

甘雪,刘书一,王正波. 线粒体自噬及功能障碍与帕金森病 [J]. 中国比较医学杂志, 2020, 30(10): 121-127.  
Gan X, Liu SY, Wang ZB. Mitochondrial autophagy and dysfunction in Parkinson's disease [J]. Chin J Comp Med, 2020, 30(10): 121-127.  
doi: 10.3969/j.issn.1671-7856. 2020.10.018

## 线粒体自噬及功能障碍与帕金森病

甘 雪<sup>1,2</sup>, 刘书一<sup>1,2</sup>, 王正波<sup>1,2\*</sup>

(1. 昆明理工大学灵长类转化医学研究院, 昆明 650500; 2. 云南省中科灵长类生物医学重点实验室, 昆明 650500)

**【摘要】** 帕金森病(Parkinson's disease, PD)是全球第二大中枢神经系统退行性疾病,其病理特征主要是黑质中 $\alpha$ -突触核蛋白( $\alpha$ -synuclein,  $\alpha$ -syn)的聚集,其早期征兆是线粒体功能紊乱。PD相关蛋白PINK1、Parkin、DJ-1蛋白和 $\alpha$ -syn等参与线粒体自噬及质量控制过程,PD相关蛋白突变时导致线粒体自噬及其功能异常,从而出现受损线粒体不能被选择性清除和线粒体功能障碍的现象,最终可能造成多巴胺能神经元的死亡。因此PD相关蛋白的失控与PD的发生密切相关,本文将对线粒体自噬及功能障碍与帕金森病的关系做一综述。

**【关键词】** 帕金森病;  $\alpha$ -突触核蛋白; 线粒体自噬; 线粒体功能障碍

**【中图分类号】** R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2020) 10-0121-07

## Mitochondrial autophagy and dysfunction in Parkinson's disease

GAN Xue<sup>1,2</sup>, LIU Shuyi<sup>1,2</sup>, WANG Zhengbo<sup>1,2\*</sup>

(1. Institute of Primate Translational Medicine of Kunming University of Science and Technology, Kunming 650500, China.  
2. Yunnan Province Key Laboratory of Primate Biomedicine, Kunming 650500)

**【Abstract】** Parkinson's disease (PD) is the second most common central nervous system degenerative disease worldwide. One pathological feature is  $\alpha$ -synuclein accumulation in the substantia nigra, and an early sign is mitochondrial dysfunction. The PD-related proteins PINK1, Parkin, DJ-1, and  $\alpha$ -synuclein are involved in the process of mitochondrial autophagy and quality control. The mutation of PD-related proteins leads to abnormal autophagy and mitochondrial function. A failure of selective clearance of damaged mitochondria and mitochondrial dysfunction may eventually lead to dopaminergic neuron death. Therefore, the loss of control of PD-related proteins is closely related to PD occurrence. This article reviews the associations between mitochondrial autophagy, dysfunction, and Parkinson's disease.

**【Keywords】** Parkinson's disease;  $\alpha$ -synuclein; mitochondrial autophagy; mitochondrial dysfunction

线粒体自噬通常是在氧化应激、营养物质缺乏、细胞衰老或损伤的情况下,细胞为抵御外界刺激而产生的一种自我保护性行为;具体过程是当外界环境发生剧烈改变时,细胞内线粒体发生去极化损伤后,便会招募自噬小体,特异性的被包裹进入溶酶体中最终清除受损线粒体。线粒体自噬在维

持线粒体的稳定以及质量控制中具有重要作用。通过对线粒体自噬深入研究发现,线粒体自噬的异常与心血管疾病、癌症、神经退行性疾病和血液病等疾病的发生均具有紧密联系。

帕金森病(Parkinson's disease, PD)主要是由于黑质多巴胺能神经元进行性丢失及胞质内 $\alpha$ -突触核

**【基金项目】** 国家自然科学基金(31960120)。

**【作者简介】** 甘雪(1996—),女,硕士研究生,主要从事帕金森病细胞治疗研究。E-mail: 2574095448@qq.com

**【通信作者】** 王正波(1977—),男,副教授,硕士生导师,主要从事帕金森动物模型构建以及干细胞治疗研究。E-mail: wangzb@lpbr.cn

蛋白( $\alpha$ -synuclein,  $\alpha$ -syn)聚集成路易小体为表征的神经退行性疾病,是当前第二大神经退行性疾病。在 PD 患者细胞中可以观察到线粒体自噬的相关基因 *PRKN*, *PINK1*, *DJ-1* 表达<sup>[1]</sup>。在 PD 动物模型中存在大量水肿的线粒体<sup>[2]</sup>,这些肿胀可能是由于  $\alpha$ -突触核蛋白错误折叠、聚集引起的,并最终导致多巴胺能神经元死亡<sup>[3]</sup>。此外,在 PD 患者脑组织和肌肉组织中的线粒体电子传递链复合物 I 减少导致氧自由基的产生,以及线粒体氧化应激损伤<sup>[4]</sup>,线粒体自噬及功能障碍与帕金森病的发病及进展也密切相关。

## 1 线粒体自噬及分类

线粒体是双层膜结构的细胞器,其结构封闭,通过呼吸氧化链、脂肪酸氧化与三羧酸循环的氧化磷酸化持续供给 ATP 并维持细胞的基本代谢。在线粒体生理代谢活动过程中 ROS 的积累会引发线粒体的损伤,改变线粒体膜通透性,引起线粒体内细胞色素 C 的释放并最终通过级联反应活化 Caspase 凋亡蛋白进而引起细胞凋亡。生理状态下,细胞通过自噬途径选择性的降解受损线粒体来维持其稳态。一旦线粒体自噬功能受损后,老化的线粒体会在细胞中积累,从而引发细胞变性甚至死亡。根据细胞生物学的方法通常将线粒体自噬分为三种类型:第一种类型是在营养缺乏的条件下,前自噬结构形成杯状的吞噬泡,在磷脂酰肌醇 3 激酶(PI3K)作用下,将单个线粒体包围隔离,随后,线粒体的外层酸化并发生去极化反应,最终在溶酶体中进行水解消化。第二种类型是受损线粒体的外膜与包含 LC-3 连接蛋白的自噬体结合,发生线粒体去极化,囊泡被酸化降解。第三种类型线粒体自噬,也被称为微线粒体自噬,与线粒体衍生囊泡(mitochondria-derived vesicles, MDVs)形成有关,被氧化的线粒体蛋白通过出芽的方式形成线粒体衍生囊泡,囊泡逐渐融合成多泡体,最后被溶酶体水解形成线粒体碎片。正常生理机能状态下,线粒体通过自噬选择性清除受损伤或不必需的线粒体以维持稳态。病理状态下,线粒体自噬出现异常,与神经退行性疾病,糖尿病和肿瘤的发生有着密切关系。

线粒体自噬的关键步骤是待降解的线粒体和自噬泡之间的特异性识别,该过程是通过位于线粒体上的降解信号和自噬泡上的受体相互作用来介

导的。线粒体自噬相关蛋白 Atg、Uth1、Aup1、NIX、PINK1 和 Parkin 等参与线粒体自噬过程,其中 PINK1 和 Parkin 与 PD 发生相关,说明线粒体自噬与 PD 疾病的形成密切相关。线粒体自噬通常可分 Parkin 依赖型和 Parkin 非依赖型<sup>[5]</sup>,两种不同类型的自噬途径共同维持线粒体的稳态。

在 Parkin 依赖型线粒体自噬中,在去极化或受到损伤的线粒体中,PINK1 会在线粒体外膜大量积累,聚集的 PINK1 作为传感器招募 Parkin 定位至线粒体并使其磷酸化成为活性形式,磷酸化的 Parkin 作为放大器使线粒体上的底物泛素化并形成多聚泛素化链,多聚泛素化链招募自噬受体 OPTN 和 NDP52<sup>[6]</sup>,自噬受体与连接蛋白 LC3 相互作用,随后存在于 LC3 上的自噬泡作用域招募自噬泡启动线粒体自噬过程<sup>[7]</sup>。而 Parkin 非依赖型线粒体自噬又分为受体介导自噬和泛素连接酶介导自噬两种类型。在受体介导自噬过程中,几种受体蛋白比如 NIX、BNIP3、FUNDC1,其 C-末端位于线粒体外膜,N-端具有 LC3 相互作用结构域(LIR),从而招募自噬小体诱导线粒体自噬过程<sup>[8]</sup>。自噬受体和 Bcl-2 调节因子 1(AMBRA1)作为自噬的上游调节因子通过 LIR 与 LC3 相互作用引发线粒体自噬,其中 AMBRA1 既能诱发 Parkin 依赖型自噬又能介导非依赖型自噬<sup>[9]</sup>。在泛素介导线粒体自噬过程中,定位于线粒体外膜的 PINK1 招募 E3 连接酶(ARIH1)和突触核蛋白相互作用蛋白(Synphilin-1),促使线粒体外膜底物的磷酸化和多聚泛素化的形成进而招募 LC3 和自噬泡从而引发线粒体自噬<sup>[10]</sup>。

## 2 线粒体自噬与帕金森病

PD 致病因素至今不明,不仅包括遗传因素(基因易感性),同时也受环境、种族、年龄和性别等多种因素的影响,其中基因和环境的相互作用被认为是造成特发性 PD 的根本原因。PD 分为家族型和散发型两种,分别占 10%~15%和 85%~90%<sup>[11]</sup>,其中家族型 PD 有常染色体显性遗传和常染色体隐性遗传两种,家族性 PD 患者通常表现为线粒体缺陷和自噬受损<sup>[12]</sup>。

### 2.1 环境毒素影响线粒体自噬及其功能

在环境这一致病因素中,人体长期暴露于铁、铜、锰、铅和汞等重金属时,将造成神经元的损伤而提高 PD 的致病风险。例如,大量  $Fe^{2+}$  在大脑中积

累并发生 Fenton 反应产生过多的羟自由基而导致神经元线粒体发生氧化应激,造成线粒体 DNA 损伤以及抑制呼吸链作用,最终导致神经元的死亡<sup>[13]</sup>。同时,农药比如鱼藤酮、1,2,3,6-四氢吡啶(MPTP)和杀虫剂等主要破坏多巴胺能神经元,造成 PD 风险的增高,其中鱼藤酮通过抑制线粒体呼吸链中复合物 I 的活性而阻碍线粒体的氧化供能作用,而 MPTP 则是通过损伤线粒体膜电位来影响线粒体正常生理功能,最终导致神经元的死亡。

## 2.2 PD 相关基因突变影响线粒体自噬及功能的机制

到目前为止,通过全基因组关联分析发现大约有 92 个基因座与遗传性 PD 相关<sup>[14]</sup>,总共约有二十几个 PD 易感基因,而在这些相关基因中对 PD 影响较大的基因比如 *SNCA*、*PRKN* 等大多参与线粒体的自噬和功能调控过程,并且在这些基因突变的遗传性 PD 患者中存在线粒体自噬通路的损伤和线粒体功能缺陷现象。因此 PD 相关基因的突变将会造成线粒体的功能障碍最终导致 PD 的病理现象。下文将会对部分的 PD 相关基因(表 1)的突变与线粒体自噬及其功能障碍的关系做一简要介绍。

### 2.2.1 *SNCA*

*SNCA* 基因位于 4 号染色体的长臂端,对应于 *PARK1* 和 *PARK4* 基因座,编码 a-syn 蛋白,其突变、重复或三联体均会导致常染色体显性 PD<sup>[15]</sup>; *SNCA* 基因主要有以下三种点突变形式: A53T、A30P、E46K。a-syn 由带正电荷的 N-端、高度聚集倾向的疏水中心区域(NAC)、高酸性的 C-端三部分组成,其中 N-末端的前 15 个氨基酸主要参与线粒体膜锚定以及扰乱膜疏水区域,而第 16-30 个氨基酸残基能与磷脂的极性基团相互反应,说明 N-末端主要负责与线粒体膜结合;NAC 负责蛋白的寡聚;而 C-末端具有类似伴侣蛋白活性<sup>[16]</sup>。正是由于 a-syn 具有线粒

体亲和能力,才能使其定位至线粒体外膜并产生相应的生物学效应,比如影响线粒体蛋白的导入、抑制呼吸链内复合物 I 的活性、影响线粒体动力学以及线粒体自噬过程等。

突变的 a-syn 通过其 N-末端定位于线粒体,并造成线粒体损伤使其功能紊乱,在影响线粒体自噬方面尤为突出<sup>[17-18]</sup>, a-syn 主要通过以下几种方式来影响线粒体自噬功能:(1) a-Syn 通过 N-末端与 Miro 相互作用,且上调 Miro 水平,导致过量的 Miro 聚集于线粒体表面,延迟线粒体自噬过程<sup>[19]</sup>。(2) A53T-a-Syn 过表达激活 P38 MAPK,使 Parkin 131 位的丝氨酸磷酸化,破坏其生理功能,干扰线粒体自噬<sup>[20]</sup>。(3) A53T、E46K-a-Syn 在线粒体膜上过度积累导致心磷脂暴露于线粒体外膜,从而募集 LC3 连接蛋白,诱导线粒体自噬<sup>[21]</sup>。在正常细胞中线粒体外膜受体 TOM 负责将核编码的线粒体蛋白运输入线粒体基质中,然而在 PD 患者死后脑组织或 PD 动物模型中发现 a-syn 定位至线粒体外膜并与 TOM 结合而阻断了线粒体相关蛋白的转运途径,导致线粒体所需蛋白不能被正常的运输至基质中,从而造成线粒体的功能损伤<sup>[22]</sup>。随后 Reeve 等<sup>[23]</sup>人提出突变型 a-syn 可能与外化的心磷脂相互作用而抑制呼吸链中复合物 I 的活性,而复合物 I 活性的下降通过级联反应使磷酸乙酰辅酶 1 (ACC1) 磷酸化失去酶活性,磷酸化的 ACC1 抑制线粒体脂质代谢过程进而影响生物合成,造成线粒体结构的损伤甚至断裂<sup>[24]</sup>。之前对具有毒性的 a-syn 类型尚不清楚,但在 Grassi 等<sup>[25]</sup>人研究中指出由 a-syn 不完全降解形成的截短型 a-syn 与磷酸化的 ACC1 存在共定位关系,并且证明此种形式的 a-syn 具有线粒体毒性,使膜去极化、诱导细胞色素 C 释放等效应。以上研究多数基于在细胞中或动物模型上过表达突变型 a-syn 探讨其对线粒体自噬及功能障碍的影响。a-syn

表 1 部分 PD 易感基因相关信息

Table 1 A part of PD susceptibility gene related information

基因 Gene	位置 Position	编码蛋白 Coding protein	遗传方式 Inheritance	发病时间 Onset time
<i>SNCA</i>	4q21	Alpha-synuclein	AD, sporadic	Early or late
<i>PRKN</i>	6q25-q27	Parkin	AR, sporadic	Early
<i>PINK1</i>	6q25-q27	PTEN-induced putative kinase 1	AR	Early
<i>DJ-1</i>	1p36	Protein DJ-1	AR	Early
<i>LRRK2</i>	12q12	Leucine-rich repeat kinase 2	AD, sporadic	Early or late
<i>GBA</i>	1q21	Glucocerebrosidase	AD	Unknown

注:AD:常染色体显性遗传;AR:常染色体隐性遗传。

Note. AD, Autosomal dominant inheritance. AR, Autosomal recessive inheritance.

是路易小体的主要组成成分,同时还含有非蛋白质(如脂质)<sup>[26]</sup>、膜性细胞器<sup>[27]</sup>(如线粒体、溶酶体等)。最近研究者利用由  $\alpha$ -突触核蛋白纤维( $\alpha$ -syn PFF)处理的神经元研究  $\alpha$ -syn PFF 的聚集,追踪路易小体的形成过程,动态监测多种蛋白的变化情况。发现路易小体的形成会对线粒体的生理功能造成严重的影响,在不溶性包涵体中不仅富集了线粒体转运蛋白,同时与线粒体动力学、线粒体凋亡途径和能量代谢途径(三羧酸循环、NADH 代谢等)相关的蛋白质也得到了富集<sup>[28]</sup>;说明  $\alpha$ -syn 聚集形成路易小体导致线粒体功能障碍可能是造成帕金森病的重要原因。

#### 2.2.2 PRKN

*PRKN* 基因大小为 1.3 Mb,定位于 6 号染色体上,该基因的突变会增加散发性、早发性 PD 的风险。*PRKN* 编码蛋白 Parkin 由 465 个氨基酸组成,在其氨基酸序列中的第 65 位丝氨酸残基处具有泛素样结构,即 N-末端泛素样结构域(UBL),该残基能被 PINK1 磷酸化形成具有活性的开放结构。但是在 UBL 结构域中氨基酸发生替换时会影响 Parkin 的活性,比如 G12R、R33Q 和 R42P 形式的突变会抑制 PINK1 对 Parkin 的磷酸化作用;而 T55I 突变形式促进 Parkin 自身泛素化,从而导致 Parkin 蛋白的降解,这两种具有不同作用的氨基酸替换都会抑制线粒体的自噬活动<sup>[29-30]</sup>。过表达 Parkin S65 N 的小鼠中 Parkin 蛋白不能被磷酸化,并且出现选择性运动功能障碍,表明 Parkin 蛋白第 65 位氨基酸的磷酸化在 PD 病理过程中具有重要地位。在中枢神经系统中相比于其他的神经元,多巴胺能神经元更易受到 PINK1-Parkin 信号通路的影响,说明多巴胺能神经元对线粒体应激敏感<sup>[31-32]</sup>。同时对于增殖的细胞来说,定位于线粒体内膜的 Parkin 能与线粒体 DNA(mtDNA)和线粒体转录因子 A(TFAM)相互作用,从而控制线粒体的代谢和功能性活动<sup>[33]</sup>。因此, Parkin 除了在线粒体自噬通路中有重要作用外,同时也能调节 mtDNA 的复制、转录和翻译过程。

#### 2.2.3 PINK1

*PINK1* 基因定位于 1 号染色体,其突变导致常染色体隐性遗传 PD,其突变形式有 L347P、G411S、Q456X 和 I368N 等。*PINK1* 基因编码蛋白为含有 581 个氨基酸的 PTEN 诱导激酶,该蛋白含有线粒体定位结构域和蛋白激酶结构域两个核心结构<sup>[34]</sup>。

*PINK1* 蛋白定位于线粒体外膜,在健康的线粒体中,当其转移至线粒体内膜时受到早老素相关菱形样蛋白(PARL)的切割失去其激酶活性,随后 N-末端被降解,不会导致线粒体的异常自噬。在损伤或去极化线粒体中,通过 PINK1/Parkin 依赖性自噬通路清除受损的线粒体,防止由于受损线粒体过度积累而导致神经细胞的死亡。然而当 *PINK1* 发生突变时,其激酶活性、自身磷酸泛素化、与底物的结合效率以及维持蛋白稳定性的能力均会发生变化,从而使线粒体发生功能障碍;在线粒体自噬方面表现得尤为突出,受损线粒体得不到有效清除,从而导致多巴胺能神经元的死亡,最终造成 PD 形成<sup>[35]</sup>。

#### 2.2.4 LRRK2

*LRRK2* 基因位于 16 号染色体短臂端,其错义突变常导致常染色体显性遗传 PD<sup>[36]</sup>。*LRRK2* 蛋白主要由四部分组成,分别为 N-末端的类锚定蛋白、富含亮氨酸的 LRR 结构域、催化结构域和 C-末端的 WD40 结构域。*LRRK2* 蛋白的催化结构域中易发生突变,在 2010 年所发现的外显子突变体有 121 种<sup>[37]</sup>,其中 R1441C/G/H、Y1669C、G2019S、I2020T 这 6 种突变是常见类型,其中 G2019S 是与疾病相关的最为常见的一种突变形式<sup>[38]</sup>。在 *LRRK2* G2019S 突变体中出现神经元营养不良现象并导致神经元死亡,同时发现 P62 以及 LC3 向线粒体趋化引起线粒体自噬水平上升。在 A53T 转基因小鼠中,过表达 *LRRK2* 促进  $\alpha$ -syn 的聚集并增强其毒性作用,但是在 *LRRK2* 敲除的小鼠中 A53T- $\alpha$ -syn 的毒性作用会被阻断<sup>[39]</sup>;同时在  $\alpha/\beta/\gamma$ -syn 敲除鼠的原代神经元中,G2019S/Y1699C *LRRK2* 的表达所导致神经元的死亡显著的减少<sup>[40]</sup>,说明 *LRRK2* 与  $\alpha$ -syn 之间存在紧密的联系,可能通过相互作用的方式影响多巴胺能神经元的正常生理功能,但是具体通过何种机制而产生相互作用尚不清楚。

#### 2.2.5 DJ-1

*DJ-1* 基因位于 1 号染色体的长臂端,该基因广泛表达于全身组织细胞,在脑内主要表达于黑质、皮层及杏仁核中<sup>[41]</sup>。*DJ-1* 基因突变是导致 PD 常染色体隐性遗传的常见病因,已知突变类型有 5 种,较为高发的是错义突变、同义突变和缺失突变。*DJ-1* 蛋白主要存在于细胞质中,因具有分子伴侣、蛋白酶活性所以在调节细胞多种功能中具有重要作用,比如抵抗细胞氧化应激、调节转录翻译和促进神经元分支形成等<sup>[42]</sup>。在多巴胺能神经元中,多巴胺对

氧化应激敏感,而 DJ-1 蛋白具有上调多巴胺合成限速酶即酪氨酸羟化酶的转录活性并通过氧化作用与多巴胺合成酶相互作用而促进多巴胺的合成,从而调节多巴胺的新陈代谢和动态平衡。同时 DJ-1 也是一种神经保护因子,当细胞发生氧化应激时, DJ-1 能定位至线粒体并成为氧化形式与 PTEN 结合后负性调节由磷脂肌醇 3 激酶/蛋白激酶 B (PI3K/Akt) 介导的细胞凋亡过程,实现 DJ-1 的细胞保护作用<sup>[42]</sup>。在亚细胞水平, DJ-1 还参与线粒体的自噬、形态以及 ATP 合成等调节过程<sup>[43]</sup>。最近 Maita 等<sup>[44]</sup>人进一步解析了 DJ-1 的突变影响线粒体合成 ATP 和自噬的过程,具体机制如下: DJ-1 通过与线粒体 ATP 合成酶的  $\beta$  亚基结合,抑制线粒体解偶联过程,提高 ATP 的合成效率;相反,在突变的 DJ-1 或在 DJ-1 敲除的小鼠中线粒体解偶联增加, ATP 的合成减少,造成线粒体的去极化,而去极化的线粒体招募自噬小泡促进线粒体的自噬过程,说明若 DJ-1 突变发生在多巴胺能神经元细胞中,可以造成线粒体的过度自噬化导致神经元的供能不足,导致多巴胺能神经元的死亡。

### 2.2.6 GBA

GBA 基因位于 1 号染色体短臂端,编码溶酶体酶  $\beta$ -葡萄糖脑苷脂酶 (GCCase),该酶具有将葡萄糖神经酰胺分解为神经酰胺和葡萄糖的作用。GBA 点突变导致常见的溶酶体病-戈谢氏病 (GD),其杂合突变形式 N370S 和 L444P 是导致常染色体显性遗传 PD 最常见的遗传危险因素之一;相比于不携带突变的人群,发生 GBA 杂合突变人群更易形成早发性 PD<sup>[45]</sup>。对成纤维细胞的内源性 GCCase 研究表明,相比于野生型 GBA, N370S 和 L444P 突变形式的 GCCase 其内在催化活性和合成水平降低 80% ~ 95%<sup>[46-47]</sup>。GBA 突变引起的 GCCase 表达量以及酶活性降低造成溶酶体功能障碍是导致 PD 的主要原因之一,主要影响大自噬和伴侣介导自噬过程,导致聚集的 a-syn 无法得到清除,最终影响神经元的正常生理活动;并且研究还发现 GCCase 和 a-syn 存在正反馈现象。在 Collin 等<sup>[48]</sup>人的小鼠十二指肠表达 a-syn 模型中发现 GCCase 表达量降低,随后在此模型中利用病毒载体将 GBA 基因递送至十二指肠,发现在 60 天后 a-syn 的含量显著减少,说明过量积累的 a-syn 抑制 GCCase 表达从而加速自身聚集,形成 PD 病理现象。

同时,GBA 突变还会造成内质网应激、线粒体

功能障碍和神经炎症等。在线粒体功能障碍方面, GBA 突变影响线粒体蛋白导入机制、线粒体形态、线粒体融合与断裂和线粒体自噬功能,比如,在 GBA L444P 转基因小鼠中,通过测量单个线粒体的长宽比发现,相较于野生型小鼠,其长宽比值增高,说明 GBA 突变延长了线粒体长度;同时在 GBA L444P 模型小鼠海马区中发现线粒体分裂蛋白水平低,说明 GBA L444P 使线粒体不能进行正常的裂变和融合<sup>[49]</sup>;利用 mt-Keima 荧光蛋白在一定波长下的荧光强度下表征线粒体向溶酶体转移情况的功能,在神经元中检测到线粒体自噬能力减弱现象, GBA 突变不仅影响 Parkin 依赖性自噬,还会抑制受体介导的线粒体自噬过程<sup>[50]</sup>。因此 GBA 突变不仅使 a-syn 得不到有效的清除同时还会造成神经元线粒体的功能障碍,最终造成神经元无法维持正常的生理功能。

### 3 小结和展望

帕金森疾病作为全球第二大神经退行性疾病,目前没有有效的治疗方式,关键问题还是 PD 的具体发病机制尚不明确,但随着研究的不断深入,其致病因素正在被不断的发掘。PD 的致病因素众多,但是最终所导致的结果为黑质多巴胺能神经元的进行性丢失和死亡而出现 PD 非运动症状和运动症状。a-syn 的异常聚集是 PD 的关键病理特征,其编码基因 SNCA 突变将会造成细胞的多项生理功能出现障碍,从而直接影响神经元的生命活动和代谢;同时 PD 相关基因 PRKN、PINK1、DJ-1 等发生突变后也会影响线粒体自噬水平和正常生理功能,最终直接或间接的诱发 PD 的发生和发展。尽管,目前有很多的 PD 相关基因被发现并对其蛋白功能有一定的阐述,但是这也只是从某些方面揭示 PD 的发病机制。根据众多的研究,值得肯定的是线粒体自噬紊乱所引发的线粒体功能障碍是导致 PD 发病的重要因素。因此,通过调节线粒体自噬水平使线粒体自噬维持在正常水平将成为治疗 PD 的关键靶点和思路,但这一具有挑战性的治疗策略还需要对线粒体自噬与 PD 之间的联系进行更加深入的研究。

#### 参考文献:

- [1] Trinh J, Farrer M. Advances in the genetics of Parkinson disease [J]. Nat Rev Neurol, 2013, 9(8): 445-454.
- [2] Deng H, Dodson MW, Huang H, et al. The Parkinson disease

- genes Pink1 and Parkin promote mitochondrial fission and inhibit fusion in drosophia [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2008, 105(38): 14503-14508.
- [ 3 ] Ganjam GK, Bolte K, Matschke LA, et al. Mitochondrial damage by a-synuclein causes cell death in human dopaminergic neurons [J]. Cell Death Dis, 2019, 10(11): 865.
- [ 4 ] Dagda RK, Zhu J, Chu CT. Mitochondrial kinases in Parkinson's disease; converging insights from neurotoxin and genetic models [J]. Mitochondrion, 2009, 9(5): 289-298.
- [ 5 ] Villa E, Marchetti S, Ricci JE. No parkin zone: mitophagy without parkin [J]. Trends Cell Biol, 2018, 28(11): 882-895.
- [ 6 ] Wong YC, Holzbaur EL. Temporal dynamics of PARK2/Parkin and OPTN/optineurin recruitment during the mitophagy of damaged mitochondria [J]. Autophagy, 2015, 11(2): 422-424.
- [ 7 ] Harper JW, Ordeu A, Heo JM. Building and decoding ubiquitin chains for mitophagy [J]. Nat Rev Mol Cell Bio, 2018, 19(2): 93-108.
- [ 8 ] Liu L, Sakakibara K, Chen Q, et al. Receptor-mediated mitophagy in yeast and mammalian systems [J]. Cell Res, 2014, 24(7): 787-795.
- [ 9 ] Strappazon F, Nazio F, Corrado M, et al. AMBRA1 is able to induce mitophagy via LC3 binding, regardless of Parkin and p62/SQSTM1 [J]. Cell Death Differ, 2015, 22(3): 419-432.
- [ 10 ] Villa E, Proics E, Rubio-Patiño C, et al. Parkin-independent mitophagy controls chemotherapeutic response in cancer cells [J]. Cell Rep, 2017, 20(12): 2846-2859.
- [ 11 ] Kalinderi K, Bostantjopoulou S, Fidani L. The genetic background of Parkinson's disease; current progress and future prospects [J]. Acta Neurol Scand, 2016, 134(5): 314-326.
- [ 12 ] Wang W, Wang X, Fujioka H, et al. Parkinson's disease-associated mutant VPS35 causes mitochondrial dysfunction by recycling DLP1 complexes [J]. Nat Med, 2015, 22(1): 54-63.
- [ 13 ] Cheng P, Yu J, Huang W, et al. Dietary intake of iron, zinc, copper and risk of Parkinson's disease: a meta-analysis [J]. Neurol Sci, 2015, 36(12): 2269-2275.
- [ 14 ] Nalls MA, Blauwendraat C, Vallerga CL, et al. Parkinson's disease genetics; identifying novel risk loci, providing causal insights and improving estimates of heritable risk [J]. Nat Commun, 2019, 10: 994-994.
- [ 15 ] Polymeropoulos MH, Lavedan C, Leroy E, et al. Mutation in the a-synuclein gene identified in families with Parkinson's disease [J]. Science, 1997, 276(5321): 2045-2047.
- [ 16 ] Maldonado Vidaurri E, Chavez-Montes A, Garza Tapia M, et al. Differential interaction of a-synuclein N-terminal segment with mitochondrial model membranes [J]. Int J Biol Macromol, 2018, 119: 1286-1293.
- [ 17 ] Martinez JH, Alaimo A, Gorjod RM, et al. Drp-1 dependent mitochondrial fragmentation and protective autophagy in dopaminergic SH-SY5Y cells overexpressing alpha-synuclein [J]. Mol Cell Neurosci, 2018, 88: 107-117.
- [ 18 ] Liu J, Wang X, Lu Y, et al. PINK1 interacts with  $\alpha$ -synuclein and abrogates a-synuclein-induced neurotoxicity by activating autophagy [J]. Cell Death and Dis, 2017, 8(9): e3056.
- [ 19 ] Shaltouki A, Hsieh CH, Kim MJ, et al. Alpha-synuclein delays mitophagy and targeting Miro rescues neuron loss in Parkinson's models [J]. Acta Neuropathol, 2018, 136(4): 607-620.
- [ 20 ] Chen J, Ren Y, Gui C, et al. Phosphorylation of Parkin at serine 131 by p38 MAPK promotes mitochondrial dysfunction and neuronal death in mutant A53T alpha-synuclein model of Parkinson's disease [J]. Cell Death Dis, 2018, 9(6): 700.
- [ 21 ] Ryan T, Bamm VV, Stykel MG, et al. Cardiolipin exposure on the outer mitochondrial membrane modulates a-synuclein [J]. Nat Commun, 2018, 9(1): 817.
- [ 22 ] Di Maio R, Barrett PJ, Hoffman EK, et al.  $\alpha$ -Synuclein binds to TOM20 and inhibits mitochondrial protein import in Parkinson's disease [J]. Sci Transl Med, 2016, 8(342): 342-378.
- [ 23 ] Reeve AK, Ludtmann MH, Angelova PR, et al. Aggregated alpha-synuclein and complex I deficiency: Exploration of their relationship in differentiated neurons [J]. Cell Death Dis, 2015, 6(7): e1820.
- [ 24 ] Douglas DN, Pu CH, Lewis JT, et al. Oxidative stress attenuates lipid synthesis and increases mitochondrial fatty acid oxidation in hepatoma cells infected with hepatitis C virus [J]. J Biol Chem, 2016, 291(4): 1974-1990.
- [ 25 ] Grassi D, Howard S, Zhou M, et al. Identification of a highly neurotoxic a-synuclein species inducing mitochondrial damage and mitophagy in Parkinson's disease [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2018, 115(11): E2634-E2643.
- [ 26 ] Gai WP, Yuan HX, Li XQ, et al. In situ and *in vitro* study of colocalization and segregation of alpha-synuclein, ubiquitin, and lipids in Lewy bodies [J]. Exp Neurol, 2000, 166(2): 324-333.
- [ 27 ] Shahmoradian SH, Lewis AJ, Genoud C, et al. Lewy pathology in Parkinson's disease consists of crowded organelles and lipid membranes [J]. Nat Neurosci, 2019, 22(7): 1099-1109.
- [ 28 ] Mahul-Mellier AL, Bartscher J, Maharjan N, et al. The process of Lewy body formation, rather than simply  $\alpha$ -synuclein fibrillization, is one of the major drivers of neurodegeneration [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2020, 117(9): 4971-4982.
- [ 29 ] Aguirre JD, Dunkerley KM, Mercier P, et al. Structure of phosphorylated UBL domain and insights into PINK1-orchestrated Parkin activation [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2017, 114(2): 298-303.
- [ 30 ] Aguirre JD, Dunkerley KM, Lam R, et al. Impact of altered phosphorylation on loss of function of juvenile Parkinsonism-associated genetic variants of the E3 ligase PARKIN [J]. J Biol Chem, 2018, 293(17): 6337-6348.
- [ 31 ] McWilliams TG, Barini E, Pohjolan-Pirhonen R, et al. Phosphorylation of Parkin at serine 65 is essential for its activation *in vivo* [J]. Open Biol, 2018, 8(11): 180108-180116.
- [ 32 ] Shiba-Fukushima K, Ishikawa KI, Inoshita T, et al. Evidence

- that phosphorylated ubiquitin signaling is involved in the etiology of Parkinsons disease [J]. *Hum Mol Genet*, 2017, 26(16): 3172-3185.
- [33] Kuroda Y, Mitsui T, Kunishige M, et al. Parkin enhances mitochondrial biogenesis in proliferating cells [J]. *Hum Mol Genet*, 2006, 15(6): 883-895.
- [34] Valente EM, Bentivoglio AR, Dixon PH, et al. Localization of a novel locus for autosomal recessive early-onset parkinsonism, PARK6 on human chromosome 1p35-p36 [J]. *Am J Hum Genet*, 2001, 68(4): 895-900.
- [35] Ando M, Fiesel FC, Hudec R, et al. The PINK1 p. I368N mutation affects protein stability and ubiquitin kinase activity [J]. *Mol Neurodegener*, 2017, 12(1): 32.
- [36] Zimprich A, Biskup S, Leitner P, et al. Mutations in LRRK2 cause autosomal-dominant parkinsonism with pleomorphic pathology [J]. *Neuron*, 2004, 44(4): 601-607.
- [37] Heckman MG, Soto-Ortolaza AI, Aasly JO, et al. Population-specific frequencies for LRRK2 susceptibility variants in the genetic epidemiology of Parkinson's disease (GEO-PD) Consortium [J]. *Mov Disord*, 2013, 28(12): 1740-1744.
- [38] Lee AJ, Wang Y, Alcalay RN, et al. Penetrance estimate of LRRK2 p. G2019S mutation in individuals of non-Ashkenazi jewish ancestry [J]. *Movement Disord*, 2017, 32(10): 1432-1438.
- [39] Lin X, Parisiadou L, Gu XL, et al. Leucine-rich repeat Kinase 2 regulates the progression of neuropathology induced by Parkinson's-disease-related mutant alpha-synuclein [J]. *Neuron*, 2009, 64(6): 807-827.
- [40] Skibinski G, Nakamura K, Cookson MR, et al. Mutant LRRK2 toxicity in neurons depends on LRRK2 levels and synuclein but not Kinase activity or inclusion bodies [J]. *J Neurosci*, 2014, 34(2): 418-433.
- [41] Knobbe CB, Revett TJ, Bai Y, et al. Choice of biological source material supersedes oxidative stress in its influence on DJ-1 *in vivo* interactions with Hsp90 [J]. *J Proteome Res*, 2011, 10(10): 4388-4404.
- [42] Saito Y. Oxidized DJ-1 as a possible biomarker of Parkinson's disease [J]. *J Clin Biochem Nutr*, 2014, 54(3): 138-144.
- [43] Chen R, Park HA, Mnatsakanyan N, et al. Parkinson's disease protein DJ-1 regulates ATP synthase protein components to increase neuronal process outgrowth [J]. *Cell Death Dis*, 2019, 10(6): 469.
- [44] Maita C, Maita H, Iguchi-Ariga SM, et al. Monomer DJ-1 and Its N-Terminal sequence are necessary for mitochondrial localization of DJ-1 mutants [J]. *PLoS One*, 2013, 8(1): e54087.
- [45] Blauwendrat C, Bras JM, Nalls MA, et al. Coding variation in GBA explains the majority of the SYT11-GBA Parkinson's disease GWAS locus [J]. *Mov Disord*, 2018, 33(11): 1821-1823.
- [46] Liou B, Kazimierczuk A, Zhang M, et al. Analyses of variant acid beta-glucosidases: effects of gaucher disease mutations [J]. *J Bio Chem*, 2006, 281(7): 4242-4253.
- [47] Gegg ME, Burke D, Heales SJ, et al. Glucocerebrosidase deficiency in substantia nigra of Parkinson disease brains [J]. *Ann Neurol*, 2012, 72(3): 455-463.
- [48] Collin C, Hori A, Sampson TR, et al. Gut-seeded a-synuclein fibrils promote gut dysfunction and brain pathology specifically in aged mice [J]. *Nat Neurosci*, 2020, 23(4): 327-336.
- [49] Itoh K, Nakamura K, Iijima M, et al. Mitochondrial dynamics in neurodegeneration [J]. *Trends Cell Biol*, 2013, 23(2): 64-71.
- [50] Li H, Ham A, Ma TC, et al. Mitochondrial dysfunction and mitophagy defect triggered by heterozygous GBA mutations [J]. *Autophagy*, 2019, 15(1): 113-130.

[收稿日期]2020-03-23