

·综述·

朊蛋白在神经系统作用机制研究进展

孙文珊¹, 徐运²

1. 南京医科大学附属江宁医院, 江苏 南京 211100

2. 南京鼓楼医院, 江苏 南京 210008

摘要: 细胞型朊蛋白(PrP^C)作为一种跨膜糖蛋白在哺乳动物中广泛存在。基因敲除的研究显示 PrP^C在神经系统的活动中的关键作用包括周围神经髓鞘的形成以及对神经毒素刺激的保护。PrP^C在不同的细胞类型中也有不同的生物学作用。如 PrP^C模块化结构、多种结合伴侣以及脂质筏的密切关联的特性,使其具有组装多组分复合物的能力,从而触发不同的信号通路,调节细胞分化。PrP^C在大脑中参与的病理性作用仍然没有一致的定论,其错误折叠产生的异构体 PrP^{Sc}是朊病毒疾病的主要致病因素。但有证据指出 PrP^C在朊病毒疾病中发挥的致病作用独立于羊瘙痒病朊蛋白亚型(PrP^{Sc}),在朊病毒感染过程中,朊病毒疾病的临床和神经病理症状与大脑中 PrP^C而不是 PrP^{Sc}的表达水平成正比。另外,PrP^C可能还是一种与神经退行性病变相关的蛋白,参与 β 淀粉样蛋白(A β)等聚集性蛋白的神经毒素信号转导,还充当 α -突触核蛋白的细胞受体,促进其在细胞吸收以及大脑中传播。虽然朊病毒的研究已经取得很大的进展,但 PrP^C在大脑中的作用仍然没有明确,因此探索 PrP^C在细胞中作用具有十分重要的意义。

[国际神经病学神经外科学杂志, 2021, 48(1): 86-89]

关键词: 神经退行性疾病; 朊蛋白; 细胞型朊蛋白; 羊瘙痒病朊蛋白亚型

中图分类号: R742

DOI: 10.16636/j.cnki.jinn.1673-2642.2021.01.020

Research advances in the mechanism of action of prion protein in the nervous system

SUN Wen-Shan¹, XU Yun²

1. Department of Neurology, Affiliated Jiangning Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing Medical University, Nanjing, Jiangsu 211100, China

2. Department of Neurology, Nanjing Drum Tower Hospital, Clinical College of Nanjing Medical University, Nanjing, Jiangsu 210008, China

Corresponding author: XU Yun, Email: xuyun20042001@aliyun.com

Abstract: Cellular prion protein (PrP^C) widely exists in mammals as a transmembrane glycoprotein, and gene-knockout studies have shown that PrP^C plays a key role in the activity of the nervous system, including peripheral nerve myelination and protection against neurotoxic stimuli. PrP^C has different biological functions in different cell types. With the features of a modular structure, multiple binding partners, and close association with lipid rafts, PrP^C has the function to assemble multicomponent complexes, trigger different signaling pathways, and regulate cell differentiation. No consensus has been reached on the pathological role of PrP^C in the brain, and the scrapie isoform of the prion protein (PrP^{Sc}) formed by misfolding is a main pathogenic factor for prion diseases. However, evidence has shown that the pathogenic effect of PrP^C in prion diseases is independent of PrP^{Sc}, and during prion infection, clinical and neuropathological symptoms of prion diseases are positively correlated with the expression of PrP^C rather than PrP^{Sc}. In addition, PrP^C may also be a protein associated with neurodegenerative diseases and participates in the neurotoxic signal transduction for protein aggregates including β -amyloid, and it also acts as a cellular receptor of α -synuclein to promote its cell uptake and spread in the brain.

收稿日期: 2020-09-28; 修回日期: 2021-11-23

作者简介: 孙文珊(1987-), 女, 主治医师, 医学硕士, 主要从事脑血管病与神经系统变性病相关研究。

通信作者: 徐运, 女, 医学博士, 主任医师, 教授, 博士生导师, 江苏省脑血管病诊疗中心主任、南京市神经精神医学研究中心主任、南京市神经病学转化医学中心主任, 主要从事脑血管病、痴呆以及干细胞的基础和临床研究。Email: xuyun20042001@aliyun.com。

Although great achievements have been made in the research on prion, the role of PrP^C in brain remains unclear, and therefore, it is of great significance to explore the role of PrP^C in cells.

[Journal of International Neurology and Neurosurgery, 2021, 48(1): 86-89]

Keywords: neurodegenerative disease; prion protein; cellular prion protein; scrapie isoform of prion protein

朊病毒相关疾病虽然发病罕见,但由于其独特的生物学特性和跨物种遗传特性,近几十年来广受关注。朊病毒能够自我复制,其在脑内的沉积会导致显著的神经病理学改变,包括神经元的缺失、脑实质的海绵状变性以及星形细胞和小胶质细胞增生^[1]。朊病毒疾病致病的本质是朊蛋白(prion protein, PrP)的错误折叠。PrP存在两种不同的结构状态:细胞型朊蛋白(cellular prion protein, PrP^C)和羊瘙痒病朊蛋白亚型(scrapie isoform of the prion protein, PrP^{Sc}),他们氨基酸序列相同,但其立体构象却不一致。PrP^{Sc}具有较高的 β 片结构、不溶性和部分抗蛋白酶K消化的能力,它很容易发生聚集,是感染性的致病异形体,也是朊病毒的唯一成分^[2]。从PrP^C到PrP^{Sc}转变的过程中发生蛋白质的连锁反应和聚合使其在宿主体内具有传播力。没有PrP^C就没有PrP^{Sc}转化的基础,朊蛋白的复制就无法进行,因此PrP^C的研究对朊病毒疾病的治疗有十分重要的意义。

1 PrP^C的生化特性和组织结构

哺乳动物中,PrP^C在所有有核细胞中都有表达,其中最主要的表达在神经元细胞中,而且其编码基因PRNP序列具有高度保守的特性。人类的PRNP基因定位于20号染色体短臂上,小鼠的PRNP基因位于第2号染色体短臂上。PrP^C是一种包括209个氨基酸膜糖蛋白,其结构典型分为两个不同的区域:一个非结构性的N端和一个结构化的球状的C端。在PrP^C转化为PrP^{Sc}的过程中,2/3的C端发生明显的结构变化,形成抗蛋白酶的结构,但N端仍然对蛋白酶敏感。研究表明,N端在PrP^C的正常功能和PrP^C向PrP^{Sc}的转化中具有重要作用。这与N端的各种特征性区域结构有关,在特定条件下承担跨膜拓扑作用,是PrP^C二聚化的必要条件^[3-4]。最近的研究发现,PrP^C存在于质膜上,与脂质筏密切相关,其富含胆固醇和糖脂的特定子区,如GM3、GM1和GD3对PrP^C构象改变非常重要^[5]。PrP^C的模块化结构、多种结合伴侣以及在脂质筏内的典型定位,表明它可能是细胞表面动态平台的关键组成部分,能够通过不同域组装多组分复合物,触发不同的信号通路,从而调节细胞分化。

2 基因敲除方法评估PrP^C的作用

有研究发现,基因敲除小鼠(PrP^{-/-})在整个生命周期中都能正常的繁殖行为和免疫状态,没有严重的解剖异常和行为缺陷^[6]。另一研究发现,在PrP^{-/-}小鼠60周的时候,周围神经表现出明显的慢性脱髓鞘性神经病变,出现髓鞘稀疏以及“洋葱球”样改变,而重新引入PrP^C的表达

可以逆转周围的髓鞘缺失^[7]。由此可见,神经元PrP^C对维持周围神经髓鞘的维护中起着至关重要的作用。卒中动物模型显示,缺乏PrP^C会加重缺血损伤,这也与PrP^C的神经保护功能有关。所以,对其神经保护功能的研究,不仅可以进一步了解PrP^C的生理功能,还可以为缺血性卒中后可能的治疗方案提供新的思路^[8]。

随着CRISPR/cas9介导的基因组编辑技术的出现,PrP缺陷的细胞系变得非常容易实现。在NMuMG细胞中,PrP^C可能参与调节上皮-间质转化(EMT)^[9],PrP^C的去除导致神经细胞黏附分子(NCAM)的多唾液酸的改变,这是由于多唾液酶ST8SIA2基因转录受损。与野生型小鼠相比,从PrP^{-/-}小鼠的脂质筏中发现了较低水平的多环化NCAM,这在小鼠N2a神经母细胞瘤中也取得了验证^[10]。然而,到目前为止,尽管PrP^C的缺失确实对120个细胞蛋白的相对丰度有影响,但这些细胞没有表现出明显的功能的缺陷。在一项CRISPR/Cas9介导的PrP基因敲除研究显示,PrP可能通过激活NF- κ B以及促进促炎细胞因子的产生在TNF- α 的信号通路发挥作用^[11]。此外,CRISPR/Cas9最近还被用于修改PRNP的位置并改变其在胚胎干细胞中的表达^[12]。人类大规模的外显子组测序发现,在PRNP基因的一份拷贝中携带早期停止密码子突变^[13]。这些突变的位置预示着只会产生一种PrP^C的功能拷贝,这些个体大脑中表达大约一半的正常水平的PrP^C,在52~79岁之间,没有表现出任何明显的神经系统疾病。因此,尽管我们需要进一步分析的PrP^C缺乏对人体的影响,降低PrP^C水平可能是治疗人类朊病毒疾病的一种可行的策略。

3 PrP^C的神经保护和神经毒性作用

体外研究发现,PrP^C既参与神经元发生的调控^[14-15],也参与轴突的生长^[16-17]。最近的研究强调了PrP^C在干细胞生物学中的可能作用,有证据指出,在干细胞分化中,它参与了神经元分化的分子信号传递^[18]。

过度表达PrP^C的转基因老鼠显示出晚期的中枢神经和周围神经系统的退化,可能是由于PrP^C在大脑中启动神经毒性通路^[19],但PrP^C高水平过度表达引起的疾病与真正的朊病毒疾病不同,它不产生感染性朊病毒,而是一种“PrP蛋白病”。由于中度过度表达PrP^C的小鼠在整个生命周期中都能保持健康状态,因此在极端的PrP^C过度表达上观察到的表型缺陷有可能是实验原因引起的。有研究指出,PrP^C的抗体介导的交叉连接导致了Fyn激酶通过caveolin-1激活,最终通过NADPH氧化酶产生活性氧

的生成^[20]。后来的研究发现,在小鼠海马或小脑中注入抗体,PrP^C的交叉连接导致了神经细胞凋亡,说明PrP^C的二聚作用可能引发神经毒性信号级联^[21]。PrP^C在某些条件下可能通过逆转生理神经保护作用导致神经毒性。

PrP^{-/-}小鼠能够完全抵抗大脑中朊病毒,使得注入的朊病毒在大脑中不能积累^[22],在老年PrP^{-/-}小鼠的大脑中缺乏朊病毒疾病特异性的神经病变,提示朊病毒疾病的病理并不是由于PrP^C功能的丧失而引起的^[6]。目前有3种假设来解释PrP^C在朊病毒疾病中的本质特性:①在大脑中持续存在PrP^C是诱发朊病毒疾病的必要条件。由于PrP^C是PrP^{Sc}的必要前体,所以在没有PrP^C的情况下,不可能生产新的PrP^{Sc}。在PrP^{-/-}小鼠中,大多数接种的PrP^{Sc}很可能从大脑中迅速清除,使这些动物不感染朊病毒疾病。②朊病毒复制是朊病毒发病机制的主要原因,而不是PrP^{Sc}本身。PrP^C转化为PrP^{Sc}过程中可能产生一种对神经元有害的副产物。③这一病理过程的发生是PrP^C正常功能的逆转。

越来越多的证据表明,PrP^{Sc}本身可能并没有神经毒性。例如,很多细胞可以长期感染朊病毒而没有任何PrP^{Sc}诱导毒性的表现,而PrP^C对于PrP^{Sc}诱发的神经退化至关重要。PrP^{-/-}小鼠接受了来自过度表达PrP^C的转基因小鼠的神经组织移植,并接种了朊病毒疫苗,在移植的组织中发现了朊病毒疾病特异性的神经病变。在从PrP^C表达的小鼠中提取海马神经元培养,并暴露在PrP^{Sc}时会出现树突棘的重新牵引,而PrP^{-/-}小鼠却没有^[23]。在已确定的PrP^{Sc}感染的小鼠体内,PrP^C的降低可以阻止病情发展^[24]。还有证据表明,PrP^C的水平而不是PrP^{Sc}的表达水平控制了朊病毒神经病理改变。在朊病毒感染过程中,朊病毒疾病的临床和神经病理症状与大脑中PrP^C的表达水平而不是PrP^{Sc}成正比。朊病毒疾病中,PrP^C的水平下降,可能意味着大脑试图通过PrP^C来减轻PrP^{Sc}信号的神经毒性作用^[25]。因此,PrP^C似乎在朊病毒疾病中发挥了致病的作用独立于PrP^{Sc}。

4 PrP^C与阿尔茨海默病和帕金森病

越来越多的研究发现,PrP^C可能是作为β淀粉样蛋白(β-amyloid, Aβ)的受体在阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)的发病机理中起关键作用^[26-28]。PrP^C和Aβ之间的相互作用会引发一种毒性的信号级联,包括代谢性谷氨酸受体5(mGluR5)和Fyn激酶,引起神经元的病理性改变比如树突棘的缺失^[29],而这些毒性作用可以被酪蛋白激酶2(CK2)的药理抑制剂完全逆转,这些发现对阿尔茨海默症和朊病毒疾病的药理靶向治疗干预的发展具有重要意义^[30]。PrP^C还充当着α-突触核蛋白的细胞受体,促进其在细胞吸收以及大脑中传播^[31]。α-突触核蛋白寡聚物结合到PrP^C也可能通过涉及Fyn激酶和mGluR5的传导通路诱发突触损伤从而参与帕金森病(Parkinson's dis-

ease, PD)的病理过程^[32]。值得一提的是,虽然PrP^C与Aβ或α-突触核蛋白结合似乎会引发神经毒性信号级联反应,但它与尚未识别的分子的结合可能会引发相反的信号通路从而导致神经保护,例如PrP^C在大脑中的作用可能是作为细胞外蛋白质聚集物的清道夫,在衰老的神经变性疾病中,该作用可能被脑内Aβ或者α-突触核蛋白的聚集所破坏。

5 小结和展望

虽然有关朊病毒的研究在过去的10年中取得了很大的进展,但PrP^C在大脑中的作用仍然没有明确。目前看来,PrP^C在大脑中扮演着复杂的角色而不是单一的功能。PrP^C是维持老鼠的外周神经髓鞘是必要条件,并且也有一定的神经保护属性。此外,PrP^C有可能作为Aβ和α-突触核蛋白的细胞受体参与到AD和PD的发病机理中。在大脑中去除PrP^C已经被证明能非常有效地阻止朊病毒疾病的进展,适度的降低PrP^C水平也能延长生存时间,因此,降低大脑中的PrP^C水平可能是治疗朊病毒疾病的主要治疗策略。综上所述,进一步了解PrP^C在人体大脑中的作用具有十分重要的意义。

参 考 文 献

- [1] Budka H. Neuropathology of prion diseases[J]. Br Med Bull, 2003, 66: 121-130.
- [2] Abskharon R, Wang F, Wohlkonig A, et al. Structural evidence for the critical role of the prion protein hydrophobic region in forming an infectious prion[J]. PLoS Pathog, 2019, 15(12): e1008139.
- [3] Hara H, Sakaguchi S. N-terminal regions of prion protein: functions and roles in prion diseases[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(17): 6233.
- [4] Das NR, Miyata H, Hara H, et al. The N-terminal polybasic region of prion protein is crucial in prion pathogenesis independently of the octapeptide repeat region[J]. Mol Neurobiol, 2020, 57(2): 1203-1216.
- [5] Mattei V, Manganelli V, Martellucci S, et al. A multimolecular signaling complex including PrP^C and LRP1 is strictly dependent on lipid rafts and is essential for the function of tissue plasminogen activator[J]. J Neurochem, 2020, 152(4): 468-481.
- [6] Büeler H, Fischer M, Lang Y, et al. Normal development and behaviour of mice lacking the neuronal cell-surface PrP protein[J]. Nature, 1992, 356(6370): 577-582.
- [7] Bremer J, Baumann F, Tiberi C, et al. Axonal prion protein is required for peripheral myelin maintenance[J]. Nat Neurosci, 2010, 13(3): 310-318.
- [8] Puig B, Yang D, Brenna S, et al. Show me your friends and I tell you who you are: the many facets of prion protein in stroke[J]. Cells, 2020, 9(7): 1609.
- [9] Mehrabian M, Brethour D, Wang HS, et al. The prion protein controls polysialylation of neural cell adhesion molecule 1 dur-

- ing cellular morphogenesis[J]. *PLoS One*, 2015, 10(8): e0133741.
- [10] Mehrabian M, Brethour D, Macisaac S, et al. CRISPR-Cas9-based knockout of the prion protein and its effect on the proteome[J]. *PLoS One*, 2014, 9(12): e114594.
- [11] Wu GR, Mu TC, Gao ZX, et al. Prion protein is required for tumor necrosis factor α (TNF α)-triggered nuclear factor κ B (NF- κ B) signaling and cytokine production[J]. *J Biol Chem*, 2017, 292(46): 18747-18759.
- [12] Kaczmarczyk L, Mende Y, Zevnik B, et al. Manipulating the prion protein gene sequence and expression levels with CRISPR/Cas9[J]. *PLoS One*, 2016, 11(4): e0154604.
- [13] Minikel EV, Vallabh SM, Lek M, et al. Quantifying prion disease penetrance using large population control cohorts[J]. *Sci Transl Med*, 2016, 8(322): 322ra9.
- [14] Nguyen XTA, Tran TH, Cojoc D, et al. Copper binding regulates cellular prion protein function[J]. *Mol Neurobiol*, 2019, 56(9): 6121-6133.
- [15] Lebreton S, Zurzolo C, Paladino S. Organization of GPI-anchored proteins at the cell surface and its physiopathological relevance[J]. *Crit Rev Biochem Mol Biol*, 2018, 53(4): 403-419.
- [16] Martellucci S, Santacroce C, Santilli F, et al. Cellular and molecular mechanisms mediated by recPrP^C involved in the neuronal differentiation process of mesenchymal stem cells[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(2): 345.
- [17] Parrie LE, Crowell JAE, Telling GC, et al. The cellular prion protein promotes olfactory sensory neuron survival and axon targeting during adult neurogenesis[J]. *Dev Biol*, 2018, 438(1): 23-32.
- [18] Martellucci S, Santacroce C, Santilli F, et al. Prion protein in stem cells: a lipid raft component involved in the cellular differentiation process[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(11): 4168.
- [19] Kaiser DM, Acharya M, Leighton PL, et al. Amyloid beta precursor protein and prion protein have a conserved interaction affecting cell adhesion and CNS development[J]. *PLoS One*, 2012, 7(12): e51305.
- [20] Mouillet-Richard S, Ermonval M, Chebassier C, et al. Signal transduction through prion protein[J]. *Science*, 2000, 289(5486): 1925-1928.
- [21] Solforosi L, Criado JR, McGavern DB, et al. Cross-linking cellular prion protein triggers neuronal apoptosis in vivo[J]. *Science*, 2004, 303(5663): 1514-1516.
- [22] Büeler H, Aguzzi A, Sailer A, et al. Mice devoid of PrP are resistant to scrapie[J]. *Cell*, 1993, 73(7): 1339-1347.
- [23] Fang C, Imberdis T, Garza MC, et al. A neuronal culture system to detect prion synaptotoxicity[J]. *PLoS Pathog*, 2016, 12(5): e1005623.
- [24] Mallucci G, Dickinson A, Linehan J, et al. Depleting neuronal PrP in prion infection prevents disease and reverses spongiosis[J]. *Science*, 2003, 302(5646): 871-874.
- [25] Mays CE, van der Merwe J, Kim C, et al. Prion infectivity plateaus and conversion to symptomatic disease originate from falling precursor levels and increased levels of oligomeric PrP^{Sc} species[J]. *J Virol*, 2015, 89(24): 12418-12426.
- [26] D'Argenio V, Sarnataro D. Microbiome influence in the pathogenesis of prion and Alzheimer's diseases[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(19): 4704.
- [27] Fenyi A, Coens A, Bellande T, et al. Assessment of the efficacy of different procedures that remove and disassemble alpha-synuclein, tau and A-beta fibrils from laboratory material and surfaces[J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 10788.
- [28] Salazar SV, Gallardo C, Kaufman AC, et al. Conditional deletion of Prnp rescues behavioral and synaptic deficits after disease onset in transgenic Alzheimer's disease[J]. *J Neurosci*, 2017, 37(38): 9207-9221.
- [29] Haas LT, Salazar SV, Kostylev MA, et al. Metabotropic glutamate receptor 5 couples cellular prion protein to intracellular signalling in Alzheimer's disease[J]. *Brain*, 2016, 139(Pt 2): 526-546.
- [30] Zamponi E, Pigino GF. Protein misfolding, signaling abnormalities and altered fast axonal transport: implications for Alzheimer and prion diseases[J]. *Front Cell Neurosci*, 2019, 13: 350.
- [31] Urrea L, Segura-Feliu M, Masuda-Suzukake M, et al. Involvement of cellular prion protein in α -synuclein transport in neurons[J]. *Mol Neurobiol*, 2018, 55(3): 1847-1860.
- [32] Ferreira DG, Temido-Ferreira M, Vicente Miranda H, et al. α -synuclein interacts with PrP^C to induce cognitive impairment through mGluR5 and NMDAR2B[J]. *Nat Neurosci*, 2017, 20(11): 1569-1579.

责任编辑:龚学民