

# 病理性 $\alpha$ -突触核蛋白跨细胞传播的研究进展

钱小娟 刘娜 张杨 杨新玲

【中图分类号】 R742.5      【文献标识码】 A      【文章编号】 1007-0478(2022)02-0189-04  
【DOI】 10.3969/j.issn.1007-0478.2022.02.020

病理性  $\alpha$ -突触核蛋白( $\alpha$ -synuclein,  $\alpha$ -syn)是一种与帕金森病(Parkinson's disease, PD)发病机制相关的蛋白质,然而  $\alpha$ -syn 如何驱动帕金森病,目前病理机制仍不明确。有研究表明,  $\alpha$ -syn 的产生和扩散备受关注。有研究发现,病理性  $\alpha$ -syn 可在外周组织中产生,并逆行传递至中枢神经系统(Central nervous system, CNS),从而导致发病。淋巴细胞活化基因 3 蛋白(Lymphocyte activation gene-3 LAG3)是病理性  $\alpha$ -syn 跨细胞传递过程中的重要分子,介导其进入细胞。 $\alpha$ -syn 以朊病毒样的方式在神经元间扩散,并作为种子被易损的神经元摄取或释放,从而启动受体神经元中  $\alpha$ -syn 的病理性折叠,最终导致 PD 的发生与进行性发展,本研究旨在阐述病理性  $\alpha$ -syn 的传播机制。

## 1 概述

突触核蛋白病是以突触核蛋白稳态失衡、病理性聚集并沉积在中脑黑质为特征的疾病,这组疾病包括帕金森病、路易体痴呆、多系统萎缩,其中帕金森病(Parkinson's disease, PD)最常见<sup>[1]</sup>, PD 的发病风险随年龄的增长而大大增高<sup>[2]</sup>。PD 有以下 3 个阶段:临床前阶段是临床症状出现前病理生理改变阶段;前驱期是嗅觉减退、便秘、快速眼动睡眠行为障碍、自主神经障碍等非运动症状的出现。有研究显示,早在典型运动症状出现前 20 年就有非运动症状的表现,但这个时期不易被明确诊断为 PD,且误诊率较高,患者也很难得到有效治疗;临床期出现典型的运动症状如运动迟缓、静止性震颤、强直和姿势不稳定。目前尚缺乏有效的实验室指标和影像学资料支持 PD 诊断,从而这些运动特征已成为诊断 PD 的主要依据<sup>[3]</sup>。病理特征是黑质多巴胺神经元的退行性变、丢失及路易小体(Lewy body, LB)的形成<sup>[4-5]</sup>。

## 2 $\alpha$ -syn 在 PD 中的病理进展

$\alpha$ -syn(由 SNCA 基因编码)是一种分子量较小的胞内蛋白,大脑内含量丰富<sup>[6]</sup>,在调节神经元细胞膜稳态和突触生理功能方面发挥重要的作用。蛋白质有多种形式如单体和低聚物,哪种形式导致 PD 目前还不清楚,但有人认为低聚物比单体毒性大<sup>[6-8]</sup>。此外, Cremades<sup>[9]</sup>将低聚物分为两种

不同的形式:主要构象为  $\alpha$ -螺旋的低聚物 A 处于松散结合状态,没有聚集的趋势以及具有  $\beta$  折叠的低聚物 B 有聚集和聚集的趋势。早期研究发现, SNCA 基因突变是家族性帕金森病发病的主要原因<sup>[10]</sup>。 $\alpha$ -syn 分子结构包括 3 个区域,即两亲性的 N-端结构域、中央非  $\beta$  淀粉样成分结构域及 C-端结构域。N 端结构域包含 2 个独立的螺旋体,可以将  $\alpha$ -syn 锚定在膜上并组装成脂蛋白复合物;中央区域具有高度疏水性,在分子间容易发生相互作用,可能会促进非折叠单体  $\alpha$ -syn 异常聚集成寡聚体,是  $\alpha$ -syn 纤维化所必须的;C 端富含酸性残基,可抵抗蛋白酶水解<sup>[11-12]</sup>。有研究表明,在环境、遗传及病理机制如氧化应激、高金属离子水平和翻译后修饰<sup>[13]</sup>等因素的诱导下  $\alpha$ -syn 构象发生改变,形成寡聚体、原纤维、纤维多聚体等形式;据报道,寡聚体的神经毒性最强,同时也是 LB 的重要组成部分<sup>[14]</sup>。翻译后修饰中的磷酸化可促蛋白异常聚集,在路易小体中磷酸化的  $\alpha$ -syn 占 90%<sup>[15-16]</sup>。

生理状态下  $\alpha$ -Syn 主要以未折叠单体和低聚集倾向的  $\alpha$ -螺旋四聚体形式存在,当构象发生转变时  $\alpha$ -syn 异常聚集成神经毒性物质并沉积在中脑黑质<sup>[17-19]</sup>。有研究发现线粒体功能障碍、致病基因 LRRK2(Leucine rich repeat kinase 2)基因突变也参与  $\alpha$ -syn 神经毒性形成。

线粒体功能障碍是帕金森病的重要致病机制,  $\alpha$ -syn 可结合到线粒体内膜上,调节线粒体的代谢过程。Ludtmann 等<sup>[20]</sup>人在生化实验中结合活细胞成像和线粒体呼吸分析显示,单体  $\alpha$ -syn 与 ATP 合酶(线粒体呼吸链酶复合物 V,也称为 ATP 合酶)的  $\alpha$ -亚单位相互作用来调节 ATP 合酶的活性,进而调控线粒体呼吸和生物学功能。后期研究发现,富含  $\beta$ -折叠的寡聚体  $\alpha$ -syn 与 ATP 合酶相互作用后寡聚体  $\alpha$ -syn 诱导 ATP 合酶  $\beta$  亚单位氧化,并刺激线粒体脂质过氧化,这些过氧化物会使线粒体通透性转换孔(Permeability transition pore, PTP)开放,破坏线粒体膜的完整性,迫使呼吸链中断,凋亡因子释放,最终导致线粒体肿胀坏死<sup>[13]</sup>。线粒体外膜移位酶(Translocase outer mitochondrial membrane, TOM)在线粒体外膜形成蛋白输入通道,一些核基因编码的蛋白通过 TOM20-TOM22 线粒体外膜导入受体机制进行运输<sup>[21]</sup>。有研究发现寡聚体  $\alpha$ -syn 和翻译后修饰的  $\alpha$ -syn 直接与 TOM20 相互作用,阻断 TOM20 与 TOM22 结合, TOM22 是蛋白转移所必需的<sup>[22]</sup>。在寡聚体  $\alpha$ -syn 诱导的人神经母细胞瘤细胞(4'-hydroxychalcone on neuroblastoma cells, SH-SY5Y)模型研究中发现,实验组中线粒体编码的细胞色素 C 氧化酶 II(Cytochrome c oxidase II, COXII)表达水平较对照组高 7 倍, COX 是呼吸链的关键酶,负责将电

基金项目:自治区科技援疆项目(编号为 201909428);国家自然科学基金项目(编号为 81960243)

作者单位:830028 乌鲁木齐,新疆医科大学附属第二医院神经内科[钱小娟 刘娜 张杨 杨新玲(通信作者)]

子从细胞色素 C 传递给氧<sup>[23]</sup>。表达上调的 COXII 可使得细胞色素 C 从线粒体中转移至细胞质中,与胞质中凋亡蛋白酶活化因子结合形成凋亡小体,损伤线粒体功能和促进多巴胺能神经元死亡<sup>[24]</sup>。此外,星形胶质细胞主要参与中枢神经系统的免疫炎症反应,而长期储存于星形胶质细胞中的寡聚体  $\alpha$ -syn 会影响线粒体完整性,导致神经元死亡<sup>[25-26]</sup>。

全基因组关联研究 (Genome-wide association study, GWAS) 显示,一些 PD 连锁基因如 SNCA 和富含亮氨酸的重复激酶 2 (LRRK2) 可发生遗传突变,导致 PD 的发生。LRRK2 基因突变为常染色体显性突变,是散发性和家族性 PD 发病的重要原因。LRRK2 是 1 个 280 kDa 的大分子,多结构域蛋白,其核心包括两种酶结构域如丝氨酸-苏氨酸的激酶结构域、鸟苷三磷酸酶 GTP 酶 (GTPases) 结构域和包在外围的蛋白质-蛋白质相互作用涉及的结构域,在人体的大脑、肾脏、肺中有表达,脑内的多巴胺感受区有较高的表达如皮质、纹状体等,致病性 LRRK2 基因突变多位于以上 3 个功能结构域中<sup>[27-31]</sup>。LRRK2 蛋白具有 GTP 酶活性和激酶活性,遗传和生化数据表明在 LRRK2 中已经鉴定出多个突变位点,G2019S 突变位点最常见,位于激酶结构域中。G2019S 突变和 GTP 酶结构域中的突变体可导致 LRRK2 激酶活性的毒性功能显著增强<sup>[28-29]</sup>。PD 患者尸检结果显示,G2019S 基因突变比其他突变更容易诱导神经元死亡和病理性  $\alpha$ -syn 聚集沉积<sup>[27]</sup>,从而抑制 LRRK2 激酶活性将可能成为治疗 PD 的新治疗靶点。LRRK2 激酶可调节胞吞作用、囊泡转运、维持溶酶体稳定、调控神经元突起和调节自噬等方面,而上述途径功能障碍往往是导致散发性和家族性 PD 发病的核心因素<sup>[29]</sup>。G2019S LRRK2 在原代胶质细胞中的过表达使溶酶体体积增大,溶酶体中 pH 值增高,溶酶体的蛋白降解功能障碍,还可诱导轴突回缩,抑制神经元生长<sup>[30-31]</sup>。Bieri 等<sup>[32]</sup>人在帕金森病小鼠模型中发现,携带 G2019S 变异的转基因小鼠体内  $\alpha$ -syn 聚集较对照组增多,但并不影响  $\alpha$ -syn 预成型纤维 ( $\alpha$ -synuclein preformed fibril,  $\alpha$ -syn PFF) 的内吞或小鼠原代神经元内  $\alpha$ -syn 的表达;除此之外,这些小鼠出现了更明显的神经炎症和行为障碍。

### 3 $\alpha$ -syn 跨细胞转移机制

非折叠单体  $\alpha$ -syn 在病理及外界因素的作用下形成寡聚体,通过“朊病毒”样的方式在神经元间传递,在神经系统内传播<sup>[15]</sup>;有研究发现 LAG3、外泌体、小胶质细胞及肠神经等参与  $\alpha$ -syn 在神经元间的传播。

#### 3.1 LAG3 介导 $\alpha$ -syn 转移

LAG3 位于 12p13.31 号染色体上,编码一种含有 4 个细胞外免疫球蛋白样结构域的 I 型跨膜蛋白 LAG3,属于免疫球蛋白超家族。活化的免疫细胞如 T 细胞、B 细胞、自然杀伤细胞 (Natural killer cell, NK) 和浆细胞样树突状细胞 (Plasmacytoid dendritic cells, pDCs) 表达 LAG3;可溶性重组 LAG3-Ig 蛋白可与 CD4<sup>+</sup> T 细胞表面的主要组织相容性复合体 II (Major histocompatibility complex II, MHC II) 结合,产生抑制信号<sup>[15]</sup>。有研究表明  $\alpha$ -syn 在 PD 的病理进展中从 1 个细胞移动到另 1 个细胞<sup>[33]</sup>。 $\alpha$ -syn 依赖网格蛋白的

主动内吞过程,LAG3 与  $\alpha$ -syn-PFF 的亲合力最高,以饱和和吸附的方式与  $\alpha$ -syn-PFF 结合,且不与单体  $\alpha$ -syn 结合<sup>[34]</sup>。给野生型小鼠和 LAG3<sup>-/-</sup>小鼠接受背侧纹状体注射  $\alpha$ -syn PFFs,野生型小鼠比 LAG3<sup>-/-</sup>小鼠出现更多的多巴胺 (Dopamine, DA) 神经变性和 PD 样运动缺陷。然而,不仅 LAG3 是  $\alpha$ -syn 结合位点,而且神经毒素也被发现与  $\alpha$ -syn 结合。此外,在敲除 LAG3 的细胞中  $\alpha$ -syn 的转移和病理效应不能完全阻断<sup>[35-36]</sup>。 $\alpha$ -syn 的跨细胞转移也解释了 PD 相关的神经回路功能障碍和脑萎缩,这在皮质和皮质下脑区尤其是基底神经节可能与运动障碍的程度有关<sup>[37]</sup>。

#### 3.2 $\alpha$ -syn 在肠道与大脑之间的传播

在帕金森病患者尸检中发现在延髓的迷走神经背侧运动核和内脏运动纤维的迷走神经中有聚集的寡聚体  $\alpha$ -syn,大量的神经元有丢失<sup>[38]</sup>。早期 Braak 提出帕金森病病理逆行的假说,后期的动物模型支持了这一假说,将  $\alpha$ -syn-PFF 接种到肠壁或将倡导暴露与农药鱼藤酮后在脑组织中有  $\alpha$ -syn 聚集体自我复制并扩散。在人体试验中与对照组相比 PD 患者的肠道中更易检出  $\alpha$ -syn,且肠道微生物的成分有改变<sup>[39-40]</sup>,Svensson 等<sup>[41]</sup>人在行迷走神经干切除术的一项队列研究中发现,术后 20 年里 PD 的风险降低了一半;另一项研究显示,与行超选择性迷走神经切断术的人群相比,行迷走神经干切除术同样可降低 PD 的发病风险。Holmqvist 等<sup>[42]</sup>研究人员用 Atto-550 荧光标记  $\alpha$ -syn,将帕金森病患者提取标记的  $\alpha$ -syn 并注射到鼠胃肠壁, $\alpha$ -syn 被吸收并通过迷走神经运输到大脑,上述的研究结果提示迷走神经可能是脑干和胃肠道之间的信息传递通道。肠道微生物活性与焦虑、抑郁等精神疾病存在密切的联系,Mazmanian 等人研究显示肠道微生物参与神经系统发育并间接地调控脑神经功能如血脑屏障及神经髓鞘的发育、小胶质细胞的成熟等。Mazmanian 在动物模型上证实了肠道微生物可促进路易小体的形成和神经炎症产生,将帕金森病患者的粪便微生物移植到小鼠体内,观察到小鼠的运动功能的明显损害<sup>[43-46]</sup>。

#### 3.3 $\alpha$ -syn 传播的其他机制

外泌体是一种胞外囊泡,可转运 RNA 和蛋白质,调节蛋白质的活性和基因的表达<sup>[47]</sup>。在中枢神经系统中的小胶质细胞可分泌大量的外泌体<sup>[48]</sup>, $\alpha$ -syn 作为强的炎症刺激因子,可诱导小胶质细胞产生神经炎症反应<sup>[49]</sup>。在动物模型上将 PD 患者的血浆提取出的外泌体立体定位注射至小鼠的纹状体, $\alpha$ -syn 聚集增加且加快了  $\alpha$ -syn 细胞外分泌过程。有研究表明,由小胶质细胞分泌的  $\alpha$ -syn 外泌体可以诱导受体神经元中  $\alpha$ -syn 异常聚集,并增加  $\alpha$ -syn 聚集体的神经毒性<sup>[50-51]</sup>。与上述的研究结果一致,Stuendl 等<sup>[52]</sup>人发现 PD 脑脊液中的外泌体含有病理性  $\alpha$ -syn,同时它可以启动靶细胞中可溶性  $\alpha$ -syn 的寡聚化。

## 4 展望

$\alpha$ -syn 是帕金森病潜在的生物标记物,在帕金森病的发病机制占主导地位,在诊断上缺乏可靠的实验室指标和影像学支持,治疗上尚无完全能治愈帕金森病的药物,对于研究发现的 LAG3、外泌体、小胶质细胞、肠道微生物等介质参与

$\alpha$ -syn 传播,有望通过抑制上述传播途径延缓帕金森病的进展,为帕金森病的治疗提供新靶点,以提高患者的生活质量。

## 参 考 文 献

- [1] Blauwendraat C, Nalls MA, Singleton AB. The genetic architecture of Parkinson's disease[J]. *Lancet Neurol*, 2020, 19(2): 170-178.
- [2] 陈宗元,黄春丽,官检发,等.帕金森病的流行病学、发病机制及药物的研究进展[J]. *海峡药学*, 2018, 30(3): 48-50.
- [3] Postuma RB, Berg D. Advances in markers of prodromal Parkinson disease[J]. *Nat Rev Neurol*, 2016, 12(11): 622-634.
- [4] Dickson DW. Parkinson's disease and parkinsonism; neuropathology[J]. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2012, 2(8): a009258.
- [5] Rocha EM, De Miranda B, Sanders LH. Alpha-synuclein; Pathology, mitochondrial dysfunction and neuroinflammation in Parkinson's disease[J]. *Neurobiol Dis*, 2018, 109(Pt B): 249-257.
- [6] 刘长亮,毛晓波.致病性  $\alpha$ -synuclein 在帕金森病中的神经毒性与传播机制[J]. *广西医科大学学报*, 2020, 37(2): 159-164.
- [7] 张美美,冯涛.  $\alpha$ -突触核蛋白致病机制研究进展[J]. *中华神经科杂志*, 2020, 53(3): 227-231.
- [8] Ono K, Yamada M. Alpha-Synuclein in blood and cerebrospinal fluid of patients with alpha-synucleinopathy[J]. *Rinsho Byori*, 2014, 62(3): 241-245.
- [9] Cremades N, Cohen S, Deas E, et al. Direct observation of the interconversion of normal and toxic forms of  $\alpha$ -synuclein[J]. *Cell*, 2012, 149(5): 1048-1059.
- [10] Delenclos M, Burgess JD, Lamprokostopoulou A, et al. Cellular models of alpha-synuclein toxicity and aggregation[J]. *J Neurochem*, 2019, 150(5): 566-576.
- [11] 毛婷婷,陈煜森.  $\alpha$ -突触核蛋白在帕金森病发病机制中的研究进展[J]. *海南医学*, 2020, 31(11): 1460-1463.
- [12] Atik A, Stewart T, Zhang J. Alpha-Synuclein as a biomarker for parkinson's disease[J]. *Brain Pathol*, 2016, 26(3): 410-418.
- [13] Du XY, Xie XX, Liu RT. The role of  $\alpha$ -Synuclein oligomers in parkinson's disease[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(22): 8645.
- [14] Mehra S, Sahay S, Maji SK.  $\alpha$ -Synuclein misfolding and aggregation: implications in parkinson's disease pathogenesis[J]. *Biochim Biophys Acta Proteins Proteom*, 2019, 1867(10): 890-908.
- [15] Beyer K, Ariza A.  $\alpha$ -Synuclein posttranslational modification and alternative splicing as a trigger for neurodegeneration[J]. *Mol Neurobiol*, 2013, 47(2): 509-524.
- [16] Poucet H, Lebouvier T, Coron E, et al. A comparison between rectal and colonic biopsies to detect Lewy pathology in Parkinson's disease[J]. *Neurobiol Dis*, 2012, 45(1): 305-309.
- [17] Burré J. The synaptic function of  $\alpha$ -Synuclein[J]. *J Parkinsons Dis*, 2015, 5(4): 699-713.
- [18] Bartels T, Choi JG, Selkoe DJ.  $\alpha$ -Synuclein occurs physiologically as a helically folded tetramer that resists aggregation[J]. *Nature*, 2011, 477(7362): 107-110.
- [19] Miraglia F, Ricci A, Rota L, et al. Subcellular localization of alpha-synuclein aggregates and their interaction with membranes[J]. *Neural Regen Res*, 2018, 13(7): 1136-1144.
- [20] Ludtmann M, Angelova PR, Horrocks MH, et al.  $\alpha$ -synuclein oligomers interact with ATP synthase and open the permeability transition pore in parkinson's disease[J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 2293.
- [21] 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): 342ra78.
- [22] De Miranda BR, Rocha EM, Castro SL, et al. Protection from  $\alpha$ -Synuclein induced dopaminergic neurodegeneration by overexpression of the mitochondrial import receptor TOM20[J]. *NPJ Parkinsons Dis*, 2020, 6(1): 38.
- [23] Danyu L, Yanran L, Xiuna J, et al.  $\alpha$ -Synuclein induced mitochondrial dysfunction via cytochrome c oxidase subunit 2 in SH-SY5Y cells. *Exp[J]*. *Cell Res*, 2019, 378(1): 57-65.
- [24] Melo TQ, van Zomeren KC, Ferrari MF, et al. Impairment of mitochondria dynamics by human A53T  $\alpha$ -synuclein and rescue by NAP (davunetide) in a cell model for Parkinson's disease[J]. *Exp Brain Res*, 2017, 235(3): 731-742.
- [25] Prots I, Grosch J, Brazdis RM, et al.  $\alpha$ -Synuclein oligomers induce early axonal dysfunction in human iPSC-based models of synucleinopathies[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2018, 115(30): 7813-7818.
- [26] Lindström V, Gustafsson G, Sanders LH, et al. Extensive uptake of  $\alpha$ -synuclein oligomers in astrocytes results in sustained intracellular deposits and mitochondrial damage[J]. *Mol Cell Neurosci*, 2017, 82: 143-156.
- [27] Bae EJ, Lee SJ. The LRRK2-RAB axis in regulation of vesicle trafficking and  $\alpha$ -synuclein propagation[J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2020, 1866(3): 165632.
- [28] Daher JP. Interaction of LRRK2 and  $\alpha$ -Synuclein in parkinson's disease[J]. *Adv Neurobiol*, 2017, 14: 209-226.
- [29] Schapansky J, Khasnavis S, Deandrade MP, et al. Familial knockin mutation of LRRK2 causes lysosomal dysfunction and accumulation of endogenous insoluble  $\alpha$ -synuclein in neurons[J]. *Neurobiol Dis*, 2018, 111: 26-35.
- [30] 张国新. LRRK2 基因多态性与华中地区汉族散发性帕金森病的相关性研究[D]. 武汉: 华中科技大学, 2015: D735066.
- [31] Tolosa E, Vila M, Klein C, et al. LRRK2 in parkinson disease: challenges of clinical trials[J]. *Nat Rev Neurol*, 2020, 16(2): 97-107.
- [32] Bieri G, Brahic M, Bousset L, et al. LRRK2 modifies  $\alpha$ -syn pathology and spread in mouse models and human neurons[J]. *Acta Neuropathol*, 2019, 137(6): 961-980.
- [33] Mao X, Ou MT, Karuppagounder SS, et al. Pathological  $\alpha$ -synuclein transmission initiated by binding lymphocyte-activation gene 3[J]. *Science*, 2016, 353(637): aah3374.
- [34] Wood H. Parkinson disease: LAG3 facilitates cell-to-cell spread of  $\alpha$ -synuclein pathology[J]. *Nat Rev Neurol*, 2016, 12(12): 678.
- [35] Guo W, Zhou M, Qiu J, et al. Association of LAG3 genetic variation with an increased risk of PD in Chinese female population[J]. *J Neuroinflammation*, 2019, 16(1): 270.
- [36] Angelopoulou E, Paudel YN, Villa C, et al. Lymphocyte-Activation gene 3 (LAG3) protein as a possible therapeutic target for parkinson's disease: molecular mechanisms connecting neuroinflammation to  $\alpha$ -Synuclein spreading pathology[J]. *Biology (Basel)*, 2020, 9(4): 86.
- [37] Fernández-Valle T, Gabilondo I, Gómez-Esteban JC. New therapeutic approaches to target alpha-synuclein in Parkinson's disease: The role of immunotherapy[J]. *Int Rev Neurobiol*, 2019, 146: 281-295.
- [38] Gelpi E, Navarro-Otano J, Tolosa E, et al. Multiple organ involvement by alpha-synuclein pathology in Lewy body disorders[J]. *Mov Disord*, 2014, 29(8): 1010-1018.
- [39] Uemura N, Yagi H, Uemura MT, et al. Limited spread of pathology within the brainstem of  $\alpha$ -synuclein BAC transgenic mice inoculated with preformed fibrils into the gastrointestinal tract[Z], 2020: 134651.