

蛋白酶体功能下降与散发性帕金森病

潘琪 牛朝诗

【关键词】 蛋白酶体; 帕金森病

【中图分类号】 R742.5 【文献标识码】 A 【文章编号】 1671-8925(2009)03-0313-03

Proteasomal dysfunction in the pathogenesis of sporadic Parkinson's disease PAN Qi, NIU

Chao-shi. Department of Neurosurgery, Anhui Provincial Hospital Affiliated to Anhui Medical University, Hefei 230001, China

Corresponding author: NIU Chao-shi, Email: ncswwj@mail.hf.ah.cn

【Key words】 Proteasome; Parkinson's disease

帕金森病(Parkinson's disease, PD)是一种中老年常见的进行性神经系统变性疾病,其病理特征为黑质致密部多巴胺能神经元选择性、进行性的丧失和残存神经元内出现 Lewy 小体。目前认为约 10%的患者为遗传性的,约 90%的患者为散发性的。到目前为止,散发性 PD 的病因及发病机制尚不完全清楚。最近的多个研究提示蛋白酶体功能下降导致神经元内异常蛋白聚集,功能紊乱,并进一步造成神经元的凋亡,可能参与了散发性 PD 的发病。本文就蛋白酶体功能下降与散发性 PD 发病机制方面的研究进展做一综述。

一、蛋白酶体

蛋白酶体是一类多亚基、多催化活性的蛋白酶类,存在于真核细胞的胞浆、内质网、核周区和细胞核内,是真核细胞内降解突变、损伤和异常折叠的蛋白质的主要酶类^[1]。

蛋白酶体主要有 26S 蛋白酶体和活化的 20S 蛋白酶体两种,催化核心都是 20S 蛋白酶体。20S 蛋白酶体(相对分子质量为 670 000)是由 4 个七聚体环轴向叠加构成的一个中空的桶状结构,其中两端的 2 个七聚体环由 α 亚单位构成,而中间的 2 个七聚体环由 β 亚单位构成,蛋白水解反应就发生在这一桶状结构内。构成中间的七聚体环的 7 个 β 亚单位中的 3 个分别拥有位于七聚环内的 3 个不同催化位点,具有糜蛋白酶样、胰蛋白酶样和肽酰谷氨酰水解酶催化活性。 α 亚单位没有催化活性,但它们可以调控被降解蛋白进入 20S 蛋白酶体的催化核心,并可结合蛋白酶体活化因子 PA700(19S)和 PA28(11S),改变 20S 蛋白酶体的蛋白水解活性。

蛋白酶体活化因子 PA28(相对分子质量为 200 000)是一个由 PA28 α 、PA28 β 或 PA28 γ 亚基组成的七亚基单环样大

分子。PA28 与 20S 蛋白酶体结合后形成活化的 20S 蛋白酶体,加速 20S 蛋白酶体以 ATP 非依赖模式对非泛素化的蛋白质或肽类进行降解。PA700(相对分子质量为 700 000)由盖部和基底部两个亚复合体组成。基底部包含 6 个 ATP 酶和 2 个无 ATP 酶活性的亚基,盖部由 15 个以上无 ATP 酶活性的亚基组成。PA700 与 20S 蛋白酶体结合后形成 26S 蛋白酶体,26S 蛋白酶体复合体的组装和维持需要 ATP。PA700 与 20S 蛋白酶体结合后起到两个重要功能:识别多聚泛素化的蛋白和展开这些蛋白使其易于进入催化核心。

蛋白酶体在维持多种细胞功能中起到重要作用,是真核细胞内对蛋白质进行选择降解的主要酶类,它可以清除细胞内突变的、被氧化的、异常折叠的、被损坏的蛋白质,起到避免这些有害蛋白对细胞的损害;蛋白酶体还可以降解很多调节蛋白,从而调控多种细胞功能活动。因此,蛋白酶体功能下降可以对细胞造成多方面的影响和损害,其中比较显著的损害之一就是细胞内蛋白质聚集,蛋白质性质的包涵体形成,细胞功能活动受损,最终导致细胞死亡。

二、散发性 PD 患者体内蛋白酶体功能下降

在散发性 PD 患者尸检标本的黑质细胞内,McNaught 等检测到蛋白酶体的活性明显降低,蛋白酶体的糜蛋白酶样、胰蛋白酶样和肽酰谷氨酰样催化活性分别下降了 39%、42% 和 33%,进一步研究发现散发性 PD 患者黑质多巴胺能神经元内 20S 蛋白酶体的 α 亚单位丢失,使蛋白酶体不稳定,阻止了其组装,导致蛋白酶体活性下降,而在其他脑区未发现此现象;同时,黑质致密部内蛋白酶体活化因子 PA700 表达下降,而其他脑区内,如前额叶皮质和纹状体,PA700 表达升高,从而使黑质致密部内蛋白酶体活性受到影响。另外,有报道证实 PD 患者的外周血淋巴细胞的蛋白酶体活性降低^[2]。

三、蛋白酶体抑制与蛋白质聚集、神经元死亡

最近发现利用蛋白酶体抑制剂抑制蛋白酶体可以引起原代培养神经元的死亡。2001 年,Rideout 等又报道抑制蛋白酶体可诱导 PC12 细胞凋亡并伴有胞质内泛素 / α - 共核蛋白

DOI:10.3760/cma.j.issn.1671-8925.2009.03.028

基金项目:安徽省人才开发基金(2006Z037);安徽省优秀青年科技基金(04043072)

作者单位:230001 合肥,安徽医科大学附属省立医院神经外科,安徽省立体定向神经外科研究所

通信作者:牛朝诗,Email: ncswwj@mail.hf.ah.cn

免疫反应阳性包涵体形成。随后,McNaught 等报道了抑制蛋白酶体引起胎鼠中脑原代培养中选择性多巴胺能神经元退变,且伴有胞质内 α -共核蛋白和泛素水平升高及两者免疫反应阳性包涵体形成。接着多个动物体内实验也发现了同样的结果^[3,4]。2004 年,McNaught 等^[5]更是报道了一个令人振奋的发现:系统地给大鼠注射蛋白酶体抑制剂后,经过 1~2 周潜伏期,大鼠出现了渐进性的帕金森样症状,如运动迟缓、震颤、僵直等,左旋多巴和阿朴吗啡对这些症状有效;病理学上大鼠脑内出现了以黑质为主的神经元变性,其他脑区,如蓝斑、迷走神经运动背核及 Meynert 基底核,亦可有神经元变性,残存神经元内存在类似 Lewy 小体的 α -共核蛋白, parkin 免疫反应阳性包涵体。接下来其他多个研究组也重复出了同样的结果^[6,7]。然而,也有几个研究组未能重复出这一结果^[8-10],目前认为可能是因为这种给药的技术要求较高,不能恰当给药,蛋白酶体抑制剂不易进入动物体内而导致阴性结果。也有报道指出大鼠胃壁内注射蛋白酶体抑制剂可以引起迷走神经运动背核神经元内 α -共核蛋白聚集,但未能引起明显的神经元丧失^[11]。以上发现提示了蛋白酶体功能下降参与了神经元内蛋白质聚集及神经元死亡的过程。

四、蛋白酶体抑制与氧化应激及线粒体功能受损

氧化应激和线粒体功能受损与 PD 的发病机制密切相关。已经证实 PD 患者黑质内脂质过氧化产物、蛋白质氧化产物均增多,PD 患者黑质内亦有较多氧化损伤的 DNA、RNA。PD 患者黑质内发生氧化应激可能的原因有神经胶质引起的炎症反应、线粒体功能受损、异常 α -共核蛋白的细胞毒性以及蛋白降解功能受损等^[12]。

目前发现蛋白酶体抑制与氧化应激及线粒体功能受损可互为因果。2001 年, Lee 等报道抑制蛋白酶体可以导致 NT-2 和 SK-N-MC 细胞株氧化损伤,包括蛋白质、脂质和 DNA 的氧化损伤水平升高及谷胱甘肽水平的下降。抑制蛋白酶体也可引起神经元和星形胶质细胞的 DNA 和 RNA 的氧化损伤^[13]。最近, Miwa 等^[14]通过动物实验又发现抑制蛋白酶体可引起多巴胺能神经元内一种氧化应激标记物—血红素加氧酶-1 水平升高。除了蛋白酶体抑制可引起氧化应激及氧化损伤外,亦有人认为蛋白酶体抑制可引起线粒体功能的损害。2000 年, Qiu 等报道抑制蛋白酶体可引起原代培养皮层神经元凋亡伴有线粒体膜电位下降及细胞色素 C 从线粒体内释放到胞质。2004 年, Sullivan 等^[15]报道慢性低度抑制蛋白酶体可以引起 SH-SY5Y 细胞株线粒体内自由基增多和线粒体复合体 I 和 II 的活性下降。蛋白酶体抑制引起氧化应激与线粒体受损的原因可能是:(1)蛋白酶体蛋白水解活性下降,大量被氧化的蛋白质不能被有效降解,从而引起细胞内高反应性自由基增多,从而导致氧化应激及线粒体损害。(2)蛋白酶体蛋白水解活性下降,大量应该被及时降解的调节蛋白及活性蛋白不能被降解,导致清除自由基的机制及线粒体受损;而氧化应激又可以导致线粒体受损,反过来亦然。氧化应激亦被证明可以导致蛋白酶体活性下降^[15]。其中的机制可能为:(1)氧化应激导致细胞产生过多的被氧化的蛋白质,而这些被氧化、损坏的蛋白质可以抑制蛋白酶体的活性;(2)氧化应激

可以造成线粒体受损,从而引起细胞内能量不足,而蛋白酶体活性强的 26S 蛋白酶体的组装和维持都需要 ATP 的参与,以致 26S 蛋白酶体减少,蛋白酶体活性下降。

五、蛋白质堆积、聚集及 Lewy 小体形成

PD 最显著的病理特征之一就是黑质神经元内及其他脑区的神经元内出现 Lewy 小体。Lewy 小体形成的机制现在还不清楚。目前多数学者认为 Lewy 小体是由大量未能被降解的多种蛋白质聚集而成^[16]。已被证实 PD 患者的黑质致密部内 α -共核蛋白量增多,这其中包括被截短的、全长的、低聚体形式的及聚集形式的 α -共核蛋白。这些 α -共核蛋白有多种翻译后修饰形式,包括磷酸化、糖基化、硝基化和泛素化等。除了 α -共核蛋白,PD 患者黑质致密部或其他脑区内还有其他多种蛋白质聚集,如泛素、氧化受损的蛋白及磷酸化的蛋白。PD 患者黑质内这些蛋白量的增多被证明并不是蛋白合成增加引起的,因为细胞内 α -共核蛋白和神经微丝的 mRNA 水平是下降的,这提示蛋白量的增多是蛋白降解减少造成的。这些在细胞内堆积增多的蛋白易于和其他蛋白相互聚集,最终导致 Lewy 小体的形成。

Lewy 小体是一种位于神经元胞浆内、蛋白质性质的球型小体,直径通常为 8~30 μm ;HE 染色表现为嗜伊红性,中间有一深染的核心,核心周围包绕淡染的晕;电镜显示 Lewy 小体中央为致密的颗粒样物质,外周为放射样的纤维丝,中央的颗粒状物质可能为泛素化的蛋白质,外周的纤维丝由纤维状的 α -共核蛋白和神经微丝构成。Lewy 小体内包含多种蛋白质,主要有 α -共核蛋白、神经微丝、泛素和泛素化的蛋白等。泛素-蛋白酶体系统的组分也在 Lewy 小体内被发现,包括泛素化/去泛素化酶类、蛋白酶体的亚基及蛋白酶体活化因子等。热休克蛋白也在 Lewy 小体内被发现。然而并非所有的蛋白都能在 Lewy 小体内找到,如突触素、 β -微管蛋白和 tau 蛋白等。

六、PD 患者蛋白酶体功能下降的原因

PD 患者蛋白酶体功能下降的原因目前仍未知,可能有以下原因:

1. 基因相关编码改变:最近, DNA 微阵列分析表明 PD 患者黑质内 20S 蛋白酶体的 α 亚单位 (PSAM2、PSMA3 和 PSMA5)、PA700 的一个非 ATP 酶亚单位 (PSMD8/Rpn12) 和一个 ATP 酶亚单位 (PSMC4/Rpt3) 的 mRNA 的水平下降^[17]。

2. 氧化应激及损伤:蛋白酶体的亚单位易受到自由基的损害,从而功能下降。另一方面,氧化应激造成过多的被氧化损坏的蛋白质,这些蛋白质可以导致蛋白酶体活性下降。

3. ATP 缺乏:26S 蛋白酶体的装配和发挥功能都需要 ATP,能量不足使其功能受限,甚至导致细胞受损。线粒体复合体 I 在线粒体能量产生中起重要作用,其功能受损可以导致 ATP 产生减少。多个实验证明抑制线粒体复合体 I 可以导致蛋白酶体功能下降^[18]。有趣的是,连续给予小鼠 MPTP 可以导致蛋白酶体功能受损,并伴有包涵体形成,而 MPTP 的活性代谢产物 MPP⁺可以抑制线粒体复合体 I。

4. 毒素作用:蛋白酶体抑制剂在环境中广泛存在,可由

多种细菌、植物,甚至化工厂产生。多个流行病学结果显示,住在农村、饮用井水、从事农业和使用杀虫剂可能是 PD 的危险因素^[9]。因此,可以推测易感人群通过生活接触、饮食或饮水等方式摄入蛋白酶体抑制剂,导致 PD 的发病。

综上所述,蛋白酶体抑制可诱导出类似 PD 的细胞、生化及分子改变,蛋白酶体功能下降可能在散发性 PD 的发病机制中起到重要作用,蛋白酶体可能成为散发性 PD 治疗的新靶点。

参 考 文 献

- [1] Pickart CM, Cohen RE. Proteasomes and their kin: proteases in the machine age[J]. *Nature Rev Mol Cell Biol*, 2004, 5(3): 177-187.
- [2] Blandini F, Sinforiani E, Pacchetti C, et al. Peripheral proteasome and caspase activity in Parkinson disease and Alzheimer disease[J]. *Neurology*, 2006, 66(4): 529-534.
- [3] Fornai F, Lenzi P, Gesi M, et al. Fine structure and biochemical mechanisms underlying nigrostriatal inclusions and cell death after proteasome inhibition[J]. *J Neurosci*, 2003, 23(26): 8955-8966.
- [4] Miwa H, Kubo T, Suzuki A, et al. Retrograde dopaminergic neuron degeneration following intrastriatal proteasome inhibition [J]. *Neurosci Lett*, 2005, 380(1-2): 93-98.
- [5] McNaught KS, Perl DP, Brownell AL, et al. Systemic exposure to proteasome inhibitors causes a progressive model of Parkinson's disease[J]. *Ann Neurol*, 2004, 56(1): 149-162.
- [6] Zeng BY, Bukhatwa S, Hikima A, et al. Reproducible nigral cell loss after systemic proteasomal inhibitor administration to rats [J]. *Ann Neurol*, 2006, 60(2): 248-252.
- [7] Schapira AH, Cleeter MW, Muddle JR, et al. Proteasomal inhibition causes loss of nigral tyrosine hydroxylase neurons [J]. *Ann Neurol*, 2006, 60(2): 253-255.
- [8] Kordower JH, Kanaan NM, Chu Y, et al. Failure of proteasome inhibitor administration to provide a model of Parkinson's disease in rats and monkeys[J]. *Ann Neurol*, 2006, 60(2): 264-268.
- [9] Manning-Bog AB, Reaney SH, Chou VP, et al. Lack of nigrostriatal pathology in a rat model of proteasome inhibition[J]. *Ann Neurol*, 2006, 60(2): 256-260.
- [10] Bove J, Zhou C, Jackson-Lewis V, et al. Proteasome inhibition and Parkinson's disease modeling [J]. *Ann Neurol*, 2006, 60 (2): 260-264.
- [11] Miwa H, Kubo T, Suzuki A, et al. Intragastric proteasome inhibition induces alpha-synuclein-immunopositive aggregations in neurons in the dorsal motor nucleus of the vagus in rats [J]. *Neurosci Lett*, 2006, 401(1-2): 146-149.
- [12] Jenner P. Oxidative stress in Parkinson's disease[J]. *Ann Neurol*, 2003, 53(Suppl 3): S26-36.
- [13] Ding Q, Dimayuga E, Markesbery WR, et al. Proteasome inhibition increases DNA and RNA oxidation in astrocyte and neuron cultures [J]. *J Neurochem*, 2004, 91(5): 1211-1218.
- [14] Sullivan PG, Dragicevic NB, Deng JH, et al. Proteasome inhibition alters neural mitochondrial homeostasis and mitochondria turnover [J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(20): 20699-20707.
- [15] Ding Q, Keller JN. Proteasome inhibition in oxidative stress neurotoxicity: implications for heat shock proteins [J]. *J Neurochem*, 2001, 77(4): 1010-1017.
- [16] Olanow CW, McNaught KS. Ubiquitin-proteasome system and Parkinson's disease[J]. *Mov Disord*, 2006, 21(11): 1806-1823.
- [17] Grunblatt E, Mandel S, Jacob-Hirsch J, et al. Gene expression profiling of parkinsonian substantia nigra pars compacta; alterations in ubiquitin-proteasome, heat shock protein, iron and oxidative stress regulated proteins, cell adhesion/cellular matrix and vesicle trafficking genes[J]. *J Neural Transm*, 2004, 111(12): 1543-1573.
- [18] Hoglinger GU, Carrard G, Michel PP, et al. Dysfunction of mitochondrial complex I and the proteasome: interactions between two biochemical deficits in a cellular model of Parkinson's disease [J]. *J Neurochem*, 2003, 86(5): 1297-1307.
- [19] De Lau LM, Breteler MM. Epidemiology of Parkinson's disease[J]. *Lancet Neurol*, 2006, 5(6): 525-535.

(收稿日期:2008-11-05)

(本文编辑:张玲)