

Parkin, Parkin 底物和帕金森病 *

周海燕 陈生弟 **

(上海交通大学附属瑞金医院神经科, 帕金森病诊疗与研究中心, 上海 200025)

摘要 *Parkin* 是隐性遗传性少年型帕金森病的致病基因. 现认为 *Parkin* 行使泛素蛋白连接酶功能, 参与蛋白质的泛素化过程. 它的功能缺陷致使其底物蛋白质毒性积聚, 从而介导多巴胺能神经元选择性死亡. 越来越多的研究显示 *Parkin* 还具有神经保护作用, 能对抗多种神经毒性刺激, 并且可能参与路易体的形成过程, 因此认为它在散发性帕金森病的致病过程中也可能起重要作用.

关键词 *Parkin*, 帕金森病, 泛素蛋白连接酶

学科分类号 R742.5

帕金森病 (Parkinson's disease, PD) 是仅次于阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 的第二大神经退行性疾病, 以静止性震颤、肌强直、运动迟缓和姿势反射障碍为主要临床特征. PD 的发病机制十分复杂, 是多个致病基因、多种致病因子(环境因素)和多条致病途径(包括氧化应激、兴奋性毒性、线粒体功能障碍、炎症和凋亡)之间错综复杂交互作用的结果. 目前认为 PD 不是单个的疾病, 而很可能代表了一组相互间似有关联的疾病, 大量的研究一直试图寻找它们之间的共同通路. 隐性遗传性少年型帕金森病 (autosomal recessive juvenile parkinsonism, ARJP) 的致病基因 *parkin*, 其表达产物具有泛素蛋白连接酶 (ubiquitin-protein ligase, E₃) 功能^[1], 由此在家族性 PD 和散发性 PD 架起了一座沟通的桥梁. 已经证实, 散发性 PD 患者脑内存在泛素蛋白酶体系统功能障碍^[2], 而其他几个家族性 PD 的致病基因亦可纳入这一途径. ARJP 中, PD 经典的病理特征路易小体 (lewy body, LB) 的缺如和发病的显著提前, 使人们推测 *Parkin* 在散发性 PD 发病过程中也可能起着举足轻重的作用. 本文重点对 *Parkin* 在家族性和散发性 PD 发病中作用的研究现状作一综述.

1 *Parkin* 和 *Parkin* 底物

自 *parkin* 被确定为 ARJP 的致病基因后, 对它的结构和功能展开了一系列研究. 已经明确 *Parkin* 由氨基端泛素样结构域和羧基端两个环指 (real interesting new gene finger, RING-finger) 基序 RING1、RING2 组成^[1]. 与另一些具有环指基序的蛋白质一样, *Parkin* 作为 E₃ 泛素蛋白连接酶参与

蛋白质泛素化过程^[1,3]. 蛋白质泛素化需要三个步骤: 首先, 泛素活化酶 (ubiquitin-activating enzyme, E₁) 活化泛素; 接着, 活化的泛素被转移至泛素结合酶 (ubiquitin-conjugating enzyme, E₂); 最后, E₂ 泛素结合酶与 E₃ 泛素蛋白连接酶协同泛素化底物蛋白^[4]. *Parkin* 突变后, 其 E₃ 连接酶功能缺陷, 底物蛋白泛素化障碍, 于是未泛素化的蛋白质毒性积聚, 最终导致多巴胺 (dopamine, DA) 能神经元死亡——这是假定的 ARJP 发病机制. 鉴于此, *Parkin* 底物的鉴定成了探讨 *Parkin* 在 ARJP 发病中作用的关键. 目前为止已确定了如下几个底物, 包括 CDCrel-1^[5]、*Parkin* 相关的类内皮素受体 (*Parkin*-associated endothelin receptor-like, Pael-R)^[5]、糖基化 α -Synuclein (22-kilodalton glycosylated form of α -synuclein α , Sp22)^[6]、Synphilin-1^[7]、 α/β -Tubulin^[8]、Cyclin E^[9]、氨酰 tRNA 合成酶复合体的 p38 亚单位^[10]、Synaptotagmin XI (Syt XI)^[11] 和 SEPT5_v2^[12]. 其中 CDCrel-1、SEPT5_v2 和 Syt XI 属于突触囊泡相关蛋白, α/β -Tubulin 属于细胞骨架蛋白, Pael-R 属于内质网应激蛋白, p38 属于蛋白质生物合成骨架蛋白, Cyclin E 属于凋亡相关蛋白, 而 α -Synuclein 和 Synphilin-1 虽然功能并不是很明确, 但它们是构成 LB 的主要成分, 与突触功能密切相关. 这些底物蛋白在细胞中的功能各异, 它们的积聚是否会导致 DA 能神经元特异性死亡, 以及如何

*国家自然科学基金资助项目(30471918).

** 通讯联系人.

Tel: 021-64370045-663549, E-mail: chen_sd@medmail.com.cn

收稿日期: 2005-05-23, 接受日期: 2005-06-29

参与这一过程是研究的重点所在。

2 Parkin 底物和 PD

2.1 Parkin 底物和 ARJP

CDCrel-1 是第一个被确定的 Parkin 底物^[3], 和另一个底物蛋白 SEPT5_v2 一样, 同属 septin 家族成员. 这个家族构成三磷酸鸟苷酶, 是不同有机体完成胞浆运动的必需成员^[3], 在脑内可能参与突触囊泡的运输、融合或再循环. CDCrel-1 不能被家族性突变型 Parkin 所降解^[3], 如此细胞内 CDCrel-1 水平升高, 抑制 DA 释放, 最终导致 ARJP. 动物实验验证了这一设想: Dong 等^[14]将人 CDCrel-1 经腺相关病毒载体介导, 立体定向过表达在大鼠的黑质致密部和苍白球部, 结果 DA 能神经元选择性死亡. 更有意义的是, 发现 CDCrel-1 的毒性依赖于 DA, 因为用特异的酪氨酸羟化酶 (tyrosine hydroxylase, TH) 抑制剂来减少 DA 的合成就能够阻止 DA 能神经元退行性变. 体外实验表明过表达 CDCrel-1 能抑制 PC12 细胞释放 DA^[14], 进一步提示 CDCrel-1 可能负性调节 DA 的释放, 而 DA 释放的慢性抑制可能最终导致由 DA 介导的神经元死亡. ARJP 患者脑中 CDCrel-1 和 SEPT5_v2 水平的升高^[12]也暗示了它们在 ARJP 发病中的重要作用, 然而 CDCrel-1 和 SEPT5_v2 升高到何种水平才有可能促进 ARJP 的病理生理过程尚属未知.

另一个在 ARJP 患者脑中积聚的底物蛋白是 Pael-R, 它是一个假定的 G 蛋白耦联跨膜蛋白^[5]. 在细胞中过表达时, Pael-R 很容易错误折叠形成积聚物, 造成内质网(endoplasmic reticulum, ER)应激, 并通过 ER 特异的凋亡途径诱导细胞死亡. Parkin 能泛素化和降解不溶性 Pael-R, 从而抑制 Pael-R 诱导的细胞死亡^[5]. Pael-R 的特异性组织分布进一步提示 Pael-R 的积聚很可能是 ARJP 的致病因子. 研究发现 Pael-R 的神经元表达限制在黑质的 DA 能神经元和 CA3 区的海马神经元亚群, 这与 ARJP 中发现的选择性 DA 能神经元死亡分布一致^[5]. 最近 Yang 等^[15]在果蝇中表达 Pael-R, 建立了 ARJP 的 DA 能神经元退变的果蝇模型, 提示 DA 能神经元对 Pael-R 毒性具有特殊的敏感性, 为 PD 特异性细胞类型发生退变的机理提供新的线索.

p38 是最近确定的 Parkin 底物, 泛素样结构域或环指基序缺失的 Parkin 不能泛素化 p38^[16]. SH-SY5Y 细胞中过表达 p38 会导致细胞死亡, 而外源性过表达 Parkin 能促进 p38 聚集到泛素阳性

包涵体中, 同时部分地阻止 p38 诱导的细胞死亡, 这提示非泛素化非聚集的 p38 积聚是有害的, 它可能参与 ARJP 的致病过程^[16].

Parkin 的另一个底物 Cyclin E 的积聚使 DA 能神经元对红藻氨酸盐 (kainite) 兴奋性毒性的敏感性增加^[9]. 已知谷氨酸 (glutamic acid, Glu) 兴奋性毒性参与散发性 PD 的发病, 切断兴奋性输入能保护 DA 能神经元^[16], 因此 Parkin 缺失可能使中脑 DA 能神经元更易对兴奋性毒性敏感, 而这可能正是 parkin 突变导致 ARJP 的情况.

其他蛋白质底物在 ARJP 中的作用机制还不明确, 虽然病理研究提示 ARJP 患者脑中 Synphilin-1 水平升高^[17]或非泛素化 α Sp22 积聚^[6].

2.2 Parkin 底物和散发性 PD

Parkin 的某些底物蛋白质还可能参与散发性 PD 的发病过程. Ihara 等^[18]在 LB 中检测到了 septin. Syt XI^[11]和 p38^[10]亦存在于特发性 PD 患者黑质神经元 LB 的中心核内, 这也是 Parkin 和另一底物 Synphilin-1 的经典位置^[19,20]. 这个定位提示它们很可能是属于原发积聚, 是 LB 形成中的早期事件, 而不是继发地沉积在已存在的 LB 中. 共表达 p38 和 Parkin 能形成积聚小体 (aggresome) 样包涵体, 并俘获 Parkin、蛋白酶体 20 S 亚单位以及热休克蛋白 (heat shock protein, HSP) HSP70 和 HSP40 这些细胞内关键成分^[10], 因此可能扰乱细胞代谢和扩大细胞应激. Synphilin-1 更是作为联系 Parkin 和 α -Synuclein 的纽带被深入研究. Synphilin-1 是 LB 致密核心部分的主要成分^[20], 在细胞中过表达时能形成包含 α -Synuclein 的泛素化包涵体, 并增加细胞对蛋白酶体损害的敏感性^[21], 由此可能强化了 PD 患者黑质中已经受损的蛋白酶体功能的细胞毒性效应^[1]. 而蛋白酶体功能受损又为多泛素化 Synphilin-1 累积形成大的 LB 提供必要的细胞和生化环境, 从而造成恶性循环.

3 Parkin 和 PD

已经非常明确 parkin 突变导致 ARJP, 但 Parkin 功能缺失的动物模型并没有为此提供有力证据. Itier 等^[22]和 Goldberg 等^[23]的研究都显示, parkin 基因失活的小鼠表现出运动缺陷, 突触兴奋性降低, DA 和 Glu 神经递质释放抑制, DA 氧化代谢增强. 然而 ARJP 特征性病理改变——黑质 DA 能神经元的严重丢失并没有发生, 而且 Parkin 的底物 CDCrel-1、 α -Synuclein 和 Synphilin-1 的表达水

平也没有改变. 因此, 体内研究对 Parkin 功能的解释是有限的, 相反的, 却提出了更多的疑问.

但体外研究还是卓有成效的, 主要集中在过表达 Parkin 的神经保护作用以及它与包涵体形成之间关系的探讨.

上文已提及, 过表达 Parkin 能保护神经元抵抗过表达或内源性底物蛋白积聚的毒害. 除此之外, 过表达 Parkin 还能抵抗突变型 α -Synuclein 诱导的毒性^[24], 提示 Parkin 有可能参与其他家族性 PD 的发病过程. Parkin 是否也在散发性 PD 的发病过程中起关键作用? 解答这一问题不仅有助于 Parkin 功能的探讨, 还能为 PD 的治疗提供又一条途径.

Staropoli 等^[9]发现过表达 Parkin 能保护 DA 能神经元抵抗红藻氨酸盐介导的凋亡. Darios 等^[25]更是在 PC12 细胞中对 Parkin 的神经保护作用进行广泛而深入的研究. 这项研究采用可诱导性 *parkin* 表达载体使其在细胞内进行稳定的可调控的表达, 结果发现 Parkin 只能保护 PC12 抵抗神经酰胺 (ceramide) 的细胞毒性, 而对于其他死亡诱导因子如过氧化氢 (H_2O_2)、4-羟基壬烯醛 (4-hydroxynonenal)、鱼藤酮 (rotenone)、6-羟基多巴胺 (6-OHDA)、氨基端糖基化抑制剂衣霉素 (tunicamycin)、2-巯基乙醇 (2-mercaptoethanol) 和 PKC 抑制剂 staurosporine 等却没有保护作用. 蛋白酶体抑制剂 epoxomicin 和 *parkin* 突变体会消除这一保护作用, 提示 Parkin 的 E_3 连接酶功能介导了这一神经保护作用. 研究进一步提示 Parkin 是通过延缓线粒体肿胀和随后的细胞色素 c 释放及 caspase-3 激活来抵抗神经酰胺的细胞毒性, 而且亚细胞组分分析显示 Parkin 在线粒体外膜富集. 因此认为, Parkin 可能通过促进位于线粒体上的未知底物的降解, 参与神经酰胺介导的细胞死亡的晚期线粒体阶段. 然而在人神经母细胞瘤细胞系 SH-SY5Y 中的研究却与之不尽一致. Jiang 等^[26]发现 Parkin 能抵抗 DA 和 6-OHDA 毒性, 但不能保护细胞免受 H_2O_2 和鱼藤酮的毒害. 其保护作用是通过降低氧化应激和抑制后续凋亡程序的激活如 JNK/caspase 途径来实现的. 而 Muqit 等^[27]却发现稳定过表达 Parkin 对 DA 和 staurosporine 的毒性无抵抗作用, 但能保护细胞对抗蛋白酶体抑制剂 MG-132 和衣霉素的毒性. 研究所用细胞系和方法学的差异可能是造成分歧的原因之一. 重金属也是散发性 PD 的危险因子, 最近 Higashi 等^[28]的研究显示 Parkin 能抵抗锰或锰加 DA 的毒性从而保护

SH-SY5Y.

除了神经保护作用, Parkin 在 LB 形成中的作用也是关注的重点. 因为 LB 是散发性 PD 的特征性病理标志, 而 Parkin 功能缺失的患者其神经元中 LB 缺如, 由此认为 Parkin 在 LB 形成过程中起重要作用. Chung 等^[7]发现, Parkin 和 Synphilin-1 在 HEK293 细胞中过表达对形成泛素、 α -Synuclein 和 Synphilin-1 免疫反应阳性的包涵体是必需的. Ardley 等^[29]也发现, 在神经元细胞系 SH-SY5Y 和非神经元细胞系 U138MG 或 COS-7 中, 过表达 Parkin 并加用蛋白酶体抑制剂, 可以在胞浆内形成包涵体, 而 Parkin 的一个结构相似体 HHARI 在相同情况下并不能形成包涵体, 由此推测 PD 患者脑中 LB 的形成是由于已经降低的蛋白酶体活性促使 Parkin 积聚, 进而其连接酶活性降低, 此恶性循环最终产生 LB. 但 Lee 等^[30]却发现在稳定表达 Synphilin-1 的 HEK293 细胞和瞬时过表达 Synphilin-1 的 NS20Y 细胞中, 无需 *parkin* 转染就可形成相似的包涵体. 究其原因, 内源性 Parkin 表达可能是其中的一个因素, 虽然 NS20Y 细胞是否表达内源性 Parkin 还不能肯定, 但 HEK293 细胞的内源性 Parkin 表达是经 RT-PCR 证实的. Muqit 等^[27]和 Higashi 等^[28]在表达内源性 Parkin 的 SH-SY5Y 细胞中单纯加入刺激因子就能产生相似的积聚小体, 这些结果也支持这一观点.

Parkin 有神经保护作用, 并参与积聚小体或包涵体的形成 (现认为 LB 和积聚小体有同样的形成机制^[30]), 因此猜想积聚小体或 LB 是细胞对抗毒害的一种保护措施. 确实, 外源性过表达 Parkin 能促进 p38 聚集到泛素阳性包涵体中, 同时部分阻止 p38 诱导的细胞死亡^[30]. 我们的研究也显示, 过表达 Parkin 在抵抗较高浓度 (20 μ mol/L) 蛋白酶体抑制剂 lactacystin 的同时, 促进泛素阳性包涵体的形成^[31]. 然而 Muqit 等^[27]的研究并不完全赞成这一观点, 他们发现, 在 SH-SY5Y 细胞系中稳定过表达 Parkin 对 MG-132 毒性的抵抗是与包涵体形成减少同步的, 而且对衣霉素毒性的抵抗与包涵体形成无关. 这些实验结果的分歧很可能是因为细胞对不同的刺激会产生不同的应激反应, 但具体的反应通路还有待于进一步研究确定.

4 结 语

泛素蛋白酶体系统功能障碍受到越来越多的关注, 它极有可能是家族性和散发性 PD 致病共同

通路. Parkin 作为 E₃ 泛素连接酶直接参与底物蛋白泛素化过程, 它的功能缺陷使得未泛素化底物蛋白毒性积聚从而导致 DA 能神经元选择性死亡. 虽然 Parkin 功能缺失的动物模型并没有为 *parkin* 突变的致病机理提供有力证据, 但体外实验显示, 正常功能的 Parkin 能对抗多种细胞毒性因子, 并参与包涵体的形成, 不仅为 *parkin* 突变在 ARJP 的作用机制提供反证, 而且还暗示了 Parkin 在散发性 PD 中可能的神经保护作用.

参 考 文 献

- Shimura H, Hattori N, Kubo S, *et al.* Familial Parkinson disease gene product, parkin, is a ubiquitin-protein ligase. *Nat Genet*, 2000, **25** (3): 302~305
- McNaught K S, Jenner P. Proteasomal function is impaired in substantia nigra in Parkinson's disease. *Neurosci Lett*, 2001, **297** (3): 191~194
- Zhang Y, Gao J, Chung K K, *et al.* Parkin functions as an E2-dependent ubiquitin-protein ligase and promotes the degradation of the synaptic vesicle-associated protein, CDCrel-1. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, **97** (24): 13354~13359
- Ciechanover A, Orian A, Schwartz A L. Ubiquitin-mediated proteolysis: biological regulation via destruction. *BioEssays*, 2000, **22** (5): 442~451
- Imai Y, Soda M, Inoue H, *et al.* An unfolded putative transmembrane polypeptide, which can lead to endoplasmic reticulum stress, is a substrate of Parkin. *Cell*, 2001, **105** (7): 891~902
- Shimura H, Schlossmacher M G, Hattori N, *et al.* Ubiquitination of a new form of alpha-synuclein by parkin from human brain: implications for Parkinson's disease. *Science*, 2001, **293** (5528): 263~269
- Chung K K, Zhang Y, Lim K L, *et al.* Parkin ubiquitinates the alpha-synuclein-interacting protein, synphilin-1: implications for Lewy-body formation in Parkinson disease. *Nat Med*, 2001, **7**(10): 1144~1150
- Ren Y, Zhao J, Feng J. Parkin binds to alpha/beta tubulin and increases their ubiquitination and degradation. *J Neurosci*, 2003, **23** (8): 3316~3324
- Staropoli J F, McDermott C, Martinat C, *et al.* Parkin is a component of an SCF-like ubiquitin ligase complex and protects postmitotic neurons from kainate excitotoxicity. *Neuron*, 2003, **37** (5): 735~749
- Corti O, Hampe C, Koutnikova H, *et al.* The p38 subunit of the aminoacyl-tRNA synthetase complex is a Parkin substrate: linking protein biosynthesis and neurodegeneration. *Hum Mol Genet*, 2003, **12** (12): 1427~1437
- Huynh D P, Scoles D R, Nguyen I D, *et al.* The autosomal recessive juvenile Parkinson disease gene product, parkin, interacts with and ubiquitinates synaptotagmin XI. *Hum Mol Genet*, 2003, **12** (20): 2587~2597
- Choi P, Snyder H, Petrucelli L, *et al.* SEPT5_v2 is a parkin-binding protein. *Brain Res Mol Brain Res*, 2003, **117** (2): 179~189
- Kartmann B, Roth D. Novel roles for mammalian septins: from vesicle trafficking to oncogenesis. *J Cell Sci*, 2001, **114** (5): 839~844
- Dong Z, Ferger B, Paterna J C, *et al.* Dopamine-dependent neurodegeneration in rats induced by viral vector-mediated overexpression of the parkin target protein, CDCrel-1. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, **100** (21): 12438~12443
- Yang Y, Nishimura I, Imai Y, *et al.* Parkin suppresses dopaminergic neuron-selective neurotoxicity induced by Pael-R in drosophila. *Neuron*, 2003, **37** (6): 911~924
- Takada M, Matsumura M, Kojima J, *et al.* Protection against dopaminergic nigrostriatal cell death by excitatory input ablation. *Eur J Neurosci*, 2000, **12** (5): 1771~1780
- Mata I F, Lockhart P J, Farrer M J. Parkin genetics: one model for Parkinson's disease. *Hum Mol Genet*, 2004, **13** (1): R127~133
- Ihara M, Tomimoto H, Kitayama H, *et al.* Association of the cytoskeletal GTP-binding protein Sept4/H5 with cytoplasmic inclusions found in Parkinson's disease and other synucleinopathies. *J Biol Chem*, 2003, **278** (26): 24095~24102
- Schlossmacher M G, Frosch M P, Gai W P, *et al.* Parkin localizes to the Lewy bodies of Parkinson disease and dementia with Lewy bodies. *Am J Pathol*, 2002, **160** (5): 1655~1667
- Wakabayashi K, Engelender S, Yoshimoto M, *et al.* Synphilin-1 is present in Lewy bodies in Parkinson's disease. *Ann Neurol*, 2000, **47** (4): 521~523
- Lee G, Junn E, Tanaka M, *et al.* Synphilin-1 degradation by the ubiquitin-proteasome pathway and effects on cell survival. *J Neurochem*, 2002, **83** (2): 346~352
- Itier J M, Ibanez P, Mena M A, *et al.* Parkin gene inactivation alters behavior and dopamine neurotransmission in the mouse. *Hum Mol Genet*, 2003, **12** (18): 2277~2291
- Goldberg M S, Fleming S M, Palacino J J, *et al.* Parkin-deficient mice exhibit nigrostriatal deficits but not loss of dopaminergic neurons. *J Biol Chem*, 2003, **278** (44): 43628~43635
- Petrucelli L, O'Farrell C, Lockhart P J, *et al.* Parkin protects against the toxicity associated with mutant alpha-synuclein: proteasome dysfunction selectively affects catecholaminergic neurons. *Neuron*, 2002, **36** (6): 1007~1019
- Darios F, Corti O, Lucking C B, *et al.* Parkin prevents mitochondrial swelling and cytochrome c release in mitochondria-dependent cell death. *Hum Mol Genet*, 2003, **12** (5): 517~526
- Jiang H, Ren Y, Zhao J, *et al.* Parkin protects human dopaminergic neuroblastoma cells against dopamine-induced apoptosis. *Hum Mol Genet*, 2004, **13** (16): 1745~1754
- Muqit M M, Davidson S M, Payne Smith M D, *et al.* Parkin is recruited into aggresomes in a stress-specific manner: over-expression of parkin reduces aggresome formation but can be dissociated from Parkin's effect on neuronal survival. *Hum Mol Genet*, 2004, **13** (1): 117~135
- Higashi Y, Asanuma M, Miyazaki I, *et al.* Parkin attenuates

- manganese-induced dopaminergic cell death. *J Neurochem*, 2004, **89** (6): 1490~1497
- 29 Ardley H C, Scott G B, Rose S A, *et al.* Inhibition of proteasomal activity causes inclusion formation in neuronal and non-neuronal cells overexpressing Parkin. *Mol Biol Cell*, 2003, **14** (11): 4541~4556
- 30 McNaught K S, Shashidharan P, Perl D P, *et al.* Aggresome-related biogenesis of Lewy bodies. *Eur J Neurosci*, 2002, **16** (11): 2136~2148
- 31 Yang H, Zhou H Y, Li B, *et al.* Neuroprotection of Parkin against apoptosis is independent of inclusion body formation. *Neuroreport*, 2005, **16** (10): 1117~1121

Parkin, Parkin Substrates and Parkinson's Disease*

ZHOU Hai-Yan, CHEN Sheng-Di**

(Department of Neurology, Clinical & Research Center for Parkinson Disease,
Ruijin Hospital, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200025, China)

Abstract *Parkin* is a causative gene of autosomal recessive juvenile parkinsonism. Now it is believed that Parkin functions as an E₃ ubiquitin protein ligase which involves in protein's ubiquitination. Parkin defect makes its substrates accumulate, which eventually leads to dopaminergic neuron selective death. More and more evidence shows that Parkin can protect neurons from various neuron toxic stimulations and may participate in the formation of Lewy body, therefore Parkin may be important in the pathogenesis of sporadic Parkinson's disease.

Key words Parkin, Parkinson's disease, E₃ ubiquitin protein ligase

*This work was supported by a grant from The National Natural Sciences Foundation of China (30471918).

**Corresponding author . Tel: 86-21-64370045-665514, E-mail: chen_sd@medmail.com.cn

Received: May 23, 2005 Accepted: June 29, 2005