

## 南模生物斑马鱼平台助力HSP发病机理研究

2019年6月15日，南模生物斑马鱼平台与福建医科大学附属第一医院神经内科陈万金与王柠教授团队合作在全球临床神经学顶级杂志《Brain》在线发表了题为“Stop-gain mutations in UBAP1 cause pure autosomal-dominant spastic paraplegia”的研究长文（Original Article）。

遗传性痉挛性截瘫（HSP）又称家族性痉挛性截瘫，是一种神经系统退行性变性疾病。其病理改变主要是脊髓中双侧皮质脊髓束的轴索变性或脱髓鞘，以胸段最重。临床表现为双下肢肌张力增高，腱反射活跃亢进，病理反射阳性，呈剪刀步态。2018年5月11日，中国国家卫生健康委员会等5部门联合制定了《第一批罕见病目录》，遗传性痉挛性截瘫（HSP）被收录其中。

doi:10.1093/brain/awz158

BRAIN 2019; 0; 1-15 | 1

**BRAIN**  
A JOURNAL OF NEUROLOGY

### Stop-gain mutations in *UBAP1* cause pure autosomal-dominant spastic paraplegia

Xiang Lin,<sup>1,2,\*</sup> Hui-Zhen Su,<sup>1,\*</sup> En-Lin Dong,<sup>1,\*</sup> Xiao-Hong Lin,<sup>1,\*</sup> Miao Zhao,<sup>1</sup> Can Yang,<sup>3</sup> Chong Wang,<sup>1</sup> Jie Wang,<sup>3</sup> Yi-Jun Chen,<sup>1</sup> Hongjie Yu,<sup>4</sup> Jianfeng Xu,<sup>4</sup> Li-Xiang Ma,<sup>5</sup> Zhi-Qi Xiong,<sup>3</sup> Ning Wang<sup>1,2</sup> and Wan-Jin Chen<sup>1,2</sup>

2019年6月15日，南模生物斑马鱼平台与福建医科大学附属第一医院神经内科陈万金与王柠教授团队合作在全球临床神经学顶级杂志《Brain》在线发表了题为“**Stop-gain mutations in UBAP1 cause pure autosomal-dominant spastic paraplegia**”的研究长文（Original Article）。

该研究不仅丰富了HSP致病基因谱，为基因诊断奠定了基础；而且所发现的致病基因UBAP1编码蛋白参与内体转运装置复合物I（ESCRT-I）的组成，其介导的核内体相关转运障碍可导致多种神经退行性疾病（如阿尔茨海默病、帕金森病等），因此也为该类疾病的发病机制提供了新的线索。

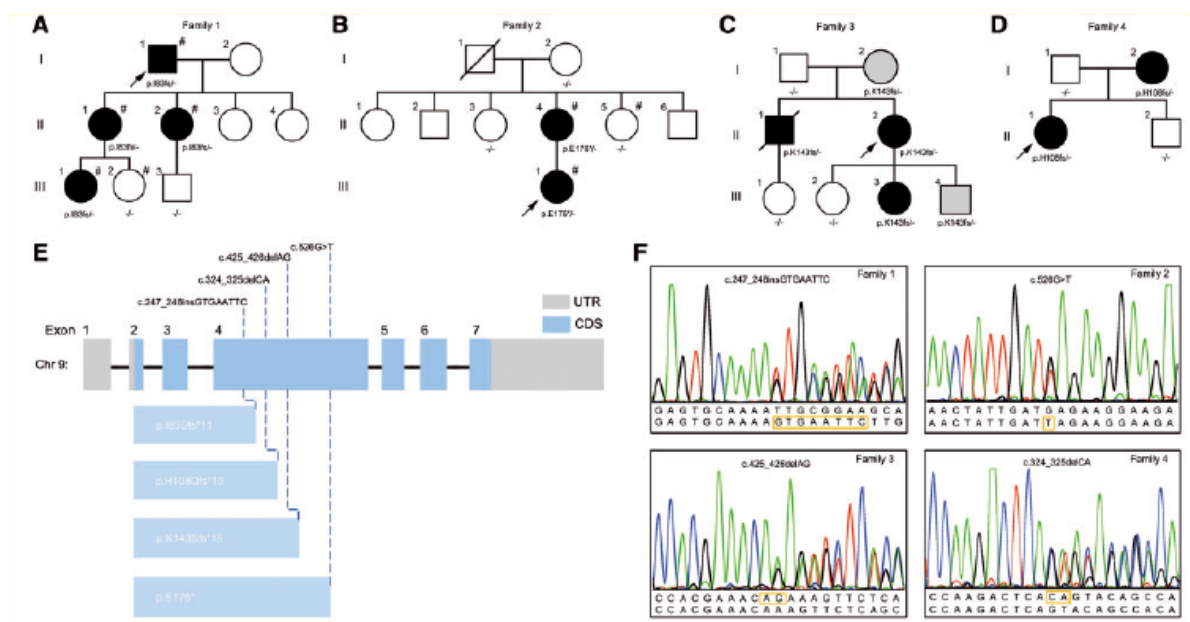


图1. 4个常染色体显性的HSP家系中，发现了UBAP1基因的无义突变。

通过靶向测序作者首先在112个HSP家庭中，发现了74个家庭中含有能够引起HSP的常见79个基因突变。为了更系统的寻找一些未知突变基因，作者通过家系四个病人（图1A）的全外显子测序并通过一定的标准筛选到5个能引起HSP的杂合突变基因：UBAP1 (c.247\_248insGTGAATTC), ARMC12 (c.274C4T), CRISP2 (c.320G4C), ZNF735 (c.1010C4T), and DNAH1 (c.2391+5g4a)。通过对（图1B-D）HSP病人的全外显子测序，发现只有UBAP1基因的突变同时出现在四个家系中，并且都导致了UBAP1蛋白翻译的提前终止。接着作者做了4个家系UBAP1基因位点的全测序，并进行了共分离分析。以上这些数据有力的证明了**UBAP1基因4个位点的无义突变可能引起了常染色体显性遗传痉挛截瘫(HSP)**。

由于UBAP1基因在人，斑马鱼和小鼠中是保守的，因此作者希望通过斑马鱼和小鼠模式生物进一步研究UBAP1基因在HSP发病过程中的生理功能。

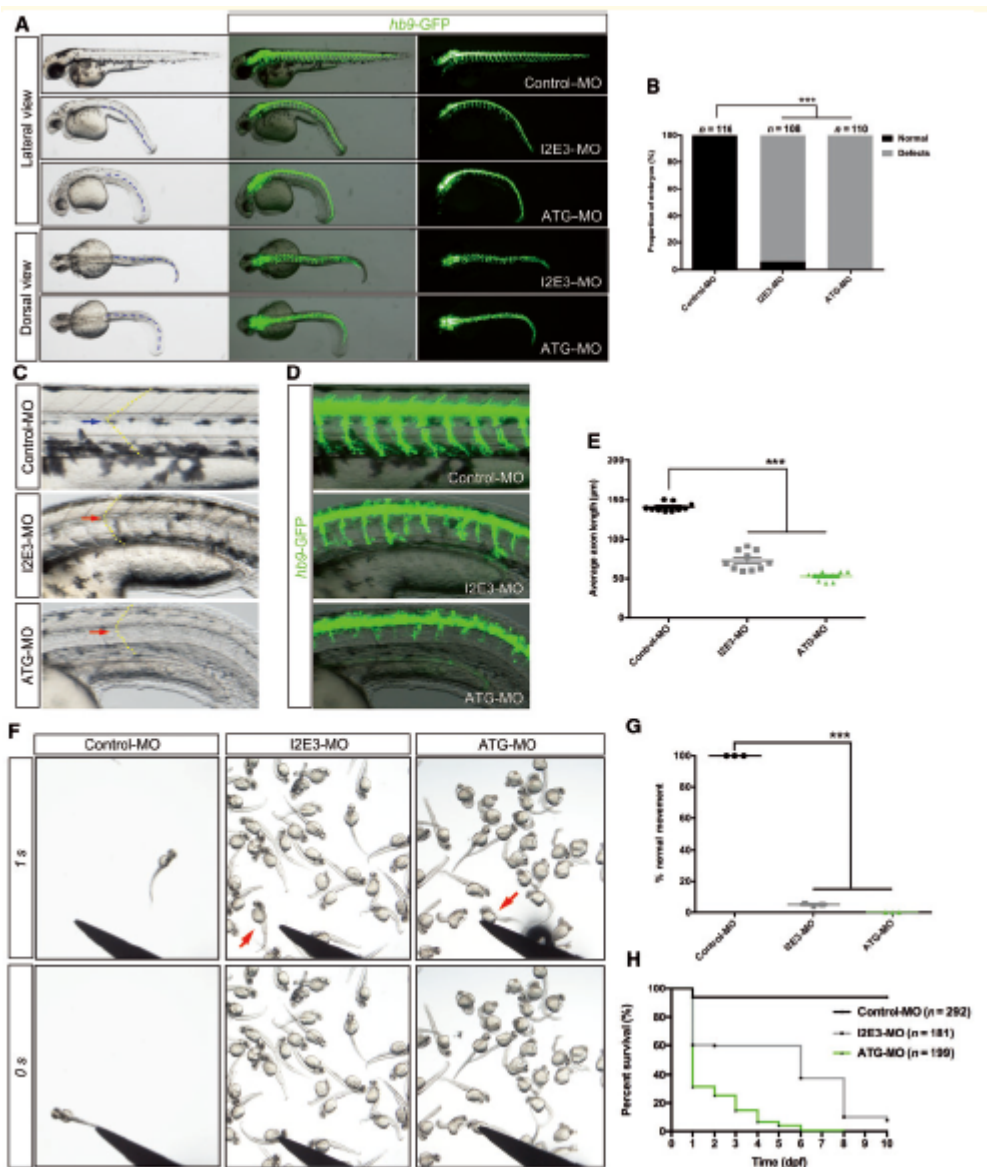


图2. *hb9:GFP*斑马鱼中*ubap1*基因生理功能的鉴定。

作者首先在南模生物构建了*ubap1*基因的MO斑马鱼模型，I2E3-MO和ATG-MO。*ubap1*基因knockdown后，斑马鱼的形态异常，幼体运动能力减弱以及寿命缩短。这些表型和SPAST，PNPLA6，GBA1等基因突变后引起的HSP表型是一致的。因此，作者推测*ubap1*基因的突变和遗传性痉挛截瘫有着直接的关系。

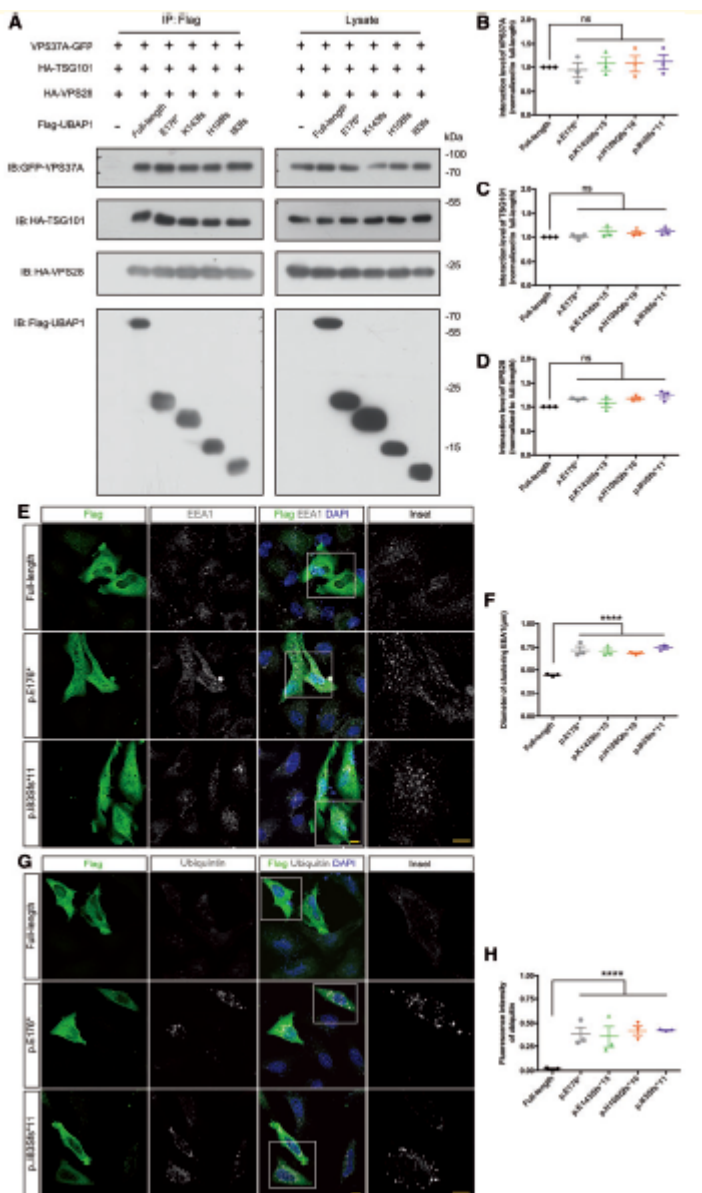


图3. 截断的UBAP1蛋白影响核内体的形成和泛素化蛋白的合成但不改变和ESCRT-1复合物的结合。

作者接下来探究分子机制。以前的研究表明，UBAP1可以通过UMA 功能域和ESCRT-1复合物结合。作者通过CO-IP（蛋白质免疫共沉淀），发现截断的UBAP1仍然可以和ESCRT-1复合物结合，且结合能力没有降低。根据以前的文献报道，作者在HeLa细胞中过表达了UBAP1的完整形式和截断形式，结果发现在过表达截断蛋白的细胞中核内体形态异常，泛素化相关蛋白增加。因此，**作者得出结论，UBAP1可能对于核内体的形成以及泛素相关蛋白的合成有着重要的作用。**

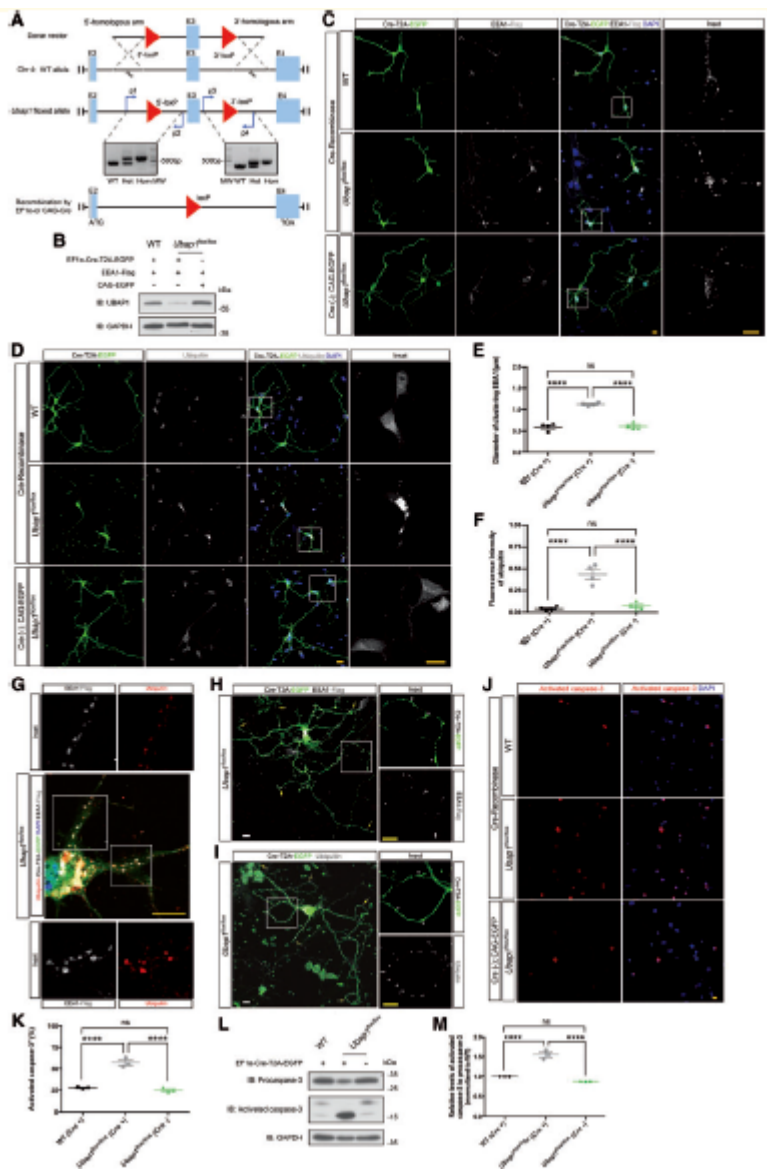


图4. 小鼠皮层神经元Ubap1基因的敲除引起核内体的增大和泛素化相关蛋白的聚集从而促进神经元的凋亡。

接着，作者构建了Ubap1的条件性敲除小鼠验证Ubap1基因的生理功能。通过和Cre小鼠交配，作者在皮层神经元内发现了初始核内体的聚集以及泛素化相关蛋白胞浆内的高表达，这和在海拉细胞中观察到的结果是一致的。并且作者发现，在Ubap1敲除的神经元轴突区域，发现了神经元凋亡的病理特征。紧接着作者在Ubap1敲除的皮层神经元中检测了标识凋亡信号的相关蛋白，结果发现在Ubap1敲除的皮层神经元中凋亡比率大大增加。

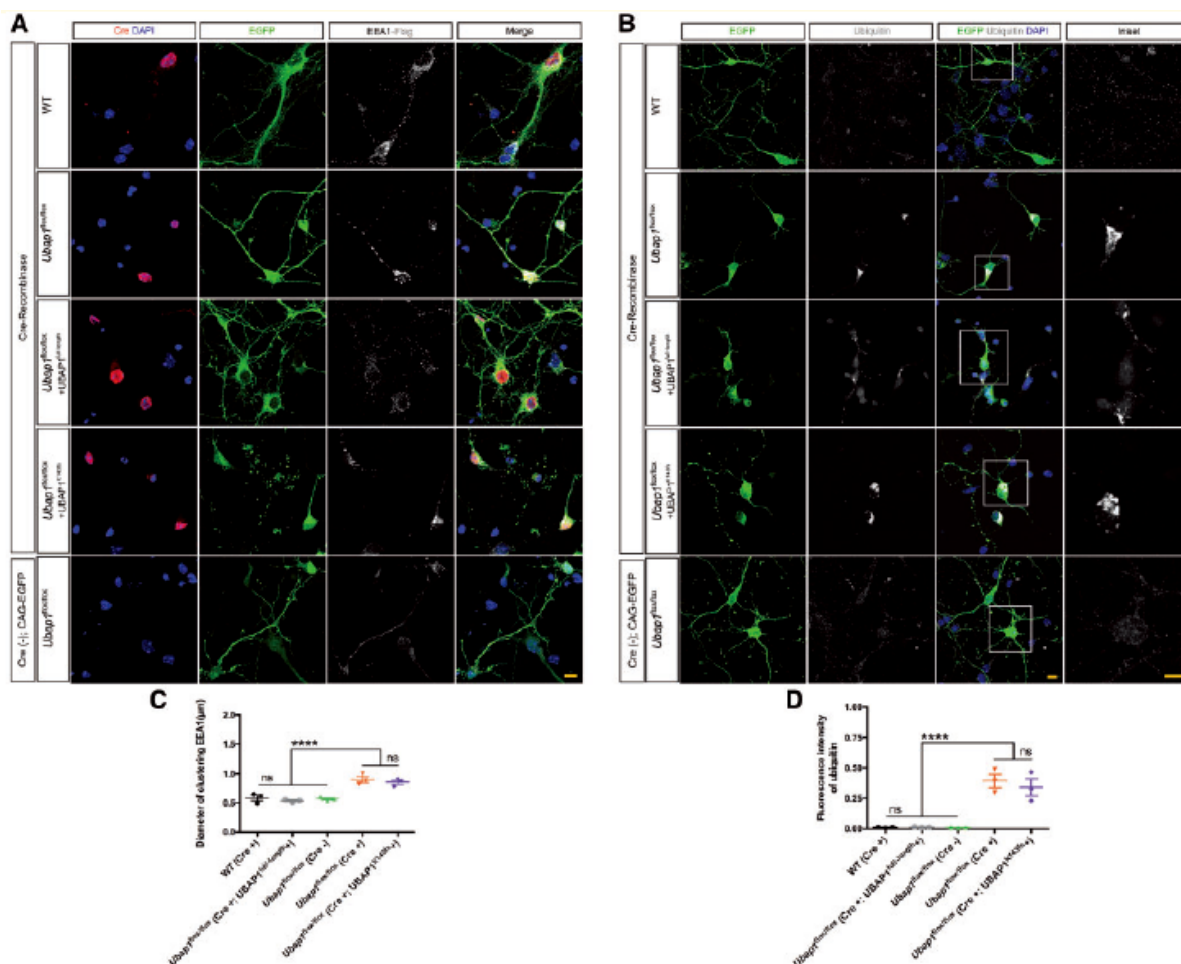


图5. 完整形式的UBAP1可以rescue皮层神经元由于缺失Ubap1而造成的表型。

最后作者通过rescue实验验证UBAP1蛋白的结构功能域。结果表明，只有UBAP1的完整形式能够rescue 皮层神经元Uabp1基因缺失造成的表型，缺少HDP-PTP结合域或者SOUBA功能域的截断形式不能rescue 皮层神经元Uabp1基因缺失造成的表型。这些结果表明在哺乳动物神经元中，UBAP1的HDP-PTP结合域和SOUBA的功能域在调控核内体的形成和泛素化相关蛋白的合成方面起着重要的作用。

综上，文中单位作者通过斑马鱼和小鼠等模式生物证明了UBAP1单基因功能缺失可导致运动神经元发育异常，进而导致人类遗传性痉挛性截瘫（HSP）。