

帕金森病中 LRRK2 的功能*

朱飞舟^{1, 3)} 夏 昆^{2, 3)**}

¹⁾中南大学生物科学与技术学院生物化学系, 长沙 410078; ²⁾中南大学生物科学与技术学院遗传学系, 长沙 410078;

³⁾中南大学医学遗传学国家重点实验室, 长沙 410078)

摘要 帕金森病(Parkinson's disease, PD)是一种最常见的神经退行性运动障碍, 常染色体显性遗传 PD 可由 LRRK2 基因的突变引起. 总结了 LRRK2 功能研究的最新成果, 分为分子遗传学、表达分布和亚细胞定位、突变体的功能、蛋白质化学、蛋白质动力学、相互作用蛋白和底物、信号传导途径、与突起和突触囊泡蛋白的关系、结构分析、病理和临床特征等 10 个方面进行论述. 指出已有的研究初步阐明了 LRRK2 突变导致 PD 的发病机制, 提出了治疗 PD 的新策略, 并对未来研究进行展望.

关键词 帕金森病, LRRK2, 基因功能

学科分类号 Q189

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2010.00197

帕金森病(Parkinson's disease, PD)是一种最常见的神经退行性运动障碍疾病, 该病的临床特征是静止性震颤, 肌肉强直, 躯体麻痹, 随着年龄的增加症状逐渐加重, 经多巴胺的前体左旋多巴(L-dopa)治疗后症状减轻. PD 的病理学特征为黑质致密部多巴胺能神经元缺失, 以及在剩余的多巴胺能神经元中出现泛素阳性的 Lewy 小体^[1]. 在年龄大于 50 岁的人群中, PD 的发病率大约为 0.30%^[2].

通过对家族性 PD 病例的分析, 迄今在染色体上已发现至少有 13 个位点与家族性 PD 相关(OMEM, #168600), 已克隆的 PD 相关基因有 7 个, 其中 α -synuclein、UCH-L1、LRRK2 基因的突变可导致常染色体显性遗传 PD, parkin、PINK1、DJ-1 和 ATP13A2 基因突变则导致常染色体隐性遗传 PD^[1, 3-5].

在导致常染色体显性遗传 PD 的 4 个基因中, LRRK2 突变致使患者产生 PD 最为常见^[6], 可导致大约 7% 家系遗传 PD 和一部分散发的 PD^[7-8]. 与其他突变导致早发或非典型性病理特征 PD 的基因不同, LRRK2 突变导致迟发和原发性 PD^[1, 5, 7, 9].

LRRK2 全称为 leucine-rich repeat kinase 2, 其蛋白质多达 2 527 个氨基酸, 包含 ANK、LRR、Roc、COR、Kinase 和 WD40 等多个结构域^[1, 7]. 在这 6 个结构域中, Roc 表现为 GTP 酶活性, Kinase

表现为 ATP 激酶活性. ANK、LRR、WD40 均是由重复结构组成的结构域, 可介导蛋白质相互作用^[7]. COR 的具体功能还不清楚, 在 Roc 所属的 ROCO 蛋白质家族中总是与 Roc 串联在一起^[7]. LRRK2 结构的复杂性指示 LRRK2 具有多样的细胞生物学功能. 近年来, LRRK2 的研究已取得了较大进展, 现将取得的成果进行回顾与总结如下.

1 LRRK2 的分子遗传学研究

LRRK2 的基因定位和克隆起始于日本的一个常染色体显性遗传的 PD 家系. 通过对该家系进行全基因组扫描和单体型分析, 将 PD 相关的基因定位于 12p11.2~q11.3 13.6cM 的区间内. 这个 PD 相关位点与已经发现的位点不同, 是一个新的位点, 被命名为 PARK8^[9]. 随后, 在两个白种人家系中进一步证实 PARK8 位点与常染色体显性遗传的 PD 相关^[10]. 最后, 在 PARK8 位点内的 LRRK2 基因中检测到与 PD 连锁的突变, 证实 LRRK2 是 PD 的相关基因^[1, 5].

* 国家重点基础研究发展计划(973)(2004CB518601)和湖南省自然科学基金(09JJ4018)资助项目.

** 通讯联系人.

Tel: 0731-84805357, E-mail: nlmglcy@xysm.net

收稿日期: 2010-04-11, 接受日期: 2010-07-14

LRRK2 基因被克隆后, 许多科学家以遗传家系和散发的 PD 患者为材料, 在 LRRK2 基因中检测到一些 PD 相关的突变, 常见的突变见表 1. 这

些突变在 LRRK2 的各个结构域 ANK、LRR、Roc、COR、Kinase 和 WD40 中均有分布, 尤以 G2019S 最为常见.

Table 1 Mutations associated with PD in LRRK2

表 1 LRRK2 的 PD 相关突变

核苷酸替换	位点	氨基酸替换	先证者人数	来源	结构域	参考文献
2378G>T	Exon19	R793M	3	欧洲人	ANK	[11]
2789A>G	Exon21	Q930R	1	欧洲人		[11]
3200G>A	Exon24	R1067Q	1	亚洲人	LRR	[12]
3287C>G	Exon24	S1096C	1	欧洲人	LRR	[11]
3364A>G	Exon25	I1122V	1	欧洲人	LRR	[1]
3683G>C	Exon27	S1228T	1	欧洲人	LRR	[11]
4111A>G	Exon29	I1371V	1	东印度人	Roc	[13]
4321C>T	Exon31	R1441C	4	欧洲人	Roc	[1, 8, 14]
4321C>G	Exon31	R1441G	Multiple	欧洲人	Roc	[5, 8, 15]
4322G>A	Exon31	R1441H	2	亚洲人	Roc	[8, 14]
5096A>G	Exon35	Y1699C	2	欧洲人	COR	[1, 5]
5606T>C	Exon38	M1869T	2	欧洲人	COR	[8, 16]
5822G>A	Exon40	R1941H	1	欧洲人	Kinase	[17]
6035T>C	Exon41	I2012T	1	亚洲人	Kinase	[18]
6055G>A	Exon41	G2019S	Multiple	欧洲人, 北非人	Kinase	[11, 17]
6059T>C	Exon41	I2020T	3	欧洲人, 亚洲人	Kinase	[1, 11, 19]
7067C>T	Exon48	T2356I	1	欧洲人	WD40	[17]
7153G>A	Exon48	G2385R	Multiple	亚洲人	WD40	[20-21]

2 LRRK2 的表达分布和亚细胞定位

LRRK2 在脑、肝、肾、肺、心等组织和细胞系 HEK293T 中均可表达^[21]. LRRK2 在白齿目动物的脑中是广泛表达的, 但各神经解剖学部位之间表达水平不同^[23-26]. LRRK2 在大脑皮层 II ~ VI 层、纹状体、嗅球、海马、杏仁核等部位表达水平较高, 在丘脑、脑桥、丘脑下核旁室等部位表达水平中等, 在苍白球、黑质等区域表达较低. 而且, Real-time PCR 和 Western blot 的结果支持 mRNA 原位杂交技术的结果^[23]. 组织细胞水平的研究表明, LRRK2 在小脑的蒲肯野细胞中有表达^[23]. 另外的研究证明, LRRK2 在黑质致密部、纹状体和大脑皮层的多种中间神经元中有表达, 包括多巴胺能神经元、GABA 氨基丁酸能神经元、胆碱能神经元等^[27-28].

亚细胞定位的研究表明, LRRK2 存在于高尔基体、质膜、微粒体、内涵体、转移泡、突触囊泡

和线粒体外膜, 并与线粒体和溶酶体共定位^[28-29].

另外, 将 LRRK2 野生型和 PD 相关突变体转入细胞系中后, 两者的亚细胞定位相同^[29].

3 LRRK2 突变体的功能研究

为研究 LRRK2 突变导致 PD 的机理, 许多学者对 LRRK2 PD 突变体的功能开展研究. 一个重要的发现是 LRRK2 R1441C、G2019S、I2020T 等 PD 相关突变导致 LRRK2 的激酶活性上升, 被转染细胞生活力下降, 凋亡细胞数量上升, 有时还导致细胞中包涵体的数量增加^[30-34]. 另外, LRRK2 突变导致自身 GTP 酶活性变化也是一个热点问题. 有研究表明, LRRK2 R1441C/G(位于 Roc 结构域中)与 GTP 的结合能力与 LRRK2 野生型 (wild type, WT)相比变化不显著, 但是水解 GTP 的能力显著降低^[35-36]. 另一项研究证明, LRRK2 的 GTP 酶活性在 LRRK2 介导的细胞毒性中具有重要作用^[37]. 进一步的研究表明, LRRK2 介导的细胞凋亡与细胞色素 c 释放和 caspase 3 激活有关, 是一种与线

粒体相关的细胞凋亡途径^[38]。综上所述, LRRK2 PD 突变体的激酶活性上升是导致神经元死亡的重要原因, 提示我们控制 LRRK2 的激酶活性是治疗 PD 的一个策略。

一个果蝇模型的研究显示, 在感光细胞中表达人 LRRK2 WT 或 G2019S 导致视网膜变性; 在神经元中表达人 LRRK2 WT 或 G2019S 导致成年期显现的多巴胺能神经元选择性缺失、运动不能、早期死亡, 且 G2019S 的症状比野生型严重^[39]。另一项果蝇动物模型的研究证明, 果蝇 LRRK2 的同源蛋白(dLRRK)激酶活性灭活后, 对果蝇的生存没有重要影响, 也就是说 dLRRK 的激酶活性对果蝇不是必需的, 这同样提示我们可将抑制 LRRK2 的激酶活性作为治疗 PD 的一个策略^[40]。

斑马鱼的 PD 模型研究亦颇有建树。基因打靶去除斑马鱼的 LRRK2 同源蛋白(zLRRK2)的 WD40 结构域后, 导致斑马鱼出现类似帕金森病的症状, 如同脑中的多巴胺能神经元丧失和运动缺陷^[41]。过表达 zLRRK2 和人 LRRK2 可以拯救 PD 模型斑马鱼的神经退行性病变和运动缺陷, 用左旋多巴胺处理可以拯救 PD 模型斑马鱼的运动缺陷, 但不能拯救其神经退行性病变^[41]。

小鼠模型的研究也取得了积极的进展。LRRK2 R1441G 转基因小鼠具有典型的 PD 特征, 如与年龄相关的运动迟缓, 经左旋多巴胺处理后症状减轻, 多巴胺释放减少, 黑质 - 纹状体多巴胺能神经元的轴突出现病变^[42]。在 LRRK2 基因敲除的老年小鼠中, 发生蛋白质降解的自噬 - 溶酶体途径受阻、 α -synuclein 聚集和凋亡细胞数目上升^[43]。

4 LRRK2 的蛋白质化学

除了具有激酶活性外, LRRK2 还具有 GTP 水解酶活性, 并且单独的 Roc 结构域就具有 GTP 水解酶活性和结合 GTP 的能力^[44]。那么, GTP 水解酶活性的 Roc 结构域和激酶活性的 Kinase 结构域之间的关系是什么呢? 实验表明, LRRK2 的激酶活性受自身 GTP 水解酶活性调解^[34, 44-45]。如果 Roc 内的突变致使 LRRK2 不能与 GTP 结合(例如 T1348N), 那么 Kinase 的激酶活性也随之丧失^[45]。如果 Roc 内的突变致使 GTP 水解减少(例如 R1441C), 那么 Kinase 的激酶活性会上升^[44]。而且, 没有水解的 GTP 类似物可以激活 LRRK2 的磷酸化作用, 但 GDP 没有这种作用^[44]。这些结果指示, 当 LRRK2 的 Roc 接合 GTP 时, Kinase 的激酶

活性被激活, 当 Roc 将 GTP 水解为 GDP 后, Kinase 的激酶活性则降低^[44-46]。

但是, LRRK2 的 GTP 水解酶活性却不受自身激酶活性的影响^[46]。而且, LRRK2 的激酶活性和 GTP 水解酶活性对 LRRK2 诱导的神经毒性和细胞氧化应激都是必需的^[46]。

5 LRRK2 蛋白质动力学研究

首先, LRRK2 降解途径的研究表明, LRRK2 通过泛素 - 蛋白酶体途径降解, 而不是通过自噬 - 溶酶体途径降解^[32]。接下来, 人们发现泛素 - 蛋白酶体途径的一种 E3 连接酶——HSP70 的羧基端相互作用蛋白(carboxyl terminus of HSP70-interacting protein, CHIP)可以与 LRRK2 相互作用, 并通过泛素 - 蛋白酶体途径促进 LRRK2 降解, 过表达 CHIP 可以拯救 LRRK2 突变体的细胞毒性, 但 CHIP 基因敲除可加重 LRRK2 突变体的细胞毒性^[47-48]。而且, HSP90、CHIP 和 LRRK2 可以形成蛋白质复合体, 通过这个复合体 CHIP 可以调节 LRRK2 的降解、泛素化和细胞毒性。HSP90 的抑制剂 17AAG 可以促进 LRRK2 通过泛素 - 蛋白酶体途径降解, 导致表达 LRRK2 PD 突变体的细胞活性上升^[47-48]。以上实验提示可以将抑制 HSP90 的伴侣分子活性作为治疗 PD 的一个策略。

6 LRRK2 的相互作用蛋白和底物

由于 LRRK2 拥有 2 527 个氨基酸, 包含 ANK、LRR、Roc、COR、Kinase 和 WD40 等多个结构域, 提示 LRRK2 可能参与多种细胞生物学功能。研究发现, LRRK2 可与多个蛋白质相互作用, 现总结如下:

a. 与 HSP90、p50^{cdc37} 和 CHIP 相互作用。

有研究证明伴侣蛋白 HSP90 和 p50^{cdc37} 可与 LRRK2 相结合^[33]。由于 HSP90 可以与 LRRK2 和 CHIP 相互作用, 人们认为 LRRK2 和 CHIP 可能相互作用^[47]。前文已指出, HSP90、CHIP 和 LRRK2 可以形成蛋白质复合体, 通过这个复合体 CHIP 可以调节 LRRK2 的降解、泛素化和细胞毒性。

b. 与微管分子 tubulin 相互作用。

LRRK2 可通过 Roc 结构域与微管蛋白 α/β -tubulin 相互作用^[49]。进一步的研究表明, LRRK2 可将 β -tubulin 磷酸化, 且 LRRK2 G2019S 磷酸化 β -tubulin 的能力是 WT 的 3 倍, Thr107 被确认为是 LRRK2 磷酸化 β -tubulin 的位点, LRRK2

可促进 tubulin 发生聚集, 增强微管的稳定性^[50].

c. 与具有死亡结构域的 Fas 相关蛋白 (Fas-associated protein with death domain, FADD) 相互作用.

由于 LRRK2 的 Kinase 结构域与受体互作蛋白 (the receptor interacting protein, RIP) 家族的激酶结构域相似, 同属于丝氨酸 - 苏氨酸激酶结构域. 人们假设 LRRK2 可以与 RIP1 的互作蛋白——外源的细胞死亡途径中的死亡衔接蛋白相互作用^[51]. 研究表明, LRRK2 可以与含有死亡结构域 (death domain, DD) 的 FADD, TRADD, RIP1 相互作用^[51]. 在原代培养的神经元中, 抑制 FADD 的功能和使 caspase-8 表达沉默可以阻碍 LRRK2 介导的细胞凋亡 (FADD 和 caspase-8 是外源的细胞死亡途径中的两个关键蛋白)^[51]. 该研究提示 FADD/caspase-8 信号途径在 LRRK2 介导的神经元死亡中起重要作用.

d. 4E-BP 是 LRRK2 的底物.

LRRK2 是一种激酶, 但其底物很长时间属于未知. 最近的研究证明真核翻译起始因子 4E (eukaryotic initiation factor 4E, eIF4E) 的结合蛋白 (eIF4E binding protein, 4E-BP) 是 LRRK2 的底物^[52-53]. eIF4E 介导真核翻译起始因子 4F (eukaryotic translation initiation factor 4F, eIF4F) 与 mRNA 的 5' m⁷ GpppX 帽结构相结合, 而 4E-BP 可抑制 eIF4E 的活性^[53]. LRRK2 可以将 4E-BP 磷酸化, 妨碍 4E-BP 抑制 eIF4E 的功能, 刺激蛋白质的合成, 且激酶活性较高的 I2020T 比 WT 更能刺激蛋白质的合成. 在果蝇模型中过表达 4E-BP 可以抑制 dLRRK 突变体诱导的多巴胺能神经元变性^[53]. 该研究指出 LRRK2 突变体通过刺激蛋白质的合成促使神经元发生氧化应激.

e. 与 EF1A 相互作用.

寻找 LRRK2 的调节分子 / 效应分子一直是科学家们的目标. 研究表明 LRRK2 可以与延长因子 1 α (elongation factor 1-alpha, EF1A) 相互作用^[54]. 共孵育重组的 LRRK2 和 EF1A 可以显著降低 LRRK2 的激酶活性, 但对 LRRK2 的 GTP 酶活性没有影响. 除了经典的 mRNA 翻译功能外, EF1A 还可以保持微管细胞骨架的稳定性. 在该研究中, EF1A 可以促进微管蛋白的装配, 而共孵育 LRRK2 则阻碍 EF1A 促进微管蛋白装配的作用. 该研究提示 LRRK2 和 EF1A 可以相互调节彼此的生理功能^[54].

f. 与 Rab5b 相互作用.

通过酵母双杂交的方法, 筛选到 Rab5b 是 LRRK2 的互作蛋白, 而且 GST 沉降、免疫共沉淀、分离亚细胞结构和免疫双染色进一步证实了这一结果^[55]. Rab5b 是调节内吞泡从质膜运送到早期内涵体的分子. 有趣的是, 过表达 LRRK2 或使内源性的 LRRK2 表达沉默均可损害突触小泡的内吞作用, 而且, 共表达 Rab5b 蛋白可以拯救这种内吞作用损伤. 该研究提出 LRRK2 和 Rab5b 调节突触小泡的内吞作用, 在突触的功能中起重要作用^[55].

g. 与 PD 相关蛋白 parkin、 α -synuclein、PINK-1 相关.

LRRK2 与其他 PD 相关蛋白的相互关系一直是科学家们关心的问题. Smith 及同事^[51]发现, LRRK2 可与 parkin 相互作用, 但不与 α -synuclein, DJ-1, 或 tau 相互作用, parkin 通过 C 端的 RING2 结构域与 LRRK2 相互作用, LRRK2 通过 COR 结构域与 parkin 相互作用. Qing 等^[56]发现 Lrrk2 可以将 α -synuclein 磷酸化, 磷酸化位点是 Ser129. Samann 等^[57]发现秀丽线虫的 LRRK-1 (LRRK2 在线虫中的同源蛋白) 和 PINK-1 在应激反应和神经突触生长中为对抗性的作用.

7 LRRK2 与信号传导途径

通过计算机分析, 人们发现 LRRK2 的 Kinase 结构域与促分裂原活化的蛋白质激酶激酶的激酶 (mitogen-activated protein kinase kinase kinases, MAPKKKs) 的激酶结构域高度同源^[7], 因此, LRRK2 可能是 MAPK 信号传导途径中的一种 MAPKKK.

体外实验表明, LRRK2 可以与属于 MAPKK 的 MKK3/6/7 相结合^[58], 并可将其磷酸化^[58-59]. 另一项研究显示, LRRK2 通过细胞外信号调节激酶 (extracellular signal-regulated kinases, ERK) 途径传递信号, 而不是 c-Jun 氨基端激酶 (c-Jun N-terminal kinases, JNK) 途径^[60]. 接下来的研究进一步证实 LRRK2 选择性地激活 ERK 途径, 而不激活 p38^{MAPK} 和 JNK 途径, 而且, LRRK2 通过激活 ERK 途径, 可以刺激内源性 α -synuclein 的表达^[61] (ERK、JNK、p38^{MAPK} 均属于 MAPK).

另外, 前文已提到 LRRK2 突变体促进神经元图 1 总结了 LRRK2 的作用机制与信号传导途径. 凋亡是通过 FADD/caspase-8 途径传达死亡信号^[51].

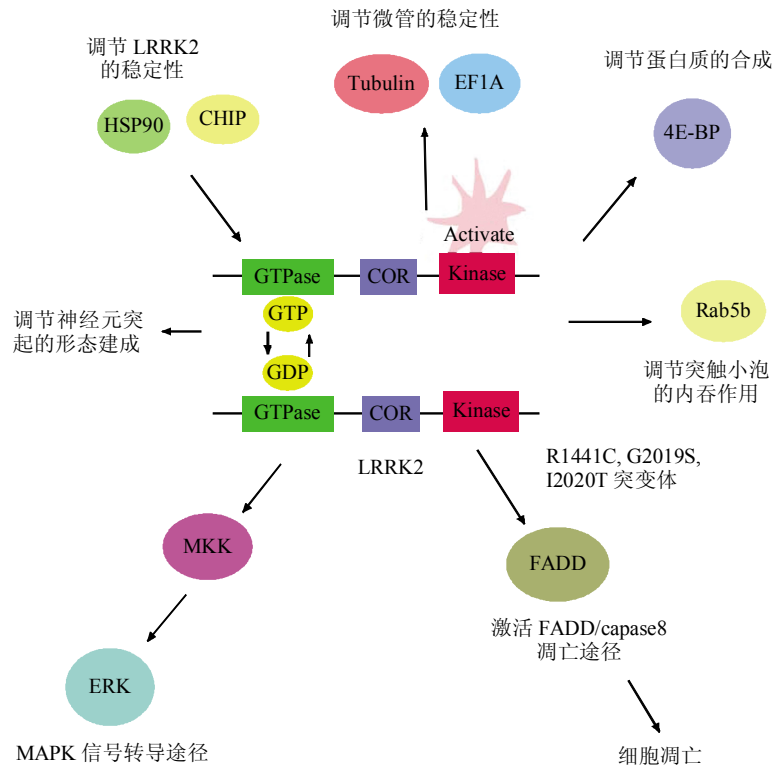


Fig. 1 Mechanism of LRRK2 in cell

图 1 细胞中 LRRK2 的作用机制

GTPase: GTP 酶结构域; COR: COR 结构域; Kinase: 激酶结构域; HSP90: 热休克蛋白 90; CHIP: HSP70 的羧基端相互作用蛋白; Tubulin: 微管蛋白; EF1A: 延长因子 1 α ; 4E-BP: 真核翻译起始因子 4E 结合蛋白; Rab5b: 调节突触小泡内吞作用的蛋白质分子; FADD: 具有死亡结构域的 Fas 相关蛋白; MAPK: 促分裂原活化的蛋白质激酶; MKK: MAPK 的激酶; ERK: 细胞外信号调节激酶。

8 LRRK2 调节神经元突起的形态建成和突触囊泡蛋白在神经元轴突和树突的极性分布

有研究表明 LRRK2 参与调节神经元突起的形态建成。神经元和鼠的中枢神经系统导入 LRRK2 PD 相关突变体后, 神经元突起的长度和突起分支的数量均显著减少。反之, RNAi 使神经元和鼠的中枢神经系统 LRRK2 表达沉默后, 神经元突起的长度和突起分支的数量均显著增加^[62]。但是, 上述处理对神经元的胞体直径没有显著影响^[62]。进一步的研究证明, 自体吞噬作用在 LRRK2 G2019S 介导的神经元突起的缩短中起重要作用^[63]。

另有研究表明 LRRK2 参与调节突触囊泡 (synaptic vesicles, SV) 蛋白在神经元轴突和树突的极性分布。神经元是极性的分子, 在轴突和树突中各自含有不同的蛋白质。突触囊泡和突触囊泡蛋白只分布于突触前区域, 而在树突中没有分布, 这就是 SV 的极性分布, 其机理尚不清楚^[64]。研究证明, 在秀丽线虫中 LRRK2 的同源蛋白 LRRK-1 在

SV 蛋白的极性分布中起重要的作用。如果 LRRK-1 缺失, 则 SV 蛋白在突触前区域和树突中均有分布, 即 SV 蛋白不再是极性分布^[64]。

9 LRRK2 的结构分析

首先, Gloeckner 和同事^[33]发现 LRRK2 可以形成二聚体。后来, Deng 等^[65]纯化得到了 LRRK2 的蛋白质晶体, 然后进行结构分析, 发现 LRRK2 通过 Roc 结构域相互结合形成二聚体, Roc 结构域以二聚体的形式调节 Kinase 结构域的激酶活性, 而 COR 作为 Roc 和 Kinase 之间的分子铰链。

10 携带 LRRK2 突变的 PD 患者的病理和临床特征

LRRK2 突变的 PD 患者具有公认的帕金森病特征, 表现为静止性震颤, 肌肉强直, 躯体麻痹, 经多巴胺的前体左旋多巴 (L-dopa) 治疗后症状

减轻^[1, 66-67]. 与其他突变导致早发 PD 的基因相比, LRRK2 突变的 PD 患者一个重要的特征是发病较迟, 发病年龄在 40 岁以上^[67].

LRRK2 突变的 PD 病人的病理切片显示, 病人脑组织中有 Lewy body, 神经纤维缠结, 营养不良性神经炎等病理特征^[22, 68], 且 Lewy body 呈泛素和 α -synuclein 免疫组化阳性^[1].

总之, 近几年 LRRK2 的功能研究取得了较大进展, 初步阐明了 LRRK2 突变导致 PD 的发病机制, 并提出了治疗 PD 的新策略, 如控制 LRRK2 的激酶活性, 抑制 HSP90 的伴侣分子活性等. 这些研究成果对我们预防和治疗 PD 具有重要的意义. 展望未来, 随着研究的逐渐深入, LRRK2 的生物学功能和突变导致 PD 的机制将进一步被阐明, 人们可能找到更多治疗 PD 的新策略, 并开发出治疗 PD 的药物, 以致最终能够预防和治疗 PD.

参 考 文 献

- [1] Zimprich A, Biskup S, Leitner P, *et al.* Mutations in LRRK2 cause autosomal-dominant parkinsonism with pleomorphic pathology. *Neuron*, 2004, **44**(4): 601-607
- [2] Tan L C S, Venketasubramanian N, Hong C Y, *et al.* Prevalence of Parkinson disease in Singapore: Chinese *vs* Malays *vs* Indians. *Neurology*, 2004, **62**: 1999-2004
- [3] Gasser T. Genetics of Parkinson's disease. *Curr Opin Neurol*, 2005, **18**(4): 363-369
- [4] Di Fonzo A, Chien H F, Socal M, *et al.* ATP13A2 missense mutations in juvenile parkinsonism and young onset Parkinson disease. *Neurology*, 2007, **68**(19): 1557-1562
- [5] Paisan-Ruiz C, Jain S, Evans E W, *et al.* Cloning of the gene containing mutations that cause PARK8-linked Parkinson's disease. *Neuron*, 2004, **44**(4): 595-600
- [6] Lesage S, Durr A, Brice A. LRRK2: a link between familial and sporadic Parkinson's disease?. *Pathol Biol(Paris)*, 2007, **55**(2): 107-110
- [7] Mata I F, Wedemeyer W J, Farrer M J, *et al.* LRRK2 in Parkinson's disease: protein domains and functional insights. *Trends Neurosci*, 2006, **29**(5): 286-293
- [8] Mata I F, Kachergus J M, Taylor J P, *et al.* Lrrk2 pathogenic substitutions in Parkinson's disease. *Neurogenetics*, 2005, **6** (4): 171-177
- [9] Funayama M, Hasegawa K, Kowa H, *et al.* A new locus for Parkinson's disease (PARK8) maps to chromosome 12p11.2-q13.1. *Ann Neurol*, 2002, **51**(3): 296-301
- [10] Zimprich A, Muller-Myhsok B, Farrer M, *et al.* The PARK8 locus in autosomal dominant parkinsonism: confirmation of linkage and further delineation of the disease-containing interval. *Am J Hum Genet*, 2004, **74**(1): 11-19
- [11] Berg D, Schweitzer K, Leitner P, *et al.* Type and frequency of mutations in the LRRK2 gene in familial and sporadic Parkinson's disease. *Brain*, 2005, **128**(Pt 12): 3000-3011
- [12] Skipper L, Shen H, Chua E, *et al.* Analysis of LRRK2 functional domains in nondominant Parkinson disease. *Neurology*, 2005, **65**(8): 1319-1321
- [13] Paisan-Ruiz C, Lang A E, Kawarai T, *et al.* LRRK2 gene in Parkinson disease: mutation analysis and case control association study. *Neurology*, 2005, **65**(5): 696-700
- [14] Zabetian C P, Samii A, Mosley A D, *et al.* A clinic-based study of the LRRK2 gene in Parkinson disease yields new mutations. *Neurology*, 2005, **65**(5): 741-744
- [15] Mata I F, Taylor J P, Kachergus J, *et al.* LRRK2 R1441G in Spanish patients with Parkinson's disease. *Neurosci Lett*, 2005, **382** (3): 309-311
- [16] Farrer M, Stone J, Mata I F, *et al.* LRRK2 mutations in Parkinson disease. *Neurology*, 2005, **65**(5): 738-740
- [17] Khan N L, Jain S, Lynch J M, *et al.* Mutations in the gene LRRK2 encoding dardarin (PARK8) cause familial Parkinson's disease: clinical, pathological, olfactory and functional imaging and genetic data. *Brain*, 2005, **128**(Pt 12): 2786-2796
- [18] Lu C S, Simons E J, Wu-Chou Y H, *et al.* The LRRK2 I2012T, G2019S, and I2020T mutations are rare in Taiwanese patients with sporadic Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord*, 2005, **11**(8): 521-522
- [19] Funayama M, Hasegawa K, Ohta E, *et al.* An LRRK2 mutation as a cause for the parkinsonism in the original PARK8 family. *Ann Neurol*, 2005, **57**(6): 918-921
- [20] Di Fonzo A, Wu-Chou Y H, Lu C S, *et al.* A common missense variant in the LRRK2 gene, Gly2385Arg, associated with Parkinson's disease risk in Taiwan. *Neurogenetics*, 2006, **7** (3): 133-138
- [21] Fung H C, Chen C M, Hardy J, *et al.* A common genetic factor for Parkinson disease in ethnic Chinese population in Taiwan. *BMC Neurol*, 2006, **6**: 47
- [22] Giasson B I, Covy J P, Bonini N M, *et al.* Biochemical and pathological characterization of Lrrk2. *Ann Neurol*, 2006, **59** (2): 315-322
- [23] Taymans J M, Van Den Haute C, Baekelandt V. Distribution of PINK1 and LRRK2 in rat and mouse brain. *J Neurochem*, 2006, **98**(3): 951-961
- [24] Simon-Sanchez J, Herranz-Perez V, Olucha-Bordonau F, *et al.* LRRK2 is expressed in areas affected by Parkinson's disease in the adult mouse brain. *Eur J Neurosci*, 2006, **23**(3): 659-666
- [25] Melrose H, Lincoln S, Tyndall G, *et al.* Anatomical localization of leucine-rich repeat kinase 2 in mouse brain. *Neuroscience*, 2006, **139**(3): 791-794
- [26] Galter D, Westerlund M, Carmine A, *et al.* LRRK2 expression linked to dopamine-innervated areas. *Ann Neurol*, 2006, **59** (4): 714-719
- [27] Higashi S, Moore D J, Colebrooke R E, *et al.* Expression and localization of Parkinson's disease-associated leucine-rich repeat

- kinase 2 in the mouse brain. *J Neurochem*, 2007, **100**(2): 368–381
- [28] Biskup S, Moore D J, Celsi F, *et al.* Localization of LRRK2 to membranous and vesicular structures in mammalian brain. *Ann Neurol*, 2006, **60**(5): 557–569
- [29] Hatano T, Kubo S, Imai S, *et al.* Leucine-rich repeat kinase 2 associates with lipid rafts. *Hum Mol Genet*, 2007, **16**(6): 678–690
- [30] Greggio E, Jain S, Kingsbury A, *et al.* Kinase activity is required for the toxic effects of mutant LRRK2/dardarin. *Neurobiol Dis*, 2006, **23**(2): 329–341
- [31] Smith W W, Pei Z, Jiang H, *et al.* Leucine-rich repeat kinase 2 (LRRK2) interacts with parkin, and mutant LRRK2 induces neuronal degeneration. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, **102**(51): 18676–18681
- [32] West A B, Moore D J, Biskup S, *et al.* Parkinson's disease-associated mutations in leucine-rich repeat kinase 2 augment kinase activity. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, **102**(46): 16842–16847
- [33] Gloeckner C J, Kinkl N, Schumacher A, *et al.* The Parkinson disease causing LRRK2 mutation I2020T is associated with increased kinase activity. *Hum Mol Genet*, 2006, **15**(2): 223–232
- [34] Smith W W, Pei Z, Jiang H, *et al.* Kinase activity of mutant LRRK2 mediates neuronal toxicity. *Nat Neurosci*, 2006, **9**(10): 1231–1233
- [35] Lewis P A, Greggio E, Beilina A, *et al.* The R1441C mutation of LRRK2 disrupts GTP hydrolysis. *Biochem Biophys Res Commun*, 2007, **357**(3): 668–671
- [36] Li X, Tan Y C, Poulouse S, *et al.* Leucine-rich repeat kinase 2 (LRRK2)/PARK8 possesses GTPase activity that is altered in familial Parkinson's disease R1441C/G mutants. *J Neurochem*, 2007, **103**(1): 238–247
- [37] Xiong Y, Coombes C E, Kilaru A, *et al.* GTPase activity plays a key role in the pathobiology of LRRK2. *PLoS Genet*, 2010, **6**(4): e1000902
- [38] Iaccarino C, Crosio C, Vitale C, *et al.* Apoptotic mechanisms in mutant LRRK2-mediated cell death. *Hum Mol Genet*, 2007, **16**(11): 1319–1326
- [39] Liu Z, Wang X, Yu Y, *et al.* A *Drosophila* model for LRRK2-linked parkinsonism. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, **105**(7): 2693–2698
- [40] Wang D, Tang B, Zhao G, *et al.* Dispensable role of *Drosophila* ortholog of LRRK2 kinase activity in survival of dopaminergic neurons. *Mol Neurodegener*, 2008, **3**(1): No.3
- [41] Sheng D, Qu D, Kwok K H, *et al.* Deletion of the WD40 domain of LRRK2 in Zebrafish causes Parkinsonism-like loss of neurons and locomotive defect. *PLoS Genet*, 2010, **6**(4): e1000914
- [42] Li Y, Liu W, Oo T F, *et al.* Mutant LRRK2 (R1441G) BAC transgenic mice recapitulate cardinal features of Parkinson's disease. *Nature Neuroscience*, 2009, **12**(7): 826–828
- [43] Tong Y, Yamaguchi H, Giaime E, *et al.* Loss of leucine-rich repeat kinase 2 causes impairment of protein degradation pathways, accumulation of α -synuclein, and apoptotic cell death in aged mice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, **107**(21): 9879–9884
- [44] Guo L, Gandhi P N, Wang W, *et al.* The Parkinson's disease-associated protein, leucine-rich repeat kinase 2 (LRRK2), is an authentic GTPase that stimulates kinase activity. *Exp Cell Res*, 2007, **313**(16): 3658–3670
- [45] Ito G, Okai T, Fujino G, *et al.* GTP binding is essential to the protein kinase activity of LRRK2, a causative gene product for familial Parkinson's disease. *Biochemistry*, 2007, **46**(5): 1380–1388
- [46] West A B, Moore D J, Choi C, *et al.* Parkinson's disease-associated mutations in LRRK2 link enhanced GTP-binding and kinase activities to neuronal toxicity. *Hum Mol Genet*, 2007, **16**(2): 223–232
- [47] Ko H S, Bailey R, Smith W W, *et al.* CHIP regulates leucine-rich repeat kinase-2 ubiquitination, degradation, and toxicity. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, **106**(8): 2897–2902
- [48] Ding X, Goldberg M S. Regulation of LRRK2 stability by the E3 ubiquitin ligase CHIP. *PLoS One*, 2009, **4**(6): e5949
- [49] Gandhi P N, Wang X, Zhu X, *et al.* The Roc domain of leucine-rich repeat kinase 2 is sufficient for interaction with microtubules. *J Neurosci Res*, 2008, **86**(8): 1711–1720
- [50] Gillardon F. Leucine-rich repeat kinase 2 phosphorylates brain tubulin-beta isoforms and modulates microtubule stability - a point of convergence in Parkinsonian neurodegeneration?. *J Neurochemistry*, 2009, **110**(5): 1514–1522
- [51] Ho C C, Rideout H J, Ribe E, *et al.* The Parkinson disease protein leucine-rich repeat kinase 2 transduces death signals via Fas-associated protein with death domain and caspase-8 in a cellular model of neurodegeneration. *J Neurosci*, 2009, **29**(4): 1011–1016
- [52] Kumar A, Greggio E, Beilina A, *et al.* The Parkinson's disease associated LRRK2 exhibits weaker *in vitro* phosphorylation of 4E-BP compared to autophosphorylation. *PLoS One*, 2010, **5**(1): e8730
- [53] Imai Y, Gehrke S, Wang H Q, *et al.* Phosphorylation of 4E-BP by LRRK2 affects the maintenance of dopaminergic neurons in *Drosophila*. *EMBO J*, 2008, **27**(18): 2432–2443
- [54] Gillardon F. Interaction of elongation factor 1-alpha with leucine-rich repeat kinase 2 impairs kinase activity and microtubule bundling *in vitro*. *Neuroscience*, 2009, **163**(2): 533–539
- [55] Shin N, Jeong H, Kwon J, *et al.* LRRK2 regulates synaptic vesicle endocytosis. *Exp Cell Res*, 2008, **314**(10): 2055–2065
- [56] Qing H, Wong W, McGeer E G, *et al.* Lrrk2 phosphorylates alpha synuclein at serine 129: Parkinson disease implications. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009, **387**(1): 149–152
- [57] Samann J, Hegermann J, Gromoff E V, *et al.* *Caenorhabditis elegans* LRRK-1 and PINK-1 act antagonistically in stress response and neurite outgrowth. *J Biol Chem*, 2009, **284**: 16482–16491
- [58] Hsu C H, Chan D, Greggio E, *et al.* MKK6 binds and regulates expression of Parkinson's disease-related protein LRRK2. *J Neurochem*, 2010, **112**(6): 1593–1604
- [59] Gloeckner C J, Schumacher A, Boldt K, *et al.* The Parkinson disease-associated protein kinase LRRK2 exhibits MAPKKK activity and phosphorylates MKK3/6 and MKK4/7, *in vitro*. *J Neurochem*, 2009, **109**(4): 959–968
- [60] Liou A K, Leak R K, Li L, *et al.* Wild-type LRRK2 but not its mutant attenuates stress-induced cell death via ERK pathway. *Neurobiol Dis*, 2008, **32**(1): 116–124

- [61] Carballo-Carbajal I, Weber-Endress S, Rovelli G, *et al.* Leucine-rich repeat kinase 2 induces alpha-synuclein expression *via* the extracellular signal-regulated kinase pathway. *Cell Signal*, 2010, **22**(5):821–827
- [62] Macleod D, Dowman J, Hammond R, *et al.* The familial Parkinsonism gene LRRK2 regulates neurite process morphology. *Neuron*, 2006, **52**(4): 587–593
- [63] Plowey E D, Cherra S J, Liu Y J, *et al.* Role of autophagy in G2019S-LRRK2-associated neurite shortening in differentiated SH-SY5Y cells. *J Neurochem*, 2008, **105**(3): 1048–1056
- [64] Sakaguchi-Nakashima A, Meir J Y, Jin Y, *et al.* LRRK-1, a *C. elegans* PARK8-related kinase, regulates axonal-dendritic polarity of SV proteins. *Curr Biol*, 2007, **17**(7): 592–598
- [65] Deng J, Lewis P A, Greggio E, *et al.* Structure of the Roc domain from the Parkinson's disease-associated leucine-rich repeat kinase 2 reveals a dimeric GTPase. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, **105**(5): 1499–1504
- [66] Hernandez D G, Paisan-Ruiz C, Mcinerney-Leo A, *et al.* Clinical and positron emission tomography of Parkinson's disease caused by LRRK2. *Ann Neurol*, 2005, **57**(3): 453–456
- [67] Aasly J O, Toft M, Fernandez-Mata I, *et al.* Clinical features of LRRK2-associated Parkinson's disease in central Norway. *Ann Neurol*, 2005, **57**(5): 762–765
- [68] Ross O A, Toft M, Whittle A J, *et al.* Lrrk2 and Lewy body disease. *Ann Neurol*, 2006, **59**(2): 388–393

Function of LRRK2 in Parkinson's Disease*

ZHU Fei-Zhou^{1,3}, XIA Kun^{2,3}**

¹ Department of Biochemistry, Central South University, Changsha 410078, China;

² Department of Genetics, School of Biological Science and Technology, Central South University, Changsha 410078, China;

³ National Laboratory of Medical Genetics, Central South University, Changsha 410078, China)

Abstract Parkinson's disease (PD) is the most frequent progressive neurodegenerative movement disorder, and autosomal dominant inherited PD can be caused by LRRK2 mutations. The new findings of LRRK2's function were summarized and described in 10 aspects, such as molecular genetics, expressing distribution and subcellular localization, function of mutants, protein chemistry, protein dynamics, interacting protein and substrate, signal transduction pathway, connection with neurite and synaptic vesicles protein, structure analysis, pathological and clinic features. It was pointed out that these achievements have preliminarily clarified the pathogenic mechanism of how LRRK2 mutants cause PD, and presented the new strategies for treatment of PD. Finally, the future researches were previewed.

Key words Parkinson's disease, leucine-rich repeat kinase (LRRK2), functional research

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2010.00197

*This work was supported by grants from National Basic Research Program of China (2004CB518601) and Hunan Natural Science Foundation (09JJ4018).

**Corresponding author.

Tel: 86-731-84805357, E-mail: nlmglcy@xysm.net

Received: April 11, 2010 Accepted: July 14, 2010