

老年性痴呆 (AD) 的主要特征是 β -淀粉样蛋白 ($A\beta$) 的积聚。细胞内 $A\beta$ 的产生和清除对老年性痴呆的发病显得十分重要。细胞自噬在老年性痴呆发病的早期就已经大量发生, 对老年性痴呆起保护作用, 并且自噬随年龄的增加而衰弱。研究调控自噬对 $A\beta$ 的降解机制和寻找调控自噬的天然产物或小分子对老年性痴呆的早期干预有重要意义。

——刘知学

细胞自噬的调控机制及其在老年性痴呆发生发展中的作用 *

刘知学 ** 陈 洁 张德翼

(营养与代谢重点实验室, 中国科学院上海生命科学院营养科学研究所, 上海 200031)

摘要 细胞自噬是生物体内一种用于清除功能异常的细胞器、错误折叠的蛋白质、被氧化的脂类等有害大分子物质的重要途径。它的机制从低等生物酵母到高等的哺乳动物都高度保守, 对维持正常的生命活动至关重要。错误折叠的蛋白质若不能被有效清除, 就会造成积聚, 致使神经细胞功能丧失乃至死亡, 这是神经退行性疾病包括老年性痴呆(Alzheimer's disease, AD)的主要原因。本文回顾了近年来关于细胞自噬及其与老年性痴呆关系的研究进展, 主要包括以下几点: 自噬参与 $A\beta$ 的产生和清除; γ 分泌酶中的 Presenilin 1 在自噬底物降解中的作用; Tau 蛋白调控自噬体转运、融合; 老年性痴呆 早期自噬对细胞的保护; 细胞中感应营养和能量的两个关键蛋白 mTOR 和 AMPK 调控自噬及其对老年性痴呆的潜在影响机制。

关键词 细胞自噬, 老年性痴呆, $A\beta$, mTOR, AMPK

学科分类号 R74

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2012.00363

1 细胞自噬的分子基础

细胞自噬(autophagy)是细胞溶酶体降解受损细胞器和错误折叠蛋白的一种重要途径。Christian de Duve 在 1963 年提出了 autophagy 一词, 这个词分别取自希腊词根“自我”(auto)和“吞吃”(phagy)。在细胞内有单层膜或者双层膜的微粒, 它们能够降解细胞质和细胞器。根据底物运送到溶酶体腔方式的不同, 哺乳动物自噬可以分为三类(图 1): 大自噬(macroautophagy)、小自噬(microautophagy)和分子伴侣介导的自噬(chaperone-mediated autophagy)^[1]。通常所说的自噬是指大自噬, 在大自噬中, 细胞浆中的蛋白质和功能紊乱的细胞器被非溶酶体来源的双层膜结构所包裹, 形成自噬泡(autophagosome),

自噬泡与溶酶体融合, 底物被降解加工。小自噬与之不同, 溶酶体膜自身变形, 包裹吞噬细胞浆中的底物。分子伴侣介导的自噬首先由胞浆中的分子伴侣 Hsc70 识别, 并作用于底物蛋白分子的特定氨基酸序列(如 KFERQ), 分子伴侣-底物复合物与溶酶体膜上的受体 Lamp2a (lysosome-associated membrane protein 2a) 结合, 底物去折叠, 溶酶体腔中的另一种分子伴侣介导底物在溶酶体膜的转位, 底物在水解酶作用下降解或被细胞再利用^[2]。

* 国家重点基础研究发展计划(2011CB910900)资助项目, 中国科学院上海生命科学院优秀青年人才领域前沿项目(2011KIP308)。

** 通讯联系人。

Tel: 021-54920761, E-mail: zxliu@sibs.ac.cn

收稿日期: 2012-07-14, 接受日期: 2012-07-22

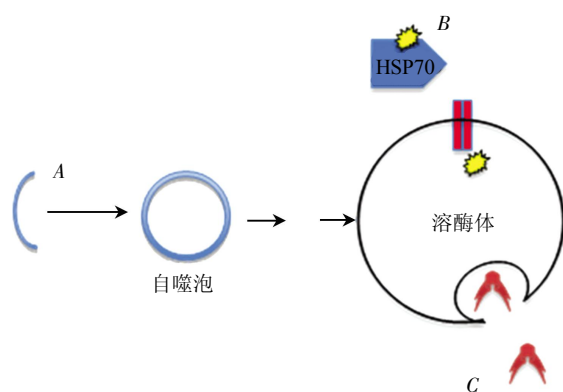


Fig. 1 Three types of autophagy

图 1 细胞自噬的几种类型

A: 大自噬 (macroautophagy); B: 分子伴侣介导的自噬 (Chaperone-mediated autophagy); C: 小自噬 (microautophagy).

直接参与细胞自噬过程的蛋白质已经发现了 30 多种, 其命名从最初的 APG、AUT 和 CVT, 现已统一命名为酵母自噬相关基因 ATG (autophagy-related). 哺乳动物自噬相关基因也由最初的 Atg/Apg/Aut/Cvt, 统一命名为 Atg. 哺乳动物自噬基因的命名与酵母相似, 但也有个别差异, 如酵母的 ATG8 在哺乳动物称为 LC3, 酵母的 ATG6 在哺乳动物则称为 Beclin 1. 随着研究的深入, 许多酵母中自噬相关基因的同源物均已在哺乳动物中找到, 并分离鉴定成功, 其分子机制从酵母到哺乳动物十分相似, 这说明自噬是一个在进化中保守的过程. 这些蛋白质调控了细胞自噬的起始、进展、成熟、与溶酶体融合. 首先, ULK1-ATG13-FIP200 复合体参与自噬的起始, 在营养匮乏(饥饿)或者压力(药物处理)下, ULK1/2 的活性通过去磷酸化而增强. ULK1/2 能够磷酸化 FIP200 从而诱发自噬泡的形成^[9]. 第二个参与自噬起始的是 PIK3C3-Beclin1-Vps15-ATG14 复合体, 它与 beclin1 的结合增强了 PIK3C3 活力, PIK3C3 的产物 IP3 是自噬泡形成的关键分子, 也是自噬泡膜的重要组分. 其他的 beclin1 结合蛋白如 ambra1、UVRAG、Bcl2、Bcl-XL 等也调节了自噬体形成^[4-8].

自噬的延伸可能需要其他细胞器提供膜组分, 膜蛋白 ATG9 在此过程起了重要作用^[9]. 该过程有两个保守的类泛素化修饰过程参与, Atg12 首先由 E1 样酶 Atg7 活化, 之后转运至 E2 样酶 Atg10, 最后与 Atg5 结合, 形成自噬体前体 (autophagosomal precursor). LC3 前体 (ProLC3) 形成后, 首先加工成胞浆可溶性形式 LC3- I, 并暴露出其羧基末端的

甘氨酸残基. 同样, LC3- I 也被 Atg7 活化, 转运至第二种 E2 样酶 Atg3, 并被修饰成膜结合形式 LC3- II. LC3- II 定位于前自噬体和自噬体, 使之成为自噬体的标志分子^[10]. 一旦自噬体与溶酶体融合, 自噬体内的 LC3- II 即被溶酶体中的水解酶降解. 哺乳动物细胞内源性 Atg5 和 Atg12 主要以结合形式存在, 而胞浆可溶性 LC3- I 和膜结合型 LC3- II 的比例在不同组织和细胞类型变化很大. 哺乳动物细胞自噬泡的形成过程与 Atg12 结合和 LC3 修饰两条泛素样修饰过程息息相关^[11]. 在自噬泡形成的早期阶段 (preautophagosome), 由 Atg12-Atg5-Atg16L 形成的复合物与其外膜结合, 这种结合一方面促进了自噬泡的伸展扩张, 使之由开始的小囊泡样、杯样结构逐渐形成半环状、环状结构. 另一方面, Atg5 复合物与自噬泡膜的结合还促进了 LC3 向自噬泡的募集. Atg5 复合物在膜上的定位决定膜的弯曲方向, 膜向着背对 Atg5 复合物的方向延伸. 当双层膜结构的自噬泡即将形成环状闭合结构或刚刚闭合时, Atg5 复合物从膜上脱离, 只留下膜结合形式的 LC3- II 定位于自噬泡膜上. 因此, LC3- II 含量的多少与自噬泡数量的多少成正比. 当哺乳动物细胞发生自噬时, 细胞内 LC3 的含量及 LC3- I 向 LC3- II 的转化均明显增加. 因此, 通过检测细胞内 LC3- II 的含量变化, 就可以判断细胞状态, 判断其自噬是被诱导还是被抑制.

Atg5 复合物对自噬泡的形成至关重要, 有报道称敲除小鼠胚胎干细胞 Atg5 基因导致自噬泡形成缺陷, 基因突变的 Atg5 丧失了与 Atg12 结合的能力, 同时也导致自噬泡延伸障碍^[12].

正常哺乳动物细胞中绝大多数 Atg5、Atg12 和 Atg16L 以复合物形式存在, 说明 Atg5-Atg12-Atg16L 复合物的存在并不会导致自噬泡的形成和活化. 哺乳动物绝大多数 Atg5-Atg12-Atg16L 复合物存在于胞浆中, 在自噬泡膜的延伸过程中, 一部分 Atg5-Atg12-Atg16L 复合物定位于膜表面, 自噬体的双层膜结构形成后, 此复合物便从膜上解离下来. 因此, Atg5-Atg12-Atg16L 复合物的存在为自噬过程中膜的延伸所必需. LC3- II 的含量或 LC3- II/LC3- I 的比例与自噬泡的数量呈正相关. LC3- II 的形成依赖于 Atg12-Atg5 复合物: 在 Atg5^{-/-} 的胚胎干细胞或表达结合缺陷型 Atg5 基因 (Atg5^{K130R}) 突变株的胚胎干细胞内检测不到 LC3- II^[12].

2 细胞自噬在老年性痴呆中的作用

神经纤维缠结和老年斑是老年性痴呆的神经病理特征^[13]。研究表明自噬泡在老年性痴呆病人的脑部大量积累^[14]。在 AD 早期,老年斑和神经纤维缠结形成之前,溶酶体蛋白酶的表达就已经增高^[15]。在 AD 病人脑中自噬在很早就已经发生。在双转基因 APP/PS1 的模型小鼠中,神经元中的自噬标识 LC-II 随年龄增长而增加,神经细胞的胞体和轴突有大量自噬小体积聚。在老年斑出现之前,双转基因小鼠的脑部就出现了自噬小体^[16]。自噬能够清除细胞内聚集蛋白,如 α -synuclein、Tau、PolyQ 等。诱导自噬的发生能够保护神经细胞,减缓认知功能损伤的症状^[17]。特异敲除神经元 ATG5 或 ATG7,其小鼠脑部出现包涵体和泛素化蛋白的蓄积,并伴有神经退行性病变^[18-22]。

自噬在神经退行性疾病的发生发展中起双重作用,即延缓或加速疾病进程^[15]。在神经退行性疾病早期,激活自噬可加速变性蛋白的清除,延缓疾病的发展。首先,错误折叠的受损蛋白能够被细胞内活化的分子伴侣系统和胞浆蛋白酶体系再折叠或清除。激活自噬加速了新合成蛋白质聚集物的清除已经得到了证实^[23]。然而,随着疾病的进展,蛋白质聚积物越来越多,对溶酶体蛋白酶降解的敏感性下降,自噬的持续性激活最终引发自噬性细胞死亡,这样自噬又促进了神经元的死亡(图 2)。

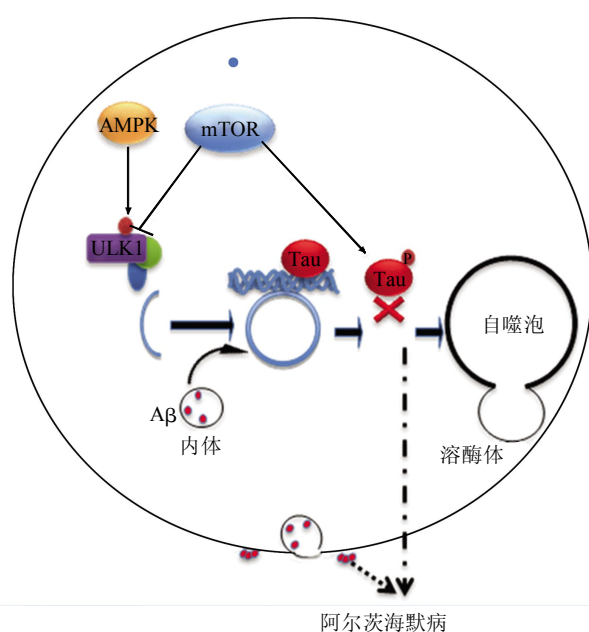


Fig. 2 The cellular regulation of autophagy and the role of autophagy in AD

图 2 自噬的调控以及自噬与老年性痴呆的关系

3 自噬与 β -淀粉样蛋白的产生和清除

β -淀粉样蛋白(β -amyloid, $A\beta$)是在 β 分泌酶和 γ 分泌酶的作用下由 β -淀粉样蛋白前体(APP)酶解产生^[24], APP 和 γ 分泌酶复合物的突变会增加 $A\beta$ 的产生^[25-27]。尽管内涵体、内质网、高尔基体被认为是 $A\beta$ 产生的细胞器,但越来越多的证据表明 $A\beta$ 可能是在自噬-溶酶体系统中产生并降解^[28-31]。自噬的变化能影响 $A\beta$ 的产生,如雷帕霉素(rapamycin)诱导自噬发生的同时, $A\beta$ 在细胞中的含量也有所降低,又比如亮氨酸缺乏能够引起神经母细胞 SH-SY5Y 自噬发生的同时, $A\beta$ 也同样随之减少^[32]。然而,采用 PIK3C3 抑制剂 3-MA 抑制自噬也能减少细胞内的 $A\beta$,这可能是由于 rapamycin 和 3-MA 同时抑制了蛋白质翻译,致使 $A\beta$ 减少。

自噬也可能参与了 $A\beta$ 细胞外的释放。在细胞内自噬小体与内涵体系统联系紧密,能够互相交换,同时这些内涵体可以与细胞膜融合而释放内涵体内的物质到胞外。 $A\beta$ 在自噬体产生过程中,可能是通过内涵体运输到胞外的。现有的证据表明,自噬小体可能是 APP 更新和 $A\beta$ 产生的主要场所。原位免疫染色显示 $A\beta$ 及 APP 存在于自噬体内,自噬体的组分含有 β 分泌酶和 γ 分泌酶的衰老蛋白 1(Presenilin1, PS1)及痴蛋白(nicastrin),进一步证明了 $A\beta$ 是在自噬体内产生和清除的。研究显示,自噬随着年龄的增长而减弱, $A\beta$ 的清除变慢,游离 $A\beta$ 增加。当游离 $A\beta$ 达到一定(临界)浓度时, $A\beta$ 就会聚集、沉积,产生细胞毒性。沉积的过程相对较快,在几年甚至几个月内就大量发生。沉积的 $A\beta$ 不能被细胞有效清除,并有可能阻止自噬的更新。

早老性痴呆主要是由于 $A\beta$ 的前体蛋白 APP 和 γ 分泌酶复合物中的 PS1 突变造成的,这些突变会导致 $A\beta$ 产量急剧增加、 $A\beta$ 沉积,从而引发早老性痴呆。这类遗传病大多发生在 30 岁之后,其原因可能是随着年龄增长,自噬变慢, $A\beta$ 的清除变缓,游离 $A\beta$ 容易达到临界浓度、迅速沉积,造成神经细胞死亡,从而发生早老性痴呆。因此,作者认为控制 $A\beta$ 达到临界浓度可能对于防治老年性痴呆更重要。已有实验数据表明,在老年性痴呆病人中 $A\beta$ 的产生并不比同龄的正常人快,但是 AD 病人的 $A\beta$ 清除明显比同龄正常人慢^[33]。

4 Tau 蛋白与细胞自噬的关系

Tau 蛋白是组成神经纤维缠结的主要成分, 包括磷酸化 Tau、Tau 剪切体、氧化 Tau^[34]. Tau 蛋白的每个异构体至少有 30 个磷酸化位点, 这些位点通常处于非磷酸化状态, 但在 AD 病人脑中磷酸化. Tau 蛋白的磷酸化与多个激酶相关, 如 CDK5、GSK3、MAPK 等, 其脱磷酸化与 PP2A 相关. 如果 Tau 的磷酸化与脱磷酸化功能失调, 则诱发 Tau 蛋白异常磷酸化和聚集, 从而恶化 AD 的病情^[35-38]. 自噬诱导剂 rapamycin 或抑制剂氯奎 (chloroquine)、3-MA 都能有效减轻 Tau 蛋白的聚集^[39-40]. Rapamycin 也可能通过抑制蛋白质合成来减少错误折叠蛋白的聚集, 说明自噬可能不是 Tau 蛋白的主要降解途径. Tau 具有促进微管组装和稳定微管系统的作用. 自噬体的转运依赖微管系统, 许多微管结合蛋白可以调节自噬的发生^[41]. 实验证明, 去除 Tau 可减少自噬的发生, 这可能是失去了 Tau 蛋白, 微管系统变得不稳定, 从而减少了自噬体-溶酶体融合^[42]. 作者的实验表明, 溶酶体蛋白酶能够剪切 Tau, 而截断的 Tau 蛋白更容易积聚形成纤维缠结, 造成神经细胞死亡(待发表).

5 PS1 在自噬过程中的作用

Presenilin 1 突变是造成早老性痴呆的主要原因^[43]. PS1 是一个膜蛋白, 有许多生物学功能, 如细胞凋亡、钙离子平衡、细胞连接、突触可塑性等. 这些功能依赖于 γ 分泌酶的活性^[44]. 迄今已知有 20 多种底物, 包括 APP. PS1 在自噬过程中也起重要作用, PS1 是溶酶体酸化的关键蛋白, 特异敲除 PS1 的神经细胞和纤维细胞内溶酶体不能酸化, 也就不能够有效降解自噬底物, 抑制组织蛋白酶 (cathepsin) 的成熟与活性^[45-46]. PS1 结合 ATP6V0a1, 使它在内质网中 N 糖基化, 导致 ATP6V0a1 在内质网直接降解而不被运到溶酶体, 溶酶体功能丧失^[47]. PS1 突变的 AD 病人的纤维细胞的溶酶体也不能够正常酸化和成熟. 溶酶体功能缺陷导致变性蛋白不能有效清除, 这可能也是 PS1 突变加速神经细胞死亡的原因之一.

6 mTOR 和 AMPK 信号通路

mTOR (mammalian target of rapamycin) 受细胞营养状态、能量水平调控, 主要调节了细胞的生长和增殖^[48]. mTOR 通过磷酸化下游的底物 4E-BP1

(eukaryotic initiation factor 4E binding protein 1)、p70S6K (the 70 ku ribosomal protein S6 kinase) 和 eEF2 (the eukaryotic elongation factor 2) 来控制蛋白质翻译^[49]. 尽管神经细胞已经终极分化, 但 mTOR 仍然参与了神经细胞胞体体积调控、神经发育和其他脑部疾病的病理过程^[50]. 神经细胞需要合成新蛋白质维持其功能, 已有研究利用控制蛋白质翻译的激酶的特异磷酸化抗体 p-PKR、p-eIF2 α 、p-p70S6K 来探索老年性痴呆过程中蛋白质合成的变化. PKR 磷酸化 eIF2 α 减弱蛋白质翻译, 在老年性痴呆病人的海马神经元中 p-PKR、p-eIF2 α 水平上调^[51]. 这一结果在 APP/PS1 小鼠模型也得到验证^[52]. 在老年性痴呆病人中 p-p70S6K 也显著增加, 在同一组样品中, p-eIF4E、p-mTOR、p-4EBP1 和 p-Tau 都升高^[53]. 在其他老年性痴呆模型中 p-p70S6K 的水平也上升, mTOR 抑制剂 rapamycin 能够减轻神经细胞凋亡^[54]. mTOR 诱导神经元凋亡可能依赖细胞周期的重启动. 另外, mTOR 信号通路的活性直接与 Tau 磷酸化相关, 体外实验证实 p70S6K 可以直接磷酸化 Tau (S212、S214、S262)^[55-56].

mTOR 调控自噬的机制已经清楚, 在哺乳细胞中, mTOR 磷酸化 ULK 后, ULK 和 ATG13 的结合更紧密, 认为 mTOR 的磷酸化影响了 ULK 与其底物的识别和 ULK 的激酶活性^[3, 57]. 多个 mTOR 的磷酸化位点已经被鉴定, 这些位点的磷酸化直接影响了 UKL 的活性. 一方面 rapamycin 可以抑制 mTOR 的活性, 减弱蛋白质的翻译, 从而减少了 A β 的产量, 另一方面 rapamycin 促进自噬的发生, 增加 A β 的降解最终导致 A β 减少.

AMPK (AMP-activated protein kinase) 是一个由 α (63 ku)、 β (30 ku) 和 γ (37~63 ku) 亚基形成的异源三聚体. α 为催化亚基, β 和 γ 为调节亚基. 三种亚基存在不同的亚型如 $\alpha 1$ 和 $\alpha 2$, $\beta 1$ 和 $\beta 2$, $\gamma 1$ 、 $\gamma 2$ 和 $\gamma 3$. AMPK 的活性状态受体内 AMP 和 ATP 相对浓度的调节. 体内许多因素 (如缺血、缺氧、葡萄糖缺乏、饥饿、电刺激、热休克), 以及一氧化氮、三羧酸循环或氧化磷酸化的抑制剂 (如亚砷酸盐、抗霉素 A、二硝基苯酚和叠氮化合物等), 均导致 AMP/ATP 比值显著增高, 从而将 AMPK 系统激活, 这多见于机体在病理状态下的应激事件. AMPK 通过葡萄糖和脂类氧化调控能量的产生, 而老年性痴呆也伴有神经能量代谢的失常, 如葡萄糖吸收减弱、线粒体功能失调、胆固醇代谢缺

陷和 Ca^{2+} 离子失衡.

流行病学研究发现代谢病和心血管病患者容易患老年性痴呆. AMPK 与老年性痴呆的发生具有潜在的联系. AMPK 直接磷酸化 Tau 蛋白, 磷酸化抑制 Tau 与微管蛋白的结合^[58-59]. 当然, 也有不同的研究人员提出了不同的观点, 他们发现, AMPK 通过激活 SIRT1 使 Tau 乙酰化, 从而抵抗 Tau 磷酸化^[60]. AMPK 的激活剂 AICAR 能够抑制 Tau 的磷酸化^[61]. AMPK 也可以通过不同的机制减少 $\text{A}\beta$ 产物. AICAR 减少了 $\text{A}\beta$ 前体 APP 的表达, 也影响了 α 、 β 分泌酶的表达^[62].

AMPK 调控了自噬的过程. AMPK 与 ULK1 复合物结合, 是营养缺乏时自噬进行的必须条件^[63-64]. 最近发现 AMPK 直接磷酸化 ULK, 参与调控线粒体自噬^[65]. ULK1 以及 AMPK 的磷酸化是细胞在营养匮乏时存活所必需的, 应用基因工程手段也证明了在酵母和线虫中 AMPK 通过 ATG1 调控自噬. AMPK 调控自噬也可能通过 mTOR 信号通路, 因为 AMPK 可以直接抑制 mTOR 的活性. 最近发现运动可以增加骨骼肌和心肌细胞的自噬, 证明了自噬是运动增强糖脂代谢的分子基础^[66]. 运动也有利于延缓老年性痴呆的发展, 其机制还不十分清楚. 但是运动时, 脑部的 AMPK 活性增强, 因而有必要探索自噬是否也有所增加, 并进一步探讨在这一过程中 AMPK 是否参与了自噬发生的调控.

7 展 望

尽管老年性痴呆的早期发病机制尚不清楚, 且十分复杂, 涉及因素繁多, 如基因变异^[67-68]、内外环境^[69-71]、表观遗传学^[72]、蛋白质异常修饰^[73-74]及在脑内沉积^[75]、神经营养及可塑性改变^[76-77]、氧化应激^[78-79]、重金属离子^[80]、能量代谢失调等等^[81], 但越来越多的证据表明, 自噬在老年性痴呆发生的早期起到保护作用, 在老年性痴呆晚期可能促进疾病的进展. 我们提出的“ $\text{A}\beta$ 被自噬清除”的假说还有待进一步证实. 同时, 运动是如何减缓老年性痴呆症状的, 以及自噬是否参与了这一过程, 尚需进一步的研究. 我们还需要寻找一些更有效的调控自噬而不影响蛋白质翻译的天然产物或者小分子, 并且探索这些小分子是否对老年性痴呆的预防和治疗有积极的作用.

参 考 文 献

- [1] Crotzer V L, Blum J S. Autophagy and intracellular surveillance: Modulating MHC class II antigen presentation with stress. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, **102**(22): 7779-7780
- [2] Cuervo A M, Dice J F. A receptor for the selective uptake and degradation of proteins by lysosomes. *Science*, 1996, **273**(5274): 501-503
- [3] Hosokawa N, Hara T, Kaizuka T, *et al.* Nutrient-dependent mTORC1 association with the ULK1-Atg13-FIP200 complex required for autophagy. *Mol Biol Cell*, 2009, **20**(7): 1981-1991
- [4] Itakura E, Kishi C, Inoue K, *et al.* Beclin 1 forms two distinct phosphatidylinositol 3-kinase complexes with mammalian Atg14 and UVRAG. *Mol Biol Cell*, 2008, **19**(12): 5360-5372
- [5] Sun Q, Fan W, Chen K, *et al.* Identification of Barkor as a mammalian autophagy-specific factor for Beclin 1 and class III phosphatidylinositol 3-kinase. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, **105**(49): 19211-19216
- [6] Pattingre S, Tassa A, Qu X, *et al.* Bcl-2 antiapoptotic proteins inhibit Beclin 1-dependent autophagy. *Cell*, 2005, **122**(6): 927-939
- [7] Tian S, Lin J, Zhou J, *et al.* Beclin 1-independent autophagy induced by a Bcl-XL/Bcl-2 targeting compound, Z18. *Autophagy*, 2010, **6**(8): 1032-1041
- [8] Fimia G M, Di Bartolomeo S, Piacentini M, *et al.* Unleashing the Ambra1-Becclin 1 complex from dynein chains: Ulk1 sets Ambra1 free to induce autophagy. *Autophagy*, 2011, **7**(1): 115-117
- [9] He C, Song H, Yorimitsu T, *et al.* Recruitment of Atg9 to the preautophagosomal structure by Atg11 is essential for selective autophagy in budding yeast. *J Cell Biol*, 2006, **175**(6): 925-935
- [10] Tanida I, Ueno T, Kominami E. LC3 conjugation system in mammalian autophagy. *Int J Biochem Cell Biol*, 2004, **36**(12): 2503-2518
- [11] Yoshimori T. Autophagy: a regulated bulk degradation process inside cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 2004, **313**(2): 453-458
- [12] Mizushima N, Yamamoto A, Hatano M, *et al.* Dissection of autophagosome formation using Apg5-deficient mouse embryonic stem cells. *J Cell Biol*, 2001, **152**(4): 657-668
- [13] Arai H, Lee V M, Otvos L, *et al.* Defined neurofilament, tau, and beta-amyloid precursor protein epitopes distinguish Alzheimer from non-Alzheimer senile plaques. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1990, **87**(6): 2249-2253
- [14] Rubinsztein D C. The roles of intracellular protein-degradation pathways in neurodegeneration. *Nature*, 2006, **443**(7113): 780-786
- [15] Rubinsztein D C, DiFiglia M, Heintz N, *et al.* Autophagy and its possible roles in nervous system diseases, damage and repair. *Autophagy*, 2005, **1**(1): 11-22
- [16] Yu W H, Cuervo A M, Kumar A, *et al.* Macroautophagy--a novel Beta-amyloid peptide-generating pathway activated in Alzheimer's disease. *J Cell Biol*, 2005, **171**(1): 87-98
- [17] Brunk U T, Terman A. The mitochondrial-lysosomal axis theory of

- aging: accumulation of damaged mitochondria as a result of imperfect autophagocytosis. *European J Biochemistry/FEBS*, 2002, **269**(8): 1996–2002
- [18] Dadakhujiev S, Noh H S, Jung E J, *et al.* Autophagy protects the rotenone-induced cell death in alpha-synuclein overexpressing SH-SY5Y cells. *Neuroscience Letters*, 2010, **472**(1): 47–52
- [19] Dolan P J, Johnson G V. A caspase cleaved form of tau is preferentially degraded through the autophagy pathway. *J Biol Chemistry*, 2010, **285**(29): 21978–21987
- [20] Duncan C, Papanikolaou T, Ellerby L M. Autophagy: polyQ toxic fragment turnover. *Autophagy*, 2010, **6**(2): 312–314
- [21] 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
- [22] Komatsu M, Waguri S, Chiba T, *et al.* Loss of autophagy in the central nervous system causes neurodegeneration in mice. *Nature*, 2006, **441**(7095): 880–884
- [23] Larsen K E, Sulzer D. Autophagy in neurons: a review. *Histol Histopathol*, 2002, **17**(3): 897–908
- [24] Klafki H, Abramowski D, Swoboda R, *et al.* The carboxyl termini of beta-amyloid peptides 1-40 and 1-42 are generated by distinct gamma-secretase activities. *J Biological Chemistry*, 1996, **271**(45): 28655–28659
- [25] Fukutani Y, Cairns N J, Rossor M N, *et al.* Cerebellar pathology in sporadic and familial Alzheimer's disease including APP 717 (Val-->Ile) mutation cases: a morphometric investigation. *Journal of the neurological sciences*, 1997, **149**(2): 177–184
- [26] Wegiel J, Wisniewski H M, Kuchna I, *et al.* Cell-type-specific enhancement of amyloid-beta deposition in a novel presenilin-1 mutation (P117L). *J Neuropathology and Experimental Neurology*, 1998, **57**(9): 831–838
- [27] Reznik-Wolf H, Machado J, Haroutunian V, *et al.* Somatic mutation analysis of the APP and Presenilin 1 and 2 genes in Alzheimer's disease brains. *J Neurogenetics*, 1998, **12**(1): 55–65
- [28] Jiang Y, Mullaney K A, Peterhoff C M, *et al.* Alzheimer's-related endosome dysfunction in Down syndrome is Abeta-independent but requires APP and is reversed by BACE-1 inhibition. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, **107**(4): 1630–1635
- [29] Skovronsky D M, Pijak D S, Doms R W, *et al.* A distinct ER/IC gamma-secretase competes with the proteasome for cleavage of APP. *Biochemistry*, 2000, **39**(4): 810–817
- [30] Yan R, Han P, Miao H, *et al.* The transmembrane domain of the Alzheimer's beta-secretase (BACE1) determines its late Golgi localization and access to beta -amyloid precursor protein (APP) substrate. *J Biological Chemistry*, 2001, **276**(39): 36788–36796
- [31] Tian Y, Bustos V, Flajolet M, *et al.* A small-molecule enhancer of autophagy decreases levels of Abeta and APP-CTF *via* Atg5-dependent autophagy pathway. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 2011, **25**(6): 1934–1942
- [32] Yu W H, Kumar A, Peterhoff C, *et al.* Autophagic vacuoles are enriched in amyloid precursor protein-secretase activities: implications for beta-amyloid peptide over-production and localization in Alzheimer's disease. *International J Biochemistry & Cell Biology*, 2004, **36**(12): 2531–2540
- [33] Mawuenyega K G, Sigurdson W, Ovod V, *et al.* Decreased clearance of CNS beta-amyloid in Alzheimer's disease. *Science*, 2010, **330**(6012): 1774
- [34] Sahara N, Maeda S, Takashima A. Tau oligomerization: a role for tau aggregation intermediates linked to neurodegeneration. *Curr Alzheimer Res*, 2008, **5**(6): 591–598
- [35] Baumann K, Mandelkow E M, Biernat J, *et al.* Abnormal Alzheimer-like phosphorylation of tau-protein by cyclin-dependent kinases cdk2 and cdk5. *FEBS Lett*, 1993, **336**(3): 417–424
- [36] Gomez-Ramos A, Dominguez J, Zafra D, *et al.* Inhibition of GSK3 dependent tau phosphorylation by metals. *Curr Alzheimer Res*, 2006, **3**(2): 123–127
- [37] Sawamura N, Gong J S, Garver W S, *et al.* Site-specific phosphorylation of tau accompanied by activation of mitogen-activated protein kinase (MAPK) in brains of Niemann-Pick type C mice. *J Biol Chem*, 2001, **276** (13): 10314–10319
- [38] Goldbaum O, Richter-Landsberg C. Activation of PP2A-like phosphatase and modulation of tau phosphorylation accompany stress-induced apoptosis in cultured oligodendrocytes. *Glia*, 2002, **40**(3): 271–282
- [39] Wyttenbach A, Hands S, King M A, *et al.* Amelioration of protein misfolding disease by rapamycin: translation or autophagy?. *Autophagy*, 2008, **4**(4): 542–545
- [40] Zhang J Y, Peng C, Shi H, *et al.* Inhibition of autophagy causes tau proteolysis by activating calpain in rat brain. *J Alzheimer's Disease: JAD*, 2009, **16**(1): 39–47
- [41] Aplin A, Jasionowski T, Tuttle D L, *et al.* Cytoskeletal elements are required for the formation and maturation of autophagic vacuoles. *J Cell Physiol*, 1992, **152**(3): 458–466
- [42] Pacheco C D, Elrick M J, Lieberman A P. Tau deletion exacerbates the phenotype of Niemann-Pick type C mice and implicates autophagy in pathogenesis. *Human Molecular Genetics*, 2009, **18**(5): 956–965
- [43] Sherrington R, Rogaev E I, Liang Y, *et al.* Cloning of a gene bearing missense mutations in early-onset familial Alzheimer's disease. *Nature*, 1995, **375**(6534): 754–760
- [44] Shen J, Kelleher R J 3rd. The presenilin hypothesis of Alzheimer's disease: evidence for a loss-of-function pathogenic mechanism. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, **104**(2): 403–409
- [45] Wilson C A, Murphy D D, Giasson B I, *et al.* Degradative organelles containing mislocalized alpha-and beta-synuclein proliferate in presenilin-1 null neurons. *J Cell Biol*, 2004, **165**(3): 335–346
- [46] Esselens C, Oorschot V, Baert V, *et al.* Presenilin 1 mediates the turnover of telencephalin in hippocampal neurons *via* an autophagic degradative pathway. *J Cell Biol*, 2004, **166**(7): 1041–1054
- [47] Lee J H, Yu W H, Kumar A, *et al.* Lysosomal proteolysis and autophagy require presenilin 1 and are disrupted by Alzheimer-

- related PS1 mutations. *Cell*, 2010, **141**(7): 1146–1158
- [48] Tee A R, Blenis J, Proud C G. Analysis of mTOR signaling by the small G-proteins, Rheb and RhebL1. *FEBS Lett*, 2005, **579**(21): 4763–4768
- [49] Wahl P R, Serra A L, Le Hir M, *et al.* Inhibition of mTOR with sirolimus slows disease progression in Han: SPRD rats with autosomal dominant polycystic kidney disease (ADPKD). *Nephrol Dial Transplant*, 2006, **21**(3): 598–604
- [50] Jaworski J, Sheng M. The growing role of mTOR in neuronal development and plasticity. *Mol Neurobiol*, 2006, **34**(3): 205–219
- [51] Chang R C, Wong A K, Ng H K, *et al.* Phosphorylation of eukaryotic initiation factor-2 α (eIF2 α) is associated with neuronal degeneration in Alzheimer's disease. *Neuroreport*, 2002, **13**(18): 2429–2432
- [52] Page G, Rioux Bilan A, Ingrand S, *et al.* Activated double-stranded RNA-dependent protein kinase and neuronal death in models of Alzheimer's disease. *Neuroscience*, 2006, **139**(4): 1343–1354
- [53] Li X, Alafuzoff I, Soininen H, *et al.* Levels of mTOR and its downstream targets 4E-BP1, eEF2, and eEF2 kinase in relationships with tau in Alzheimer's disease brain. *FEBS J*, 2005, **272**(16): 4211–4220
- [54] Khurana V, Lu Y, Steinhilb M L, *et al.* TOR-mediated cell-cycle activation causes neurodegeneration in a Drosophila tauopathy model. *Curr Biol*, 2006, **16**(3): 230–241
- [55] Pei J J, An W L, Zhou X W, *et al.* P70 S6 kinase mediates tau phosphorylation and synthesis. *FEBS Lett*, 2006, **580**(1): 107–114
- [56] Virdee K, Yoshida H, Peak-Chew S, *et al.* Phosphorylation of human microtubule-associated protein tau by protein kinases of the AGC subfamily. *FEBS Lett*, 2007, **581**(14): 2657–2662
- [57] Jung C H, Jun C B, Ro S H, *et al.* ULK-Atg13-FIP200 complexes mediate mTOR signaling to the autophagy machinery. *Mol Biol Cell*, 2009, **20**(7): 1992–2003
- [58] Thornton C, Bright N J, Sastre M, *et al.* AMP-activated protein kinase (AMPK) is a tau kinase, activated in response to amyloid β -peptide exposure. *Biochem J*, 2011, **434**(3): 503–512
- [59] Vingthux V, Davies P, Dickson D W, *et al.* AMPK is abnormally activated in tangle- and pre-tangle-bearing neurons in Alzheimer's disease and other tauopathies. *Acta Neuropathol*, 2011, **121**(3): 337–349
- [60] Nakano A, Kato H, Watanabe T, *et al.* AMPK controls the speed of microtubule polymerization and directional cell migration through CLIP-170 phosphorylation. *Nat Cell Biol*, 2010, **12**(6): 583–590
- [61] Greco S J, Sarkar S, Johnston J M, *et al.* Leptin regulates tau phosphorylation and amyloid through AMPK in neuronal cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009, **380**(1): 98–104
- [62] Won J S, Im Y B, Kim J, *et al.* Involvement of AMP-activated-protein-kinase (AMPK) in neuronal amyloidogenesis. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010, **399**(4): 487–491
- [63] Behrends C, Sowa M E, Gygi S P, *et al.* Network organization of the human autophagy system. *Nature*, 2010, **466**(7302): 68–76
- [64] Lee J W, Park S, Takahashi Y, *et al.* The association of AMPK with ULK1 regulates autophagy. *PLoS One*, 2010, **5**(11): e15394
- [65] Egan D F, Shackelford D B, Mihaylova M M, *et al.* Phosphorylation of ULK1 (hATG1) by AMP-activated protein kinase connects energy sensing to mitophagy. *Science*, 2011, **331**(6016): 456–461
- [66] He C, Bassik M C, Moresi V, *et al.* Exercise-induced BCL2-regulated autophagy is required for muscle glucose homeostasis. *Nature*, 2012, **481**(7382): 511–515
- [67] Cong L, Jia J. Promoter polymorphisms which regulate ADAM9 transcription are protective against sporadic Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging*, 2011, **32**(1): 54–62
- [68] Zhou J. Recent progress in neurodegenerative disorder research in China. *Science China Life Sciences*, 2010, **53**(3): 348–355
- [69] He R, Lu J, Miao J. Formaldehyde stress. *Science China Life Sciences*, 2010, **53**(12): 1399–1404
- [70] Tong Z, Zhang J, Luo W, *et al.* Urine formaldehyde level is inversely correlated to mini mental state examination scores in senile dementia. *Neurobiology of Aging*, 2011, **32**(1): 31–41
- [71] Lu J, Miao J Y, Pan R, *et al.* *Prog Biochem Biophys*, 2011, **38**(12): 1113–1120
- [72] Tong Z, Han C, Luo W, *et al.* Accumulated hippocampal formaldehyde induces age-dependent memory decline. *Age*, 2012, 2012, DOI: 10.1007/s11357-012-9388-8
- [73] Liu Y, Qiang M, Wei Y, *et al.* A novel molecular mechanism for nitrated α -synuclein-induced cell death. *J Mol Cell Biology*, 2011, **3**(4): 239–249
- [74] Xu Y J, Qiang M, Liu Y, *et al.* Reactive carbonyl compounds (RCCs) cause aggregation and dysfunction of fibrinogen. *Protein & Cell*, 2012, DOI 10.1007/s13238-012-2057-y
- [75] 卢静, 苗君叶, 潘荣, 等. 甲醛诱导的磷酸化减弱 Tau 蛋白与 DNA 相互作用. *生物化学与生物物理进展*, 2012, **38**(12): 1113–1120
- Lu J, Miao J Y, Pan R, *et al.* *Prog Biochem Biophys*, 2011, **38**(12): 1113–1120
- [76] Zhang X H, Poo M M. Progress in neural plasticity. *Science China Life Sciences*, 2010, **53**(3): 322–329
- [77] Luo Z G. Synapse formation and remodeling. *Science China Life Sciences*, 2010, **53**(3): 315–321
- [78] Zhang M, Zhao Z M, He L, *et al.* A meta-analysis of oxidative stress markers in schizophrenia. *Science China Life Sciences*, 2010, **53**(1): 112–124
- [79] Wang J W, Su T, Liu Y, *et al.* Post-operative cognitive dysfunction is an important cause of post-operative morbidity. *Neurochem Res*, 2012, DOI: 10.1007/s11064-012-0834-x
- [80] Luo Y F, Zhang J, Liu N Q, *et al.* Copper ions influence the toxicity of β -amyloid (1–42) in a concentration-dependent manner in a *Caenorhabditis elegans* model of Alzheimer's disease. *Science China Life Sciences*, 2011, **54**(6): 527–534
- [81] 刘玲玲, 盛柏杨, 龚锴, 等. 淀粉样肽 A β 导致线粒体功能紊乱的体内和体外研究. *生物化学与生物物理进展*, 2010, **37**(2): 154–160
- Liu L L, Sheng B Y, Gong K, *et al.* *Progress in Biochemistry and Biophysics*, 2010, **37**(2): 154–160

The Mechanism of Autophagy Regulation and The Role of Autophagy in Alzheimer's Disease*

LIU Zhi-Xue**, CHEN Jie, ZHANG De-Yi

(Key Laboratory of Nutrition and Metabolism, Institute for Nutritional Sciences, Shanghai Institutes for Biological Sciences, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031, China)

Abstract Autophagy is a main pathway that clears the dysfunction organelles, misfolding proteins and oxidative lipids. It's important for maintaining life activity and conserved from yeast to mammalian. In the AD neurons the misfolding proteins were not efficiently cleared then accumulated. These caused neurons loss of function even neuron death. This review focuses on the recent progresses on regulation of autophagy and the role of autophagy in Alzheimer's diseases. Autophagy is protective in early stage of AD, although it induces autophagic cell death in late stage of AD. Autophagosome may be the main site for A β production and clearance. Presenilin 1 which is the key proteinase in γ -secretase also plays a role in lysosomal acidification which is a key step for autophagic degradation. Tau may be involved in autophagosome trafficking and autophagosome-lysosome fusion. mTOR and AMPK sensing nutrients and energy in cells also regulate autophagy.

Key words autophagy, Alzheimer's disease, A β , mTOR, AMPK

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2012.00363

* This work was supported by grants from National Basic Research Program of China (2011CB910900) and SA-SIBS Scholarship Program (2011KIP308).

**Corresponding author.

Tel: 86-21-54920761, E-mail: zxliu@sibs.ac.cn

Received: July 14, 2012 Accepted: July 22, 2012