



机械敏感性离子通道 TMEM63A 在髓鞘形成障碍相关疾病中的作用*

王君宇¹⁾ 延会芳¹⁾ 张钰¹⁾ 段若愚²⁾ 王静敏^{1)**}

(¹⁾ 北京大学第一医院儿科, 北京 100034; (²⁾ 首都医科大学附属北京儿童医院神经内科, 北京 100045)

摘要 跨膜蛋白 63A (transmembrane protein 63, TMEM63A) 是一种机械敏感性离子通道 (mechanosensitive ion channel, MSC), 在髓鞘形成过程中发挥重要作用。TMEM63A 于 2019 年与髓鞘形成低下性脑白质营养不良 19 型 (hypomyelinating leukodystrophy 19, HLD19) 相关联, 确定为 HLD19 的致病基因。髓鞘是神经系统中由少突胶质细胞形成的兼具营养轴突和加速动作电位传导的结构, 髓鞘形成障碍可表现为髓鞘形成低下、髓鞘囊性化和髓鞘变性。髓鞘中脂质含量丰富, 不同脂质参与髓鞘形成、修复和胶质细胞与轴突识别等重要过程。TMEM63A 变异导致的 HLD19 为髓鞘形成低下性疾病。TMEM63A 变异可引起渗透压改变, 细胞上 TMEM63A 跨膜蛋白受机械刺激产生电流, 从而影响少突胶质细胞分化、成熟, 导致髓鞘形成异常; 同时, TMEM63A 变异也可引起细胞膜脂质的分布异常, 影响脂质正常功能, 异常的脂质通过参与不同的髓鞘形成环节最终导致了髓鞘形成障碍。

关键词 跨膜蛋白 63A, 髓鞘形成低下性脑白质营养不良 19 型, 机械敏感离子通道, 脂质代谢

中图分类号 Q189

DOI: 10.16476/j.pibb.2022.0421

跨膜蛋白 63 (transmembrane protein 63, TMEM63) 蛋白家族成员有 TMEM63A、TMEM63B、TMEM63C, 其中 TMEM63A 是一个渗透压感受器, 被证实为机械敏感性离子通道 (mechanosensitive ion channel, MSC), 与髓鞘形成低下性脑白质营养不良 (hypomyelinating leukodystrophy, HLD) 相关, 于 2019 年被命名为 HLD19 (OMIM#618688)^[1]。除 TMEM63A 外, TMEM63B 与 TMEM63C 均为蛋白质编码基因, 倪鑫团队^[2] 于 2016 年首次克隆出小鼠 Tmem63b、Tmem63c。TMEM63B 目前尚无相关疾病报道, TMEM63C 是常染色体隐性遗传痉挛性截瘫 87 型 (OMIM#619953) 的致病基因^[3], 也是局灶节段性肾小球硬化的生物标志物^[4]。本文将对 TMEM63A 在髓鞘形成障碍相关疾病中的研究进展进行综述。

1 跨膜蛋白 63A (transmembrane protein 63A, TMEM63A)

TMEM63A 是一种蛋白质编码基因, 位于染色

体 1q42.12 (NM_014698.2), 包含 25 个外显子, 全长 37 188 bp, 于 1998 年由 Nagase 等^[5] 首次从人脑 cDNA 文库中克隆出来, 并命名为 KIAA0792。TMEM63A 编码的蛋白质为 TMEM63A 蛋白, 包含 807 个氨基酸, 是一个 10 次跨膜蛋白, 是细胞膜和溶酶体膜上表达的机械敏感性离子通道。

据报道, AtCSC1 是拟南芥 (OSCA) 中一种具有多个跨膜螺旋域的完整膜蛋白, 经高渗透压刺激激活, 介导 Ca²⁺ 跨膜转运, 在 OSCA 介导的 Ca²⁺ 信号转导过程中发挥重要作用^[6-7]。作为 AtCSC1 和 OSCA 的哺乳动物同源蛋白, TMEM63A 与上述两种蛋白质具有相同或相似的阳离子通道特性^[7]。TMEM63A 与 OSCA 均包含功能未知功能域 221 (domain of unknown function 221, DUF221), 既往研究表明, DUF221 家族蛋白是一种渗透压敏感的 Ca²⁺ 通道^[6], 高渗透压刺激下介导细胞外 Ca²⁺ 内

* 国家自然科学基金 (82071264, 82101941) 资助项目。

** 通讯联系人。

Tel: 13241909026, E-mail: wang66jm@163.com

收稿日期: 2022-09-01, 接受日期: 2022-11-01

流^[2, 6]。与OSCA类似, TMEM63A蛋白被机械刺激如局部细胞膜牵张刺激、高渗透压刺激等激活, 产生电流^[8-10]。现有在HEK293T细胞系上的研究发现, 转染野生型TMEM63A的细胞经拉伸机械刺激的诱发产生电流, 在转染TMEM63A变异的细胞中未能产生电流^[1]。此外Murthy等^[9]在2018年也发现, 来自不同种属如植物、苍蝇和哺乳动物的TMEM63/OSCA家族同源物在HEK293T细胞中表达时会诱导机械激活电流, 进一步证实了TMEM63A蛋白的MSC特性。

生理状态下, TMEM63A参与多种生理活动, 如介导阳离子转运^[9]、参与免疫功能以及疼痛发生^[11]等。TMEM63A在细胞膜和溶酶体膜上高表达 (<https://www.proteinatlas.org/ENSG00000196187-TMEM63A/subcellular>)。逆转录聚合酶链反应(RT-PCR)和酶联免疫吸附测定(ELISA)实验检测到TMEM63A在所有被检测的人体组织中均有表达, 其中, 大脑和肾脏中表达量最高^[5], 故而TMEM63A在髓鞘发育中的作用也得到了研究者的广泛关注。

2 髓鞘发育

髓鞘是脊椎动物神经系统进化中的创新, 最早在泥盆纪时期的有颌鱼中发现, 中枢神经系统的髓鞘由少突胶质细胞胞膜伸出足突包绕神经元轴突形成, 外周神经系统髓鞘主要由施旺细胞形成^[12]。中枢神经系统中, 少突胶质细胞的成熟首先由少突胶质细胞前体(oligodendrocyte progenitor cells, OPCs)分化成为髓鞘前少突胶质细胞(pre-myelinating oligodendrocytes, Pre-OLs), Pre-OLs进一步成熟产生大量胞膜包裹轴突形成髓鞘。研究表明, Ca^{2+} 具有促进OPCs分化成Pre-OLs的作用, Ca^{2+} 内流对OPCs发育和髓鞘形成具有重要意义^[13-14]。

髓鞘并非完全包裹轴突, 神经系统中髓鞘间无神经胶质细胞包裹的部分称为郎飞氏结(node of Ranvier)。动作电位沿轴突传导的速度取决于髓鞘厚度和郎飞氏结间长度, 髓鞘和郎飞氏结的产生实现了动作电位在神经系统的跳跃式传导, 传导速度增快促进了捕食和逃跑行为^[15]。髓鞘是神经系统电信号快速传导的结构基础^[16]。生理状态下, 除加速动作电位传导外, 髓鞘的另一重要作用是为被其包绕在内的轴突提供营养支持, 没有这样的轴突-神经胶质代谢耦合轴突很容易发生变性, 导致

功能异常^[17-19]。

脂质在髓鞘形成和发挥功能的过程中发挥十分重要的作用。真核生物细胞中脂质的种类主要分为甘油磷脂(glycerophospholipids)、鞘脂(sphingolipids)和胆固醇(cholesterol)3大类, 其中甘油磷脂的主要组分有磷脂酰胆碱(phosphatidylcholine, PtdCho)、磷脂酰乙醇胺(phosphatidylethanolamine, PtdEtn)、磷脂酰丝氨酸(phosphatidylserine, PtdSer)、磷脂酰肌醇(phosphatidylinositol, PtdIns)和磷脂酸(phosphatidic acids, PtdOH)^[20]。真核生物的质膜由脂质双分子层组成, 富含PtdCho(占磷脂的43%)、PtdEtn(21%)、鞘磷脂(sphingomyelin, SM)(23%)和PtdSer(4%)^[21-22]。脂质双分子层是个脂质非对称分布的结构, 生理状态下, PtdCho和SM主要分布于质膜外侧, PtdEtn和PtdSer主要分布于质膜内测^[20, 23-25]。大脑是人体中脂质含量最丰富的器官, 由于血脑屏障作用, 脑内的脂质和脂蛋白代谢也与身体其他部位不同。髓鞘是大脑脂质的最主要组成部分, 髓鞘约占人脑干重的30%^[26], 而髓鞘干重的70%~85%是脂质^[27]。在髓鞘中, 髓鞘碱性蛋白(myelin basic protein, MBP)将大部分蛋白质从致密结构中挤出, 蛋白质和脂质的总比例约为1:186。少突胶质细胞是髓鞘的主要构成细胞, 其合成的脂质约占人脑总脂质的40%^[28]。人脑髓鞘中的主要脂质除半乳糖酯(galactolipids)、胆固醇和含乙醇胺的缩醛磷脂(plasmalogens)外还有PtdEtn、PtdCho和SM^[26]。不同脂质在髓鞘形成、修复过程中发挥重要作用, 如少突胶质细胞成熟和髓鞘形成过程、刺激少突胶质细胞前体细胞迁移促进髓鞘修复(磷脂酸鞘氨醇, sphingosine-1-phosphate, S1P)^[25]、神经胶质细胞与轴突的识别与连接(神经节苷脂, ganglioside)^[26]等。

病理状态下, 髓鞘形成障碍常伴随疾病的发生, 髓鞘形成障碍性疾病根据其临床特征的不同主要分为髓鞘形成低下、髓鞘囊性化和髓鞘变性3大类^[29-31]。髓鞘形成低下的患者头颅核磁常表现为T2W相脑白质高信号, T1W相信号强度与大脑皮层基本一致; 髓鞘变性患者的头颅核磁常表现为T2W相高信号, T1W相低信号; 髓鞘囊性化患者头颅核磁典型表现为脑白质脱髓鞘表现。常见的髓鞘形成低下疾病有佩梅病、佩梅样病、先天性白内障伴髓鞘形成低下(hypomyelination with

congenital cataracts, HCC) 等; 髓鞘囊性化的常见疾病有线粒体脑肌病、Kearns-Sayre 综合征、Canavan 综合征等; 常见的髓鞘变性疾病包括 Krabbe 病、X 连锁肾上腺脑白质营养不良、异染性脑白质营养不良^[29-31]。其中, *TMEM63A* 变异导致的 HLD19 属于髓鞘形成低下型疾病。

3 *TMEM63A* 在髓鞘形成障碍中的作用

TMEM63A 变异据推测通过机械敏感离子通道和脂质代谢与髓鞘形成障碍密切相关性。*TMEM63A* 为 HLD19 的致病基因^[1], 并且与免疫功能和疼痛的发生有关^[12]。HLD 是一类婴幼儿期起病、以运动发育落后和脑白质髓鞘化低下为特征的致死致残性遗传病^[32-33], 其主要临床特征为发育迟缓、智力障碍, 患者常见头颅核磁伴随表现为髓鞘发育落后。目前已报道 24 个 HLD 类型, 其中 *TMEM63A* 变异导致的 HLD19 于 2019 年定位。HLD19 患者的主要临床表型为智力障碍/发育迟缓、眼震、肌张力低下, 头颅磁共振成像 (MRI) 提示弥漫性髓鞘化发育不良^[11], 少数已报道患者伴癫痫^[34-35] 和脊柱 MRI 背侧和外侧脊柱脊髓髓鞘减少的表现^[35]。与其他类型 HLD 不同, HLD19 患者的部分临床表现为“一过性”, 即眼震、髓鞘化落后表现可随年龄增长而逐渐改善甚至追赶发育至正常水平。

由于 *TMEM63A* 与 *OSCA* 为同源物, 均为机械敏感性离子通道, 具有相同的功能域, 据推测, *TMEM63A* 变异引起渗透压改变和/或胞膜牵张刺激, 激活 *TMEM63A* 蛋白的机械敏感性阳离子转运通道, 介导细胞外 Ca^{2+} 内流^[6, 9], 导致细胞外 Ca^{2+} 内流障碍, 影响 OPCs 向 Pre-OLs 的分化, 少突胶质细胞的发育和髓鞘的形成受到影响, 最终导致 HLD 的发生^[10]。

此外, 脂质在少突胶质细胞成熟和髓鞘形成过程、促进髓鞘修复、神经胶质细胞与轴突的识别与连接等过程中发挥重要作用, 据推测, 当 *TMEM63A* 变异引起细胞内外阳离子分布异常时, 细胞内外环境极性改变, 可能影响正常脂质分布, 脂质分布异常影响脂质功能的发挥, 进而在髓鞘形成的不同阶段影响髓鞘形成、修复。

4 总 结

TMEM63 家族成员 *TMEM63A* 与拟南芥为同源蛋白, 是机械敏感性离子通道, 在机械刺激下可介导阳离子的跨膜转运, 在髓鞘形成、免疫和疼痛

的发生过程中发挥重要作用。髓鞘是中枢神经系统中的重要结构, 具有加速动作电位传导和营养轴突的作用, Ca^{2+} 参与构成髓鞘的少突胶质细胞的成熟和分化。髓鞘中富含丰富的脂质, 不同种类脂质在髓鞘形成、修复和胶质细胞与轴突识别过程中发挥着重要作用。当髓鞘形成异常时会导致不同类型疾病的发生, 常见的髓鞘形成障碍疾病可分为髓鞘形成低下、髓鞘囊性化和髓鞘变性 3 大类。据推测, 当 *TMEM63A* 变异时, 其编码的 *TMEM63A* 蛋白因渗透压改变、膜牵张刺激而激活阳离子通道特性, 胞外 Ca^{2+} 内流入胞内, 影响少突胶质细胞的成熟和分化, 导致髓鞘形成低下, 同时, 离子浓度的改变引起细胞内外极性的变化, 引起细胞内外脂质分布或功能异常, 影响髓鞘形成、修复等环节, 共同作用导致髓鞘形成或功能障碍。

参 考 文 献

- [1] Yan H, Helman G, Murthy S E, *et al.* Heterozygous variants in the mechanosensitive ion channel *TMEM63A* result in transient hypomyelination during infancy. *Am J Hum Genet*, 2019, **105**(5): 996-1004
- [2] Zhao X, Yan X, Liu Y, *et al.* Co-expression of mouse *TMEM63A*, *TMEM63B* and *TMEM63C* confers hyperosmolarity activated ion currents in HEK293 cells. *Cell Biochem Funct*, 2016, **34**(4): 238-241
- [3] Tábara L C, Al-Salmi F, Maroofian R, *et al.* *TMEM63C* mutations cause mitochondrial morphology defects and underlie hereditary spastic paraplegia. *Brain*, 2022, **145**(9): 3095-3107
- [4] Schulz A, Müller N V, van de Lest N A, *et al.* Analysis of the genomic architecture of a complex trait locus in hypertensive rat models links *Tmem63c* to kidney damage. *Elife*, 2019, **8**: e42068
- [5] Nagase T, Ishikawa K, Suyama M, *et al.* Prediction of the coding sequences of unidentified human genes. XI. The complete sequences of 100 new cDNA clones from brain which code for large proteins *in vitro*. *DNA Res*, 1998, **5**(5): 277-286
- [6] Hou C, Tian W, Kleist T, *et al.* DUF221 proteins are a family of osmosensitive calcium-permeable cation channels conserved across eukaryotes. *Cell Res*, 2014, **24**(5): 632-635
- [7] Yuan F, Yang H, Xue Y, *et al.* *OSCA1* mediates osmotic-stress-evoked Ca^{2+} increases vital for osmosensing in *Arabidopsis*. *Nature*, 2014, **514**(7522): 367-371
- [8] Liu X, Wang J, Sun L. Structure of the hyperosmolality-gated calcium-permeable channel *OSCA1.2*. *Nat Commun*, 2018, **9**(1): 5060
- [9] Murthy S E, Dubin A E, Whitwam T, *et al.* *OSCA/TMEM63* are an evolutionarily conserved family of mechanically activated ion channels. *Elife*, 2018, **7**: e41844
- [10] Douguet D, Honore E. Mammalian mechanoelectrical transduction: structure and function of force-gated ion channels.

- Cell, 2019, **179**(2): 340-354
- [11] Pu S, Wu Y, Tong F, *et al.* Mechanosensitive ion channel TMEM63A gangs up with local macrophages to modulate chronic post-amputation pain. *Neurosci Bull*, 2022, **12**: 9-22
- [12] Monje M. Myelin plasticity and nervous system function. *Annu Rev Neurosci*, 2018, **41**: 61-76
- [13] Santiago Gonzalez DA, Cheli V T, Zamora N N, *et al.* Conditional deletion of the L-type calcium channel cav1.2 in NG2-positive cells impairs remyelination in mice. *J Neurosci*, 2017, **37**(42): 10038-10051
- [14] Paez P M, Fulton D, Colwell C S, Campagnoni A T. Voltage-operated Ca(2+) and Na(+) channels in the oligodendrocyte lineage. *J Neurosci Res*, 2009, **87**(15): 3259-3266
- [15] Zalc B, Goujet D, Colman D. The origin of the myelination program in vertebrates. *Curr Biol*, 2008, **18**(12): R511-R512
- [16] Tsuchiya M, Hara Y, Okuda M, *et al.* Cell surface flip-flop of phosphatidylserine is critical for PIEZO1-mediated myotube formation. *Nat Commun*, 2018, **9**(1): 2049
- [17] Brown A M, Evans R D, Black J, *et al.* Schwann cell glycogen selectively supports myelinated axon function. *Ann Neurol*, 2012, **72**(3): 406-418
- [18] Funfschilling U, Supplie L, Mahad D, *et al.* Glycolytic oligodendrocytes maintain myelin and long-term axonal integrity. *Nature*, 2012, **485**(7399): 517-521
- [19] Saab A S, Tzvetanova I D, Nave K A. The role of myelin and oligodendrocytes in axonal energy metabolism. *Curr Opin Neurobiol*, 2013, **23**(6): 1065-1072
- [20] Segawa K, Kikuchi A, Noji T, *et al.* A sublethal ATP11A mutation associated with neurological deterioration causes aberrant phosphatidylcholine flipping in plasma membranes. *J Clin Invest*, 2021, **131**(18): e148005
- [21] Vance J E. Phospholipid synthesis and transport in mammalian cells. *Traffic*, 2005, **16**(1): 1-18
- [22] Yang Y, Lee M, Fairn G D. Phospholipid subcellular localization and dynamics. *J Biol Chem*, 2018, **293**(17): 6230-6240
- [23] He Y, Xu J, Wu X, *et al.* Structures of a P4-ATPase lipid flippase in lipid bilayers. *Protein Cell*, 2020, **11**(6): 458-463
- [24] Contreras F X, Sánchez-Magraner L, Alonso A, *et al.* Transbilayer (flip-flop) lipid motion and lipid scrambling in membranes. *FEBS Lett*, 2010, **584**(9): 1779-1786
- [25] Giussani P, Prinetti A, Tringali C. The role of sphingolipids in myelination and myelin stability and their involvement in childhood and adult demyelinating disorders. *J Neurochem*, 2021, **156**(4): 403-414
- [26] Schmitt S, Castelvetti L C, Simons M. Metabolism and functions of lipids in myelin. *Biochim Biophys Acta*, 2015, **1851**(8): 999-1005
- [27] Wang C, Palavicini J P, Han X. Lipidomics profiling of myelin. *Methods Mol Biol*, 2018, **1791**: 37-50
- [28] Norton W T. Biochemistry of myelin. *Adv Neurol*, 1981, **31**: 93-121
- [29] Van der Knaap M S, Bugiani M. Leukodystrophies: a proposed classification system based on pathological changes and pathogenetic mechanisms. *Acta Neuropathol*, 2017, **134**(3): 351-382
- [30] Ashrafi M R, Amanat M, Garshasbi M, *et al.* An update on clinical, pathological, diagnostic, and therapeutic perspectives of childhood leukodystrophies. *Expert Rev Neurother*, 2020, **20**(1): 65-84
- [31] Köhler W, Curiel J, Vanderver A. Adulthood leukodystrophies. *Nat Rev Neurol*, 2018, **14**(2): 94-105
- [32] Wolf N I, Harting I, Boltshauser E, *et al.* Leukoencephalopathy with ataxia, hypodontia, and hypomyelination. *Neurology*, 2005, **64**(8): 1461-1464
- [33] Schiffmann R, Van Der Knaap M S. Invited article: an MRI-based approach to the diagnosis of white matter disorders. *Neurology*, 2009, **72**(8): 750-759
- [34] Fukumura S, Hiraide T, Yamamoto A, *et al.* A novel *de novo* TMEM63A variant in a patient with severe hypomyelination and global developmental delay. *Brain Dev*, 2022, **44**(2): 178-183
- [35] Tonduti D, Mura E, Masnada S, *et al.* Spinal cord involvement and paroxysmal events in "Infantile onset transient hypomyelination" due to TMEM63A mutation. *J Hum Genet*, 2021, **66**(10): 1035-1037

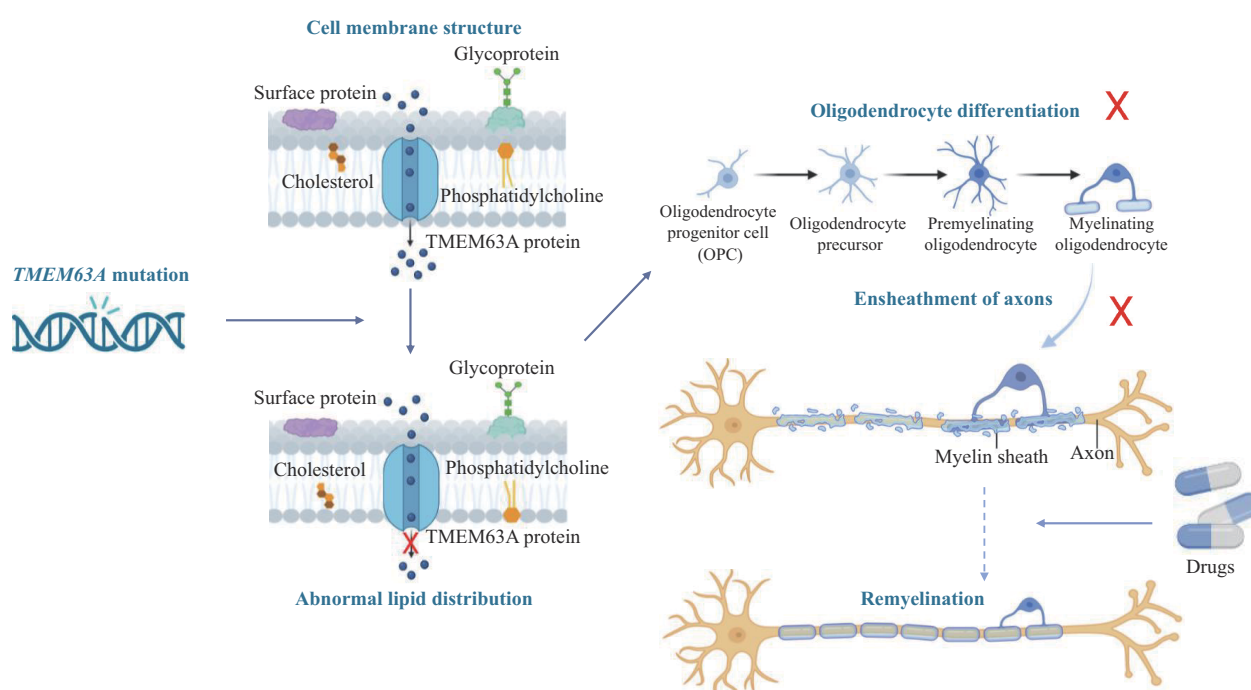
The Role of Mechanically Sensitive Channel TMEM63A in Hypomyelination*

WANG Jun-Yu¹⁾, YAN Hui-Fang¹⁾, ZHANG Yu¹⁾, DUAN Ruo-Yu²⁾, WANG Jing-Min^{1)**}

¹⁾Department of Pediatrics, Peking University First Hospital, Beijing 100034, China;

²⁾Department of Neurology, Beijing Children's Hospital, Beijing 100045, China)

Graphical abstract



Abstract Transmembrane protein 63 (TMEM63A) is a mechanosensitive ion channel (MSC) that plays an important role in the process of myelination. *TMEM63A* was identified as the causative gene of hypomyelinating leukodystrophy 19 (HLD19) in 2019. Myelin is a structure formed by oligodendrocytes in the nervous system, which has both nutrient axons and accelerated action potential conduction. Myelin dysfunction can be manifested as hypomyelination, demyelination and myelin vacuolization. Myelin is rich in lipids, and different lipids are

* This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (82071264, 82101941).

** Corresponding author.

Tel: 86-13241909026, E-mail: wang66jm@163.com

Received: September 1, 2022 Accepted: November 1, 2022

involved in important processes such as myelination, repairment and recognition of glial cells and axons. HLD19 caused by *TMEM63A* variants is a hypomyelinating disease. *TMEM63A* variants can cause changes in osmotic pressure, and TMEM63A transmembrane protein on cells can be mechanically stimulated to generate electric current, thus affecting oligodendrocyte differentiation and maturation, resulting in abnormal myelination. At the same time, *TMEM63A* variations can also cause abnormal distribution of cell membrane lipids, affecting the normal function of lipids. Abnormal lipids by participating in different myelination links eventually lead to myelination disorders.

Key words *TMEM63A*, hypomyelinating leukodystrophy 19, mechanosensitive ion channel, lipid metabolism

DOI: 10.16476/j.pibb.2022.0421