

转录因子 EB 和自噬在神经退行性疾病发病机制中的作用 *

董双双 王翔宇 明敬峰 孙振杰 李秀明 王 娜 张永进 蔡增林 **

(徐州医科大学附属连云港医院, 连云港 222000)

摘要 自噬广泛存在于真核细胞中, 与机体生理和病理过程的发生发展密切联系。自噬主要参与长寿蛋白质的降解, 以清除受损或多余的蛋白质和细胞器, 是细胞自我降解的过程之一。自噬通常被分为三类: 大自噬、分子伴侣介导的自噬和小自噬。自噬溶酶体途径(ALP)功能障碍导致蛋白质聚集, 从而产生异常蛋白质和无效细胞器的积累, 这些特征是阿尔茨海默病(Alzheimer disease, AD)、帕金森病(Parkinson disease, PD)和亨廷顿病等神经退行性疾病(Huntington disease, HD)的标志。自噬的过程受一系列复杂的信号分子的调控, 其中一个主要调节因子是转录因子 EB(TFEB), 是转录因子 MiT 家族的成员之一。研究表明, TFEB 可通过积极调节自噬体形成和自噬体-溶酶体融合参与自噬, 此外它还通过溶酶体胞吐作用提高细胞内的清除作用。因此作为自噬溶酶体生物发生的主要调节因子, TFEB 已被广泛证明激活后可以从病理方面改善这些疾病。我们回顾分析 ALP 和 TFEB 的调节及其对神经退行性疾病的影响, 同时展望 ALP 和 TFEB 在疾病病理中的复杂作用及其治疗意义。

关键词 自噬, 转录因子 EB, 神经退行性疾病

学科分类号 R741

DOI: 10.16476/j.pibb.2017.0190

自噬溶酶体途径(autophagy-lysosomal pathway, ALP)参与长寿命蛋白质的降解, ALP 功能障碍导致蛋白质聚集, 从而产生异常蛋白质和无效细胞器的积累, 这些特征是阿尔茨海默病(Alzheimer disease, AD)、帕金森病(Parkinson disease, PD)和亨廷顿病(Huntington disease, HD)的标志。因此, 近几十年来自噬溶酶体途径是神经变性疾病的研究热点, 最近, 作为自噬溶酶体生物发生的主要调节因子, 转录因子 EB(TFEB)已经成为解决相关疾病病理的关键因素。我们回顾分析 ALP 和 TFEB 的调节及其对神经退行性疾病的影响, 同时展望 ALP 和 TFEB 在疾病病理中的复杂作用及其治疗意义。

1 自噬的类型和机制

基于特定生理作用的过程, 自噬通常被分为三类: 大自噬、分子伴侣介导的自噬和小自噬。尽管三种类型之间存在机制上的差异, 但它们都是由类似的刺激诱导, 例如环境应激、营养剥夺、氧化应

激和感染等, 此外, 最后它们都与溶酶体融合。溶酶体是细胞降解和再循环系统的关键组成部分, 需要正确的功能来维持适当的细胞稳态^[1], 其中 TFEB 作为主要调节剂在溶酶体(和自噬)生物发生中起关键作用^[2]。

自噬不仅是细胞的监护者, 而且也涉及大量人类疾病, 如癌症或神经变性疾病^[3], 也涉及免疫系统防御及骨骼肌重塑^[4]。自噬在消除寄生虫、病毒和细菌等入侵者中起重要作用, 另外还通过主要组织相容性复合体(MHC) II 类分子参与抗原表达^[5]。自噬在败血症中的作用至关重要, 但相关研究非常有限^[6-7]。自噬不足可能是有害的^[8], 因此细胞中的自噬必须严格控制。自噬在不分裂神经元中尤为重

* 中国博士后科学基金第 55 批面上资助(1630), 江苏省卫生厅课题(H201361)和 2013 年度江苏省博士后科研资助计划(1301174C)资助。

** 通讯联系人。

Tel: 18961322001, E-mail: caizengling@163.com

收稿日期: 2017-10-11, 接受日期: 2017-12-26

要, 自噬缺陷小鼠显示其神经元有蛋白质聚集积累导致神经变性的倾向, 由此证明自噬在神经元稳态中起关键作用^[9]. 自噬缺陷与疾病密切相关, 因此自噬溶酶体途径(ALP)在神经退行性疾病中的应用近年来得到了广泛的研究^[4], 特别是迟发性神经变性疾病如 PD、HD 和 AD 等, 这些疾病的特征是脑细胞内蛋白聚集体的累积, 并且通过清除这些聚集体通常能改善症状^[10], 因此, 纠正 ALP 缺陷和增强其活性是有吸引力的治疗措施. 自 2009 年被发现以来, TFEB 作为 ALP 的主要调节剂, 已被广泛证明激活后可以从病理方面改善这些疾病^[11], 包括脊肌萎缩症、溶酶体贮积病(lysosomal storage disease, LSD)等^[12]. TFEB 的广泛适用性及其在连接不同形式自噬中的作用使其成为极具吸引力的治疗靶点.

1.1 大自噬

自噬是降解大分子蛋白质的主要途径, 已经明确在酵母中存在超过 30 种自噬相关基因(ATG), 其中大多数在哺乳动物中具有同源物^[13], 这些基因在自噬的不同阶段, 包括起始、延长、成熟和与溶酶体融合中起作用. 自噬通过形成吞噬体的新月形双层膜结构促发, 自噬体膜可以衍生自多个来源, 包括细胞质膜、线粒体、内质网(ER)或高尔基体^[13]. 在延伸过程中, 双层膜自噬体扩大并利用双泛素样共轭系统来延长前自噬体结构并且产生自噬体标记物 LC3-II, 在形成完整的自噬体结构后, 自噬体可以与其他内含体融合或与溶酶体融合以形成自噬溶酶体, 在自噬溶酶体中, 内容物被溶酶体酶降解^[14].

1.2 选择性自噬

选择性自噬确保细胞中正常细胞器、大分子和蛋白质的周转, 选择性自噬可能在由蛋白质聚集或线粒体损伤引起的应激条件下出现, 分别被命名为聚集体自噬和线粒体自噬^[15].

聚集体自噬是指蛋白质聚集体的特异性降解过程, 许多报告表明聚集蛋白的泛素化标记是聚集体自噬的第一步^[16]. 泛素化底物的识别取决于衔接蛋白(共用相似的结合域), 如 p62/sequestosome (SQSTM1)、NBR1 和 optineurin(OPTN), 通过适配器与 LC3 或自噬体的膜的直接相互作用, 聚集体被选择性地递送至自噬溶酶体通路^[17].

线粒体自噬是指通过自噬途径对损伤的线粒体的选择性降解. 在调节线粒体自噬的几种途径中, PTEN (phosphatase and tensin homolog deleted on

chromosome ten)诱导的激酶(PINK)1- Parkin 通路最具有特征性, PINK1(PTEN induced putative kinase 1)是线粒体丝氨酸 / 苏氨酸激酶, 监测线粒体功能, 损伤的线粒体不能维持足够的膜电位, 诱导 PINK1 保留在线粒体的外膜上, PINK1 然后招募 Parkin (一种 E3 泛素连接酶), 受损的线粒体泛素化后被衔接蛋白选择性识别并被自噬体吞噬^[18]. 线粒体功能障碍极大地促进了神经退行性疾病的发生^[19].

1.3 分子伴侣介导的自噬

分子伴侣介导的自噬(chaperone-mediated autophagy, CMA)是一种多步骤降解过程, 其特征是包含 KFERQ 基序的底物蛋白被热休克同源蛋白 70(the 70 ku heat shock cognate protein, HSC70)识别, 然后, 底物-HSC 复合物与溶酶体膜相关蛋白 2A(lysosome-associated membrane protein type 2A, LAMP-2A)相互作用作为受体蛋白, 底物的结合触发 LAMP-2A 多聚体的组装, 其作为活性转运复合物, 底物在解折叠后通过其进入溶酶体^[20].

1.4 小自噬

小自噬的特征在于细胞质内的待降解物被溶酶体直接吞噬, 虽然目前其具体机制及与疾病的关系仍然不清楚, 但已知小自噬是由类似于大自噬和 CMA 的条件下引发, 例如饥饿、氮剥夺和雷帕霉素治疗, 这种现象表明, 三种类型的自噬可能通过类似的信号传导途径调节, 多个研究也表明大自噬的膜融合系统如 Rab 和 ESCRT I / III, 同样存在于小自噬^[21].

2 ALP 的调节途径

2.1 哺乳动物雷帕霉素靶蛋白途径

哺乳动物自噬研究得最好的调节因子是哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR), 通过 mTOR 有几个明确的自噬调节途径. mTOR(一种丝氨酸 / 苏氨酸激酶)是研究最好的哺乳动物自噬调节剂因子, 是 mTOR 复合物的催化亚基. 基于结构差异, mTOR 复合物分为 mTOR 复合物(mTORC)1 和 mTORC2, mTORC1 由 mTOR、mTOR 调节相关蛋白(raptor)、G 蛋白 β 亚基样蛋白(G β L)、PRAS40 和含 DEP 结构域的 mTOR 交互蛋白(DEPTOR)组成. mTORC2 由 mTOR、雷帕霉素敏感的 mTOR 伴侣蛋白(riCTOR)、G β L、应激激活蛋白激酶交互蛋白(SIN)1 和 PROTOR 组成. mTORC1 响应于若干输入信号, 包括营养物、生长因子和细胞能量状态^[22], 溶酶体

表面是 mTORC1 的激活位点, 它被 Rag GTP 酶结合并激活, 溶酶体上的 VATPase 复合物参与氨基酸感应并以氨基酸依赖性方式与 Rag GTPases 和 Ragulator 相互作用^[23], 氨基酸激活 Rag、Ragulator 介导对接和与 mTORC1 结合后 Rag 的激活^[24], 上述这些成分被称为 LYNUS 机制. 在营养丰富的条件下, mTORC1 磷酸化 ULK1 的 Ser757 位点从而抑制 ULK1 活性和自噬体形成, 相反, 腺苷酸活化蛋白激酶 (adenosine 5'-monophosphate (AMP)-activated protein kinase, AMPK) 在 Ser317 和 Ser777 位点竞争性磷酸化 ULK1 促进 ULK1 活性和自噬. 虽然 mTORC1 是营养和生长因子信号的主要传感器, 自噬也可以通过 mTORC2 通过 mTORC2-Akt-FoxO3 信号通路调节^[25], FoxO3 是一个在饥饿条件下被激活转录因子, 从而促进诱导自噬发生基因的转录^[26]. 在这里, mTORC2 在 Ser473 位点磷酸化 Akt, 并且 Akt 随后在 Thr32 位点磷酸化 FoxO3, 其通过与 14-3-3 蛋白结合诱导 FoxO3 的胞内滞留, 从而抑制自噬. 最近的报道还揭示了 mTORC2 通过溶酶体 Akt 调节 LAMP-2A 易位复合物的组装 / 拆解来抑制 CMA, 表明 mTOR 可调节多个自噬途径^[26].

2.2 转录因子 EB 在 ALP 中的作用

对应于 ALP 中的许多不同步骤以及适应不同生理和病理条件的需要主要调节因子的存在, 其中一个 ALP 主要调节因子是 TFEB, 是转录因子 MiT 家族的成员之一. MiT 家族共有 4 个成员, 其他 3 个为 TFE3、TFEC 和 MITF^[26], 均在脊椎动物中保存, 无脊椎动物 MiT 直向同源物都具有保守的基因区域和 HLH-Zip 结构域^[27], 表明它们以与哺乳动物 MiT 成员相似的方式结合 DNA. 有趣的是, 果蝇 Mitf 与人类 MITF 和 TFEB 同样相关^[27]. TFEB 是与肾癌相关的具有碱性螺旋 - 环 - 螺旋 - 亮氨酸拉链(basic helix-loop-helix-leucine zipper, bHLH-Zip)结构的转录因子^[28], 最近 TFEB 被确定为转录因子, 与启动子基序或 CLEAR 元件结合负责调节溶酶体基因表达^[29], 协同溶酶体表达和调控(CLEAR)网络由涉及自噬、溶酶体生物发生、溶酶体胞吐作用、内吞作用和膜修复的基因组成^[30]. TFEB 被确定为通过积极调节自噬体形成和自噬体 - 溶酶体融合参与自噬^[31], 此外它还通过溶酶体胞吐作用提高细胞内的清除, 这一过程通过溶酶体 Ca^{2+} 通道 MCOLN1 的激活介导, 因此, TFEB 是调节细胞降解途径的关键因子^[30].

2.3 TFEB 的调节

TFEB 是 ALP 的重要调节因子, 其自身调节是自噬调节网络结合的复杂过程和正反馈回路, 关键的是, 细胞在应激条件下通过溶酶体状态从而触发校正所必需的基因转录维持稳定和平衡, 也被称为溶酶体适应, 通过这种溶酶体和细胞核之间的联系, TFEB 调节代谢和细胞清除. 在正常条件下 TFEB 位于细胞质中, 然而应激条件, 如饥饿或溶酶体功能障碍, 导致 TFEB 核易位, 从而促进其靶基因的转录^[29, 31], TFEB 活性和核易位与其磷酸化状态相关^[31], 特别是 Ser142 和 Ser211 在营养丰富的条件下被磷酸化, 并且这些丝氨酸突变为丙氨酸导致 TFEB 的核定位显著增加^[31-32], 最新研究从 Ser122 鉴定出一种新的 MTORC1 依赖性 TFEB 磷酸化位点, 在 Ser211 和 Ser122 两者脱磷酸化后, 可达到有效的 TFEB 核移位^[33]. 已知两种激酶在这些位点磷酸化 TFEB: ERK2 和 mTORC1^[32]. 除了磷酸化, 14-3-3 蛋白家族的成员结合磷酸化 TFEB 以将其隔离在细胞质中^[34], 当 TFEB 位于细胞质时, 它可以位于细胞溶质和溶酶体表面, 在那里它可以与 mTORC1 相互作用^[34]. mTORC1 调节 TFEB 说明, 在那里溶酶体通过溶酶体营养感测 (LYNUS) 机制感测营养状态, 向细胞核发出信号以适应饥饿或营养充足的条件.

氨基酸和 V-ATP 酶相互作用调节 Rag GTPases, 然后通过将其移位到溶酶体表面激活 mTORC1^[35]. 在溶酶体表面, mTORC1 结合 TFEB, 在营养丰富的条件促进其磷酸化和细胞质螯合^[32]. 用 Torin 1 抑制 mTORC1 导致 TFEB 核积累, 此外使 mTORC1 失活的细胞条件, 例如应激、饥饿和溶酶体抑制, 导致 TFEB 核定位和其靶基因的激活^[32]. 除了作为自噬溶酶体基因的主要调节因子, TFEB 还通过饥饿诱导的自调节环调节其自身的表达^[32]. TFEB 启动子包含多个 CLEAR 元件, 转录因子结合到其上以诱导进一步的 TFEB 表达^[36]. TFEB 受另一个正反馈环的调节, 其中 TFEB 转录靶物钙通道 MCOLN1 导致 TFEB 脱磷酸化和通过钙调神经磷酸酶的核移位^[37], 在饥饿或高能量消耗下, Ca^{2+} 通过 MCOLN1 从溶酶体中释放, 在溶酶体附近产生 Ca^{2+} 微区^[37], Ca^{2+} 的这种局部增加导致钙调神经磷酸酶的活化, 其使 TFEB 脱磷酸化, 导致 TFEB 核易位和靶基因的转录^[37].

最近, ER 应激已被证明可诱导 TFEB 和 TFE3 的核易位, 参与综合应激反应^[38]. 在这种情况下,

TFEB 和 TFE3 的激活似乎是独立于 mTOR 的, 通过蛋白激酶 RNA 样内质网激酶(PERK, 也称为 EIF2AK3) - 依赖性机制实现, 其诱导钙调神经磷酸酶的活化及 TFEB 和 TFE3 的核易位^[38]. 然而,

PERK 在这些转录因子的激活中的确切作用仍不清楚, 需要进一步的研究, 充分了解不同途径相互关系以调节 TFEB 活动并调整最终的转录结果.

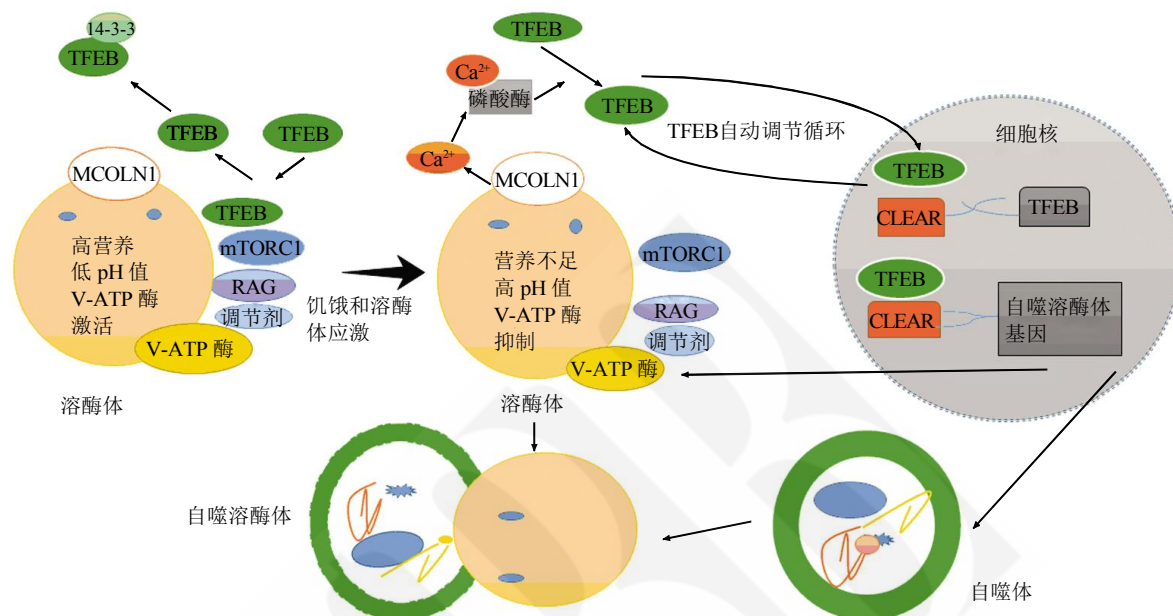


Fig. 1 The regulation and activity of TFEB

图 1 TFEB 的调节和活动

在正常营养物质可利用、无溶酶体应激、无 V-ATP 酶抑制的条件下, V-ATP 酶、调节剂和 Rag GTP 酶在溶酶体表面形成结合 mTORC1 的活性复合物, 并使其活化. 然后, mTORC1 磷酸化(P)TFEB, 将其整合在细胞质中. 磷酸化 TFEB 也在细胞质中被 14-3-3 蛋白结合. 在饥饿、溶酶体应激或 V-ATP 酶抑制的条件下, Rag GTP 酶被关闭, 其从溶酶体表面释放 mTORC1 并使其失活. 因为 mTORC1 不再磷酸化 TFEB, 所以未磷酸化的 TFEB 转位到细胞核中以结合其靶基因的 CLEAR 序列, 导致自噬和溶酶体基因的上调. TFEB 基因在其启动子中也具有许多 CLEAR 序列, 因此 TFEB 在自动调节循环中上调其自身的表达. 另一个正反馈回路涉及作为 TFEB 转录靶标的溶酶体钙流出通道 MCOLN1. MCOLN1 在溶酶体表面附近产生高 Ca^{2+} 浓度的微区. 然后, 较高的 Ca^{2+} 浓度激活钙调神经磷酸酶(CN), 将其 TFEB 去磷酸化, 促进其激活.

3 ALP 和 TFEB 在神经变性中的作用

3.1 亨廷顿病

HD 是由亨廷顿基因(HTT)第一外显子中的 CAG 三核苷酸序列过度重复(>35)编码突变亨廷顿蛋白(mutant huntingtin, mHtt)所致, HTT 是一种细胞内普遍存在的大分子蛋白, 其正常功能仍然不明确, 然而最近的研究表明, 除了通过 mTORC1 与 ULK1 相互作用促进自噬以避免负性调节外^[39], 非突变 HTT 还绑定到 p62 以促进其自噬受体功能的选择性自噬, 另外研究表明 HTT 和 ATG11 之间的结构相似性, 允许 HTT 作为选择性自噬的 ATG11 样支架蛋白^[40].

HTT 因其 3 个 KFERQ-like 基序也被认为是 CMA 底物, 正常 HTT 降解可通过磷酸化调节的

CMA 增加, HTT 降解通过 HSC70 或 LAMP2A 的过表达而增加, 并且在细胞模型中敲低这些基因而降低^[41]. 随着年龄增大, 溶酶体功能降低, 导致 mHTT 不能有效地磷酸化和降解^[41], 最近的实验使用含有聚谷氨酰胺结合肽 1 和 HSC70 结合基序的融合分子特异性靶向 mHTT, 通过其扩增的多聚腺苷酸靶向 CMA 介导的降解^[42].

在 HD 中除了正常功能 HTT 的丧失之外, mHTT 聚集体可以通过其对其他蛋白质的高亲和力提供功能表型的获得, 特别是 Beclin 1 和 mTOR 被隔离在 mHTT 包涵体中^[43]. 通过 Beclin 1 过表达增强自噬或 rapalogue CCI-779 治疗均能促进 mHTT 聚集物的降解^[43], 另外, TFEB 过表达增强 ALP 具有较好的治疗效果. TFEB RNA 水平和其多个靶基因在 HD 小鼠中减少, 表明 ALP 缺陷,

体外研究表明, 通过 TFEB 过表达增强 ALP, 从而降低了表达多聚谷氨酰胺扩增的亨廷顿蛋白在细胞中的聚集^[44]. TFEB 同样被证明为 PGC-1 α 的下游调节因子和转录靶基因, 在 HD 小鼠模型中其过表达时明显改善神经功能, 此外 PGC-1 α 过表达可以纠正 TFEB 及其靶基因的缺陷^[44]. 在哺乳动物细胞和小鼠模型中, 通过 TFEB 过表达增强 ALP 对改善 HD 也具有显著效果^[29, 44].

3.2 帕金森病

PD 是一种影响黑质多巴胺能神经元的神经变性疾病, PD 的主要标志是蛋白质包涵体(路易体)在黑质多巴胺能神经元中的积累, 路易体的主要成分是错误折叠和聚集的 α 突触核蛋白. 如其他神经变性疾病中所见, 蛋白质聚集体的错误折叠和积累与 PD 病理性进展相关. 研究表明 α 突触核蛋白积累是有细胞毒性的, 并阻断内质网 - 高尔基体小泡运输从而障碍自噬^[23]. Rab1, 一个内质网 - 高尔基体小泡运输的重要蛋白, 与调节大自噬有关, Rab1 过表达可以挽救 α 突触核蛋白诱导的自噬障碍. 除了影响大自噬, PD 相关 α 突触核蛋白突变导致 CMA 功能障碍, 导致 α 突触核蛋白积累和神经元存活因子肌细胞增强因子 2D(MEF2D)的紊乱^[23]. 有趣的是, 与 LSD Gaucher 和 Niemann-Pick A 疾病相关的基因突变的携带者发展成 PD 的风险增加, 强调溶酶体降解途径在疾病中的重要性^[45]. 在戈谢病(Gaucher disease)中突变的酶引起葡萄糖脑苷脂酶的丢失, 导致细胞模型中的 α 突触核蛋白和神经毒性的累积^[46]. 此外, α 突触核蛋白抑制神经元中的正常葡萄糖脑苷脂酶活性, 提示在突变的情况下, 其在正反馈回路和在散发性 PD 中可能的作用^[46]. 表达葡萄糖脑苷脂酶突变体的小鼠, 导致其 α 突触核蛋白病理学和记忆畸变, 这种小鼠恢复正常的葡萄糖脑苷脂酶活性后, 可以改善 α 突触核蛋白病理^[47]. 此外, 溶酶体缺乏存在于 PD 的其他体外模型、啮齿动物模型中以及 PD 病人中, 过表达 TFEB 或诱导其核易位可以消除这种缺陷并在病理上改善 α 突触核蛋白^[48-49]. 在 PD 病人尸检中中脑的细胞核 TFEB 显著减少. 有趣的是, 不管是在人类 PD 大脑还是在啮齿动物 PD 大脑, TFEB 与 α 突触核蛋白共定位于包含路易体的黑质神经元, 此外发现 α 突触核蛋白与 TFEB 免疫共沉淀, 隔离细胞质中的转录因子可阻止其活化^[48]. 还有研究使用 TFEB 的药理学活化作为潜在治疗. 海藻糖能够激活 TFEB, 通过其治疗后的核易位并可以减少

MPP⁺ 引起的细胞死亡^[49]. 此外, 2- 羟丙基 - β - 环糊精还活化 TFEB, 并增强人神经胶质瘤细胞中 α 突触核蛋白聚集体的清除. 最后, 通过抑制 mTOR (和 TFEB 功能的刺激)激活自噬的雷帕霉素, 已经在体外和体内用于促进 α 突触核蛋白的清除^[49]. 虽然上述研究集中在 α 突触核蛋白聚集物的清除, 但损伤线粒体的处理缺陷在 PD 发病机理中起主要作用. 高达 10% 的 PD 病例与遗传突变相关, 其中众所周知的基因之一是 SNCA, 编码 α 突触核蛋白, 其他与早发隐性遗传帕金森病相关的两个基因 PARK2 和 PARK6, 分别编码 Parkin 和 PINK1, 敲除 Parkin 和 PINK1 基因的突变小鼠被证明, Parkin 和 PINK1 在线粒体自噬中具有关键作用^[50]. 这些研究表明, 功能障碍线粒体的积累导致的线粒体自噬缺陷可能在 PD 发病中起重要作用. 新的治疗策略研究通过 ATP 模拟激动三磷酸受体来恢复因功能突变而失活的 PINK1 激酶. 此外, 最近已证明 TFEB 在线粒体自噬中发挥作用, 在这个过程中, TFEB 易位到细胞核, 并以 PINK1 和 Parkin 依赖的方式发挥转录活性^[51].

此外, 另一项最近的研究表明, Q311X Parkin 突变的小鼠中, 互为前馈的 TFEB-PGC1/ 信号通路在清除损伤的线粒体和线粒体生物发生中起关键作用, 在这种情况下, 随着 PARIS 水平的增加, TFEB-PGC1/ 信号减少, 从而不能有效结合并泛素化突变的 Parkin. 最近发现, 除了 ALP 依赖的 α 突触核蛋白聚集体的清除外, TFEB 在线粒体质量控制中起作用, 从而扩展了 TFEB 在 PD 中的治疗价值^[52].

3.3 阿尔茨海默病和其他 tau 蛋白病

AD 是较常见神经变性疾病之一, 其特征在于由 β 淀粉样蛋白(A β)组成的细胞外淀粉样蛋白斑块和由高度磷酸化的 tau 蛋白组成的细胞内神经原纤维缠结(NFT). AD 可以直接遗传起病, 例如淀粉样蛋白前体蛋白(APP)和早老素(PS)1 与 2 中的突变, 已经显示 PS1 中的功能丧失或 AD 相关突变导致 V-ATP 酶 V0a1 亚基成熟和 V-ATP 酶复合物装配的失败, 而这是溶酶体酸化和蛋白酶活性所必需的. 人类的尸体解剖研究也揭示了自噬体、囊泡体和自噬溶酶体在营养不良神经轴突中的积累, 此外也出现 ALP 的功能障碍的表现^[53]. 除了参与 tau 蛋白降解外^[47], ALP 可以调节 APP 更新和 A β 代谢^[54].

Ab 和 tau 病理的多个 AD 小鼠模型证明由

TFEB 介导的调节是有益的^[55]。通过外源性 TFEB 使 ALP 表达增强,从而显著减少了 rTg4510 小鼠模型中的 tau 病理改变、神经变性和行为缺陷,此项研究中提出其作用机制是通过 TFEB-PTEN-Akt-mTOR-TFEB 反馈调节环,其中 TFEB 通过上调 PTEN 和抑制 Akt 和 mTOR 而诱导 ALP,并进一步活化 TFEB^[55]。对于淀粉样蛋白病理,通过细胞摄取和 Ab 的溶酶体降解机制,星形胶质细胞中的 TFEB 促进 APP / PS1 小鼠模型中 Ab 斑块病理学的减少。此外,在 APP / PS1 小鼠中的巨细胞病毒(CMV)启动子控制下的颅内立体定位注射腺相关病毒(AAV)-TFEB,通过增加内体-溶酶体的 APP 通量导致 APP、Ab 产生和斑块沉积减少,导致 APP 通过溶酶体通路降解^[11]。

很明显,外源性 TFEB 表达在 AD 小鼠模型中的研究是有益的,但内源性 TFEB 在 AD 进展中的作用却不太明确。AD 患者的海马中 miR128 是上调的 microRNA 并且存在于迟发性 AD(LOAD)患者的单核细胞。值得注意的是,miR128 靶向 TFEB,导致其下调^[56],在 LOAD 患者单核细胞中,溶酶体酶和 Ab 降解能力下降,可能是由于 miR288 上调导致的 TFEB 转录物和核定位的减少。相比之下,含有家族性 AD PS1 基因 A246E 突变的患者成纤维细胞表现出溶酶体碱化和组织蛋白酶 D 活性降低,导致 ALP 基因的上调(特别是 TFEB)^[57]。此外,PS 条件基因敲除小鼠的研究未能发现溶酶体酸化缺陷,但含有 CLEAR 序列的溶酶体基因被转录上调^[58]。一项正在进行的研究推测,是由 PS/ γ -分泌酶缺乏导致的膜蛋白加工缺陷可能导致溶酶体中的蛋白质积累,引起溶酶体应激和激活 TFEB^[59]。此外,5xFAD 小鼠模型,包含与 AD 有关的 5 个家族性突变(包括 PS1 中的 2 个突变),证明了 TFEB 靶物的转录上调^[60],在这些情况下,TFEB 由于溶酶体功能障碍而被激活,但是不足以解决包含部分降解产物积聚的自噬体。然而,这种溶酶体应激反应缺乏的情况下,疾病进展可能更快,使得内源性 TFEB 及其靶物的上调。因此,外源诱导的 TFEB 的表达对于改善疾病是必要的^[14]。

基于最近在 AD、HD 和 PD 的研究,TFEB 在神经变性疾病中的作用可能是两面的。一方面,TFEB 抑制或细胞质螯合物可以导致 ALP 缺乏,加剧病理聚集体的积累。另一方面,TFEB 可以由于事先存在的损伤(例如 ALP 的其他成分突变或功能障碍)导致的溶酶体应激而上调,但是,它仍然不

能代偿疾病的病理性进展。在这两种情况下,总的效应是 TFEB 不足,因此应通过增强 TFEB 活性来代偿^[14]。

4 结 语

越来越多的证据支持 ALP 在降解许多神经退行性疾病中积聚的错误折叠蛋白质起关键作用,因此,通过增强 ALP 来治疗神经变性疾病方面具有治疗价值。TFEB 通过诱导自噬与溶酶体生物发生从而成为 ALP 的有效激活因子,事实上 TFEB 可以通过磷酸化调节并通过激酶抑制激活,这也是可以通过药物干预的,使其成为有吸引力的治疗靶点。由于其涉及细胞内清除途径,对于许多与自噬或溶酶体功能障碍和有毒聚集体积累相关的人类疾病来说,TFEB 是相当吸引人的治疗靶点。事实上,TFEB 活性的诱导已经成功地用作几种疾病模型中的治疗策略。已经显示出受益于 TFEB 过表达的一类疾病是溶酶体储存障碍(LSD),其中特异性溶酶体蛋白质的遗传缺陷导致溶酶体腔内底物的积累^[61]。已经显示 TFEB 在几种 LSD 的细胞和小鼠模型中的过表达,包括多种硫酸酯酶缺乏,ⅢA 型黏多糖症、Batten 病、庞贝病、戈谢病、泰沙病和半胱氨酸病,有利于减少底物积累,这种过表达也改善了整体自噬和溶酶体功能,并且改善了细胞和组织表型的严重性^[62-63]。然而,作为细胞内关键的降解机制,ALP 的水平和持续时间和 / 或 TFEB 活化需要严格调节。MiT/TFE 蛋白的组成性激活被推测驱动胰腺恶性肿瘤的代谢性重编程,并且 TFEB / TFE3 过表达是一些肾癌的标志^[64],相反,低效激活不仅在治疗上无效,而且有加重神经变性疾病的可能,主要是通过增加聚集体形成和增殖。因此,在各种生理和病理条件下,在分子、细胞和功能水平上对 TFEB 和 ALP 的深入理解有助于解释其在疾病发病机制中的作用以及发展治疗性药物^[14]。我们研究 E3 泛素连接酶(SIAH)在 α 突触核蛋白的降解和细胞死亡中的作用,结果表明 SIAH-1 抗体降低了 α 突触核蛋白的单泛素化和聚集,并有效地促进其通过泛素蛋白酶体系统通路降解。通过研究芍药苷对 α 突触核蛋白降解通路的影响,发现芍药苷可以同时显著上调自噬和泛素蛋白酶体途径,促进了 α 突触核蛋白的降解,减少细胞损伤。我们的研究还发现, MPP⁺ (1-methyl-4-phenylpyridinium)通过干扰动力蛋白(dynein)活性导致 α 核突触蛋白的自噬性清除障碍

及其异常聚集. 我们认为在自噬方面, 转录因子 EB 和动力蛋白可能通过某些机制存在相互作用, 从而在神经变性疾病中期起重要作用, 这一点还需要进一步研究来证实.

参 考 文 献

- [1] Ballabio A. The awesome lysosome. *Embo Molecular Medicine*, 2016, **8**(2): 73–76
- [2] Raben N, Puertollano R. TFEB and TFE3: Linking lysosomes to cellular adaptation to stress. *Annual Review of Cell & Developmental Biology*, 2016, **32**(1): 255–278
- [3] Deretic V, Kimura T, Timmins G, *et al.* Immunologic manifestations of autophagy. *Journal of Clinical Investigation*, 2015, **125**(1): 75–84
- [4] Memme J M, Oliveira A N, Hood D A. Chronology of UPR activation in skeletal muscle adaptations to chronic contractile activity. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2016, **310**(11): C1024–C1036
- [5] Schneider J L, Cuervo A M. Autophagy and human disease: emerging themes. *Current Opinion in Genetics & Development*, 2014, **26**(26): 16–23
- [6] Lewis A J, Billiar T R, Rosengart M R. Biology and metabolism of sepsis: innate immunity, bioenergetics, and autophagy. *Surgical Infections*, 2016, **17**(3): 286–293
- [7] Mejias-Peña Y, Estébanez B, Rodríguez-Miguel P, *et al.* Impact of resistance training on the autophagy-inflammation-apoptosis crosstalk in elderly subjects. *Aging*, 2017, **9**(2): 408–418
- [8] Mulcahy Levy J M, Zahedi S, Griesinger A M, *et al.* Autophagy inhibition overcomes multiple mechanisms of resistance to BRAF inhibition in brain tumors. *Elife*, 2017, **6**(6): e19671–e19671
- [9] Hara T, Nakamura K, Matsui M, *et al.* Suppression of basal autophagy in neural cells causes neurodegenerative disease in mice. *Nature*, 2006, **441**(7095): 885–889
- [10] Yamamoto A, Simonsen A. The elimination of accumulated and aggregated proteins: a role for aggrephagy in neurodegeneration. *Neurobiology of Disease*, 2011, **43**(1): 17–28
- [11] Xiao Q, Yan P, Ma X, *et al.* Neuronal-targeted TFEB accelerates lysosomal degradation of APP, reducing A β generation and amyloid plaque pathogenesis. *Journal of Neuroscience the Official Journal of The Society for Neuroscience*, 2015, **35**(35): 12137–12151
- [12] Cortes C J, Miranda H C, Frankowski H, *et al.* Polyglutamine-expanded androgen receptor interferes with TFEB to elicit autophagy defects in SBMA. *Nature Neuroscience*, 2014, **17**(9): 1180–1189
- [13] Mizushima N, Yoshimori T, Ohsumi Y. The role of Atg proteins in autophagosome formation. *Annual Review of Cell & Developmental Biology*, 2011, **27**(1): 107–132
- [14] Martinistioica H, Xu Y, Ballabio A, *et al.* The autophagy-lysosomal pathway in neurodegeneration: a TFEB perspective. *Trends in Neurosciences*, 2016, **39**(4): 221–234
- [15] Lamark T, Johansen T. Aggrephagy: selective disposal of protein aggregates by macroautophagy. *International Journal of Cell Biology*, 2012, **2012**(1): 736905–736912
- [16] Rogov V, Dötsch V, Johansen T, *et al.* Interactions between autophagy receptors and ubiquitin-like proteins form the molecular basis for selective autophagy. *Molecular Cell*, 2014, **53**(2): 167–178
- [17] Johansen T, Lamark T. Selective autophagy mediated by autophagic adapter proteins. *Autophagy*, 2011, **7**(3): 279–296
- [18] Lazarou M, Sliter D A, Kane L A, *et al.* The ubiquitin kinase PINK1 recruits autophagy receptors to induce mitophagy. *Nature*, 2015, **524**(7565): 309–314
- [19] Dai C Q, Luo T T, Luo S C, *et al.* p53 and mitochondrial dysfunction: novel insight of neurodegenerative diseases. *Journal of Bioenergetics & Biomembranes*, 2016, **48**(4): 1–11
- [20] Kaushik S, Cuervo A M. Chaperone-mediated autophagy: a unique way to enter the lysosome world. *Trends in Cell Biology*, 2012, **22**(8): 407–417
- [21] Kawamura N, Sun-Wada G H, Aoyama M, *et al.* Delivery of endosomes to lysosomes via microautophagy in the visceral endoderm of mouse embryos. *Nature Communications*, 2013, **3**(2): 1071–1254
- [22] Jewell J L, Russell R C, Guan K L. Amino acid signalling upstream of mTOR. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2013, **14**(3): 133–139
- [23] Yang Q, She H, Gearing M, *et al.* Regulation of neuronal survival factor MEF2D by chaperone-mediated autophagy. *Science*, 2009, **323**(5910): 124–127
- [24] Bar-Peled L, Schweitzer L D, Zoncu R, *et al.* Ragulator is a GEF for the rag GTPases that signal amino acid levels to mTORC1. *Cell*, 2012, **150**(6): 1196–1208
- [25] Lamming D W, Ye L, Katagisto P, *et al.* Rapamycin-induced insulin resistance is mediated by mTORC2 loss and uncoupled from longevity. *Science*, 2012, **335**(6076): 1638–1643
- [26] Mammucari C, Milan G, Romanello V, *et al.* FoxO3 controls autophagy in skeletal muscle *in vivo*. *Cell Metabolism*, 2007, **6**(6): 458–471
- [27] Bouchā V, Espinosa A P, Leone L, *et al.* Drosophila Mitf regulates the V-ATPase and the lysosomal-autophagic pathway. *Autophagy*, 2016, **12**(3): 484–498
- [28] Kuiper R P, Schepens M, Thijssen J, *et al.* Upregulation of the transcription factor TFEB in t(6;11)(p21;q13)-positive renal cell carcinomas due to promoter substitution. *Human Molecular Genetics*, 2003, **12**(14): 1661–1669
- [29] Sardiello M, Palmieri M, Ronza A D, *et al.* A gene network regulating lysosomal biogenesis and function. *Science*, 2009, **325**(5939): 473–477
- [30] Palmieri M, Impey S, Kang H, *et al.* Characterization of the CLEAR network reveals an integrated control of cellular clearance pathways. *Human Molecular Genetics*, 2011, **20**(19): 3852–3866
- [31] Settembre C, Di M C, Polito V A, *et al.* TFEB links autophagy to lysosomal biogenesis. *Science*, 2011, **332**(6036): 1429–1433
- [32] Settembre C, Zoncu R, Medina D L, *et al.* A lysosome-to-nucleus signalling mechanism senses and regulates the lysosome via mTOR and TFEB [M]. 2012, **31**(5): 1095–1108
- [33] Vegarubindecelis S, Penallops S, Konda M, *et al.* Multistep

- regulation of TFEB by mTORC1. *Autophagy*, 2017, **13** (3): 464–472
- [34] Martina J A, Chen Y, Gucek M, *et al.* mTORC1 functions as a transcriptional regulator of autophagy by preventing nuclear transport of TFEB. *Autophagy*, 2012, **8**(6): 903–914
- [35] Zoncu R, Sabatini D M. mTORC1 senses lysosomal amino acids through an inside-out mechanism that requires the vacuolar H(+)-ATPase. *Science*, 2011, **334**(6056): 678–683
- [36] Settembre C, Cegli R D, Mansueto G, *et al.* TFEB controls cellular lipid metabolism through a starvation-induced autoregulatory loop. *Nature Cell Biology*, 2013, **15**(6): 647–658
- [37] Medina D L, Di P S, Peluso I, *et al.* Lysosomal calcium signalling regulates autophagy through calcineurin and TFEB. *Nature Cell Biology*, 2015, **17**(3): 288–299
- [38] Martina J A, Diab H I, Brady O A, *et al.* TFEB and TFE3 are novel components of the integrated stress response. *Embo Journal*, 2016, **35**(5): 479–495
- [39] Rui Y N, Xu Z, Patel B, *et al.* Huntingtin functions as a scaffold for selective macroautophagy. *Nature Cell Biology*, 2015, **17** (3): 262–275
- [40] Ochaba J, Lukacsovich T, Csikos G, *et al.* Potential function for the Huntingtin protein as a scaffold for selective autophagy. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, **111**(47): 16889–16894
- [41] Thompson L M, Aiken C T, Kaltenbach L S, *et al.* IKK phosphorylates Huntingtin and targets it for degradation by the proteasome and lysosome. *Journal of Cell Biology*, 2009, **187**(7): 1083–1099
- [42] Qi L, Zhang X D, Wu J C, *et al.* The role of chaperone-mediated autophagy in huntingtin degradation. *Plos One*, 2012, **7** (10): e46834–e46834
- [43] Shibata M, Lu T, Furuya T, *et al.* Regulation of intracellular accumulation of mutant Huntingtin by Beclin 1. *Journal of Biological Chemistry*, 2006, **281**(20): 14474–14485
- [44] Tsunemi T, Ashe T D, Morrison B E, *et al.* PGC-1 α rescues Huntington's disease proteotoxicity by preventing oxidative stress and promoting TFEB function. *Autophagy*, 2012, **4** (142): 142ra197–142ra197
- [45] Ganor Z, Ozelius L J, Barshira A, *et al.* The pL302P mutation in the lysosomal enzyme gene SMPD1 is a risk factor for Parkinson disease. *Current Medical Literature Lysosomal Storage Disease*, 2013, **80**(17): 1606–1610
- [46] Mazzulli J R, Xu Y H, Sun Y, *et al.* Gaucher disease glucocerebrosidase and α -synuclein form a bidirectional pathogenic loop in synucleinopathies. *Cell*, 2011, **146**(1): 37–52
- [47] Sardi S P, Clarke J, Viel C, *et al.* Augmenting CNS glucocerebrosidase activity as a therapeutic strategy for parkinsonism and other Gaucher-related synucleinopathies. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, **110**(9): 3537–3542
- [48] Decressac M, Mattsson B, Weikop P, *et al.* TFEB-mediated autophagy rescues midbrain dopamine neurons from α -synuclein toxicity. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, **110**(19): E1817–E1826
- [49] Dehay B, Bové J, Rodríguezmuella N, *et al.* Pathogenic lysosomal depletion in Parkinson's disease. *Journal of Neuroscience the Official Journal of the Society for Neuroscience*, 2010, **30** (37): 12535–12544
- [50] Pickrell A M, Youle R J. The roles of PINK1, parkin, and mitochondrial fidelity in Parkinson's disease. *Neuron*, 2015, **85**(2): 257–273
- [51] Nezich C L, Wang C, Fogel A I, *et al.* Mit/TFE transcription factors are activated during mitophagy downstream of Parkin and Atg5. *Journal of Cell Biology*, 2015, **210**(3): 435–450
- [52] Siddiqui A, Bhaumik D, Chinta S J, *et al.* Mitochondrial quality control via the PGC1 α -TFEB signaling pathway is compromised by parkin Q311X mutation but independently restored by rapamycin. *Journal of Neuroscience*, 2015, **35**(37): 12833–12844
- [53] Menzies F M, Fleming A, Rubinstein D C. Compromised autophagy and neurodegenerative diseases. *Nature Reviews Neuroscience*, 2015, **16**(6): 345–357
- [54] Yang D S, Stavrides P, Mohan P S, *et al.* Reversal of autophagy dysfunction in the TgCRND8 mouse model of Alzheimer's disease ameliorates amyloid pathologies and memory deficits. *Brain A Journal of Neurology*, 2011, **134**(Pt 1): 258–277
- [55] Polito V A, Li H, Martinistoica H, *et al.* Selective clearance of aberrant tau proteins and rescue of neurotoxicity by transcription factor EB. *Embo Molecular Medicine*, 2014, **6**(9): 1142–1160
- [56] Roberto T, Lucia C, Serena P, *et al.* miR128 up-regulation correlates with impaired amyloid β (1–42) degradation in monocytes from patients with sporadic Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging*, 2014, **35**(2): 345–356
- [57] Coffey E E, Beckel J M, Laties A M, *et al.* Lysosomal alkalization and dysfunction in human fibroblasts with the Alzheimer's disease-linked presenilin 1 A246E mutation can be reversed with cAMP. *Neuroscience*, 2014, **263**(11): 111–124
- [58] Zhang X, Garbett K, Veeraghavalu K, *et al.* A role for presenilins in autophagy revisited: normal acidification of lysosomes in cells lacking PSEN1 and PSEN2. *Journal of Neuroscience the Official Journal of the Society for Neuroscience*, 2012, **32**(25): 8633–8648
- [59] Song W, Wang F, Savini M, *et al.* TFEB regulates lysosomal proteostasis. *Human Molecular Genetics*, 2013, **22**(10): 1994–2009
- [60] Landel V, Baranger K, Virard I, *et al.* Temporal gene profiling of the 5XFAD transgenic mouse model highlights the importance of microglial activation in Alzheimer's disease. *Molecular Neurodegeneration*, 2014, **9**(1): 33–42
- [61] Parenti G, Andria G, Ballabio A. Lysosomal storage diseases: from pathophysiology to therapy. *Annual Review of Medicine*, 2015, **66**(1): 471–486
- [62] Medina D L, Fraldi A, Bouche V, *et al.* Transcriptional activation of lysosomal exocytosis promotes cellular clearance. *Developmental Cell*, 2011, **21**(3): 421–430
- [63] Rega L R, Polishchuk E, Montefusco S, *et al.* Activation of the transcription factor EB rescues lysosomal abnormalities in cystinotic kidney cells. *Kidney International*, 2016, **89**(4): 862–873
- [64] Perera R M, Stoykova S, Nicolay B N, *et al.* Transcriptional control of autophagy-lysosome function drives pancreatic cancer metabolism. *Nature*, 2015, **524**(7565): 361–365

TFEB and Autophagy Play a Key Role in The Pathogenesis of Neurodegenerative Diseases*

DONG Shuang-Shuang, WANG Xiang-Yu, MING Jing-Feng, SUN Zhen-Jie,
LI Xiu-Ming, WANG Na, ZHANG Yong-Jin, CAI Zeng-Lin**

(Affiliated Lianyungang Hospital of Xuzhou Medical University, Lianyungang 222000, China)

Abstract Autophagy is widely found in eukaryotic cells, and closely related to the physiological and pathological processes in the body. Autophagy-lysosomal pathway is a process of self-degradation of cells, mainly involved in the degradation of long-lived proteins to remove damaged or excessive protein and organelles. Autophagy is usually categorized into three groups: macroautophagy, chaperone-mediated autophagy, and microautophagy. Deficits in the ALP lead to protein aggregation, resulting in the accumulation of abnormal proteins and ineffective organelles, which are hallmarks of Alzheimer disease (AD), Parkinson disease (PD), Huntington disease (HD) and so on. The process of autophagy is regulated by a series of complex signaling molecules. One of them is TFEB, a member of the MiT family of transcription factors. Studies have shown that transcription factor EB (TFEB) can coordinate autophagy through positively regulating autophagosome formation and autophagosome- lysosome fusion. In addition, it enhances cellular clearance through lysosomal exocytosis. Therefore, as a major regulator of autophagosomal biogenesis, TFEB has been a key factor in the pathogenesis of related diseases. We reviewed the regulation of ALP and TFEB and their effects on neurodegenerative diseases, and looked forward to the complex effects of ALP and TFEB on pathology and their therapeutic significance.

Key words autophagy, transcription factor EB, neurodegenerative disease

DOI: 10.16476/j.pibb.2017.0190

* This work was supported by grants from China's Postdoctoral Science Fund 55th grant(1630), Department of Health of Jiangsu Province(H201361) and 2013 Jiangsu Provincial Postdoctoral Research Funding Program(1301174C).

**Corresponding author.

Tel: 18961322001, E-mail: caizengling@163.com

Received: October 11, 2017 Accepted: December 26, 2017