

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2018.03.033

View this article at: <http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2018.03.033>

细胞自噬与神经退行性疾病机制的研究进展

冯会超¹ 综述 陈乃耀² 审校

(1. 华北理工大学研究生院, 河北 唐山 063210; 2. 华北理工大学附属医院血液内科, 河北 唐山 063000)

[摘要] 自噬是真核细胞特有的溶酶体途径降解细胞内代谢物的过程, 其变化与阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)、帕金森病(Parkinson's disease, PD)等神经退行性疾病的发生发展有密切联系。调节自噬可有效清除神经系统中异常积聚的蛋白质, 从细胞水平上缓解疾病进展。由此可见, 自噬方向可能是一种治疗神经退行性疾病的有效策略和途径。

[关键词] 细胞自噬; 神经退变性疾病; α -突触蛋白; β -淀粉样蛋白

Advances in mechanisms of autophagy and neurodegenerative diseases

FENG Huichao¹, CHEN Naiyao²

(1. School of Graduate, North China University of Science and Technology, Tangshan Hebei 063210; 2. Department of Hematology, Affiliated Hospital of North China University of Science and Technology, Tangshan Hebei 063000, China)

Abstract Autophagy is a unique process of lysosomal pathway of eukaryotic cells to degrade intracellular metabolites and autophagy dysfunction is closely related to neurodegenerative diseases such as Alzheimer's disease (AD) and Parkinson's syndrome (PD). Regulating autophagy can effectively remove the protein from abnormal accumulation in the nervous system and alleviate the disease progression from the cellular level. Thus, autophagy may be an effective strategy and approach for treating neurodegenerative diseases.

Keywords autophagy; neurodegenerative; α -synuclein; amyloid β -protein

细胞内物质降解主要有自噬和泛素/蛋白酶两种途径, 自噬可降解半衰期较长的蛋白质和细胞器。细胞在维持生命代谢的过程中, 不断产生代谢废物, 并通过一套较为完整的系统来调节物质的堆积, 真核细胞内的溶酶体可不断结合并清除异常蛋白和受损细胞器, 以此维持内环境稳态。神经退行性疾病发病率逐年上升, 神经功能

的蜕变严重影响患者生活质量, 其主要病理特征是细胞内异常蛋白蓄积堆积, 从而影响细胞功能。研究^[1]发现: 自噬功能障碍与阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)、帕金森病(Parkinson's disease, PD)等退行性疾病密切相关。目前自噬的调控机制尚不明确, 本文拟探讨其调控机制并做一综述。

收稿日期 (Date of reception): 2017-12-09

通信作者 (Corresponding author): 陈乃耀, Email: nychennmc@163.com

基金项目 (Foundation item): 2014年河北省政府资助临床医学优秀人才培养项目。This work was supported by the Hebei Provincial Government Foundation of Excellent Talent Training Program for Clinical Medicine 2014, China.

1 自噬的分子调控机制

自噬是真核细胞中广泛存在的一种代谢途径, 涉及40多种相关蛋白^[2]。一般认为哺乳动物细胞中存在3种自噬: 大自噬、分子伴侣自噬、微自噬。其中大自噬最具特征性, 其分子机制研究较为深入, 是最常见的自噬过程, 故通常被称为自噬。自噬的第一个形态特征结构是双层膜、杯状的自噬体前体, 称为吞噬泡, 通过边缘延伸吞噬底物, 杯状分隔膜边缘接近形成囊泡。包裹细胞内组成成分的囊泡被称为自噬体, 沿细胞骨架延伸, 与溶酶体结合形成自噬-溶酶体, 在溶酶体内逐渐降解回收并生成ATP, 再次供机体利用。

在哺乳动物细胞中, 自噬的起始过程主要由ULK1/ATG13复合物参与诱导自噬发生。此复合物由多种成分参与, 其中ULK1激酶被认为是最重要的上游因子, 可启动自噬的发生。研究^[3]发现: 雷帕霉素靶蛋白激酶复合物1(mTORC1)激活可抑制ULK1激酶活性, 从而抑制自噬; 相反, 抑制mTORC1可激活自噬。除mTORC1外, 腺苷酸活化蛋白激酶(AMP-activated protein kinase, AMPK)也是饥饿诱导自噬的主要调节者。AMPK除通过控制mTORC1活性间接调节自噬外, 还可直接通过ULK1磷酸化和/或与ULK1相互作用调节自噬。吞噬泡的形成、成熟过程中需要第3类磷脂酰肌醇3激酶与beclin-1复合物的调控, 该复合物包含ATG14L与PI3K亚单位Vps34和Vps15^[4]。

ATG12和ATG8/LC3的泛素共轭系统维持吞噬泡的扩展。ATG12率先与ATG5结合, 产生的复合物以非共价键的形式结合在ATG16L1上, 形成的复合物与前自噬体膜链接在一起, 通过协助LC3招募来延长前自噬体膜。在哺乳动物细胞中, LC3是Atg8同源蛋白质, LC3被半胱氨酸蛋白酶ATG4处理后, C末端被裂解, 暴露1个甘氨酸残基(LC3-I), 经Atg7和Atg3催化, 与磷脂酰乙醇胺(phosphatidylethanolamine, PE)结合, 成为膜结合形式LC3-II, 与自噬体膜紧密相连。这种级联反应维持吞噬泡边缘延伸及闭合形成成熟的自噬体^[5]。

最初自噬被普遍认为是非选择性的。近年研究^[6]表明: 自噬也可通过降解非饥饿细胞内的物质维持细胞内稳态, 如降解聚集性蛋白质等物质, 包括消除可引起神经退行性疾病的情况(聚集体自噬)。这种选择性自噬被泛素结合区结构域受体蛋白所识别, 这些受体蛋白含有LC3相互作用结构域, 可识别出LC3, 并在泛素化转运物与自噬体之间起桥梁作用, 促使转运物进入自噬体。

2 细胞自噬与神经退变性疾病

神经退行性疾病主要包括AD, PD, 亨廷顿氏舞蹈病(Huntington's disease, HD)和肌萎缩性侧索硬化症(amyotrophic lateral sclerosis, ALS)等。神经退行性疾病的特征性标志是错误折叠蛋白和聚集体的形成, 如AD中amyloid- β , PD中 α -突触蛋白(α -synuclein), ALS中的TDP-43等。这些错误折叠蛋白和聚集体会导致细胞毒性和细胞蛋白质稳态破坏, 使神经细胞进行性变性死亡。自噬在神经元正常代谢中起重要作用, 自噬功能遭到破坏, 可导致神经系统内异常聚集的病理性蛋白清除障碍, 引起神经退行性疾病的发生。

研究^[7]表明: 在健康细胞中, 错误折叠蛋白、未折叠蛋白和正确折叠蛋白共同存在。错误折叠的蛋白质来源于生物起源、致病突变和生理应激。错误折叠蛋白通过泛素的蛋白酶体或细胞自噬途径降解, 或通过分子伴侣介导进行重新编排, 或隔离在包涵体中。在折叠蛋白有关的疾病中, 细胞可能会引起“蛋白质内稳态”的破坏。一种错误折叠的蛋白质积累会损害整个蛋白质的静态网络, 从而引发其他不相关的蛋白质的错误折叠。错误折叠蛋白的神经元间传播、扩散机制涉及由外泌体的功能依赖性分泌和/或分子伴侣介导通路。

错误折叠蛋白引起神经毒性的机制尚不明确。研究^[8-9]发现: amyloid- β , Tau和 α -synuclein均可干扰突触信号转导。突变蛋白Tau会扰乱微管功能和神经元传输机制; α -synuclein会破坏线粒体蛋白的导入^[10]。此外, 大量的错误折叠蛋白可通过结合和隔离其他胞浆蛋白而产生毒性作用, 促进异常蛋白的相互作用, 解除对细胞的应激反应的调控, 这与其聚集的能力有关^[11]。此外, 还具有一些其他的异常变化, 如钙转导异常、线粒体功能异常、应激和神经炎症反应。Amyloid- β , α -synuclein共同的作用机制是在细胞膜上形成孔状结构, 导致钙稳态的失调、线粒体功能障碍和氧化损伤, 最终导致神经细胞死亡^[12]。Amyloid- β , α -synuclein寡聚体中2种肽均会引起钙超载, 进一步诱导线粒体通透性变化和自由基的生成而诱发细胞凋亡。氧化应激不但可促进致病蛋白质的聚集, 并可导致年龄和疾病相关蛋白酶体系统的功能障碍及自噬功能减弱或障碍^[13]。

2.1 自噬与PD

PD是一种以黑质多巴胺能神经元选择性退化为特征的神经退变性疾病, 典型的细胞内包涵体主

要由 α -synuclein组成^[14]。LC3在自噬相关基因作用下, 转变成LC3-II, 该复合物定位于自噬体膜, 被广泛用于确定自噬水平^[15]。Redmann等^[16]研究结果显示: 用自噬激活剂海藻糖作用于PD模型后发现, 海藻糖通过增加LC3-II水平而上调自噬, 使PD的小鼠模型症状有所缓解, 说明PD的症状可能与自噬下调、异常蛋白蓄积有关。TOM20是线粒体外膜上的重要受体。Hwang等^[17]用乙醇诱导多巴胺能神经损伤, 在敲除*Park2*基因的小鼠中, 用免疫荧光法测定LC3-II及TOM20的水平, 发现: 与对照组小鼠相比, 敲除该基因的小鼠LC3-II及TOM20水平显著降低, 且LC3-II/TOM20的比例显著降低, 表明*Park2*的缺失可导致线粒体功能受损和自噬的下调、活性氧簇及其他代谢物堆积; 并在敲除*Park2*基因的小鼠中观察到p38 MAPK磷酸化增加, 而JNK和ERK(MAPK通路的另外亚基)磷酸化并无明显变化, 推测自噬的下调可能是通过激活p38 MAPK途径所调节的。为证实这一假设, Hwang等^[17]用P38特异性抑制剂感染*Park2*基因敲除的小鼠, 发现自噬表达增强。

2.2 自噬与 AD

AD的病理基础主要是神经细胞内神经纤维结的缠绕和 β -淀粉样蛋白(amyloid β -protein, A β)及Tau蛋白的大量蓄积所致的神经退变性疾病。实验^[18]证明: AD患者其脑内的自噬应激加强, 这一过程主要发生在远端轴突, 有助于清除受损的细胞器及有害物质, 但随有害物质的不断堆积, 自噬通量逐渐受阻, LC3-II不断堆积, 导致自噬泡不能与溶酶体相结合, 进而加快AD的病情进展。在AD皮质组织中, 促进自噬的基因转录的*Lipinski*和*coauthors 36*基因被上调, 负调节子的转录被下调; 此外, 小鼠脑中的mTOR激酶活性降低, 对自噬的抑制作用减弱。为确定自噬调节的净方向, 另一项研究^[19]通过基因表型分析等多维方法得出结论, 即AD患者早期总体自噬表达是上调的。

A β 的异常蓄积是AD的重要发病机制。全基因组关联研究(Genome-Wide Association Study, GWAS)^[20]发现: A β 原纤维可激活NLRP3炎症小体, 导致小胶质细胞IL-1 β 的释放增加。在这项研究中, 首次发现小胶质细胞对细胞外A β 原纤维的降解依赖于自噬过程, 吞噬的A β 通过OPTN/optineurin与MAP1LC3B-II相互作用而被降解, 从而影响神经元的存活与否。Cho等^[21]通过fA β (A β fibrils)诱导的小胶质细胞自噬研究其通路, 发现其可能通过PRKAA1(protein kinase AMP-activated

catalytic subunit alpha 1)通路降解A β , 从而促进自噬的表达。转染*siLC3B*, *siAtg7*基因, 其Western印迹分析结果显示: A β 的表达水平升高, 同时异硫氰酸荧光素标记的A β 信号水平上调, 进一步证实自噬对于A β 的降解起必要作用。

2.3 自噬与 ALS

ALS是一种多因素疾病, 由于运动神经元的过早损失, 导致脊髓、脑干和运动皮层中神经元退化, 最终导致瘫痪。其机制尚不明确, 但研究^[22-24]显示诸多自噬相关基因突变与ALS有密切联系。Wald-Altman等^[25]通过对ALS小鼠模型及ALS患者的骨髓间充质干细胞进行一系列的研究, 结果表明: ALS患者和小鼠模型中LC3-II明显增多, 可能是通过AMPK激活最终诱导自噬的III类PI3K途径, 同时也通过抑制mTOR途径, 促进自噬。TDP-43蛋白在组织中广泛分布, 病理性TDP-43的蓄积与ALS的发病有密切联系^[26]。Chang等^[27]用mTOR信号抑制剂小檗碱对ALS进行试验性治疗, 发现小檗碱能逆转不溶性TDP-43聚集体的形成, 证明mTOR-自噬信号在小檗碱介导的TDP-43聚集体自噬清除中起重要作用, 推测细胞自噬的减退与ALS的发病密切相关。

2.4 自噬与 HD

HD是一种主要由亨廷顿蛋白(Htt)基因突变引起异常Htt蛋白蓄积, 影响细胞内外多种代谢途径(包括自噬-溶酶体途径)的遗传性疾病^[28]。ULK1蛋白激酶和Vps34脂质激酶是2个关键的自噬调节因子, 对自噬体生物发生起重要作用^[29-30]。正常的自噬过程为ULK1蛋白激酶以mTOR依赖的方式在丝氨酸29处磷酸化ATG14。Wold等^[31]采用HD遗传细胞模型和动物模型以了解体内自噬信号和调节, 发现在该HD模型中, ATG14磷酸化和Vps34活性受损, 由此推断HD可能与ULK1途径受损导致自噬调节下降、Htt蛋白无法排出有关, 但此过程尚不完全清楚。Vodicka等^[32]使用腺相关病毒AAV2/9, 将神经元特异性突触蛋白1启动子控制下的透明质酸(hyaluronic acid, HA)标签的转录因子EB(transcription factor EB-HA, TFEB-HA)的cDNA编码到HDQ175/Q7小鼠的纹状体中, 使用qPCR和Western印迹分析外源性TFEB水平, 使用免疫组织化学方法检查自噬、亨廷顿蛋白和纹状体富集蛋白水平, 研究结果显示: TFEB水平升高, 自噬相关蛋白表达增多, 包括LAMP-2A, LC3-II, 突变的HTT减少, 由此说明HD小鼠中的细胞自噬水平可

通过TFEB水平来进行调节。

3 结语

神经退变性疾病因其不可治愈性和严重影响中老年患者生活质量而备受关注, 目前其发病机制尚不明确, 临床治疗方面仍十分棘手。自噬功能遭到破坏, 可导致神经系统内异常聚集的病理性蛋白清除障碍。因此, 调节自噬水平可能是神经退行性疾病新的治疗靶点。目前虽有较多的资料证实自噬与退行性疾病的密切关联, 但应用于临床的药物并不多见, 其治疗效果尚需进一步提高, 而这有赖于对其发病机制进一步的研究。

参考文献

- Martinez-Vicente M. Autophagy in neurodegenerative diseases: from pathogenic dysfunction to therapeutic modulation[J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2015, 40: 115-126.
- Mochida K, Oikawa Y, Kimura Y, et al. Receptor-mediated selective autophagy degrades the endoplasmic reticulum and the nucleus[J]. *Nature*, 2015, 522(7556): 359-362.
- Kim J, Kundu M, Viollet B, et al. AMPK and mTOR regulate autophagy through direct phosphorylation of Ulk1[J]. *Nat Cell Biol*, 2011, 13(2): 132-141.
- Itakura E, Kishi C, Inoue K, et al. Beclin 1 forms two distinct phosphatidylinositol 3-kinase complexes with mammalian Atg14 and UVRAG[J]. *Mol Biol Cell*, 2008, 19(12): 5360-5372.
- Bento CF, Renna M, Ghislat G, et al. Mammalian autophagy: how does it work?[J]. *Annu Rev Biochem*, 2016, 85: 685-713.
- Stolz A, Ernst A, Dikic I. Cargo recognition and trafficking in selective autophagy[J]. *Nat Cell Biol*, 2014, 16(6): 495-501.
- Sweeney P, Park H, Baumann M, et al. Protein misfolding in neurodegenerative diseases: implications and strategies[J]. *Transl Neurodegener*, 2017, 6: 6.
- Kopeikina KJ, Hyman BT, Spires-Jones TL. Soluble forms of tau are toxic in Alzheimer's disease[J]. *Transl Neurosci*, 2012, 3(3): 223-233.
- Ingelsson M. Alpha-synuclein oligomers-neurotoxic molecules in Parkinson's disease and other Lewy body disorders[J]. *Front Neurosci*, 2016, 10: 408.
- Di Maio R, Barrett PJ, Hoffman EK, et al. α -Synuclein binds to TOM20 and inhibits mitochondrial protein import in Parkinson's disease[J]. *Sci Transl Med*, 2016, 8(342): 342ra78.
- Olzscha H, Schermann SM, Woerner AC, et al. Amyloid-like aggregates sequester numerous metastable proteins with essential cellular functions[J]. *Cell*, 2011, 144(1): 67-78.
- Angelova PR, Abramov AY. Alpha-synuclein and beta-amyloid—different targets, same players: calcium, free radicals and mitochondria in the mechanism of neurodegeneration[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 483(4): 1110-1115.
- Höhn A, Weber D, Jung T, et al. Happily (n)ever after: aging in the context of oxidative stress, proteostasis loss and cellular senescence[J]. *Redox Biol*, 2017, 11: 482-501.
- Donaldson IM. James Parkinson's essay on the shaking palsy[J]. *J R Coll Physicians Edinb*, 2015, 45(1): 84-86.
- Park S, Choi SG, Yoo SM, et al. Choline dehydrogenase interacts with SQSTM1/p62 to recruit LC3 and stimulate mitophagy[J]. *Autophagy*, 2014, 10(11): 1906-1920.
- Redmann M, Wani WY, Volpicelli-Daley L, et al. Trehalose does not improve neuronal survival on exposure to alpha-synuclein pre-formed fibrils[J]. *Redox Biol*, 2017, 11: 429-437.
- Hwang CJ, Kim YE, Son DJ, et al. Parkin deficiency exacerbate ethanol-induced dopaminergic neurodegeneration by P38 pathway dependent inhibition of autophagy and mitochondrial function[J]. *Redox Biol*, 2017, 11: 456-468.
- Tammineni P, Ye X, Feng T, et al. Impaired retrograde transport of axonal autophagosomes contributes to autophagic stress in Alzheimer's disease neurons[J]. *Elife*, 2017, 6: e21776.
- Bordi M, Berg MJ, Mohan PS, et al. Autophagy flux in CA1 neurons of Alzheimer hippocampus: Increased induction overburdens failing lysosomes to propel neuritic dystrophy[J]. *Autophagy*, 2016, 12(12): 2467-2483.
- Bodles AM, Barger SW. Cytokines and the aging brain—what we don't know might help us[J]. *Trends Neurosci*, 2004, 27(10): 621-626.
- Cho MH, Cho K, Kang HJ, et al. Autophagy in microglia degrades extracellular β -amyloid fibrils and regulates the NLRP3 inflammasome[J]. *Autophagy*, 2014, 10(10): 1761-1775.
- Peters OM, Ghasemi M, Brown RH Jr. Emerging mechanisms of molecular pathology in ALS[J]. *J Clin Invest*, 2015, 125(5): 1767-1779.
- Zarei S, Carr K, Reiley L, et al. A comprehensive review of amyotrophic lateral sclerosis[J]. *Surg Neurol Int*, 2015, 6: 171.
- Lee JK, Shin JH, Lee JE, et al. Role of autophagy in the pathogenesis of amyotrophic lateral sclerosis[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2015, 1852(11): 2517-2524.
- Wald-Altman S, Pichinuk E, Kakhlon O, et al. A differential autophagy-dependent response to DNA double-strand breaks in bone marrow mesenchymal stem cells from sporadic ALS patients[J]. *Dis Model Mech*, 2017, 10(5): 645-654.
- Ling SC, Polymenidou M, Cleveland DW. Converging mechanisms in ALS and FTD: disrupted RNA and protein homeostasis[J]. *Neuron*, 2013, 79(3): 416-438.

27. Chang CF, Lee YC, Lee KH, et al. Therapeutic effect of berberine on TDP-43-related pathogenesis in FTLTD and ALS[J]. J Biomed Sci, 2016, 23(1): 72.
28. Labbadia J, Morimoto RI. Huntington's disease: underlying molecular mechanisms and emerging concepts[J]. Trends Biochem Sci, 2013, 38(8): 378-385.
29. Jung CH, Ro SH, Cao J, et al. mTOR regulation of autophagy[J]. FEBS Lett, 2010, 584(7): 1287-1295.
30. Zhong Y, Wang QJ, Li X, et al. Distinct regulation of autophagic activity by Atg14L and Rubicon associated with Beclin 1-phosphatidylinositol-3-kinase complex[J]. Nat Cell Biol, 2009, 11(4): 468-476.
31. Wold MS, Lim J, Lachance V, et al. ULK1-mediated phosphorylation of ATG14 promotes autophagy and is impaired in Huntington's disease models[J]. Mol Neurodegener, 2016, 11(1): 76.
32. Vodicka P, Chase K, Iuliano M, et al. Autophagy activation by transcription factor EB (TFEB) in striatum of HDQ175/Q7 mice[J]. J Huntingtons Dis, 2016, 5(3): 249-260.

本文引用: 冯会超, 陈乃耀. 细胞自噬与神经退行性疾病机制的研究进展[J]. 临床与病理杂志, 2018, 38(3): 659-663. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2018.03.033

Cite this article as: FENG Huichao, CHEN Naiyao. Advances in mechanisms of autophagy and neurodegenerative diseases[J]. Journal of Clinical and Pathological Research, 2018, 38(3): 659-663. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2018.03.033