

阿尔茨海默病基因与自噬的研究进展*

何永利 综述,陈阳美 审校

(重庆医科大学附属第二医院神经内科 400010)

[摘要] 阿尔茨海默病(AD)是老年人中最常见的退行性疾病。尽管 AD 的病因尚不清楚,但大量证据支持淀粉样蛋白级联假说有关 AD 发病机制的主流学说。因此,靶向淀粉样蛋白已成为最有希望的治疗方法。自噬广泛存在于真核细胞中,能清除异常构型蛋白质并消化受损和多余的细胞器,以帮助细胞应对代谢应激(如低氧、营养缺乏等),对病理生理状态下维持细胞内稳态有重要意义。自噬体聚集和溶酶体障碍等自噬功能失调与 AD 密切相关。最近对 AD 的全基因组关联研究已经确定了与 AD 相关的新基因数量。在 AD 中,鉴定的许多基因与自噬功能障碍有关。由于自噬被认为是 AD 的主要致病机制之一,所以有必要讨论 AD 相关基因是怎样与自噬相关联的。

[关键词] 阿尔茨海默病;自噬;淀粉样 β 蛋白;tau 蛋白质类

[中图分类号] R741

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2018)35-4520-04

大量证据表明,阿尔茨海默病(AD)患者脑中自噬功能受损。自噬有助于清除错折叠蛋白,自噬的损伤可能促成 AD 相关的淀粉样斑块和 Tau 聚集体的形成。在 AD 患者脑、AD 动物模型脑组织和 AD 细胞模型中,均有大量积累的自噬体和后期自噬囊泡存在,表明与溶酶体融合或通过溶酶体降解遭到破坏^[1-2]。由于自噬可以降解异常的蛋白质[如 β -淀粉样蛋白(A β)]和功能障碍的细胞器,因此对 AD 等神经退行性疾病的发生、发展发挥了重要的调控作用。自噬也因此被认为是 AD 病变中可以对 A β 在神经元中的聚集和减轻神经毒性的潜在治疗靶点。本文讨论了 AD 相关基因与自噬的关联性,试图理解自噬是如何涉及 AD 的发病机制及如何利用自噬途径防治 AD 的。

1 AD

AD 是最常见的神经变性疾病,也是全球第四大致死性疾病,其特征是认知功能和记忆形成的进行性损害^[3]。AD 是老年人中最流行的一种痴呆,影响了 3 500 万人。在 AD 患者脑中,淀粉样斑块的胞外沉积和神经原纤维缠结(NFTs)的胞内聚集是其主要的病理特点。淀粉样斑块由前体蛋白(APP)经 β -和分泌酶水解成的 A β 纤维聚合物组成。AD 患者脑中,损伤的神经元周围胞外 A β 沉积是 AD 的主要致病因素。但是,大量证据表明神经元中胞内 A β 聚合物与认知障碍紧密相关,表明胞内 A β 可能也是 AD 的致病因素之一^[4-5]。因此减少 A β 沉积或促进其清除已成为目前治疗 AD 的重要策略之一,但迄今为止对于 A β 沉积尚无理想的治疗方案。

2 自噬

自噬是存在于真核生物中进化上保守的维持细胞内环境稳定的过程^[6]。自噬是细胞内长半衰期蛋白或胞浆中的细胞器由双层膜的自噬泡包裹后经溶酶体途径降解的过程,它对细胞生长、存活、发展和死亡过程中起重要作用^[6]。随着年龄增长自噬能力的降低,且氧化自由基对蛋白质等的损坏会造成异常蛋白质及细胞器聚集,成为体内的生物垃圾,而成为许多急、慢性疾病的主要病因,如亨廷顿疾病、老年痴呆、帕金森和 AD 等^[7]。

3 AD 相关基因与自噬

3.1 与 AD 相关的基因 与家族性早发 AD 相关的经典基因有 APP、早老素 1(presenilin 1, PS1)和早老素 2(presenilin 2, PS2)。载脂蛋白(apolipoprotein E, APOE)是晚发性 AD 的最强危险因素^[8]。最近遗传研究发现了许多影响晚发性 AD 的新基因位点^[9]。

3.2 APP 和 A β APP 是 I 型膜蛋白,它可以被 β -和 γ -分泌酶依次切割而产生 A β (AD 老年斑的主要成分)。APP 基因中有超过 30 个突变与家族性早发 AD 相关^[10]。早期研究表明 AD 神经突内有自噬体聚集,且这些自噬体中存在 APP、A β 、CTF 和 BACE,所以自噬被认为是导致 A β 产生的原因^[7,11]。但是,进一步研究自噬本身及其与 AD 的关系后发现,APP、A β 、CTF 和 BACE 其实是自噬的底物^[12]。雷帕霉素、牛蒡甙元、卡马西平等药物能活化自噬从而降解 A β 和其他致病性蛋白来预防 AD^[13],这些证据也支持了上述观点。

* 基金项目:重庆市卫生计生委医学科研项目(2017MSXM095)。作者简介:何永利(1972—),副主任医师,在读硕士,现在重庆市第六人民医院神经内科工作,主要从事脑血管病和痴呆研究。

APP 或 A β 在自噬中的直接作用尚未确定,但是 APP 中 AD 相关突变可能通过损害自噬功能而导致 AD 发病。这种突变会产生更多易聚集的 A β ,由于底物积累而引起过度自噬。A β 通过其疏水性羧基末端与膜直接相互作用,这干扰了正常的生物发生和胞内细胞器的转运。A β 的这一特征也可能影响自噬体的生物发生或转运及其与溶酶体的融合,这种可能性在未来也需要被解决。溶酶体中 A β 聚集导致溶酶体膜不稳定和泄漏,这也损伤了自噬和溶酶体降解^[14]。研究表明,过表达 p62 的 AD 小鼠脑中自噬活性增加,提高了认知能力,且 A β 表达显著降低^[15]。Beclin1 可促进 APP 降解并降低 APP 代谢物的分泌^[16]。

3.3 PS PS1 和 PS2 是含有 9 个跨膜结构域的同源整合膜蛋白^[10]。它们与呆蛋白、前咽缺损 1 和早老素增强子 2 形成 γ -分泌酶复合物,将 APP 切割成 A β 。据报道,PS 中有约 200 个突变会导致 A β 42/A β 40 比值增高而导致早发家族性 AD^[10]。除了作为 A β 产生的 γ -分泌酶功能之外,PS 也通过调节 vAT-Pase 介导的溶酶体酸化而有效地进行溶酶体蛋白水解,其突变破坏了这些溶酶体功能和自噬^[17]。PS1(Ser367)磷酸化能通过自噬途径提高 β -CTF 降解而降低 A β 水平^[18]。PS1 缺失或 PS1 FAD 突变能引起溶酶体和自噬障碍,从而扰乱细胞钙离子稳态,因而导致 AD 相关的病理过程^[19]。

3.4 Tau Tau 的大量聚集与神经退行性疾病和认知障碍密切相关,表明 Tau 也是 AD 的一个重要因子。过度磷酸化 Tau 的聚集形成叫做双螺旋丝(PHFs)的神经细胞纤维包含物,而 PHFs 是 NFTs 的主要成分。所有的 Tau 病变均以磷酸化 Tau 起源的 NFT 为特征^[20]。各种形式的 Tau 都可以被自噬降解^[20]。有研究表明,Tau 聚集是由于自噬功能障碍引起的^[21]。

诊断 AD 不可或缺的病理特征是 NFTs,其主要成分是 Tau 蛋白。自噬需要自噬体和溶酶体沿微管的运动^[22]。因此,Tau 缺失使微管不稳定并损害自噬,从而加剧了 Niemann-Pick 型 C 小鼠表型和 A β 积累^[23]。Tau 尤其是 Tau 聚集体是自噬的底物,表明 AD 中自噬障碍可能有助于 Tau 聚集体形成导致 NFTs 增高^[24]。研究表明,有些化合物(如雷帕霉素、海藻糖和西罗莫司脂化物)能通过激活自噬降解病理性 Tau 来预防 AD 发生^[25]。核蛋白 NDP52 是自噬的一种受体,它通过自噬选择性降解底物。NDP52 可介导磷酸化 Tau 通过自噬清除^[26]。

3.5 金属蛋白酶结构域 10(ADAM10) 去整合素和 ADAM10 是 APP 剪切的主要 α 分泌酶,能阻止 A β 产生^[27]。ADAM10 过表达能预防淀粉样病变和

提高长时程增强作用及学习记忆功能^[28]。ADAM10 中罕见的编码变体与晚发家族 AD 相关。没有关于 ADAM10 与自噬和 AD 相关的报道,但最近一则报道指出在内皮细胞中 ADAM10 可以被自噬调节,反过来调节小鼠对内皮 ADAM10 相关疾病状态的敏感性^[29]。因此,有可能 ADAM10 在神经元和神经胶质细胞也可以被自噬调节。神经元和胶质细胞 ADAM10 的自噬调节及 AD 相关的 ADAM10 变体对自噬的影响需要在将来的研究中得到阐明。

3.6 β 位点裂解酶-1(BACE1) BACE1 是机体内主要的 β -分泌酶,是分解 APP 产生 A β 的限速酶。研究表明,在小鼠脑内注射 BACE1 siRNA 可减轻 AD 小鼠 A β 沉积并提高认知功能^[30],这说明抑制 BACE1 表达会改善 A β 相关的认知功能障碍,因此 BACE1 被作为 AD 药物潜在靶点。

有研究报道,Se-Met 处理过表达 APP 的 N2a 细胞后 A β 水平显著降低,并且 Se-Met 的抗淀粉样蛋白作用是由于抑制 BACE1 活性而抑制了 A β 产生的。此外,Se-Met 处理的细胞中 LC3-II/LC3-I 比例和 LC3 阳性荧光点数均显著降低,表明 Se-Met 通过调节自噬途径促进 A β 清除^[31]。诱导神经元自噬增强了 BACE1 周转,溶酶体抑制剂抑制了 BACE1 周转。在人 APP 转基因神经元和 AD 小鼠脑的远端轴突中,BACE1 相关的自噬液泡大量聚集。在远端轴突中,诱导自噬能增加 BACE1 的自噬保留,从而导致 APP β 剪切的增强^[32]。BACE1 蛋白水平的降低被证明是通过 MAPK14 介导的溶酶体降解。BACE1 的溶酶体降解似乎依赖于自噬的刺激,因为自噬阻断剂 3-甲基腺嘌呤(3-MA)或沉默 ATG5 消除了 MAPK14 对 BACE1 蛋白水平的作用^[33]。然而,自噬刺激导致 BACE1 蛋白溶酶体降解的具体机制还不清楚。

3.7 APOE APOE 是一类主要由外周组织中肝脏和巨噬细胞产生的载脂蛋白。在中枢神经系统中,APOE 主要由星形胶质细胞产生并通过 APOE 受体将胆固醇转运至神经元^[34]。根据两个氨基酸残基(112 和 158)不同,APOE 分为 3 个亚型:APOE ϵ 2、APOE ϵ 3 和 APOE ϵ 4。APOE ϵ 3 是最常见的 APOE 亚型,APOE ϵ 4 增加了杂合子携带者的家族性和散发性 AD 3 倍的风险,对于纯合载体则增加了 8~10 倍^[10]。APOE ϵ 2 可降低迟发性 AD 的风险并延缓发病年龄^[10]。APOE 结合 A β 影响 A β 的清除,APOE4 加速 A β 原纤维形成并增加实质内 A β 沉积。因此,APOE4 诱导的 A β 数量的提高和聚集可能导致了 AD 中自噬的损伤。再有,APOE4 本身增强 A β 诱导的溶酶体膜不稳定及其渗漏^[35],这可能破坏了自噬和溶酶体降解^[14]。在几种自噬诱导条件下,与表达

APOE3 的星形胶质细胞相比,表达 APOE4 的细胞表现出较低的自噬通量。自噬诱导剂雷帕霉素通过 APOE4 星形胶质细胞增强 A β 斑块降解,而自噬抑制剂氯喹阻断了 APOE3 星形胶质细胞中 A β 斑块的降解。总之,这些研究结果表明,APOE4 能损害自噬,并且这种作用与清除 A β 斑块的能力降低有关。这表明自噬障碍可能在介导 APOE4 在 AD 中的病理作用中发挥作用。

3.8 髓系细胞触发受体 2(TREM2) TREM2 是在骨髓细胞(如小神经胶质细胞、树突状细胞、破骨细胞和巨噬细胞)亚型细胞膜上表达的先天免疫受体。TREM2 可能在骨髓细胞中起作用,最可能是破骨细胞和小神经胶质细胞,这二者都参与骨重建和脑功能,后者的功能受糖基化调控。全基因组关联研究表明 TREM2 在晚发性 AD 的进展中可能发挥作用。TREM2 在 AD 转基因小鼠模型的小胶质细胞中表达上调。最近研究报道,几种 TREM2 突变引起无骨病变的额颞痴呆症综合症。在损伤的中枢神经系统中,小胶质细胞上表达的 TREM2 对清除神经碎片起关键作用。AD 相关的 TREM2 的 R47H 变体通过小胶质细胞减少了 A β 吞噬作用。APOE 是 TREM2 的配体,且 APOE 不能与 R47H 变体结合。小胶质细胞中 TREM2 的回收由参与自噬的蛋白质 Beclin1 调节。AD 脑小胶质细胞中 Beclin1 水平降低与 TREM2 的再循环和吞噬功能受损有关。因此,TREM2 和自噬之间的关系机制亟待阐明。

3.9 磷脂酰肌醇结合网格蛋白装配蛋白(PICALM) PICALM 主要在神经元中表达,并且涉及网格蛋白介导的胞吞作用和突触囊泡转运。PICALM 在 AD 脑中表达降低且与 NFT 共定位。在 Tau 疾病和与 Tau 不相关的神经退行性疾病中,PICALM 的降低与自噬标志物 LC3-II 升高和 Beclin1 水平降低密切相关。PICALM 通过调节 SNAREs 的内吞和调节 Tau 积累来影响自噬。在斑马鱼模型中,PICALM 表达的改变加剧了 Tau 介导的细胞毒性。全基因组关联研究将 PICALM 鉴定为 AD 的风险基因。PICALM 改变 APP 转运并调节 A β 斑块沉积和 A β 诱导的毒性。PICALM 与 LC3 相互作用,并通过自噬靶向 APP-CTF 进行降解。

3.10 簇集蛋白(Clusterin) Clusterin 是应激激活的伴侣蛋白。Clusterin 中各种单核苷酸多态性(SNPs)均与 AD 有关。许多研究调查了 AD 和 Clusterin 的关系及这个伴侣在疾病中的作用。在 A β 斑块中发现有 Clusterin 存在,它与 A β 相互作用改变了 A β 的溶解度和聚集。在 AD 大脑中,Clusterin mRNA 表达升高。最近发现 Clusterin 能促进 LC3 脂质

化,并在癌症的应激条件下诱导自噬体形成。Clusterin 敲除的肾中,缺血再灌注损伤(IRI)自噬被激活。进一步研究发现在低氧肾细胞中 Clusterin 依赖的促存活自噬与错折叠蛋白反应紧密相关。

3.11 其他 AD 相关基因 除了上述 AD 相关基因之外,许多其他基因也与 AD 有关。几乎没有关于这些基因与自噬之间潜在关系的报道。将来的研究可能会揭示这些基因与自噬和 AD 发病机制的关系。

APP、A β 、Tau、ADAM10 和 BACE1 是自噬的底物。PS、APOE、PICALM 和 Clusterin 等可通过不同机制调节自噬。最新的 AD 遗传研究发现大量与 AD 有关的基因,它们在 AD 中的致病作用将在未来得到阐明。这些基因也可能与自噬有关系,其自身可能在 AD 发病机制中发挥作用。

参考文献

- [1] SEIDAH N G, CHRETIEN M. Proprotein and prohormone convertases: a family of subtilases generating diverse bioactive polypeptides[J]. *Brain Res*, 1999, 848(1/2): A14-15.
- [2] HUMPEL C. Platelets: their potential contribution to the Generation of beta-amyloid plaques in alzheimer's disease [J]. *Curr Neurovasc Res*, 2017, 14(3): 290-298.
- [3] SANABRIA-CASTRO A, ALVARADO-ECHEVERRIA L, MONGE-BONILLA C. Molecular pathogenesis of alzheimer's disease: an update[J]. *Ann Neurosci*, 2017, 24(1): 46-54.
- [4] GALLUZZI L, BAEHRECKE E H, BALLABIO A, et al. Molecular definitions of autophagy and related processes [J]. *EMBO J*, 2017, 36(13): 1811-1836.
- [5] MENZIES F M, FLEMING A, CARICASOLE A A, et al. Autophagy and neurodegeneration: pathogenic mechanisms and therapeutic opportunities[J]. *Neuron*, 2017, 93(5): 1015-1034.
- [6] YOON S Y, CHOI J E, KWEON H S, et al. Okadaic acid increases autophagosomes in rat neurons: implications for Alzheimer's disease[J]. *J Neurosci Res*, 2008, 86(14): 3230-3239.
- [7] YU W H, CUERVO A M, KUMAR A, et al. Macroautophagy—a novel Beta-amyloid peptide-generating pathway activated in Alzheimer's disease[J]. *J Cell Biol*, 2005, 171(1): 87-98.
- [8] KARCH C M, GOATE A M. Alzheimer's disease risk genes and mechanisms of disease pathogenesis[J]. *Biol Psychiatry*, 2015, 77(1): 43-51.
- [9] YOON S Y, KIM D H. Alzheimer's disease genes and autophagy[J]. *Brain Res*, 2016, 1649(3): 201-209.
- [10] GUERREIRO R J. The genetic architecture of alzheimer's disease: beyond APP, PSENs and APOE[J]. *Neurobiol*

- Aging, 2012, 33(3):437-456.
- [11] AUTOPHAGY N R. Amyloidogenesis and alzheimer disease[J]. J Cell Sci, 2007, 120(Pt 23):4081-4091.
- [12] CHO M H, CHO K, KANG H J, et al. Autophagy in microglia degrades extracellular beta-amyloid fibrils and regulates the NLRP3 inflammasome[J]. Autophagy, 2014, 10(10):1761-1775.
- [13] JANG Y H. Phospholipase d-mediated autophagic regulation is a potential target for cancer therapy[J]. Cell Death Differ, 2014, 21(4):533-546.
- [14] NIXON R A. The role of autophagy in neurodegenerative disease[J]. Nat Med, 2013, 19(8):983-997.
- [15] CACCAMO A, FERREIRA E. p62 improves AD-like pathology by increasing autophagy[J]. Molecular Psychiatry, 2017, 22(6):865-873.
- [16] SWAMINATHAN G. BECN1/beclin 1 sorts cell-surface APP/amyloid beta precursor protein for lysosomal degradation[J]. Autophagy, 2016, 12(12):2404-2419.
- [17] NEELY K M. Presenilin is necessary for efficient proteolysis through the autophagy-lysosome system in a gamma-secretase-independent manner [J]. J Neurosci, 2011, 31(8):2781-2791.
- [18] BUSTOS V, PULINA M V, KELAHMETOGLU Y, et al. Bidirectional regulation of A beta levels by Presenilin 1[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2017, 114(27):7142-7147.
- [19] DUGGAN S P, MCCARTHY J V. Beyond gamma-secretase activity: The multifunctional Nature of presenilins in cell signalling pathways[J]. Cell Signal, 2016, 28(1):1-11.
- [20] LEE M J, LEE J H, RUBINSZTEIN D C. Tau degradation; the ubiquitin-proteasome system versus the autophagy-lysosome system [J]. Prog Neurobiol, 2013, 105:49-59.
- [21] INOUE K, RISPOLI J, KAPHZAN H, et al. Macroautophagy deficiency mediates age-dependent neurodegeneration through a phospho-tau pathway[J]. Mol Neurodegener, 2012, 7(1):48.
- [22] MACKEH R, PERDIZ D, LORIN S, et al. Autophagy and microtubules - new story, old players[J]. J Cell Sci, 2013, 126(5):1071-1080.
- [23] LONSKAYA I, HEBRON M, CHEN W Q, et al. Tau deletion impairs intracellular beta-amyloid-42 clearance and leads to more extracellular plaque deposition in gene transfer models[J]. Mol Neurodegener, 2014, 9(1):46.
- [24] WANG Y, MARTINEZ-VICENTE M, KRUGER U, et al. Synergy and antagonism of macroautophagy and chaperone-mediated autophagy in a cell model of pathological tau aggregation[J]. Autophagy, 2010, 6(1):182-183.
- [25] FREDERICK C, ANDO K, LEROY K, et al. Rapamycin ester analog CCI-779/temsirolimus alleviates Tau pathology and improves motor deficit in mutant Tau transgenic mice[J]. J Alzh Dis, 2015, 44(4):1145-1156.
- [26] KIM S, LEE D, SONG C, et al. NDP52 associates with phosphorylated tau in brains of an Alzheimer disease mouse model[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2014, 454(1):196-201.
- [27] JORISSEN E, PROX J, BERNREUTHER C, et al. The disintegrin/metalloproteinase Adam10 is essential for the establishment of the brain cortex [J]. J Neuroscience, 2010, 30(14):4833-4844.
- [28] SCHROEDER A. Effect of a dominant-negative form of Adam10 in a mouse model of alzheimer's disease[J]. J Alzheimers Dis, 2009, 16(2):309-314.
- [29] MAURER K, REYES-ROBLES T, ALONZO I F, et al. Autophagy mediates tolerance to staphylococcus aureus Alpha-Toxin[J]. Cell Host Microbe, 2015, 17(4):429-440.
- [30] LIU Z, LI S, LIANG Z, et al. Targeting beta-secretase with RNAi in neural stem cells for Alzheimer's disease therapy[J]. NRR, 2013, 8(33):3095-3106.
- [31] ZHANG Z H, WU Q Y, CHEN C, et al. Selenomethionine attenuates the amyloid-beta level by both inhibiting amyloid-beta production and modulating autophagy in neuron-2a/a beta PPSwe cells[J]. J Alzh Dis, 2017, 59(2):591-602.
- [32] FENG T C, TAMMINENI P, AGRAWAL C, et al. Autophagy-mediated Regulation of BACE1 Protein Trafficking and Degradation[J]. J Biol Chem, 2017, 292(5):1679-1690.
- [33] ALAM J, SCHEPER W. Targeting neuronal MAPK14/p38 activity to modulate autophagy in the Alzheimer disease brain[J]. Autophagy, 2016, 12(12):2516-2520.
- [34] DEMATTOS R B, CIRRITO J R, PARSADANIAN M, et al. ApoE and clusterin cooperatively suppress Abeta levels and deposition; evidence that ApoE regulates extracellular Abeta metabolism in vivo[J]. Neuron, 2004, 41(2):193-202.
- [35] JI Z S, MULLENDORFF K, CHENG I H, et al. Reactivity of apolipoprotein E4 and amyloid beta peptide - Lysosomal stability and neurodegeneration[J]. J Biol Chem, 2006, 281(5):2683-2692.