mitochondrial Ca²⁺ and decreased sarcoplasmic reticulum Ca²⁺ in mitochondrial myopathy. *Hum Mol Genet* 2009; 18(2): 278-88.
 - 20 Scarpulla RC. Nuclear control of respiratory gene expression in mammalian cells. *J Cell Biochem* 2006; 97(4): 673-83.
 - 21 Matsuda T, Kanki T, Tanimura T, Kang D, Matsuura ET. Effects of overexpression of mitochondrial transcription factor A on lifespan and oxidative stress response in *Drosophila melanogaster*. *Biochem Biophys Res Commun* 2012; doi: 10.1016/j.bbrc.2012.11.084.
 - 22 Hayashi J, Ohta S, Kikuchi A, Takemitsu M, Goto Y, Nonaka I. Introduction of disease-related mitochondrial DNA deletions into HeLa cells lacking mitochondrial DNA results in mitochondrial dysfunction. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88(23): 10614-8.
 - 23 Wallace DC. Mouse models for mitochondrial disease. *Am J Med Genet* 2001; 106(1): 71-93.
 - 24 Brookes PS, Yoon Y, Robotham JL, Anders MW, Sheu SS. Calcium, ATP, and ROS: A mitochondrial love-hate triangle. *Am J Physiol Cell Physiol* 2004; 287(4): C817-33.
 - 25 Kang D, Kim SH, Hamasaki N. Mitochondrial transcription factor A (TFAM): Roles in maintenance of mtDNA and cellular functions. *Mitochondrion* 2007; 7(1/2): 39-44.
 - 26 Bayona-Bafaluy MP, Blits B, Battersby BJ, Shoubridge EA, Moraes CT. Rapid directional shift of mitochondrial DNA heteroplasmy in animal tissues by a mitochondrially targeted restriction endonuclease. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102(40): 14392-7.
 - 27 Nishiyama S, Shitara H, Nakada K, Ono T, Sato A, Suzuki H, *et al.* Over-expression of Tfam improves the mitochondrial disease phenotypes in a mouse model system. *Biochem Biophys Res Commun* 2010; 401(1): 26-31.
 - 28 Wang J, Wilhelmsson H, Graff C, Li H, Oldfors A, Rustin P, *et al.* Dilated cardiomyopathy and atrioventricular conduction blocks induced by heart-specific inactivation of mitochondrial DNA gene expression. *Nat Genet* 1999; 21(1): 133-7.
 - 29 Fujino T, Ide T, Yoshida M, Onitsuka K, Tanaka A, Hata Y, *et al.* Recombinant mitochondrial transcription factor A protein inhibits nuclear factor of activated T cells signaling and attenuates pathological hypertrophy of cardiac myocytes. *Mitochondrion* 2012; 12(4): 449-58.
 - 30 Ngo HB, Kaiser JT, Chan DC. The mitochondrial transcription and packaging factor Tfam imposes a U-turn on mitochondrial DNA. *Nat Struct Mol Biol* 2011; 18(11): 1290-6.
 - 31 Tsutsui H, Kinugawa S, Matsushima S. Mitochondrial oxidative stress and dysfunction in myocardial remodelling. *Cardiovasc Res* 2009; 81(3): 449-56.
 - 32 Sörensen L, Ekstrand M, Silva JP, Lindqvist E, Xu B, Rustin P, *et al.* Late-onset corticohippocampal neurodepletion attributable to catastrophic failure of oxidative phosphorylation in MILON mice. *J Neurosci* 2001; 21(20): 8082-90.
 - 33 Gutsaeva DR, Suliman HB, Carraway MS, Demchenko IT, Piantadosi CA. Oxygen-induced mitochondrial biogenesis in the rat hippocampus. *Neuroscience* 2006; 137(2): 493-504.
 - 34 Hokari M, Kuroda S, Kinugawa S, Ide T, Tsutsui H, Iwasaki Y. Overexpression of mitochondrial transcription factor A (TFAM) ameliorates delayed neuronal death due to transient forebrain ischemia in mice. *Neuropathology* 2010; 30(4): 401-7.
 - 35 Hayashi Y, Yoshida M, Yamato M, Ide T, Wu Z, Ochi-Shindou M, *et al.* Reverse of age-dependent memory impairment and mitochondrial DNA damage in microglia by an overexpression of human mitochondrial transcription factor A in mice. *J Neurosci* 2008; 28(34): 8624-34.

- 36 Emre Y, Hurtaud C, Nübel T, Criscuolo F, Ricquier D, Cassard-Doulcier AM. Mitochondria contribute to LPS-induced MAPK activation via uncoupling protein UCP2 in macrophages. *Biochem J* 2007; 402(2): 271-8.
- 37 Belin AC, Björk BF, Westerlund M, Galter D, Sydow O, Lind C, *et al.* Association study of two genetic variants in mitochondrial transcription factor A (TFAM) in Alzheimer's and Parkinson's disease. *Neurosci Lett* 2007; 420(3): 257-62.
- 38 Wallace DC. Mitochondrial genetics: A paradigm for aging and degenerative diseases? *Science* 1992; 256(5057): 628-32.
- 39 Reddy PH, Beal MF. Amyloid beta, mitochondrial dysfunction and synaptic damage: implications for cognitive decline in aging and Alzheimer's disease. *Trends Mol Med* 2008; 14(2): 45-53.
- 40 Casley CS, Canevari L, Land JM, Clark JB, Sharpe MA. Beta-amyloid inhibits integrated mitochondrial respiration and key enzyme activities. *J Neurochem* 2002; 80(1): 91-100.
- 41 Xu S, Zhong M, Zhang L, Wang Y, Zhou Z, Hao Y, *et al.* Overexpression of Tfam protects mitochondria against beta-amyloid-induced oxidative damage in SH-SY5Y cells. *FEBS J* 2009; 276(14): 3800-9.
- 42 Alvarez V, Corao AI, Alonso-Montes C, Sánchez-Ferrero E, De Mena L, Morales B, *et al.* Mitochondrial transcription factor A (TFAM) gene variation and risk of late-onset Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis* 2008; 13(3): 275-80.
- 43 Akhmetov II, Popov DV, Missina SS, Vinogradova OL, Rogozkin VA. Association of the mitochondrial transcription factor (TFAM) gene polymorphism with physical performance of athletes. *Fiziol Cheloveka* 2010; 36(2): 121-5.
- 44 Bender A, Krishnan KJ, Morris CM, Taylor GA, Reeve AK, Perry RH, *et al.* High levels of mitochondrial DNA deletions in substantia nigra neurons in aging and Parkinson disease. *Nat Genet* 2006; 38(5): 515-7.
- 45 Piao Y, Kim HG, Oh MS, Pak YK. Overexpression of TFAM, NRF-1 and myr-AKT protects the MPP(+)-induced mitochondrial dysfunctions in neuronal cells. *Biochim Biophys Acta* 2012; 1820(5): 577-85.
- 46 Wollheim CB. Beta-cell mitochondria in the regulation of insulin secretion: A new culprit in type II diabetes. *Diabetologia* 2000; 43(3): 265-77.
- 47 Serradas P, Giroix MH, Saulnier C, Gangnerau MN, Borg LA, Welsh M, *et al.* Mitochondrial deoxyribonucleic acid content is specifically decreased in adult, but not fetal, pancreatic islets of the Goto-Kakizaki rat, a genetic model of noninsulin-dependent diabetes. *Endocrinology* 1995; 136(12): 5623-31.
- 48 Kanazawa A, Nishio Y, Kashiwagi A, Inagaki H, Kikkawa R, Horiike K. Reduced activity of mtTFA decreases the transcription in mitochondria isolated from diabetic rat heart. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2002; 282(4): E778-85.
- 49 Shi X, Burkart A, Nicoloso SM, Czech MP, Straubhaar J, Corvera S. Paradoxical effect of mitochondrial respiratory chain impairment on insulin signaling and glucose transport in adipose cells. *J Biol Chem* 2008; 283(45): 30658-67.
- 50 Gauthier BR, Wiederkehr A, Baquie M, Dai C, Powers AC, Kerr-Conte J, *et al.* PDX1 deficiency causes mitochondrial dysfunction and defective insulin secretion through TFAM suppression. *Cell Metab* 2009; 10(2): 110-8.
- 51 Brissova M, Shiota M, Nicholson WE, Gannon M, Knobel SM, Piston DW, *et al.* Reduction in pancreatic transcription factor PDX-1 impairs glucose-stimulated insulin secretion. *J Biol Chem* 2002; 277(13): 11225-32.
- 52 Gauthier BR, Brun T, Sarret EJ, Ishihara H, Schaad O, Descombes P, *et al.* Oligonucleotide microarray analysis reveals PDX1 as an essential regulator of mitochondrial metabolism in rat islets. *J Biol Chem* 2004; 279(30): 31121-30.
- 53 Silva JP, Köhler M, Graff C, Oldfors A, Magnuson MA, Berggren PO, *et al.* Impaired insulin secretion and beta-cell loss in tissue-specific knockout mice with mitochondrial diabetes. *Nat Genet* 2000; 26(3): 336-40.
- 54 Shi CM, Xu GF, Yang L, Fu ZY, Chen L, Fu HL, *et al.* Overexpression of TFAM protects 3T3-L1 adipocytes from NYGGF4 (PID1) overexpression-induced insulin resistance and mitochondrial dysfunction. *Cell Biochem Biophys* 2012; doi:10.1007/s12013-012-9496-1.
- 55 Gianotti TF, Sookoian S, Dieuzeide G, García SI, Gemma C, González CD, *et al.* A decreased mitochondrial DNA content is related to insulin resistance in adolescents. *Obesity (Silver Spring)* 2008; 16(7): 1591-5.
- 56 Choi YS, Kim S, Pak YK. Mitochondrial transcription factor A (mtTFA) and diabetes. *Diabetes Res Clin Pract* 2001; 54 Suppl 2: S3-9.
- 57 Gemma C, Sookoian S, Dieuzeide G, García SI, Gianotti TF, González CD, *et al.* Methylation of TFAM gene promoter in peripheral white blood cells is associated with insulin resistance in adolescents. *Mol Genet Metab* 2010; 100(1): 83-7.
- 58 Simonnet H, Alazard N, Pfeiffer K, Gallou C, Bérout C, Demont J, *et al.* Low mitochondrial respiratory chain content correlates with tumor aggressiveness in renal cell carcinoma. *Carcinogenesis* 2002; 23(5): 759-68.
- 59 Lee HC, Li SH, Lin JC, Wu CC, Yeh DC, Wei YH. Somatic mutations in the D-loop and decrease in the copy number of mitochondrial DNA in human hepatocellular carcinoma. *Mutat Res* 2004; 547(1/2): 71-8.
- 60 Guo J, Zheng L, Liu W, Wang X, Wang Z, Wang Z, *et al.* Frequent truncating mutation of TFAM induces mitochondrial DNA depletion and apoptotic resistance in microsatellite-unstable colorectal cancer. *Cancer Res* 2011; 71(8): 2978-87.
- 61 Wong TS, Rajagopalan S, Freund SM, Rutherford TJ, Andreeva A, Townsley FM, *et al.* Biophysical characterizations of human mitochondrial transcription factor A and its binding to tumor suppressor p53. *Nucleic Acids Res* 2009; 37(20): 6765-83.
- 62 Correia RL, Oba-Shinjo SM, Uno M, Huang N, Marie SK. Mitochondrial DNA depletion and its correlation with TFAM, TFB1M, TFB2M and POLG in human diffusely infiltrating astrocytomas. *Mitochondrion* 2011; 11(1): 48-53.
- 63 Han B, Izumi H, Yasuniwa Y, Akiyama M, Yamaguchi T, Fujimoto N, Matsumoto T, *et al.* Human mitochondrial transcription factor A functions in both nuclei and mitochondria and regulates cancer cell growth. *Biochem Biophys Res Commun* 2011; 408(1): 45-51.
- 64 Toki N, Kagami S, Kurita T, Kawagoe T, Matsuura Y, Hachisuga T, *et al.* Expression of mitochondrial transcription factor A in endometrial carcinomas: Clinicopathologic correlations and prognostic significance. *Virchows Arch* 2010; 456(4): 387-93.
- 65 Kurita T, Izumi H, Kagami S, Kawagoe T, Toki N, Matsuura Y, *et al.* Mitochondrial transcription factor A regulates BCL2L1 gene expression and is a prognostic factor in serous ovarian cancer. *Cancer Sci* 2012; 103(2): 239-444.
- 66 Nakayama Y, Yamauchi M, Minagawa N, Torigoe T, Izumi H, Kohno K, *et al.* Clinical significance of mitochondrial transcription factor A expression in patients with colorectal cancer. *Oncol Rep* 2012; 27(5): 1325-30.