

α -synuclein 和帕金森病的关系研究进展

曾克军 综述 任惠 审校

昆明医科大学第一附属医院神经内科, 云南省昆明市 650032

摘要: 近年来, 大量研究显示 SNCA 基因突变等多方面的原因可导致 α -synuclein 异常聚集, 而其和家族型和散发型帕金森病有密切关系, 但是具体机制还不清楚。病理性的 α -synuclein 是路易小体和路易轴突的主要成分, 而后两者在脑内的沉积是帕金森病的标志。帕金森病相关基因突变引起 α -synuclein 的聚集, 其低聚物和聚集物可能干扰正常细胞功能和促进多巴胺神经元变性。本文综述了近年来关于病理性 α -synuclein 参与帕金森病病理生理过程及相应干预措施的研究进展以及针对 α -synuclein 的治疗。

关键词: 帕金森病; α -synuclein 基因; 治疗

帕金森病是最常见的导致人类运动障碍的疾病, 其主要症状特点是静止性震颤、肌强直、运动迟缓和姿势步态异常, 这些症状主要源于脑内多巴胺能神经元变性、路易小体形成。免疫组化技术研究发现 α -synuclein 是路易小体的主要组成成分, 但其病理生理机制还不清楚, 现将 α -synuclein 和帕金森病的关系的研究进展做一综述。

1 α -synuclein 概述

突触核蛋白 (synuclein) 是一个调节神经递质释放的蛋白家族, 它包括 α -、 β -和 γ -三种亚型, 其结构差异主要在于分子中的中央疏水区不同。 α -synuclein 由 140 个氨基酸组成, 可分为三个不同的区域: ①第 1 ~ 60 个氨基酸构成氨基酸末端: 包含载脂蛋白脂质绑定基序, 预计形成两亲性螺旋线, 在膜绑定的时候倾向形成 α -螺旋; ②第 61 ~ 95 个氨基酸形成中间疏水区域: 有 β 折叠潜能; ③最后的第 96 ~ 140 个氨基酸是羧基终点站: 高负电, 很容易非结构化。 α -synuclein 在正常生理条件下呈随机螺旋的伸展状态, 在调控线粒体稳态上发挥关键作用^[1], 且没有细胞毒性。

α -synuclein 在神经组织内含量丰富, 主要分布在大脑新皮质、海马、黑质、丘脑和小脑的神经元细胞质中以及神经胶质细胞内, 在健康和病人的脑脊液和血浆中也检出单体和低聚物 α -synuclein^[2]。 α -synuclein 是无序蛋白, 体外研究证明在某些条件改变 (帕金森病相关突变增加、浓度增加、pH 降低、温度增加、两性分子增加、各种农药、添加金属离子、带电小分子、带电聚合物、与其他蛋白质的

相互作用、与膜的相互作用、蛋白质浸泡、进入一个拥挤的环境或辅助因子影响) 下可能发生构象改变, 形成不同的稳定构象。根据聚合后的分子排列和组成分为螺旋的膜绑定形式、部分折叠状态 (聚合和纤维化的中间体)、低聚物、寡聚物、纤维状和无定形的聚合物等几种类型^[3], 其中非纤维状的有毒, 可溶性低聚物有很高的毒性, 不溶性聚合物无毒, 纤维状的 α -synuclein 可能具有保护作用^[4]。Hogen 等^[5] 研究显示寡聚化过程也可能增加 α -synuclein 毒性, 干扰正常的细胞功能和促进多巴胺能神经元变性。

2 帕金森病中影响 α -synuclein 表达的 SNCA 基因异常

SNCA 基因是帕金森病的致病基因之一^[6], 其异常可能影响脑内 α -synuclein 水平及改变其构象, 主要有三种形式: ①基因点突变: A30P、E46K、A53T 氨基酸突变导致常染色体显性遗传帕金森病, A53T 突变的帕金森病患者发病年龄多早于 40 岁^[7], 家族性的 SNCA 基因点突变可能使降解 α -synuclein 的溶酶体效率下降, 继而导致 α -synuclein 增多^[8]。②基因重复突变: SNCA 基因重排是公认的帕金森病的致病原因, 自 2003 年以来, 已有不同国家的研究者报道分别在欧洲、美洲、亚洲来源的常染色体显性遗传帕金森病家系中发现二倍和三倍重复的 SNCA 基因^[9]。以往多认为 SNCA 基因突变见于常染色体显性遗传的帕金森病家系, 近年来 Ahn 等^[10] 报道在散发性帕金森病患者中也发现 SNCA 基因二倍重复突变, 提示 SNCA 基因重复突

收稿日期: 2012-07-31; 修回日期: 2012-10-08

作者简介: 曾克军 (1982-), 男, 研究生在读, 主要从事脑血管病和神经退行性病变研究。

变可能还与散发性帕金森病发生相关。Eriksen 等^[11]学者认为家族性帕金森病患者表型的严重程度取决于 SNCA 基因的拷贝数及 α -synuclein 蛋白水平,但 Kim^[8]等并不同意这一观点,他们观察到无论帕金森病发病与否,有 SNCA 基因重复的患者、无症状携带者和对照者 SNCA 的 mRNA 和 α -synuclein 蛋白的表达水平均升高,而且与对照淋巴干细胞相比,帕金森病患者的淋巴干细胞更能耐受除蛋白酶体抑制剂 lactacystin 外的、与帕金森病相关的各种有害因素的不利影响。此外,完整敲除 SNCA 基因小鼠的整体行为及突触的超微结构和传递活动均无改变^[11], SNCA 基因重复的家庭外显率也仅 30%,因此 SNCA 基因重复突变可能不是决定帕金森病发生与否的唯一因素。③基因多态性:大量研究已经证实 SNCA 基因启动子区的 Rep1 多态性与帕金森病的发病风险相关,是散发性帕金森病发病的危险因素^[12]。2012 年 Pan 等^[13]在中国 404 名散发性帕金森病患者和 315 名健康对照者的 SNCA 基因的 rs356219 位点的多态性分析中又发现,帕金森患者的 A 基因型分布显著高于 G 基因型,认为 SNCA 基因 rs356219 变异可能会增加中国汉族人群帕金森病的患病风险。

在帕金森病患者中,除上述 SNCA 基因自身表达异常外,可能还有其它基因影响 SNCA 基因的表达水平继而改变 α -synuclein 表达。GATA-2 是占据 SNCA 基因内含子 intron-1 的转录因子,在帕金森病患者的黑质及多巴胺能细胞内表达升高, Scherzer 等^[14]利用基因敲除技术证实 GATA-2 与 intron-1 相互作用而直接激活多巴胺能细胞内 SNCA 基因的转录及诱导 α -synuclein 的 6.9 倍折叠增加。

3 帕金森病中 α -synuclein 的细胞毒性

3.1 对细胞膜的影响

对细胞膜的影响表现为:①改变细胞膜的构象使通透性增加。低聚物诱导膜形成永久的跨膜孔洞和快速膜通透性增加损伤膜的完整性^[15]。②增强细胞膜之间的联系和寡聚化。干扰正常细胞内膜的聚合动态和关键的生化相互作用,神经元的传递受损、加剧氧化应激、线粒体变性、脂代谢缺陷,而导致神经元死亡^[16]。

3.2 对线粒体的影响

正常细胞 α -synuclein 几乎不影响线粒体的形态,在某种特定的环境下可能会起一定作用^[6]。野生型和突变型 α -synuclein 过度表达使线粒体功能

紊乱导致神经元死亡,但基本机制还不明确。 α -synuclein 可能损害正常动力学的线粒体, A53T 突变尤为显著^[17],小低聚物可能会诱导线粒体破碎,碎片可能负责后续线粒体功能障碍与死亡^[18]。Reeve 等^[19]发现没有 α -synuclein 病理改变的黑质神经元内线粒体的密度是一样的,有 α -synuclein 病理改变的神经元包含更高水平的呼吸链亚基,这个区别不支持 α -synuclein 与线粒体呼吸链功能障碍有直接关系, α -synuclein 可能影响线粒体的形态而不是功能^[20]。

3.3 对内质网的影响

内质网内有有毒构象的 α -synuclein 低聚物的聚集及 α -synuclein 依赖的内质网压力和帕金森病的病理有关^[20]。

3.4 对物质运输的影响

神经系统功能失调和神经退行性疾病往往与膜运输障碍有关。 α -synuclein 的过度表达可诱导囊泡转运缺陷和逆行运输途径。 α -synuclein 的基因点突变增加成纤维倾向导致与磷脂膜相互作用的缺陷,并因此可能会改变其在囊泡运输功能,可以影响出芽、对接、融合,对接和融合的影响比囊泡更严重,可能通过三种机制起作用:首先,可能阻断对 rab 和 SNAREs 功能起重要作用的中间介质;第二,本身可能绑定到 RABSNARE 蛋白,抑制其正常的生理功能;第三,可能加重由于在囊泡运输和膜融合途径其他成分失调引起的缺陷^[16]。

3.5 对自体吞噬的影响

α -synuclein 在很早期(或一开始)减少自噬小体的形成阻碍自体吞噬, α -synuclein 的倍增或增加野生型蛋白质表达可以抑制细胞自噬,与帕金森病多种病理表现有关,包括异常蛋白质蓄积、线粒体异常、活性氧水平升高和增强细胞死亡的易感性^[21]。野生型 α -synuclein 通过伴侣介导自噬(CMA)而生理性下降,CMA 功能下降导致 α -synuclein 的聚集和补偿性大自噬体激活,最终导致细胞死亡,上调 CMA 的活动可降解超载 α -synuclein^[22]。

4 帕金森病中病理性 α -synuclein 在细胞间的传递

α -synuclein 的异常改变在开始仅见于脑内局部细胞,后来出现在越来越多的细胞内,其传播机制还不清楚,近来研究提出了下列两种假说。

4.1 朊蛋白假说

错误折叠的 α -synuclein 在体内传播可能通过朊蛋白机制从宿主大脑传输到健康的神经元细胞,

并从接受者细胞中吸取内新的 α -synuclein^[23]。Kordower 等^[24, 25]发现胎儿脑干神经元移植到帕金森病患者后十年或更长时间, 胎儿脑干神经元内小比例形成与患病大脑神经元相同病理的路易体, α -synuclein 可以在个体间传递, 而不是路易体在移动。朊病毒样的内吞和外排在细胞间传递起重要作用, 但可能存在其他机制, 比如研究人员发现 α -synuclein、可以通过纳米隧道从一个细胞传递到另外的细胞^[26]。

4.2 双打击假说

在帕金森病患者发病前可以在结肠粘膜发现 α -synuclein, 在 23 例健康对照中则没发现^[27]。Braak 等^[28]对鱼藤酮老鼠帕金森模型的研究提出了“双重打击”假说, 认为 α -synuclein 的错误折叠起源于嗅觉结构和肠道神经, 然后沿神经轴索按顺序传递至脊髓、骶管、脑干、黑质, 最后到达皮质。在帕金森病人的嗅球和僧帽细胞中发现了路易小体和路易轴突, 沿所有嗅神经通路上出现路易小体^[9]。

5 病理性 α -synuclein 的干预策略

近年来已发现一些可减少 α -synuclein 或抑制其聚集的方法, 可能成为未来帕金森病治疗的新策略。通过基因水平干扰控制转录的因素可以减少 α -synuclein 的水平, 或者使用 RNAi 的方法减少转录后产物水平^[14]。但是明显降低 α -synuclein 水平可能破坏细胞, 相对的, α -synuclein 的正常职能作用和显著减少是否会导致神经功能障碍, 目前知之甚少。最近研究提示 α -synuclein 通过与 SNARE 复合体相互作用发挥突触传递作用, 但去除 α -synuclein 基因的小鼠没有表现出明显的行为缺陷, 只有在神经传导、迅速回收池突触小泡减少和降低神经毒素易感性等方面有轻微的变化, 其他类型的突触核蛋白分子会替代它的作用^[29], 但有的报道说抑制 α -synuclein 会导致黑质细胞死亡, 而不是神经保护^[30]。

直接降低细胞内 α -synuclein 蛋白水平, 也可以通过溶解 α -synuclein 聚合或防止小分子肽或分子组装聚集^[31], 其他新的方法包括改善对错误折叠的蛋白质细胞内源性的防御, 例如通过增加细胞的伴侣蛋白表达或增加自体吞噬^[32], 减少 α -synuclein 聚合积累。口服乙酰基半胱氨酸可减少 α -synuclein 聚集过度表达老鼠的多巴胺能神经元变性^[33]。多酚类物质能有效地阻碍 α -synuclein 聚集导致的膜伤害^[34]。纤溶酶可以分解细胞外的 α -synuclein,

包括单体、低聚体、纤维, 可以阻止其向邻近细胞传递, 而 α -synuclein 通过调节纤溶酶原激活因子-1 的表达而调节纤溶酶系统^[35]。

6 展望

虽然很多证据表明纠正病理性 α -synuclein 可能是未来提高帕金森病治疗效果、改善预后的一个重要靶点, 但是目前还缺乏可以检测 α -synuclein 水平及构象改变的有效手段。未来的临床试验需要良好的生物标志物, 反映大脑中 α -synuclein 的错误折叠; 未来发展的配体, 可以绑定到错误折叠 α -synuclein, 使用 PET 成像, 甚至可让非运动症状 PD 在发病前就能检测路易小体病理改变。这种替代标记的进展可能成为临床试验研究治疗帕金森病的一个有价值的工具。

参 考 文 献

- [1] Cali T, Ottolini D, Negro A, et al. α -Synuclein Controls Mitochondrial Calcium Homeostasis by Enhancing Endoplasmic Reticulum-Mitochondria Interactions. *J Biol Chem*, 2012, 287 (22): 17914-17929.
- [2] Mollenhauer B, Locascio JJ, Schulz-Schaeffer W, et al. α -Synuclein and tau concentrations in cerebrospinal fluid of patients presenting with parkinsonism: a cohort study. *Lancet Neurol*, 2011, 10 (3): 230-240.
- [3] Breydo L, Wu JW, Uversky VN. α -Synuclein misfolding and Parkinson's disease. *Biochim Biophys Acta*, 2012, 1822 (2): 261-285.
- [4] Celej MS, Sarroukh R, Goormaghtigh E, et al. Toxic prefibrillar α -synuclein amyloid oligomers adopt a distinctive antiparallel β -sheet structure. *Biochem J*, 2012, 443 (3): 719-726.
- [5] Hogen T, Levin J, Schmide F, et al. Two different binding modes of α -synuclein to lipid vesicles depending on its aggregation state. *Biophys J*, 2012, 102 (7): 1645-1655.
- [6] Zhu M, Li W, Lu C. Role of α -synuclein protein levels in mitochondrial morphology and cell survival in cell lines. *PLoS One*, 2012, 7 (4): e36377.
- [7] Zarranz JJ, Alegre J, Gomez-Esteban JC, et al. The new mutation, E46K, of α -synuclein causes Parkinson and Lewy body dementia. *Ann Neurol*, 2004, 55 (2): 164-173.
- [8] Kim HJ, Jeon BS, Yoon MY, et al. Increased Expression of α -Synuclein by SNCA Duplication is Associated with Resistance to Toxic Stimuli. *J Mol Neurosci*, 2012, 47 (2): 249-255.
- [9] Sharma M, Uoannidis JP, Aasly JO, et al. Large-scale replication and heterogeneity in Parkinson disease genetic loci.

- Nearology, 2012, 79(7): 659-967
- [10] Ahn TB, Kim SY, Kim JY, et al. alpha-Synuclein gene duplication is present in sporadic Parkinson disease. *Neurology*, 2008, 70(1): 43-49.
- [11] Eriksen JL, Przedborski S, Petrucelli L. Gene dosage and pathogenesis of Parkinson's disease. *Trends Mol Med*, 2005, 11(3): 91-96.
- [12] Goldman SM, Kamel F, Ross GW, et al. Head injury, alpha-synuclein Rep1, and Parkinson's disease. *Ann Neurol*, 2012, 71(1): 40-48.
- [13] Pan F, Dong H, Ding H, et al. SNP rs356219 of the alpha-synuclein (SNCA) gene is associated with Parkinson's disease in a Chinese Han population. *Parkinsonism Relat Disord*, 2012, 18(5): 632-634.
- [14] Scherzer CR, Grass JA, Liao Z, et al. GATA transcription factors directly regulate the Parkinson's disease-linked gene alpha-synuclein. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2008, 105(31): 10907-10912.
- [15] Stockl M, Claessens MM, Subramaniam V. Kinetic measurements give new insights into lipid membrane permeabilization by alpha-synuclein oligomers. *Mol Biosyst*, 2012, 8(1): 338-345.
- [16] Chua CE, Tang BL. Rab, SNAREs and alpha-synuclein—membrane trafficking defects in synucleinopathies. *Brain Res Rev*, 2011, 67(1-2): 268-281.
- [17] Xie W, Chung KK. Alpha-synuclein impairs normal dynamics of mitochondria in cell and animal models of Parkinson's disease. *J Neurochem*, 2012, 122(2): 404-414.
- [18] Nakamura K, Nemani VM, Azarbal F, et al. Direct membrane association drives mitochondrial fission by the Parkinson disease-associated protein alpha-synuclein. *J Biol Chem*, 2011, 286(23): 20710-20726.
- [19] Reeve AK, Park TK, Jaros E, et al. Relationship between mitochondria and alpha-synuclein: a study of single substantia nigra neurons. *Arch Neurol*, 2012, 69(3): 385-393.
- [20] Colla E, Jensen PH, Pletnikova O, et al. Accumulation of toxic alpha-synuclein oligomer within endoplasmic reticulum occurs in alpha-synucleinopathy in vivo. *J Neurosci*, 2012, 32(10): 3301-3305.
- [21] Winslow AR, Rubinshtein DC. The Parkinson disease protein alpha-synuclein inhibits autophagy. *Autophagy*, 2011, 7(4): 429-431.
- [22] Li B, Zhang Y, Yuan Y, et al. A new perspective in Parkinson's disease, chaperone-mediated autophagy. *Parkinsonism Relat Disord*, 2011, 17(4): 231-235.
- [23] Angot E, Steiner JA, Hansen C, et al. Are synucleinopathies prion-like disorders? *Lancet Neurol*, 2010, 9(11): 1128-1138.
- [24] Kordower JH, Chu Y, Hauser RA, et al. Lewy body-like pathology in long-term embryonic nigral transplants in Parkinson's disease. *Nat Med*, 2008, 14(5): 504-506.
- [25] Hansen C, Angot E, Bergstrom AL, et al. alpha-Synuclein propagates from mouse brain to grafted dopaminergic neurons and seeds aggregation in cultured human cells. *J Clin Invest*, 2011, 121(2): 715-725.
- [26] Agnati LF, Guidolin D, Baluska F, et al. A new hypothesis of pathogenesis based on the divorce between mitochondria and their host cells: possible relevance for Alzheimer's disease. *Curr Alzheimer Res*, 2010, 7(4): 307-322.
- [27] Shannon KM, Keshavarzian A, Dodiya HB, et al. Is alpha-synuclein in the colon a biomarker for premotor Parkinson's Disease? Evidence from 3 cases. *Mov Disord*, 2012, 27(6): 716-719.
- [28] Braak H, Ghebremedhin E, Rub U, et al. Stages in the development of Parkinson's disease-related pathology. *Cell Tissue Res*, 2004, 318(1): 121-134.
- [29] Burre J, Sharma M, Tsetsenis T, et al. Alpha-synuclein promotes SNARE-complex assembly in vivo and in vitro. *Science*, 2010, 329(5999): 1663-1667.
- [30] Gorbatyuk OS, Li S, Nash K, et al. In vivo RNAi-mediated alpha-synuclein silencing induces nigrostriatal degeneration. *Mol Ther*, 2010, 18(8): 1450-1457.
- [31] Madine J, Da M. Targeting alpha-synuclein aggregation for Parkinson's disease treatment. *Drugs Fut*, 2009, 34(8): 665.
- [32] Xilouri M, Stefanis L. Autophagic pathways in Parkinson disease and related disorders. *Expert Rev Mol Med*, 2011, 13: e8.
- [33] Martinez-Banaclocha MA. N-acetyl-cysteine in the treatment of Parkinson's disease. What are we waiting for? *Med Hypotheses*, 2012, 79(1): 8-12.
- [34] Caruana M, Neuner J, Hogen T, et al. Polyphenolic compounds are novel protective agents against lipid membrane damage by alpha-synuclein aggregates in vitro. *Biochim Biophys Acta*, 2012, 1818(11): 2502-2510.
- [35] Kim KS, Choi YR, Park JY, et al. Proteolytic cleavage of extracellular alpha-synuclein by plasmin: implications for Parkinson's disease. *J Biol Chem*, 2012, 287(30): 24862-24872.