

# 线粒体功能异常在帕金森病发病机制中的研究进展

冯娅 综述 吴云成 审校

上海交通大学附属第一人民医院神经内科,上海市 200080

**摘要:**帕金森病(PD)主要的病理改变为中脑黑质多巴胺能神经元变性丢失及 $\alpha$ -突触核蛋白的沉积。多数研究认为,线粒体功能障碍、氧化应激、蛋白质异常修饰及错误折叠等机制导致的多巴胺能神经元功能紊乱是PD发病的核心机制。环境因素或基因突变导致的线粒体复合物I功能缺乏可以引起多巴胺能神经元选择性损伤,导致患者出现认知功能异常及运动障碍。线粒体功能障碍在PD发病的早期即已出现,被认为是散发性和单基因遗传性PD的共同特征。本文就线粒体功能异常分别在遗传性PD和散发性PD发病机制中的作用做一综述。

**关键词:**帕金森病;线粒体功能障碍;氧化应激

帕金森病(Parkinson's disease, PD)是中老年人中常见的神经变性疾病,在年龄超过60岁的人群中其患病率为1%~2%,且随着年龄的增长有升高趋势<sup>[1]</sup>。PD主要的临床症状是静止性震颤、运动迟缓、强直以及姿势异常等,给家庭和社会带来严重的负担。迄今,PD的发病机制尚未阐明,多数学者认为基因突变、线粒体功能障碍和氧化应激等多因素共同参与PD发病<sup>[2]</sup>。

线粒体是细胞的“动力工厂”、“能量转换站”,并且调控基因表达和细胞凋亡等过程。愈来愈多的研究表明,线粒体功能障碍与包括PD在内的多种神经变性疾病密切相关<sup>[3,4]</sup>。MPTP常用于制备PD动物模型,通过选择性抑制线粒体复合物I而出现类似帕金森病的症状。其他复合物I抑制剂如鱼藤酮、吡啶灵以及喹啉唑也能引起多巴胺能神经元变性丢失,提示线粒体功能缺乏可能参与PD的发病<sup>[5]</sup>。此外,在PD患者黑质、血小板以及骨骼肌均发现线粒体复合物I活性下降,进一步表明线粒体功能异常可能是PD的发病机制之一<sup>[6]</sup>。

## 1 线粒体的结构、功能

线粒体存在于几乎所有的真核细胞,电镜下线粒体是由两层膜套叠而成的封闭结构,由外向内依次是外膜、膜间隙、内膜和基质,且不同空间分布着不同的酶和生物因子<sup>[7]</sup>。例如,外膜上有Bcl-2家族蛋白及离子通道蛋白;膜间隙分布着细胞色素C、凋亡诱导因子(apoptosis inducible factor, AIF)和

procaspase2、3、9;内膜则是电子传递链复合物的聚集部位;基质内分布有三羧酸循环相关酶、线粒体基因组等<sup>[8]</sup>。线粒体内外膜通透性的不同导致膜间隙及基质内物质分布的差异,尤其是阴阳离子分布不均形成了所谓的跨线粒体膜电位,后者是维持线粒体完整性及其正常功能发挥的重要前提。

线粒体是糖、脂肪和蛋白质三大物质代谢的最终场所,其主要功能是氧化磷酸化产生ATP。然而,物质代谢产生的副产物——活性氧(reactive oxygen species, ROS)的积聚却能引起细胞损伤。除此之外,线粒体在细胞凋亡中的作用也备受关注。研究发现,线粒体膜电位变化、膜通透性增加早于染色质浓缩、凋亡小体等特征出现,可作为细胞凋亡的早期检测指标<sup>[9]</sup>。线粒体作为信号传导和基因表达的调控者,在遗传代谢、肿瘤及神经变性疾病中扮演重要的角色<sup>[10,11]</sup>。

## 2 线粒体功能障碍与遗传性PD

遗传性PD的发病率远低于散发性PD,却是学者研究PD病因、发病机制的切入点。近年来,线粒体参与遗传性PD发病的观点引人瞩目,尤其是SNCA、PARK2、PINK1和PARK7基因突变导致的线粒体功能障碍与遗传性PD密切相关。

### 2.1 SNCA

SNCA是第一个被发现的导致常染色体显性PD和路易小体病(Lewy body disease, LBD)的基因,其编码的 $\alpha$ -突触核蛋白是路易小体的主要成

基金项目:国家自然科学基金面上项目(81371410; 81171205);国家重点基础研究计划(973)项目(2011CB707506)

收稿日期:2014-04-11;修回日期:2014-07-26

作者简介:冯娅(1989-),女,在读硕士,主要研究方向为帕金森病和运动障碍疾病的临床与基础研究。Email:feng\_ya1989@126.com。

通讯作者:吴云成(1972-),男,医学博士,副教授,硕士生导师,主要从事脑血管病和神经变性疾病临床与基础研究。Email:yunchw@med-mail.com.cn。

分<sup>[12]</sup>。正常情况下,  $\alpha$ -突触核蛋白主要分布在突触前神经末梢, 细胞浆、线粒体和细胞核内也有分布。尽管  $\alpha$ -突触核蛋白的生理功能至今仍未明确, 其在神经信号传导、神经元的可塑性及线粒体方面的作用已得到共识<sup>[13]</sup>。Chu 等<sup>[14]</sup>研究发现,  $\alpha$ -突触核蛋白的聚集和沉积可以引起电压依赖性阴离子通道 1 (voltage-dependent anion channel 1, VDAC1) 蛋白水平下降。VDAC1 是线粒体外膜的主要成分, 负责维持线粒体的功能。该蛋白含量下降导致的线粒体功能障碍可能是 PD 发病的重要机制。不仅如此, 在 PD 患者黑质纹状体内发现,  $\alpha$ -突触核蛋白聚集又可引起线粒体复合物 I 功能障碍及活性氧 ROS 水平的增加, 形成恶性循环, 最终导致 PD 的发生<sup>[15]</sup>。

## 2.2 PARK2

Parkin 是由 *PARK2* 基因编码的 E3 泛素连接酶, 在泛素-蛋白酶体系统降解蛋白质的过程中发挥重要作用<sup>[16]</sup>。*PARK2* 基因突变是引起青少年型常染色体隐性 PD 的常见原因。生理情况下, Parkin 选择性的聚集在受损线粒体并通过线粒体泛素化促进线粒体的自噬和清除。该基因突变后所编码的异常 Parkin 蛋白通过改变野生型 Parkin 的定位、溶解性或聚集能力, 导致其泛素链连接酶的活性降低, 最终引起细胞内毒素的积聚和神经元变性<sup>[17]</sup>。

## 2.3 PINK1

*PINK1* 突变可导致常染色体隐性 PD, 该基因编码一种高度保守的丝/苏氨酸激酶主要分布在线粒体。研究发现, *PINK1*, 而不是其突变体, 可以抑制氧化应激和线粒体毒素诱导的细胞凋亡, 发挥神经保护作用<sup>[18]</sup>。*PINK1* 在线粒体自噬过程中也扮演重要的角色, 而上述功能与 Parkin 密切相关<sup>[19]</sup>。众所周知, 线粒体功能障碍在 PD 发病中处于核心地位。*PINK1* 发挥保护作用机制之一是通过招募 E3 泛素连接酶 Parkin 于线粒体, 启动线粒体自噬来介导的<sup>[20]</sup>。体外酶促反应的结果也发现 Parkin 可以被 *PINK1* 的锌指结构磷酸化, 进而促进 Parkin 蛋白定位于线粒体发挥保护作用<sup>[21]</sup>。Parkin 和 *PINK1* 共同维持线粒体的正常功能, 通过线粒体自噬促进神经元的存活。

## 2.4 PARK7

DJ-1 是由 *PARK7* 基因编码的蛋白质, 该因突变可导致常染色体隐性早发性 PD<sup>[22]</sup>。DJ-1 是一种具有抗氧化作用的胞浆蛋白, 但在应激状态下

DJ-1 转移至线粒体和细胞核, 保护细胞免受损伤<sup>[23]</sup>。研究证实, DJ-1 发挥神经保护作用的可能机制如下: 结合于线粒体复合物 I 并维持其活性; 作为转录共激活因子、蛋白酶和分子伴侣参与调控细胞内多种生理过程<sup>[24]</sup>。最近的一项研究证明, DJ-1 蛋白与 *PINK1* / Parkin 通路发挥协同作用, 共同调节线粒体的功能和线粒体自噬过程<sup>[25]</sup>。

## 3 线粒体功能障碍与散发性 PD

约 80% 的 PD 患者是没有家族史的散发病例, 被认为是环境因素、线粒体功能障碍和基因易感性共同作用的结果<sup>[26]</sup>。复合物 I 是线粒体发挥氧化磷酸化功能的关键。对散发性 PD 患者尸检发现, 其黑质纹状体神经元内线粒体复合物 I 的活性及相关蛋白的水平明显下降<sup>[27]</sup>, 提示线粒体功能缺陷可能与散发性 PD 的发病有关。

微管是介导细胞器转运、细胞分裂的微管蛋白多聚物。研究发现线粒体复合物 I 抑制剂鱼藤酮能够影响微管的活性, 抑制微管蛋白的聚合过程, 而后者可以诱导  $\alpha$ -突触核蛋白纤维化, 沉积在神经元内, 加速神经元的变性过程<sup>[28]</sup>。多巴胺代谢与线粒体密切相关, 而多巴胺的氧化修饰能抑制线粒体电子呼吸链的功能; 并且氧化的多巴胺可剂量依赖性的抑制线粒体复合物 I 活性<sup>[29]</sup>, 表明多巴胺代谢物可能通过下游靶点影响线粒体功能进而导致神经元变性凋亡。大鼠黑质多巴胺能神经元在多巴胺代谢过程中能够产生 ROS, 使其较脑其他区域更易引起复合物 I 功能障碍。同时, 大鼠黑质多巴胺能神经元线粒体丰富度较非多巴胺能神经元和腹侧盖区神经元低, 表明线粒体缺陷可能是导致黑质多巴胺能神经元选择性丢失的机制之一<sup>[30]</sup>。综上, 线粒体呼吸链功能障碍, 特别是复合物 I 的缺乏及 ROS 产生的增加, 通过多种途径加速散发性 PD 病理过程的进展。

## 4 展望

在 PD 基因突变模型或毒物诱导模型中进行的大量研究有助于我们更好的认识 PD 的发病机制。有趣的是, 多数研究均集中在线粒体功能障碍方面, Subramaniam 等指出线粒体功能异常是单基因突变 PD 和散发性 PD 共同的病理特征, 在疾病的发展过程中居于核心地位; 其中, 线粒体复合物 I 缺陷以及氧化应激与 PD 的发生密切相关。然而, 值得深思的是 PD 是多因素疾病, 线粒体功能障碍仅是 PD 复杂发病机理的一部分, 探讨线粒体功能

异常与 PD 发病的联系有助于我们全面了解 PD 的发病机制,为临床研发基于线粒体的神经保护治疗药物奠定理论基础。

# 参 考 文 献

- [1] Bekris LM , Mata IF , Zabetian CP. The genetics of Parkinson disease. *J Geriatr Psychiatry Neurol* , 2010 , 23 ( 4 ) : 228 - 242 .
- [2] Golpich M , Rahmani B , Mohamed Ibrahim N , et al. Pre-conditioning as a Potential Strategy for the Prevention of Parkinson ' s Disease. *Mol Neurobiol* , 2014 .
- [3] Exner N , Lutz AK , Haass C , et al. Mitochondrial dysfunction in Parkinson ' s disease: molecular mechanisms and pathophysiological consequences. *EMBO J* , 2012 , 31 ( 14 ) : 3038 - 3062 .
- [4] 刘晔 ,王俊娟. 沉默信息调节蛋白 1 对神经变性疾病的神经保护作用研究进展. *国际神经病学神经外科学杂志* , 2012 , 39 ( 6 ) : 562 - 566 .
- [5] Ouazia D , Levros LC , JR Rassart E , et al. Dopamine down-regulation of protein L-isoaspartyl methyltransferase is dependent on reactive oxygen species in SH-SY5Y cells. *Neuroscience* , 2014 , 267 ( 16 ) : 263 - 276 .
- [6] Lin MT , Beal MF. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in neurodegenerative diseases. *Nature* , 2006 , 443 ( 7113 ) : 787 - 795 .
- [7] Anand SK , Tikoo SK. Viruses as modulators of mitochondrial functions. *Adv Virol* , 2013 , 2013 : 738794 .
- [8] Rapaport D. Finding the right organelle. *EMBO Rep* , 2003 , 4 ( 10 ) : 948 - 952 .
- [9] Sun YS , Lv LX , Zhao Z , et al. Cordyceps C Induces Caspase-Independent Apoptosis in Human Hepatocellular Carcinoma HepG2 Cells. *Biol Pharm Bull* , 2014 , 37 ( 4 ) : 608 - 617 .
- [10] Cal T , Ottolini D , Brini M. Mitochondrial Ca ( 2 + ) and neurodegeneration. *Cell Calcium* , 2012 , 52 ( 1 ) : 73 - 85 .
- [11] Gandhi S , Abramov AY. Mechanism of oxidative stress in neurodegeneration. *Oxid Med Cell Longev* , 2012 , 2012 : 428010 .
- [12] Mullin S , Schapira A. alpha-Synuclein and mitochondrial dysfunction in Parkinson ' s disease. *Mol Neurobiol* , 2013 , 47 ( 2 ) : 587 - 597 .
- [13] George JM , Jin H , Woods WS , et al. Characterization of a novel protein regulated during the critical period for song learning in the zebra finch. *Neuron* , 1995 , 15 ( 2 ) : 361 - 372 .
- [14] Chu Y , Goldman JG , Kelly L , et al. Abnormal alpha-synuclein reduces nigral voltage-dependent anion channel 1 in sporadic and experimental Parkinson ' s disease. *Neurobiol Dis* , 2014 , 69 : 1 - 14 .
- [15] Devi L , Raghavendran V , Prabhu BM , et al. Mitochondrial import and accumulation of alpha-synuclein impair complex I in human dopaminergic neuronal cultures and Parkinson disease brain. *J Biol Chem* , 2008 , 283 ( 14 ) : 9089 - 9100 .
- [16] Miklya I , Goltl P , Hafenscher F , et al. The role of parkin in Parkinson ' s disease. *Neuropsychopharmacol Hung* , 2014 , 16 ( 2 ) : 67 - 76 .
- [17] Cornelissen T , Haddad D , Wauters F , et al. The deubiquitinase USP15 antagonizes Parkin-mediated mitochondrial ubiquitination and mitophagy. *Hum Mol Genet* , 2014 .
- [18] Deng H , Jankovic J , Guo Y , et al. Small interfering RNA targeting the PINK1 induces apoptosis in dopaminergic cells SH-SY5Y. *Biochem Biophys Res Commun* , 2005 , 337 ( 4 ) : 1133 - 1138 .
- [19] Geisler S , Holmstrom KM , Skujat D , et al. PINK1 / Parkin-mediated mitophagy is dependent on VDAC1 and p62 / SQSTM1. *Nat cell biol* , 2010 , 12 ( 2 ) : 119 - 131 .
- [20] Greene A W , Greuter K , Aguilera MA , et al. Mitochondrial processing peptidase regulates PINK1 processing , import and Parkin recruitment. *EMBO Rep* , 2012 , 13 ( 4 ) : 378 - 385 .
- [21] Dagda RK , Chu CT. Mitochondrial quality control: insights on how Parkinson ' s disease related genes PINK1 , parkin , and Omi / HtrA2 interact to maintain mitochondrial homeostasis. *J Bioenerg Biomembr* , 2009 , 41 ( 6 ) : 473 - 479 .
- [22] Dongworth RK , Mukherjee UA , Hall AR , et al. DJ-1 protects against cell death following acute cardiac ischemia-reperfusion injury. *Cell Death Dis* , 2014 , 5 : e1082 .
- [23] Mullett SJ , Hinkle DA. DJ-1 deficiency in astrocytes selectively enhances mitochondrial Complex I inhibitor-induced neurotoxicity. *J Neurochem* , 2011 , 117 ( 3 ) : 375 - 387 .
- [24] Hayashi T , Ishimori C , Takahashi-Niki K , et al. DJ-1 binds to mitochondrial complex I and maintains its activity. *Biochem Biophys Res Commun* , 2009 , 390 ( 3 ) : 667 - 672 .
- [25] Thomas KJ , McCoy MK , Blackinton J , et al. DJ-1 acts in parallel to the PINK1 / parkin pathway to control mitochondrial function and autophagy. *Hum Mol Genet* , 2011 , 20 ( 1 ) : 40 - 50 .
- [26] Seidl SE , Santiago JA , Bilyk H , et al. The emerging role of nutrition in Parkinson ' s disease. *Front Aging Neurosci* , 2014 , 6 : 36 .
- [27] Schapira A , Cooper J , Dexter D , et al. Mitochondrial complex I deficiency in Parkinson ' s disease. *J Neurochem* , 1990 , 54 ( 3 ) : 823 - 827 .
- [28] Kim M , Jung W , Lee IH , et al. Impairment of microtubule system increases alpha-synuclein aggregation and toxicity. *Bio-*

- chem Biophys Res Commun, 2008, 365(4): 628-635.
- [29] Gautam AH, Zeevalk GD. Characterization of reduced and oxidized dopamine and 3,4-dihydroxyphenylacetic acid, on brain mitochondrial electron transport chain activities. Biochim Biophys Acta, 2011, 1807(7): 819-828.
- [30] Liang CL, Wang TT, Luby-Phelps K, et al. Mitochondria mass is low in mouse substantia nigra dopamine neurons: implications for Parkinson's disease. Exp Neurol, 2007, 203(2): 370-380.

## 帕金森病基因治疗的研究进展

刘菲<sup>1</sup>, 王思<sup>2</sup> 综述 李秀华<sup>1</sup>, 贾军<sup>3,4</sup> 审校

1. 山东大学附属千佛山医院神经内科, 山东省济南市 250014
2. 潍坊医学院神经内科, 山东省潍坊市 261000
3. 首都医科大学生理教研室, 北京市 100069
4. 首都医科大学神经生物学国家重点实验室, 北京市 100069

**摘要:** 帕金森病除了药物治疗和手术治疗外, 基因治疗作为一种新的治疗策略备受学术界关注。病毒载体和非病毒载体是常用的基因转导体, 目前人们对于目的基因的研究仍着重于以下基因: 影响多巴胺代谢的相关基因、神经营养因子相关基因以及神经递质平衡调节的相关基因, 多基因联合治疗成为重点。近年来, 国内外相继开展了众多帕金森病基因治疗的实验和临床研究, 取得了一定的成就, 更多的临床实验有待进一步开展。

**关键词:** 帕金森病; 基因治疗; 目的基因; 载体

帕金森病 (Parkinson's disease, PD) 是一种中老年人常见的中枢神经系统退行性疾病, 其主要病理变化是中脑黑质、纹状体多巴胺能神经元变性坏死及路易小体的形成, 主要临床表现为静止性震颤、运动迟缓、肌强直、姿势步态异常及睡眠、情绪障碍等非运动症状。PD 的发生、发展可能与遗传因素、氧化应激、线粒体功能障碍、免疫功能异常等多种因素有关, *LRRK2*、*ATP13A2*<sup>[1]</sup> 等基因突变与帕金森病的发病密切相关。目前 PD 的治疗主要有药物治疗、手术治疗和康复、心理治疗等。但无论何种治疗均不能阻止疾病的进展, 更无法治愈。鉴于 PD 的病损部位局限, 受累神经元相对单一, 可以通过载体良好定位, 因此被认为是最适合进行基因治疗的神经疾病之一。国内外就此进行了众多的实验, 而且也取得了较好的结果, 现就 PD 的基因治疗中常用目的基因的研究现状作一简要综述。

### 1 PD 基因治疗研究的基础

#### 1.1 PD 基因治疗的动物模型

要研究 PD 基因治疗的效果, 建立能模拟人类 PD 发病特征的动物模型至关重要。目前常用 6-羟多巴胺 (6-OHDA) 立体定向微注入大鼠单侧黑质、内侧前脑束以及纹状体建立的偏侧 PD 大鼠旋转模型<sup>[2]</sup> 和向小鼠腹腔注射 MPTP (MPP<sup>+</sup>) 建立的双侧黑质损伤鼠模型进行基因治疗的研究, 也有少部分向灵长类动物 (如猴子) 体内注射 MPTP 来建立与人类更为相近的模型<sup>[3]</sup>, 但由于其资金耗费及伦理问题应用较少。最近, 转基因 PD 动物模型, 如  $\alpha$ -synuclein<sup>[4]</sup>、*LRRK2* 基因突变鼠和 MitoPark<sup>[5]</sup> 在基因治疗研究中也得到了一定应用<sup>[6]</sup>。

#### 1.2 PD 基因治疗的基因转移途径

基因转移的途径有两种, 即直接法 (in vivo) 和间接法 (ex vivo)。前者是指直接将携带有目的基因的载体注入到靶点, 此途径简便、直接, 但感染

基金项目: 首都医科大学神经生物学国家重点实验室开放课题 (3500-112291); 山东省优秀中青年科学家科研奖励基金 (2008BS03012)。

收稿日期: 2014-04-15; 修回日期: 2014-07-25

作者简介: 刘菲 (1990-), 女, 硕士研究生, 主要从事帕金森病临床研究。

通讯作者: 李秀华 (1973-), 女, 医学博士, 副主任医师, 硕士研究生导师, 主要从事帕金森病等神经变性疾病及运动障碍性疾病的临床及实验研究。E-mail: lxh731023@126.com。