



溶酶体离子通道蛋白在神经退行性疾病发生发展中的作用及机制研究*

凌云翔¹⁾ 鲍晓明²⁾ 鲍荣荣¹⁾ 王佳¹⁾ 徐淑君^{1)**}

(¹⁾ 宁波大学医学院, 浙江省病理生理学重点实验室, 宁波 315211; (²⁾ 中国科学院大学宁波华美医院, 宁波 315010)

摘要 溶酶体离子通道蛋白异常引起溶酶体功能障碍是导致阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 和帕金森病 (Parkinson's disease, PD) 等神经退行性疾病的重要因素. 溶酶体离子通道蛋白调节溶酶体内离子稳态、溶酶体膜电压以及溶酶体的酸度. 溶酶体离子通道蛋白的结构或功能缺陷会引起溶酶体降解功能障碍, 导致神经退行性疾病的发生发展. 在这篇综述中, 我们总结了各种离子通道蛋白调节溶酶体功能的过程及机制, 以及离子通道蛋白异常参与神经退行性疾病的过程和机制. 调节离子通道蛋白改善溶酶体的功能、促进异常聚集蛋白的清除, 是神经退行性疾病治疗的潜在途径.

关键词 溶酶体, 离子通道蛋白, 阿尔茨海默病, 帕金森病
中图分类号 Q2, Q4, R338

DOI: 10.16476/j.pibb.2019.0298

溶酶体 (lysosome) 是广泛存在于真核细胞内的一种细胞器, 为单层包被的囊泡, 能降解蛋白质、脂肪、氨基酸、衰老细胞器及失活细胞等多种底物, 并为新的生物大分子提供原料, 是细胞处理与回收系统^[1]. 在神经元等这些不可再生细胞中, 溶酶体的功能对细胞整体生理功能的维持尤为重要. 溶酶体通过融合和裂变接受通过内吞或自噬递送物质, 排出代谢产物^[1]. 内吞物通过内体被送入溶酶体, 该过程包括溶酶体酸化和经由甘露糖-6-磷酸受体 (mannose-6-phosphate receptor, M6PR) 的水解酶递送^[2]. 受损的细胞器等则被包装在自噬体中, 通过自噬体与溶酶体融合而被运送至溶酶体^[3]. 在这些过程中, 溶酶体借助动力蛋白在顺行 (从细胞核到质膜) 和逆行方向上不断移动. 降解产物通过渗透酶、转运蛋白、囊泡运输、溶酶体-细胞器膜接触交换和溶酶体胞吐作用等被运送到胞质或细胞外. 不溶性脂质和 M6PR 被逆行转运至反式高尔基网络 (trans-Golgi network, TGN) 进行再利用^[4].

生物衰老过程伴随着溶酶体功能障碍. 随着年龄的增长, 溶酶体蛋白水解活性下降, 导致受损的细胞器和突变的毒性蛋白质聚集. 溶酶体功能下降

是导致阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 和帕金森病 (Parkinson's disease, PD) 等神经退行性疾病发生发展的重要因素^[5]. 溶酶体功能受到溶酶体离子通道蛋白的调节. 溶酶体的离子通道蛋白参与溶酶体内离子稳态和膜电位的维持; 参与调节自噬体、晚期内涵体与溶酶体的融合; 参与溶酶体水解酶进入溶酶体以及溶酶体内酸度的调控^[4]. 最近的研究表明, 溶酶体 K⁺通道蛋白功能的异常会导致溶酶体 pH 不稳定、溶酶体酶的催化活性降低, 导致 α -突触核蛋白 (α -synuclein, α -syn) 以及自噬线粒体的降解异常, 进一步导致线粒体的功能下降, 导致 PD 的发生发展^[6]. 溶酶体离子通道的作用越来越受到重视, 调控溶酶体的离子通道蛋白是神经退行性疾病治疗的潜在靶点. 因此在该文中我们重点阐述了溶酶体离子通道蛋白的功能以及它

* 国家自然科学基金 (81771166 和 U1503223), 浙江省自然科学基金 (LY20H090004), 宁波市自然科学基金 (2019A610288), 宁波市生命健康科技创新团队 (2015C110026) 和宁波大学王宽诚幸福基金资助项目.

** 通讯联系人.

Tel: 0574-87609594, Fax: 0574-87608638,

E-mail: xushujun@nbu.edu.cn

收稿日期: 2019-12-02, 接受日期: 2020-02-27

们异常调节参与神经退行性疾病特别是AD和PD发生发展的机制。

1 溶酶体膜上离子通道蛋白调节溶酶体功能的过程及机制

溶酶体功能维持需要各种离子的存在,例如氢(H^+)、钙(Ca^{2+})、钠(Na^+)、铁(Fe^{2+})、钾(K^+)、氯(Cl^-)和锌(Zn^{2+})等^[4]。每种离子负责溶酶体生理的不同方面,而溶酶体膜上各种离子通道蛋白参与调控溶酶体中离子的稳态。随着技术的发展和研究的深入,目前已有多种溶酶体离子通道蛋白被鉴定出来,包括液泡型ATP合成酶(vacuolar ATPase, V-ATPase)、瞬时受体电位黏蛋白1-3(transient receptor potential mucolipin 1-3, TRPML1-3)、瞬时受体电位M2型(transient receptor potential melastatin member 2, TRPM2)、两孔通道蛋白(two-pore channel, TPC)、大电导钙依赖性钾离子通道(large-conductance Ca^{2+} -activated K^+ channel, BK channel)、跨膜蛋白175(transmembrane protein 175, TMEM175)编码的钾离子通道 K_{EL} (E: endosome; L: lysosome)、电压门控氯离子通道7(voltage-gated chloride channel-7, ClC-7)、 Zn^{2+} 转运蛋白(zinc transporters, ZnTs)和ATPase阳离子转运蛋白13A2(ATP13A2,也称为PARK9)^[7-8](图1)。不同离子通道蛋白对于通过控制溶酶体膜上各种离子进出从而维持溶酶体内的离子稳态至关重要。以下我们将综述这些离子通道蛋白调节溶酶体功能的过程及机制。

1.1 液泡型ATP合成酶(V-ATPase)

溶酶体的降解功能依赖于各种水解酶(例如核酸酶、糖苷酶、磷酸酶、硫酸酯酶、脂肪酶和蛋白酶),溶酶体内水解酶在溶酶体酸性环境下才具有活性^[9]。溶酶体酸性环境($pH=4.6\sim 5.0$)依赖V-ATPase的作用。V-ATPase存在于所有真核细胞中,是一种多聚体蛋白质复合物,V-ATPase利用ATP水解产生的能量主动转运 H^+ 离子进入溶酶体,从而使管腔呈酸性^[9](图1)。V-ATPase由两个“亚复合物”——胞质催化的V1区段和膜结合的V0质子孔区段组成^[10]。V1复合物包含8个亚基A-H,其中催化亚基A和B各有3个副本,“稳定”亚基E和G有3个副本,调节亚基C和H各有1个副本。V1A和V1B亚基形成异六聚体,它介导ATP结合和水解,为V-ATPase提供动力。V1复合物还包含D和F亚基,它们一起形成了中心转子轴,通过催

化ATP水解引起V1A/V1B亚基内的中心转子轴旋转进而驱动质子跨膜转运^[10]。V-ATPase功能异常导致溶酶体内 pH 值增加,溶酶体酶的降解功能下降,引起多种疾病的发生。

1.2 TRP家族

TRP通道家族是非选择性阳离子通道。TRP通道家族由28个成员组成,这些成员在结构上相似,但是在细胞内的分布不同。该家族根据其功能分为6个主要的亚组:TRPC、TRPM、TRPV、TRPP、TRPML和TRPA^[11]。TRP通道涉及细胞的许多生理方面,它们通过调节细胞器中 Ca^{2+} 的进入和释放从而发挥重要作用。在中枢神经系统中通过介导溶酶体功能改变参与神经退行性疾病发生发展。TRP通道主要是TRPML1和TRPM2^[12]。溶酶体是细胞内 Ca^{2+} 储存和 Ca^{2+} 信号传导的细胞器, Ca^{2+} 离子在溶酶体中浓度为 $500\mu mol/L$,而在胞质中 Ca^{2+} 浓度约为 $100nmol/L$ ^[4](图1)。溶酶体膜运输是 Ca^{2+} 依赖性过程。溶酶体 Ca^{2+} 释放缺陷与许多神经退行性疾病相关,促进 Ca^{2+} 激活对于溶酶体运输至关重要^[12]。

TRPML1是一种六跨膜通道,它被磷脂酰肌醇-3,5-双磷酸(phosphatidylinositol-3,5-bisphosphate, $PI(3,5)P_2$)激活,并通过 $PI(4,5)P_2$ 的结合而被抑制^[11]。TRPML1在细胞的多种功能,包括膜运输、信号转导和细胞器离子稳态中具有重要作用。作为内向整流的电流通道(内向表示阳离子向细胞质转运),TRPML1促进阳离子从溶酶体内或细胞外空间流入胞质。TRPML1通道主要位于晚期内涵体与溶酶体(late endosomes and lysosomes, LELs)膜上。溶酶体膜片钳实验结果表明,TRPML1通道为内向整流阳离子通道,能通透 Na^+ 、 Ca^{2+} 、 Fe^{2+} 和 Zn^{2+} 等多种阳离子^[11]。因此,当TRPML1活化时会释放溶酶体钙库中的 Ca^{2+} 离子, Ca^{2+} 激活钙调蛋白(calmodulin, CaM)触发溶酶体的分裂^[13]。

越来越多的证据表明,TRPML1在营养不足时也会被激活。TRPML1活性的增加触发了溶酶体中 Ca^{2+} 的释放,从而增加了细胞质中 Ca^{2+} 的浓度^[14]。释放的 Ca^{2+} 引起转录因子EB(transcription factor EB, TFEB)的去磷酸化,从而导致TFEB活性增强、活化溶酶体生成以及自噬相关基因表达,加速对受损线粒体的清除,减少线粒体产生的自由基,维持细胞器的稳态^[15]。此外,TRPML1充当溶酶体内的 pH 调节剂。降解过程完成后,溶酶体中 pH

值降低, 细胞器被酸化. TRPML1 可以感知 pH 的变化并启动 H^+ 从溶酶体的释放, 以使溶酶体恢复到其最佳 pH^[11]. 研究表明, 与表达 TRPML1 的细胞相比, 敲除 TRPML1 的细胞中溶酶体 pH 值下降. 这突出了 TRPML1 在维持溶酶体的酸性环境以确保水解酶的正常功能中的重要性. 但是, TRPML1 不仅调节溶酶体的 pH, 而且本身受 pH 的影响^[11]. Li 等^[16] 发现, TRPML1 结构中的天冬氨酸残基受到周围的 pH 值影响, 可以抑制或促进通过通道的 Ca^{2+} 传导. 其在 pH 值为 7.4 时, 天冬氨酸残基保留其负电荷并阻止 Ca^{2+} 传导; 相反, 在较低的 pH (4.6) 环境下, 天冬氨酸残基被质子化减少其负电荷并允许 Ca^{2+} 传导.

TRPM2 作为新发现的非选择性阳离子通道和活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 的传感器, 是大脑中最丰富的 TRP 通道, 它在黑质、纹状体和皮质多个脑区、小胶质细胞、星形胶质细胞和神经元等多种细胞上都有表达^[17]. TRPM2 的活性主要由腺苷二磷酸核糖 (adenosine diphosphate ribose, ADPR) 介导, TRPM2 被激活后, 从溶酶体内释放阳离子, 导致胞质中阳离子的浓度增加^[17]. TRPM2 通道最近已被证明在中枢神经系统 (central nervous system, CNS) 参与了多种信号通路的调节以及生理过程. TRPM2 功能异常与多种神经系统疾病有关, 包括缺血/中风、AD、神经性疼痛、PD 和躁郁症^[18].

1.3 溶酶体 Na^+/Ca^{2+} 离子通道 TPC 家族

溶酶体中 Na^+ 离子浓度范围为 20~140 mmol/L, 而其在胞质浓度约为 12 mmol/L (图 1). TPC 是真核细胞电压门控 Na^+ 离子通道超家族的一个亚族, 也有文献报道它可以释放 Ca^{2+} ^[4]. TPC 位于内体和溶酶体中, 包括 TPC1、TPC2、TPC3, 它们被烟酸腺嘌呤二核苷酸磷酸 (nicotinic acid adenine dinucleotide phosphate, NAADP) 或 PI(3,5)P2 激活从酸性细胞器中释放 Ca^{2+} 和 Na^+ ^[19-20]. TPC 的活性还受到雷帕霉素靶蛋白 1 (mechanistic target of rapamycin-1, mTORC1) 的调节^[21]. mTORC1 能感应细胞的营养、氧气和能量水平, 并整合环境或者细胞内信号, 包括生长因子、胰岛素和氨基酸, 促进细胞生长和增殖, 是细胞营养水平和氨基酸代谢的主要调节器. TPC 充当细胞内的营养传感器, 并在营养缺乏时被激活. TPC 感知细胞营养状况的能力是通过与 mTORC1 的直接相互作用来调节的^[21]. 当细胞营养物质缺乏, 尤其是细胞外氨基

酸浓度或细胞内 ATP 浓度降低, 都会减弱 mTORC1 对 TPC 的抑制作用, 从而激活 TPC 通道, 促使内体与溶酶体内部 Na^+ 离子向胞质流动^[21]. TPC 通道的激活在细胞水平对维持溶酶体膜电位和内部酸性环境平衡具有重要作用. 在 TPC1 和 TPC2 双基因敲除的细胞中, 溶酶体的 pH 稳定性变差, 饥饿环境下 pH 值升高, 溶酶体活性降低, 溶酶体中氨基酸输出减少^[22]. TPC1 和 TPC2 双基因敲除小鼠在营养充足环境下, 与野生型小鼠表现一致. 饥饿环境下, 正常小鼠禁食阶段细胞内几种氨基酸水平是上升的, 但敲除小鼠中则没有出现这种情况. 在耐受力方面, TPC 敲除小鼠和野生型小鼠相比有明显的降低. 相反的, 活化 TPC 通道会有助于建立溶酶体电势差、维持溶酶体内 pH 的稳定、促进溶酶体中氨基酸的流出以及饥饿状态下提升动物的耐力^[22].

1.4 溶酶体 K^+ 离子通道

考虑到细胞内 K^+ 的丰富性及其在介导细胞功能过程中的重要性, 研究人员花了数十年的时间研究 K^+ 如何调节细胞的基本功能. 溶酶体中 K^+ 离子浓度范围为 2~50 mmol/L, 而其在胞质浓度约为 150 mmol/L^[4] (图 1). 以往发现的 K^+ 离子通道约有 80 种, 这些通道通常具有高度保守的 TVGYG 结构, 该结构负责 K^+ 的电导并充当选择性过滤器^[23]. BK 型电压依赖性和 Ca^{2+} 依赖性 K^+ 通道广泛存在于细胞膜及细胞器中. BK 通道在溶酶体膜上普遍表达, 并允许 K^+ 离子进入溶酶体腔. BK 通道作为四聚体起作用, 具有 4 个成孔的 α 亚基 (每个由 6 个跨膜结构域组成) 和 4 个 β 亚基 (BK β 1-4)^[23]. BK 通道参与许多细胞过程, 调节静息膜电位、平滑肌收缩、细胞增殖和神经元放电^[24]. 研究发现, 溶酶体中 BK 通道与溶酶体 Ca^{2+} 释放通道 TRPML1 形成物理和功能耦合. 通过 TRPML1 释放的 Ca^{2+} 引起 BK 激活, 进而促使溶酶体 Ca^{2+} 释放和膜运输^[25]. BK 过表达可以缓解尼曼-匹克 C1 型疾病 (Niemann-Pick disease type C1, NPC1) 患者细胞中 TRPML1 介导的 Ca^{2+} 释放和溶酶体异常贮藏^[25]. 溶酶体 BK 通道提供了一个积极的反馈机制, 以促进 TRPML1 介导的 Ca^{2+} 释放和膜运输. 因此, 当 TRPML1 功能下降造成溶酶体 Ca^{2+} 释放和膜运输缺陷时, 上调 BK 通道可能有助于加强这种正反馈回路并减轻相关疾病表型.

最近, TMEM175 被鉴定为编码溶酶体与核内体的 K^+ 通道蛋白. TMEM175 不仅表达于溶酶体膜上, 还表达于内体膜上, 因此将这种新型的钾离子

通道命名为 K_{EL} [26]。起初, TMEM175 被认为只是细菌和古细菌中存在的原核离子通道。最近的文献报道中证明, TMEM175 在哺乳动物中同样存在 [6]。TMEM175 在原核生物中仅由一个具有四聚体功能的六跨膜结构域组成, 而哺乳动物 TMEM175 由两个同源的六跨膜结构域组成, 并以二聚体形式存在于溶酶体膜中 [26-27]。尽管缺乏 TVGYG 结构, 但 K_{EL} 通道仍具有介导溶酶体 K^+ 通透性的能力。研究发现, TMEM175 的缺失破坏了溶酶体中的 K^+ 电导以及 pH 稳定性, 导致溶酶体葡萄糖脑苷脂酶 (glucocerebrosidase, GBA) 活性降低, 自噬线粒体的降解障碍 [6]。

1.5 溶酶体 Cl^- 离子通道

溶酶体中 Cl^- 离子浓度范围为 $> 80 \text{ mmol/L}$, 而其在胞质浓度约为 15 mmol/L [4]。目前已发现 CIC-7 蛋白能够在中枢神经系统介导溶酶体膜上 Cl^- 离子的通透性 (图1)。CIC-7 是 Cl^-/H^+ 反转运蛋白, 该蛋白是 Cl^- 离子通过溶酶体膜的主要途径, 并在溶

酶体酸化过程中起到极其重要的作用 [4]。CIC-7 活性有助于维持溶酶体膜电位, 从而有利于 V-ATPase 泵入 H^+ 。CIC-7 向溶酶体的运输取决于与 Osm1 跨膜结构域的相互作用, CIC-7 和 β 亚基 Osm1 蛋白在晚期内体、溶酶体以及破骨细胞的褶皱状细胞膜上中共定位, 缺乏 Osm1 的组织 and 细胞中的 CIC-7 蛋白水平降低到正常水平的 10% 以下 [28]。并且在缺少 Osm1 的小鼠中, CIC-7 的蛋白质水平显著降低, 而 RNA 水平却没有降低, 这表明 CIC-7 与 Osm1 相互作用对于其蛋白质的稳定性很重要。研究表明, 抑制 CIC-7 表达会导致溶酶体酸化受损, 敲低 Osm1 蛋白表达也产生同样的效果 [29]。

1.6 Zn^{2+} 离子转运蛋白

锌是人体中仅次于铁的第二丰富微量元素, 并可能影响约 10% 的蛋白质结构和活性, 其中包括 300 多种酶。 Zn^{2+} 在溶酶体中为微摩尔浓度水平, 而在胞质中 Zn^{2+} 浓度极低 ($< 1 \text{ nmol/L}$) [4] (图1)。胞

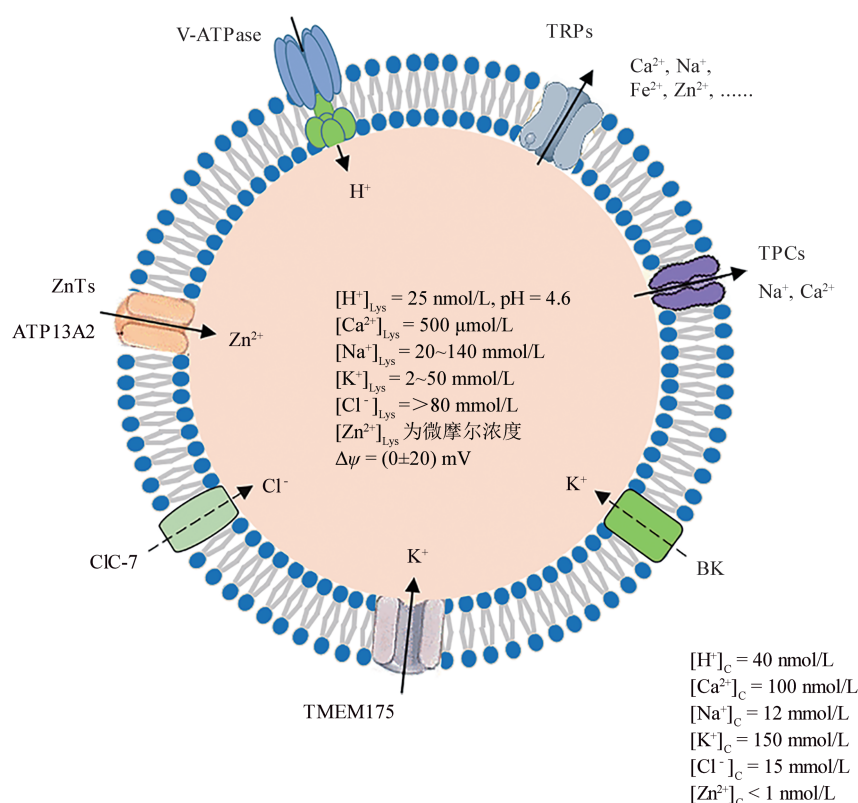


Fig. 1 The ion permeability of different kinds of ion channels in lysosome

图1 溶酶体膜上各种离子通道及其离子通透性

与细胞质相比, 溶酶体中的 H^+ 、 Ca^{2+} 、 Na^+ 和 Zn^{2+} 离子浓度较高, 而 K^+ 离子浓度较低。在静息条件下, 溶酶体膜电位 $\Delta\psi$ 接近 0 mV 。V-ATPase 是酸化溶酶体的质子泵。介导离子从溶酶体向细胞质转运的通道包括非选择性阳离子通道 TRPs、 Na^+/Ca^{2+} 渗透性通道 TPCs; 介导离子从细胞质向溶酶体转运的通道包括 K^+ 离子通道 BK、TMEM175、 Cl^- 离子通道 CIC-7、 Zn^{2+} 离子转运蛋白 ZnTs 和 ATP13A2。[离子]_c: 细胞质离子浓度; [离子]_{lys}: 溶酶体内离子浓度。

质中 Zn^{2+} 的浓度受到严格调控. 胞质中 Zn^{2+} 稳态的破坏可能导致生长缺陷、免疫反应受损、糖尿病和神经退行性疾病等. Zn^{2+} 可以激活转录因子影响基因表达, Zn^{2+} 还起信号传导介质的作用, 例如细胞间通讯和细胞内信号传导. 细胞内 Zn^{2+} 主要与蛋白质或 DNA 偶联, 并且只有少量 Zn^{2+} 以游离形式存在^[30]. Zn^{2+} 离子通道、 Zn^{2+} 转运蛋白以及 Zn^{2+} 缓冲蛋白 (例如金属硫蛋白 (metallothioneins MTs)) 调节胞质 Zn^{2+} 的水平^[31]. 细胞内 Zn^{2+} 可从胞质中转运至溶酶体等细胞器, 保持其胞质中低浓度水平, 过量的 Zn^{2+} 被快速螯合到溶酶体^[30]. 在神经元中, Zn^{2+} 也被螯合在突触前囊泡中, 以神经元活性依赖性方式释放, 并通过 Ca^{2+} 通道进入突触后囊泡^[32].

溶酶体包含各种 Zn^{2+} 转运途径, 包括 ZnT2 和 ZnT4, 以及 ATP13A2 / PARK9^[8]. ZnTs 是 Zn^{2+} / H^{+} 反转运蛋白, 通过激活 ZnTs 能够协助胞质内 Zn^{2+} 流出细胞外或转运到细胞器内, 从而降低胞质中 Zn^{2+} 的水平^[33]. ZnT1 将 Zn^{2+} 从胞质中转移到细胞外空间, 而 ZnT2 和 ZnT4 则促进 Zn^{2+} 进入酸性细胞器, 例如内体、溶酶体和分泌小泡. 最近有报道称 ZnT2 与 V-ATPase 相互作用, ZnT2 的缺失会破坏 V-ATPase 的组装, 损害囊泡酸化^[34]. 另一个参与者可能是 ATP13A2 / PARK9, 一种溶酶体 P 型 ATP 酶. ATP13A2 编码一个 Zn^{2+} 转运蛋白, 该转运蛋白用于隔离内体和溶酶体中的 Zn^{2+} ^[35]. 这些研究表明, ATP13A2 基因的突变或敲低导致溶酶体 Zn^{2+} 水平降低, 溶酶体 pH 值升高和溶酶体降解功能降低. 因此, 溶酶体的 Zn^{2+} 水平似乎与溶酶体的酸化有关. 从理论上讲, ZnTs 作为 Zn^{2+} / H^{+} 反转运蛋白的作用将会碱化溶酶体. 这种矛盾的一种可能性解释为, 胞质或溶酶体的 Zn^{2+} 以某种方式激活 V-ATPase 或其他导致 H^{+} 进入溶酶体的途径. 例如, Zn^{2+} 激活膜蛋白激酶 C (protein kinase C, PKC), 而 PKC 可上调 V-ATPase 活性^[36]. 尽管需要进一步研究来阐明其潜在机制, 但提高溶酶体 Zn^{2+} 水平可能有助于克服溶酶体功能障碍, 该功能障碍是多种神经退行性疾病的发病机理. 有趣的是, 提高环磷酸腺苷 (cyclic adenosine monophosphate, cAMP) 的水平也会导致溶酶体游离 Zn^{2+} 的增加, 而 Zn^{2+} 与 TPEN (重金属螯合剂) 和 cAMP 依赖蛋白激酶 A (protein kinase A, PKA) 抑制剂的螯合会阻断 cAMP 对溶酶体酸化的影响^[8]. 因此, 在 cAMP / PKA、溶酶体 Zn^{2+} 和溶酶体 pH 之间可能存在联系, cAMP 或 PKA 如何介导溶酶体游离 Zn^{2+} 水平升高将

需要进一步研究.

2 溶酶体离子通道蛋白异常调节参与神经退行性疾病的过程及机制

如上所述, 离子通道蛋白在调节溶酶体功能中起到非常重要的作用. 这些通道的功能障碍可导致溶酶体结构或功能缺陷, 最终导致疾病的发展. 我们将以最常见的神经退行性疾病 AD 和 PD 为例来阐明溶酶体通道蛋白缺陷在神经退行性疾病中的作用.

2.1 阿尔茨海默病中溶酶体离子通道蛋白的异常调节

AD 是老年人中最常见的神经退行性疾病之一, 占痴呆患者总数的 2/3 以上. AD 典型病理变化包括脑萎缩、突触丢失、脑神经细胞外出现 β 淀粉样蛋白 (β -amyloid protein, A β) 为核心的老年斑 (senile plaque, SP) 或称神经斑, 脑神经细胞内 Tau 蛋白异常聚集形成神经元纤维缠结 (neurofibrillary tangle, NFT)^[37-38]. 生理条件下, 神经元溶酶体内 A β 含量极少, 而在病理条件下, 神经元溶酶体内 A β 的含量显著增加^[39]. AD 进程伴随溶酶体系统失调, A β 在溶酶体内的聚集是 AD 的病理特征之一. 在 AD 早期, 就可以观察到淀粉样前体蛋白 (amyloid precursor protein, APP)、寡聚型 A β 在溶酶体的聚集以及溶酶体数目和酶的改变^[40]. 溶酶体离子通道蛋白对于维持溶酶体正常功能具有极其重要的作用, 在 AD 发生发展过程中溶酶体功能障碍往往伴随着多种溶酶体离子通道蛋白的异常调节 (表 1).

2.1.1 V-ATPase 与 AD

大量证据表明, V-ATPase 缺乏与 AD 的发病直接相关. V-ATPase 的活性受到多种因素的调节. 早老蛋白 1 (presenilin-1, PS1) 是 V-ATPase V0a1 亚基的特异性配体, 是维持其稳定性、N-糖基化和靶向溶酶体所必需的. 在早发性 AD 中, PS1 突变导致溶酶体酸化和蛋白质降解障碍^[41]. PS1 突变的细胞表现出 V0a1 成熟缺陷和溶酶体 pH 值升高. PS1 缺失细胞中溶酶体的 V0a1 亚基水平比正常降低了 70%, V-ATPase 活性及其质子泵功能下降, 溶酶体 pH 值升高, 表现出溶酶体蛋白水解损伤和 AD 样自噬泡. APP / PS1 突变小鼠大脑中 V0a1 或 V1B2 亚基的总含量没有变化, 而在溶酶体定位的 V0a1 含量下降, 表明该亚基定位到溶酶体上的缺陷^[42]. 用溶酶体靶向的酸性纳米颗粒可以逆转这

些细胞的pH值增加,改善溶酶体和自噬功能障碍^[41].在衰老加速的小鼠模型(senescence accelerated mouse/prone-8, SAMP8)中由反义寡核苷酸(antisense oligonucleotide, asON)逆转了PS1水平降低,增加V-ATPase质子泵功能,逆转自噬和胞吞途径的功能障碍^[43].

糖原合成激酶3(glycogen synthase kinase-3, GSK3)也可以调节V-ATPase的活性^[44].GSK-3活性增加抑制溶酶体酸化.在携带5个家族性突变的AD转基因小鼠模型(transgenic mice with five familial Alzheimer's disease, 5×FAD)中,抑制GSK3可以逆转V0a1亚基成熟缺陷,改善AD模型中溶酶体酸化和组织蛋白酶成熟障碍,逆转AD小鼠学习记忆损伤^[44].

胆固醇也可能影响V-ATPase的功能,溶酶体中胆固醇水平的升高减少溶酶体质子的进入,添加外源性含载脂蛋白B(apolipoprotein-B, ApoB)的LDL胆固醇会增加培养神经元中溶酶体pH^[45].影响膜组成的因素,例如脂质筏(lipid rafts)和鞘脂(sphingolipids)也可能影响V-ATPase的功能和溶酶体酸化^[46].因为V-ATPase的V0组件位于溶酶体膜内,并且必须旋转以将质子转运到溶酶体腔中,因此溶酶体膜脂质组成变化可能会影响V0旋转的能力.载脂蛋白E等位基因4(apolipoprotein-Eε4, ApoEε4)能够携带胆固醇进入神经元,是晚期AD中最危险的遗传因素^[47].ApoEε4可加速rab5蛋白(小分子GTP结合蛋白家族成员)介导的内吞作用,增加了内吞物向溶酶体的递送,影响溶酶体酸化,降低蛋白质水解能力.在AD小鼠模型中,APOEε4使溶酶体体积扩大,Aβ与溶酶体的共定位增加,并导致学习和记忆障碍^[47].

此外V-ATPase还受到AD的风险因素衰老和氧化应激的影响.伴随年龄增长,溶酶体功能受到损害,自噬率逐渐下降,自噬体中部分降解的蛋白质和脂质氧化修饰,通过与溶酶体中铁相互作用产生ROS^[48].慢性氧化应激导致细胞中溶酶体酸化障碍,溶酶体的降解能力下降^[49].V-ATPase是AD和衰老过程中氧化应激的靶标.蛋白质组学筛查显示,AD患者及老年大鼠脑组织中V-ATPase的氧化修饰都显示增加,已知这种氧化修饰会破坏F型线粒体ATPase(与V-ATPase高度同源)的酶功能^[50].脂褐素(lipofuscin)在溶酶体积累可作为溶酶体功能障碍的指标,其随年龄增长而增多.脂褐素的堆积进一步的抑制V-ATPase活性,通过该

正反馈导致其他毒性蛋白质积聚和溶酶体功能下降^[50].

2.1.2 TRP通道和AD

如前所述,介导溶酶体功能改变参与神经退行性疾病发生发展的TRP通道主要是TRPML1和TRPM2.TRPML1对溶酶体系统稳定起了重要作用.TRPML1参与溶酶体内Ca²⁺的调节.溶酶体pH值对于维持溶酶体Ca²⁺稳态必不可少^[41].TRPML1过表达会导致其通道构象发生改变,在较低的pH范围内活性较低,并随着pH值的升高其活性逐渐增加^[51].抑制V-ATPase,胞质Ca²⁺的大量增加,提示pH值升高可以诱导TRPML1活性增加.AD相关基因PS1的突变引起溶酶体的pH值升高后,会进一步激活TRPML1,导致溶酶体Ca²⁺释放到胞质中.PS1缺失细胞中敲低TRPML1活性能够提高溶酶体Ca²⁺水平,并降低胞质Ca²⁺浓度^[41].另外,通过靶向溶酶体的酸性纳米颗粒处理PS1缺失细胞降低溶酶体pH值,可以逆转TRPML1活性增加及胞质Ca²⁺升高^[41].通过抑制TRPML1通道过度激活,可以阻断溶酶体Ca²⁺外流,但其不会逆转溶酶体pH值升高.提示在AD中TRPML1对pH反向调节受到损坏,但其具体机制有待于进一步研究^[41].

除了TRPML1外,非选择性的阳离子通道TRPM2的功能异常也参与AD的病理过程.TRPM2的激活一方面介导细胞外的Ca²⁺内流,另一方面介导溶酶体Zn²⁺释放到胞质,导致胞质和线粒体Zn²⁺积累^[52].在AD小鼠中,Aβ刺激ROS的产生,活化聚腺苷酸二磷酸核糖基聚合酶1(poly(ADPR) polymerase-1, PARP-1),诱导ADPR的产生,从而激活TRPM2通道,导致突触丧失、神经元死亡、小胶质细胞激活、神经炎症以及神经血管功能障碍^[17, 53].敲除TRPM2可缓解老年小鼠突触缺陷,并改善年龄依赖性的空间记忆障碍^[17, 53].

2.1.3 TPC通道与AD

越来越多的证据表明,TPC2通道在PS1缺陷细胞中处于非激活状态^[41].溶酶体TPC通道是NAADP依赖性的Ca²⁺通道,并且对溶酶体pH敏感.研究表明,在野生型细胞中,NAADP水平升高会引起NAADP和TPC2之间的解离速率增加,从而激活TPC2通道介导溶酶体Ca²⁺释放.而在PS1缺陷细胞中,溶酶体pH升高,导致TPC2无法从NAADP解离,NAADP水平升高不会引起溶酶体Ca²⁺的释放^[41].

2.1.4 CIC-7通道与AD

溶酶体的离子通道CIC-7异常调节是引起AD发生发展的重要原因. 在AD中, 由于其运输缺陷导致CIC-7不能定位于溶酶体^[54]. 研究表明, 向溶酶体中递送CIC-7会触发溶酶体酸化并增强AD中的纤维状 β 淀粉样蛋白(fibrillar amyloid A β , fA β)降解, 改善AD患者的学习记忆能力^[54]. CIC-7向溶酶体的运输中断会导致溶酶体酸化受损, fA β 清除率降低, 导致疾病发生与发展. CIC-7的溶酶体定位依赖Ostm1, 敲低Ostm1蛋白表达阻碍了CIC-7向溶酶体运输和fA β 降解. 过表达Ostm1促进CIC-7/Ostm1复合物的形成, 显著增加CIC-7在溶酶体的定位, 促进溶酶体的酸化和fA β 降解^[54]. 巨噬细胞集落刺激因子(macrophage colony-stimulating factor, MCSF)处理可增加CIC-7和Ostm1的表达以及Ostm1/CIC-7复合物形成, 促进斑块清除, 改善APPswe/PS1小鼠认知功能缺陷^[54].

2.1.5 Zn²⁺转运蛋白与AD

越来越多的证据表明, 在AD中Zn²⁺稳态被破坏, Zn²⁺在胞质中水平升高, 而在溶酶体内浓度降低^[8]. AD患者海马、皮质和杏仁核等脑区Zn²⁺含量显著增加. AD患者大脑老年斑同样发现Zn²⁺的聚集. Zn²⁺水平的升高伴随着A β 水平升高^[55]. AD的特征性改变在于过多的APP被 β -分泌酶和 γ -分泌酶切割导致A β 积累. Zn²⁺可在低至0.8 μ mol/L (范围是0.8 μ mol/L ~ 8 μ mol/L) 的浓度下诱导A β 聚集^[30]. Zn²⁺与APP结合时, 会抑制 α 分泌酶切割, 促进 β 分泌酶切割, 从而导致A β 过度产生. 降低胞质中Zn²⁺显著抑制A β 对培养细胞的毒性作用^[8]. 在体研究同样表明, Zn²⁺螯合剂显著减少A β 沉积小鼠中老年斑的沉积, 并改善了AD小鼠认知功能障碍^[30].

Zn²⁺稳态的调节依赖Zn²⁺转运蛋白. 在AD中, 随着年龄的增加, 溶酶体膜上锌转运蛋白ZNT2和ZNT4蛋白水平显著下降^[56-57]. ZNT2和ZNT4蛋白能够运输Zn²⁺进入溶酶体, ZNT2和ZNT4的下调可能是AD晚期胞质中Zn²⁺浓度增加原因^[8]. 溶酶体内Zn²⁺水平降低, 会进一步导致溶酶体pH值升高和溶酶体降解作用下降^[8].

2.2 帕金森病中的溶酶体离子通道蛋白调节异常

PD是第二大最常见的神经退行性疾病, PD典型的临床表现为运动障碍、静息性震颤、运动迟缓、僵硬和平衡不佳. 其病理特征是 α 突触核蛋白

(α -synuclein, α -syn) 聚集, 黑质致密部中的多巴胺能神经元丢失, 多巴胺能信号传导受损^[58]. 研究发现, 自噬-溶酶体系统的失调是导致PD发生的重要因素, 溶酶体的功能缺陷导致 α -Syn在大脑多巴胺能神经元和皮质神经元中的聚集^[59]. 多种溶酶体离子通道的异常调节参与PD的病理过程(表1).

2.2.1 V-ATPase与PD

ATP13A2/PARK9对于V-ATPase的生物合成至关重要. ATP13A2基因缺失会导致V-ATPase功能异常并损害溶酶体酸化^[59]. ATP13A2突变是PD发病的危险因素, ATP13A2中的纯合或杂合突变会引起少年发作性帕金森病Kufor-Rakeb综合征(Kufor-Rakeb syndrome, KRS), ATP13A2错义突变导致散发性PD的产生. 从PD患者的成纤维细胞中观察到, 溶酶体pH值增加往往伴随着ATP13A2的突变^[59]. ATP13A2突变或缺乏导致溶酶体酸化受损和溶酶体蛋白水解作用降低, ATP13A2缺失的动物模型大脑中 α -syn聚集增加^[60]. ATP13A2突变或缺乏的动物模型表现出溶酶体异常、泛素化蛋白积聚、轴突运输受损、脑萎缩、运动缺陷和认知能力下降^[61]. 在散发的PD脑中, 多巴胺能黑质神经元中的ATP13A2蛋白水平降低, 并且在路易小体(Lewy body)包裹体的核心中发现ATP13A2, 这表明路易小体形成可能起源于溶酶体或未消化的自噬体^[62]. 在散发性PD患者的大脑中, 存活的多巴胺能神经元中ATP13A2的mRNA显著上调, ATP13A2的表达增加, 可能是对溶酶体功能障碍的一种代偿^[63]. 除了编码V-ATPase的基因突变会引起PD外, 影响V-ATPase修饰的酶的突变同样参与PD的病理过程, 富含亮氨酸重复序列激酶2(leucine-rich repeat kinase2, LRRK2)突变导致V-ATPase亚基V1A和V1B亚基的蛋白质氧化和脂质过氧化增加, LRRK2突变导致溶酶体pH降低和组织蛋白酶功能受损^[64].

2.2.2 TPC2通道与PD

TPC2功能的异常与帕金森病的发病机制有着十分密切的联系. TPC2参与自噬体与溶酶体的融合, 溶酶体与内体或自噬体的融合对于细胞中胞吞作用和自噬至关重要. TPC2的过表达降低溶酶体的pH值, 抑制自噬体-溶酶体融合^[65]. TPC2参与LRRK2缺陷导致自噬通量的紊乱^[66]. 在LRRK2突变的PD患者中观察到异常的溶酶体形态. LRRK2突变时, TPC2更容易被NAADP激活, 导致溶酶

体 Ca^{2+} 向胞质释放, 使用拮抗剂抑制 TPC2 或 NAADP 可以逆转 LRRK2 突变导致的溶酶体功能缺陷^[67]. 这些研究表明, 溶酶体形态破坏以及功能缺陷可能是由于 Ca^{2+} 信号传导失调所致. PI(3,5)P2 是 TPC 的内源性激活剂, 同时 TPC 激活依赖 Rab7 蛋白 (小分子 GTP 结合蛋白家族成员) 的活性^[65]. 通过对 TPC 的化学或分子抑制、调节 PI(3,5)P2 信号传导、抑制 Rab7 蛋白均逆转了溶酶体的内在形态缺陷, 对 TPC 及其信号通路的抑制可能是 PD 治疗潜在的靶点^[65].

2.2.3 TMEM175与PD

通过 PD 全基因组关联研究 (genome-wide association study, GWAS), 发现 4 号染色体上 TMEM175 表达缺陷是 PD 发作的重要危险因素^[68]. 通过多个 shRNA 敲除位于 GWAS 峰下的每个基因后, 只有 TMEM175 被发现持续影响磷酸化 α 突触核蛋白 (p- α -syn) 的积累, 并且在鼠原代神经元中过表达 TMEM175 蛋白降低了 p- α -syn 水平^[69]. 最近 Jinn 等^[6] 的一项研究表明, TMEM175 缺乏会导致溶酶体 pH 值不稳定、溶酶体催化活性降低、溶酶体酶 GBA 活性降低、溶酶体对自噬体清除能力受损、 α -Syn 聚集增多. 其中对自噬线粒体的清除障碍会导致线粒体呼吸作用降低和 ATP 生成减少.

2.2.4 Zn^{2+} 转运蛋白与PD

ATP13A2/PARK9 在调节 Zn^{2+} 稳态和溶酶体功能中的具有非常重要的作用. ATP13A2 促进溶酶体

中 Zn^{2+} 向胞质的转运, 并且 ATP13A2 的表达受胞质中 Zn^{2+} 浓度高低的调节^[35].

在散发性 PD 患者中, ATP13A2 的 mRNA 水平较低^[70]. ATP13A2 缺陷导致溶酶体的 Zn^{2+} 存储能力降低以及胞质中 Zn^{2+} 浓度增加. 胞质中 Zn^{2+} 增加会进一步导致线粒体中 Zn^{2+} 增加、线粒体功能障碍、ROS 异常产生和 ATP 合成减少^[71]. 在 ATP13A2 缺失神经元中, 溶酶体 Zn^{2+} 浓度降低、溶酶体酶活性下降, 从而导致 α -Syn 的积聚^[70]. 酸性鞘磷脂酶原 (propeptide of acid sphingomyelinase, pro-aSMase) 向溶酶体酸性鞘磷脂酶 (lysosomal acid sphingomyelinase, L-aSMase) 的成熟需要 Zn^{2+} . 有研究报道, ATP13A2 缺陷型细胞中溶酶体 Zn^{2+} 的减少导致 L-aSMase 的活性降低^[72]. ATP13A2 缺陷型细胞中溶酶体 Zn^{2+} 缺乏可能抑制 L-aSMase 的成熟. L-aSMase 缺陷型小鼠表现出严重的溶酶体功能障碍, 这些结果表明溶酶体 Zn^{2+} 的缺乏参与 ATP13A2 介导的溶酶体功能障碍^[73]. ATP13A2 缺失的原代神经元中除了单体 α -Syn 增加外, 硝化/氧化的寡聚型 α -Syn 同样增加^[74]. 先前的研究表明, 线粒体驱动的氧化应激可以诱导 α -Syn 寡聚化, 并且 α -Syn 的聚集通过减弱氧化应激而得以减少^[74]. 溶酶体降解能力的下降以及氧化应激的增加共同介导 ATP13A2 缺陷导致的 α -Syn 增加. 并且 α -Syn 聚集会造成溶酶体酶 GBA 的运输障碍, 导致溶酶体功能的进一步下降^[75].

Table1 The role of lysosomal ion channels and their defects in neurodegenerative diseases

表1 溶酶体离子通道蛋白功能及其在神经退行性疾病中的调节异常

离子通道蛋白	溶酶体离子通道蛋白作用与功能	溶酶体离子通道蛋白在神经退行性疾病中的异常调节	参考文献
V-ATPase	调节 H^{+} 离子进入溶酶体, 促进溶酶体酸化	AD 及 PD 中表达减少, 溶酶体酸化作用失调	[10,41,59]
TRPML1	促进 Ca^{2+} 、 Na^{+} 、 Fe^{2+} 、 Zn^{2+} 等离子从溶酶体中释放到细胞质, 调节溶酶体膜运输	AD 中异常激活, 胞质 Ca^{2+} 大量增加, 导致溶酶体功能障碍	[4,41]
TRPM2	促进 Ca^{2+} 、 Na^{+} 、 Zn^{2+} 等离子从溶酶体中释放到细胞质, 激活时引起炎症反应和细胞死亡	AD 中异常激活, 引起炎症反应, 氧化应激, 线粒体功能障碍, 破坏突触可塑性, 导致神经元死亡	[17,53]
TPC2	促进 Na^{+} 、 Ca^{2+} 离子从溶酶体中释放到细胞质, 参与自噬体与溶酶体的融合	AD 中失活 PD 中异常激活, 导致溶酶体运输缺陷	[4,41,65]
TMEM175	促进 K^{+} 离子从细胞质进入溶酶体, 调节溶酶体降解功能	PD 中表达减少, 导致溶酶体 pH 不稳定, 溶酶体酶的催化活性降低, 溶酶体自噬体清除能力受损以及线粒体功能障碍	[6,69]
CIC-7	促进 Cl^{-} 离子从细胞质进入溶酶体, 调节溶酶体酸化及蛋白降解功能	AD 中表达减少, 溶酶体酸化作用降低, 降解功能下降	[4,54]
ZnT2/ZnT4	促进 Zn^{2+} 离子从细胞质进入溶酶体, 调节溶酶体酸化作用	AD 中表达减少, 溶酶体 pH 升高和溶酶体降解作用下降	[30,56-57]
ATP13A2 /PARK9	促进 Zn^{2+} 离子从细胞质进入溶酶体, 调节溶酶体酸化作用	PD 中表达减少, 溶酶体酶活性及其降解能力下降	[35,70]

3 展 望

溶酶体离子通道蛋白通过调控溶酶体内离子稳态、溶酶体膜电压以及溶酶体的酸度, 调节溶酶体分裂融合和溶酶体降解功能. 离子通道蛋白的结构或功能缺陷会导致溶酶体功能障碍以及异常蛋白的聚集, 导致AD和PD等神经退行性疾病的发生.

调节溶酶体离子通道蛋白可以改善溶酶体的功能, 促进异常聚集蛋白的清除. 选择性调节溶酶体上的离子通道蛋白是神经退行性疾病治疗的重要潜在途径. 然而如何透过细胞膜, 并在溶酶体上特异性调节这些离子通道蛋白值得进一步研究. 最近的研究表明, 利用酸性纳米颗粒可以逆转AD细胞和动物模型中溶酶体pH值的升高, 诱导组织蛋白酶活性增加和促进溶酶体蛋白水解^[76]. 纳米材料的应用可能是特异调节溶酶体功能的一种方法^[41]. 随着研究的进展, 将分子(例如化学和遗传编码的离子传感器)靶向特定细胞器也将是特异调节溶酶体通道的潜在方法. 在过去的几十年中, 离子通道结构和功能领域的进步为发现神经退行性疾病的新治疗靶标铺平了道路. 尽管这些渠道前景广阔, 但还是需要广泛研究以更好地了解溶酶体离子通道蛋白的基本功能及其与神经退行性疾病发生发展的关系.

参 考 文 献

- [1] Luzio J P, Pryor P R, Bright N A. Lysosomes: fusion and function. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2007, **8**(8): 622-632
- [2] Huotari J, Helenius A. Endosome maturation. *The EMBO Journal*, 2011, **30**(17): 3481-3500
- [3] Gatica D, Lahiri V, Klionsky D J. Cargo recognition and degradation by selective autophagy. *Nature Cell Biology*, 2018, **20**(3): 233-242
- [4] Xu H, Ren D. Lysosomal physiology. *Annual Review of Physiology*, 2015, **77**(2015): 57-80
- [5] Carmona-Gutierrez D, Hughes A L, Madeo F, *et al.* The crucial impact of lysosomes in aging and longevity. *Ageing Research Reviews*, 2016, **32**(2016): 2-12
- [6] Jinn S, Drolet R E, Cramer P E, *et al.* TMEM175 deficiency impairs lysosomal and mitochondrial function and increases alpha-synuclein aggregation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2017, **114**(9): 2389-2394
- [7] Li P, Gu M, Xu H. Lysosomal ion channels as decoders of cellular signals. *Trends in Biochemical Sciences*, 2019, **44**(2): 110-124
- [8] Koh J Y, Kim H N, Hwang J J, *et al.* Lysosomal dysfunction in proteinopathic neurodegenerative disorders: possible therapeutic roles of cAMP and zinc. *Molecular Brain*, 2019, **12**(1): 18
- [9] Settembre C, Fraldi A, Medina D L, *et al.* Signals from the lysosome: a control centre for cellular clearance and energy metabolism. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2013, **14**(5): 283-296
- [10] Rawson S, Phillips C, Huss M, *et al.* Structure of the vacuolar H⁺-ATPase rotary motor reveals new mechanistic insights. *Structure (London, England : 1993)*, 2015, **23**(3): 461-471
- [11] Di Paola S, Scotto-Rosato A, Medina D L. TRPML1: The Ca²⁺ retaker of the lysosome. *Cell Calcium*, 2018, **69**(2018): 112-121
- [12] Patel S. Deviant lysosomal Ca²⁺ signalling in neurodegeneration. An introduction. *Messenger (Los Angeles, Calif : Print)*, 2016, **5**(1-2): 24-29
- [13] Li R J, Xu J, Fu C, *et al.* Regulation of mTORC1 by lysosomal calcium and calmodulin. *eLife*, 2016, **5**: pii e19360
- [14] Medina D L, Di Paola S, Peluso I, *et al.* Lysosomal calcium signalling regulates autophagy through calcineurin and TFEB. *Nature Cell Biology*, 2015, **17**(3): 288-299
- [15] Wang W, Gao Q, Yang M, *et al.* Up-regulation of lysosomal TRPML1 channels is essential for lysosomal adaptation to nutrient starvation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2015, **112**(11): E1373-1381
- [16] Li M, Zhang W K, Benveniste N M, *et al.* Structural basis of dual Ca²⁺/pH regulation of the endolysosomal TRPML1 channel. *Nature Structural & Molecular Biology*, 2017, **24**(3): 205-213
- [17] Sita G, Hrelia P, Graziosi A, *et al.* TRPM2 in the brain: role in health and disease. *Cells*, 2018, **7**(7): pii E82
- [18] Belrose J C, Jackson M F. TRPM2: a candidate therapeutic target for treating neurological diseases. *Acta Pharmacologica Sinica*, 2018, **39**(5): 722-732
- [19] Calcra P J, Ruas M, Pan Z, *et al.* NAADP mobilizes calcium from acidic organelles through two-pore channels. *Nature*, 2009, **459**(7246): 596-600
- [20] Wang X, Zhang X, Dong X P, *et al.* TPC proteins are phosphoinositide-activated sodium-selective ion channels in endosomes and lysosomes. *Cell*, 2012, **151**(2): 372-383
- [21] Cang C, Zhou Y, Navarro B, *et al.* mTOR regulates lysosomal ATP-sensitive two-pore Na⁺ channels to adapt to metabolic state. *Cell*, 2013, **152**(4): 778-790
- [22] Ruas M, Galione A, Parrington J. Two-pore channels: lessons from mutant mouse models. *Messenger (Los Angeles, Calif : Print)*, 2015, **4**(1): 4-22
- [23] Rusch N J. BK channels in cardiovascular disease: a complex story of channel dysregulation. *American Journal of Physiology Heart and Circulatory Physiology*, 2009, **297**(5): H1580-1582
- [24] Wu R S, Marx S O. The BK potassium channel in the vascular smooth muscle and kidney: alpha- and beta-subunits. *Kidney International*, 2010, **78**(10): 963-974
- [25] Zhong X Z, Sun X, Cao Q, *et al.* BK channel agonist represents a potential therapeutic approach for lysosomal storage diseases. *Sci Rep*, 2016, **6**(2016): 33684
- [26] Cang C, Aranda K, Seo Y J, *et al.* TMEM175 is an organelle K⁺ channel regulating lysosomal function. *Cell*, 2015, **162**(5): 1101-1112

- [27] Lee C, Guo J, Zeng W, *et al.* The lysosomal potassium channel TMEM175 adopts a novel tetrameric architecture. *Nature*, 2017, **547**(7664): 472-475
- [28] Leisle L, Ludwig C F, Wagner F A, *et al.* CIC-7 is a slowly voltage-gated 2Cl(-)/1H(+)-exchanger and requires Ostm1 for transport activity. *The EMBO Journal*, 2011, **30**(11): 2140-2152
- [29] Graves A R, Curran P K, Smith C L, *et al.* The Cl-/H+ antiporter CIC-7 is the primary chloride permeation pathway in lysosomes. *Nature*, 2008, **453**(7196): 788-792
- [30] Lyubartseva G, Lovell M A. A potential role for zinc alterations in the pathogenesis of Alzheimer's disease. *BioFactors* (Oxford, England), 2012, **38**(2): 98-106
- [31] Fukada T, Yamasaki S, Nishida K, *et al.* Zinc homeostasis and signaling in health and diseases: Zinc signaling. *Journal of Biological Inorganic Chemistry*, 2011, **16**(7): 1123-1134
- [32] Sensi S L, Paoletti P, Bush A I, *et al.* Zinc in the physiology and pathology of the CNS. *Nature Reviews Neuroscience*, 2009, **10**(11): 780-791
- [33] Kambe T, Tsuji T, Hashimoto A, *et al.* The physiological, biochemical, and molecular roles of zinc transporters in zinc homeostasis and metabolism. *Physiological Reviews*, 2015, **95**(3): 749-784
- [34] Lee S, Rivera O C, Kelleher S L. Zinc transporter 2 interacts with vacuolar ATPase and is required for polarization, vesicle acidification, and secretion in mammary epithelial cells. *J Biol Chem*, 2017, **292**(52): 21598-21613
- [35] Tsunemi T, Krainc D. Zn(2+) dyshomeostasis caused by loss of ATP13A2/PARK9 leads to lysosomal dysfunction and alpha-synuclein accumulation. *Human Molecular Genetics*, 2014, **23**(11): 2791-2801
- [36] Liu M, Clarke C J, Salama M F, *et al.* Co-ordinated activation of classical and novel PKC isoforms is required for PMA-induced mTORC1 activation. *Plos One*, 2017, **12**(9): e0184818
- [37] Sevigny J, Chiao P, Bussiere T, *et al.* The antibody aducanumab reduces abeta plaques in Alzheimer's disease. *Nature*, 2016, **537**(7618): 50-56
- [38] Bloom G S. Amyloid-beta and tau: the trigger and bullet in Alzheimer disease pathogenesis. *JAMA Neurology*, 2014, **71**(4): 505-508
- [39] Whyte L S, Lau A A, Hemsley K M, *et al.* Endo-lysosomal and autophagic dysfunction: a driving factor in Alzheimer's disease?. *J Neurochem*, 2017, **140**(5): 703-717
- [40] Kaur G, Pawlik M, Gandy S E, *et al.* Lysosomal dysfunction in the brain of a mouse model with intraneuronal accumulation of carboxyl terminal fragments of the amyloid precursor protein. *Molecular Psychiatry*, 2017, **22**(7): 981-989
- [41] Lee J H, Mcbrayer M K, Wolfe D M, *et al.* Presenilin 1 maintains lysosomal Ca(2+) homeostasis via TRPML1 by regulating vATPase-mediated lysosome acidification. *Cell Reports*, 2015, **12**(9): 1430-1444
- [42] Wolfe D M, Lee J H, Kumar A, *et al.* Autophagy failure in Alzheimer's disease and the role of defective lysosomal acidification. *The European Journal of Neuroscience*, 2013, **37**(12): 1949-1961
- [43] Fiorini A, Sultana R, Forster S, *et al.* Antisense directed against PS-1 gene decreases brain oxidative markers in aged senescence accelerated mice (SAMP8) and reverses learning and memory impairment: a proteomics study. *Free Radical Biology & Medicine*, 2013, **65**(2013): 1-14
- [44] Avrahami L, Farfara D, Shaham-Kol M, *et al.* Inhibition of glycogen synthase kinase-3 ameliorates beta-amyloid pathology and restores lysosomal acidification and mammalian target of rapamycin activity in the Alzheimer disease mouse model: *in vivo* and *in vitro* studies. *J Biol Chem*, 2013, **288**(2): 1295-1306
- [45] Hui L, Chen X, Geiger J D. Endolysosome involvement in LDL cholesterol-induced Alzheimer's disease-like pathology in primary cultured neurons. *Life Sciences*, 2012, **91**(23-24): 1159-1168
- [46] Finnigan G C, Ryan M, Stevens T H. A genome-wide enhancer screen implicates sphingolipid composition in vacuolar ATPase function in *Saccharomyces cerevisiae*. *Genetics*, 2011, **187**(3): 771-783
- [47] Chen X, Hui L, Geiger J D. Role of LDL cholesterol and endolysosomes in amyloidogenesis and Alzheimer's disease. *Journal of Neurology & Neurophysiology*, 2014, **5**(5): pii236
- [48] Kurz T, Eaton J W, Brunk U T. Redox activity within the lysosomal compartment: implications for aging and apoptosis. *Antioxidants & Redox Signaling*, 2010, **13**(4): 511-523
- [49] Porter K, Nallathambi J, Lin Y, *et al.* Lysosomal basification and decreased autophagic flux in oxidatively stressed trabecular meshwork cells: implications for glaucoma pathogenesis. *Autophagy*, 2013, **9**(4): 581-594
- [50] Colacurcio D J, Pensalfini A, Jiang Y, *et al.* Dysfunction of autophagy and endosomal-lysosomal pathways: roles in pathogenesis of down syndrome and Alzheimer's disease. *Free Radical Biology & Medicine*, 2018, **114**(2018): 40-51
- [51] Dong X P, Wang X, Shen D, *et al.* Activating mutations of the TRPML1 channel revealed by proline-scanning mutagenesis. *J Biol Chem*, 2009, **284**(46): 32040-32052
- [52] Abuarab N, Munsey T S, Jiang L H, *et al.* High glucose-induced ROS activates TRPM2 to trigger lysosomal membrane permeabilization and Zn(2+)-mediated mitochondrial fission. *Science Signaling*, 2017, **10**(490): pii201704161
- [53] Ostapchenko V G, Chen M, Guzman M S, *et al.* The transient receptor potential melastatin 2 (TRPM2) channel contributes to beta-amyloid oligomer-related neurotoxicity and memory impairment. *J Neurosci*, 2015, **35**(45): 15157-15169
- [54] Majumdar A, Capetillo-Zarate E, Cruz D, *et al.* Degradation of Alzheimer's amyloid fibrils by microglia requires delivery of CIC-7 to lysosomes. *Molecular Biology of The Cell*, 2011, **22**(10): 1664-1676
- [55] Religa D, Strozzyk D, Cherny R A, *et al.* Elevated cortical zinc in Alzheimer disease. *Neurology*, 2006, **67**(1): 69-75
- [56] Smith J L, Xiong S, Markesbery W R, *et al.* Altered expression of

- zinc transporters-4 and -6 in mild cognitive impairment, early and late Alzheimer's disease brain. *Neuroscience*, 2006, **140**(3): 879-888
- [57] Beyer N, Coulson D T, Heggarty S, *et al.* Zinc transporter mRNA levels in Alzheimer's disease postmortem brain. *J Alzheimers Dis*, 2012, **29**(4): 863-873
- [58] Bieri G, Brahic M, Bousset L, *et al.* LRRK2 modifies alpha-syn pathology and spread in mouse models and human neurons. *Acta Neuropathologica*, 2019, **137**(6): 961-980
- [59] Bourdenx M, Daniel J, Genin E, *et al.* Nanoparticles restore lysosomal acidification defects: Implications for Parkinson and other lysosomal-related diseases. *Autophagy*, 2016, **12**(3): 472-483
- [60] Schultheis P J, Fleming S M, Clippinger A K, *et al.* Atp13a2-deficient mice exhibit neuronal ceroid lipofuscinosis, limited alpha-synuclein accumulation and age-dependent sensorimotor deficits. *Human Molecular Genetics*, 2013, **22**(10): 2067-2082
- [61] Kett L R, Stiller B, Bernath M M, *et al.* alpha-Synuclein-independent histopathological and motor deficits in mice lacking the endolysosomal Parkinsonism protein Atp13a2. *J Neurosci*, 2015, **35**(14): 5724-5742
- [62] Dehay B, Ramirez A, Martinez-Vicente M, *et al.* Loss of P-type ATPase ATP13A2/PARK9 function induces general lysosomal deficiency and leads to Parkinson disease neurodegeneration. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, **109**(24): 9611-9616
- [63] Ramirez A, Heimbach A, Grundemann J, *et al.* Hereditary parkinsonism with dementia is caused by mutations in ATP13A2, encoding a lysosomal type 5 P-type ATPase. *Nature Genetics*, 2006, **38**(10): 1184-1191
- [64] Di Domenico F, Sultana R, Ferree A, *et al.* Redox proteomics analyses of the influence of co-expression of wild-type or mutated LRRK2 and Tau on *C. elegans* protein expression and oxidative modification: relevance to Parkinson disease. *Antioxidants & Redox Signaling*, 2012, **17**(11): 1490-1506
- [65] Lin-Moshier Y, Keebler M V, Hooper R, *et al.* The Two-pore channel (TPC) interactome unmasks isoform-specific roles for TPCs in endolysosomal morphology and cell pigmentation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, **111**(36): 13087-13092
- [66] Rivero-Rios P, Madero-Perez J, Fernandez B, *et al.* Targeting the autophagy/lysosomal degradation pathway in Parkinson's disease. *Current Neuropharmacology*, 2016, **14**(3): 238-249
- [67] Hockey L N, Kilpatrick B S, Eden E R, *et al.* Dysregulation of lysosomal morphology by pathogenic LRRK2 is corrected by TPC2 inhibition. *Journal of Cell Science*, 2015, **128**(2): 232-238
- [68] Nalls M A, Pankratz N, Lill C M, *et al.* Large-scale meta-analysis of genome-wide association data identifies six new risk loci for Parkinson's disease. *Nature Genetics*, 2014, **46**(9): 989-993
- [69] Jinn S, Blauwendraat C, Toolan D, *et al.* Functionalization of the TMEM175 p.M393T variant as a risk factor for Parkinson disease. *Human Molecular Genetics*, 2019, **28**(19): 3244-3254
- [70] Park J S, Sue C M. Hereditary parkinsonism-associated genetic variations in PARK9 locus lead to functional impairment of ATPase type 13A2. *Current Protein & Peptide Science*, 2017, **18**(7): 725-732
- [71] Grunewald A, Arns B, Seibler P, *et al.* ATP13A2 mutations impair mitochondrial function in fibroblasts from patients with Kufor-Rakeb syndrome. *Neurobiology of Aging*, 2012, **33**(8): 1843.e1841-1847
- [72] Jenkins R W, Idkowiak-Baldys J, Simbari F, *et al.* A novel mechanism of lysosomal acid sphingomyelinase maturation: requirement for carboxyl-terminal proteolytic processing. *J Biol Chem*, 2011, **286**(5): 3777-3788
- [73] Ledesma M D, Prinetti A, Sonnino S, *et al.* Brain pathology in Niemann Pick disease type A: insights from the acid sphingomyelinase knockout mice. *J Neurochem*, 2011, **116**(5): 779-788
- [74] Li W, Jiang H, Song N, *et al.* Oxidative stress partially contributes to iron-induced alpha-synuclein aggregation in SK-N-SH cells. *Neurotoxicity Research*, 2011, **19**(3): 435-442
- [75] Freeman D, Cedillos R, Choyke S, *et al.* Alpha-synuclein induces lysosomal rupture and cathepsin dependent reactive oxygen species following endocytosis. *Plos One*, 2013, **8**(4): e62143
- [76] Yang D S, Stavrides P, Saito M, *et al.* Defective macroautophagic turnover of brain lipids in the TgCRND8 Alzheimer mouse model: prevention by correcting lysosomal proteolytic deficits. *Brain*, 2014, **137**(Pt 12): 3300-3318

The Role and Underlying Mechanism of Lysosomal Ion Channels in The Pathogenesis of Neurodegenerative Diseases^{*}

LING Yun-Xiang¹⁾, BAO Xiao-Ming²⁾, BAO Rong-Rong¹⁾, WANG Jia¹⁾, XU Shu-Jun^{1)**}

¹⁾School of Medicine, Ningbo University, Zhejiang Provincial Key Laboratory of Pathophysiology, Ningbo 315211, China;

²⁾HuaMei Hospital, University of Chinese Academy of Sciences (Ningbo No.2 Hospital), Ningbo 315010, China)

Abstract Lysosomal dysfunction caused by abnormal lysosomal ion channels is an important factor leading to neurodegenerative diseases such as Alzheimer's disease (AD) and Parkinson's disease (PD). Lysosomes ion channels regulate lysosomal ion homeostasis, lysosomal membrane voltage, and lysosomal acidity. Structural or functional defects of lysosomal ion channels will cause lysosomal degradation dysfunction, leading to the occurrence and development of neurodegenerative diseases. In this review, The role and mechanisms of various lysosome ion channels in regulating lysosomal function were summarized. The underlying mechanism of the deficits of the ion channels in neurodegenerative diseases were also introduced. Regulating ion channels to improve lysosomal function and promote the clearance of abnormal aggregated proteins are underlying targets for the treatments of neurodegenerative diseases.

Key words ion channel, Alzheimer's disease, Parkinson's disease

DOI: 10.16476/j.pibb.2019.0298

* This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (81771166 and U1503223), Natural Science Foundation of Zhejiang Province (LY20H090004), Natural Science Foundation of Ningbo (2019A610288), Ningbo Municipal Innovation Team of Life Science And Health (2015C110026) and the K.C.Wong Magna Fund in Ningbo University.

** Corresponding author.

Tel: 86-574-87609594, Fax: 86-574-87608638, E-mail: xushujun@nbu.edu.cn

Received: December 2, 2019 Accepted: February 27, 2020