

文章编号:1003-2754(2019)11-1040-02

中图分类号:Q554⁺.9;R745.1

GAPDH 与神经变性疾病

龙美辛综述, 张黎明审校

关键词: GAPDH 聚集; 核易位; 小分子化合物; 神经变性疾病 开放科学(资源服务)标识码(OSID):

Key words: GAPDH Aggregation; Nuclear translocation; Small molecular compounds; Neurodegenerative diseases



GAPDH 又名甘油醛-3-磷酸脱氢酶,是糖酵解途径中的一种关键酶,能够催化甘油醛-3-磷酸转化为 1,3-二磷酸甘油酸。但 GAPDH 除了糖酵解功能外,作为一种多功能酶,还具有独特的非糖酵解功能,例如基因表达调控,DNA 修复和复制,神经变性,致病机制,细菌毒力,蛋白质-蛋白质相互作用,RNA 输出,以及调控凋亡和自噬^[1]。GAPDH 是细胞中的一种月光蛋白,并且浓度很高;而且 GAPDH 的结构中含有易感半胱氨酸残基,因此这种酶是活性氧(ROS)和活性氮(ROX)的首要靶标之一,易受到多种类型的氧化修饰,导致 GAPDH 聚集及核移位。并且有研究表明 GAPDH 在神经变性疾病中能够直接与特定的淀粉样蛋白结合。新的证据表明,低分子化合物可能是有效的抑制剂,可能阻止 GAPDH 易位至细胞核,抑制或减缓其聚集和寡聚化。虽然有越来越多的证据表明 GAPDH 与神经变性疾病密切相关,但是现已发现的能够抑制它的聚集及核移位的化学物质少之又少。在本综述中,我们将描述 GAPDH 参与神经变性疾病的病理过程及现已发现的能够抑制它的聚集及核移位的小分子化合物。

1 GAPDH 的结构

甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH),又称氧化还原酶,是脱氢酶家族的一员。他在大多数组织中均有稳定的表达,并参与细胞生存的基本过程。它在真核生物和原核生物均有高浓度的表达,约占细胞含量的 10%~20%。人 GAPDH 只有一个位于 12 号染色体上的功能基因(基因 ID:2597),但有 150 个或更多类似的假基因^[2]。但不同组织中的 GAPDHmRNA 是相同的。GAPDH 的存在主要有三种形式,同源四聚体(~144kDa),单体和二聚体。细胞质中的 GAPDH 主要为同源四聚体,由 O、P、Q、R 四个相同的亚基构成。四聚体可以解离,产生易于变性,聚集或与其他生物分子相互作用的二聚体和单体^[3]。GAPDH 主要包含两个结构域:构成主链的 NAD 结构域和形成 C 末端的催化甘油醛(G3P)结构域。NAD 结构域负责结合二核苷酸。催化结构域负责反映序列的特定催化活性和底物特异性。

2 GAPDH 介导的神经变性疾病的细胞死亡

甘油醛-3-磷酸脱氢酶是细胞中最易受到氧化修饰的蛋白质之一。大量研究中证明,氧化修饰的 GAPDH 在神经变性疾病中起重要作用,主要途径有三种:聚集,核移位及与特定蛋白相结合。

2.1 GAPDH 聚集 位于 GAPDH 酶的活性位点中最敏感的靶标是 Cys152,它可以直接参与催化反应,它对 NO 诱导的 GAPDH 的聚集至关重要。此外,已经证明 Cys156 和 Cys247 这两个被埋在蛋白质分子内部,只有在多肽链解折叠后才能被修饰的半胱氨酸残基也在蛋白质聚集起重要作用。有研究表明氧化应激诱导的 GAPDH 寡聚和聚集的模式,通过活性位点的半胱氨酸的异常二硫键,很容易导致不溶性和淀粉样聚集体的形成。GAPDH 的四聚体形式表现出

相当高的稳定性,但这种高稳定性是全酶的特征,即对于对于酶与辅因子的复合物,NAD⁺或 NADH,其牢固地结合酶^[4]。然而,通过去除辅因子,稳定的 GAPDH 四聚体很容易转化为不稳定形式,没有辅因子 NADH 和 NAD⁺的 GAPDH 易于变性和随后的聚集^[3]。GAPDH 聚集体的形成导致多种病理后果,特别是 GAPDH 聚集物直接引起线粒体损伤,通过线粒体通透性转换孔(mPTP)的开放,线粒体膜电位($\Delta\psi$)和线粒体肿胀的减少,随后细胞色素 c 的细胞溶质释放和细胞凋亡的核转位诱导因子(AIF)并导致细胞凋亡/坏死细胞死亡。(4)除此途径外,GAPDH 聚集体的形成促进 GAPDH 的进一步错误折叠,导致不溶性构象并最终转化为高分子量聚集体,其本身通常是细胞毒性的或间接引发细胞凋亡^[5]。

2.2 GAPDH 核移位 Cys152 的修饰(S-亚硝基化,S-磺醇化)增强了其与具有核定位信号的 E3-泛素连接酶 Siah1 的结合,形成的复合物(GAPDH-Siah1)易位至细胞核。在葡萄糖饥饿期间,细胞质 GAPDH 被活化的 AMPK 磷酸化,促使 GAPDH 重新分布到细胞核中^[6]。在细胞核内,GAPDH 直接与 SIRT1 相互作用,取代 SIRT1 的阻遏物并增加 SIRT1 脱乙酰酶活性。此外,在细胞核中,GAPDH 与乙酰转移酶 p300/CBP 结合并刺激各种凋亡靶标的乙酰化,如肿瘤抑制因子和转录因子 p53,PUMA,Bax,p21^[1]。此外,在细胞核中,GAPDH 可能与 Ap4A 相互作用,Ap4A 参与 DNA 复制和 DNA 修复。Ap4A / Ap3A 比值的紊乱(Ap4A 水平升高和 Ap3A 降低)与程序性细胞死亡有关^[7]。此外,GAPDH 的过度积累促进 GAPDH UDG 活性的下降,这导致 DNA 损伤和随后的细胞凋亡水平增加。GAPDH 水平升高的另一个有害作用包括核纤层蛋白 B1,核膜蛋白和半胱天冬酶-3 底物的降解。通过小脑颗粒和皮质神经细胞培养物的研究证实了 GAPDH 参与由细胞凋亡刺激诱导的细胞死亡和(或)通过核移位引起的氧化应激。用胞嘧啶阿拉伯糖苷(AraC)处理诱导细胞凋亡并且在细胞核中显著增加 GAPDH 水平,而用反义 GAPDH 转染导致细胞死亡显著减少^[8]。

2.3 GAPDH 与特定蛋白相结合 GAPDH 在神经变性疾病中的作用还与特定淀粉样蛋白直接结合,如阿尔兹海默病中的 tau 蛋白、 β -淀粉样蛋白、 β -淀粉样前体蛋白^[9,10],亨廷顿病中的亨廷顿蛋白以及帕金森病中的 α -突触核蛋白^[11,12]。

3 小分子化合物与 GAPDH

由于氧化修饰的 GAPDH 在神经变性疾病中的作用,有一些小分子化合物,可能与 GAPDH 相互作用并遏制 GAPDH 的聚集和核移位。在这些分子中有司来吉兰及其他炔丙胺

收稿日期:2019-09-11;修订日期:2019-10-25

作者单位:(哈尔滨医科大学附属第一医院神经内科,黑龙江 哈尔滨 150001)

通讯作者:张黎明,E-mail:lmzhang1998@163.com

类药物,其中最广为人知的是 CGP3466。司来吉兰是一种用于治疗帕金森病的能够提高多巴胺水平的选择性单胺氧化酶抑制剂。据报道,它在帕金森病的细胞和啮齿动物模型中发挥神经保护作用,并且可能在疾病早期减缓患者的疾病进展。在低纳摩尔浓度下,该药物与 SNO-GAPDH-Siah1 相互作用,从而阻止 GAPDH 的核移位,从而发挥神经保护作用^[13]。雷沙吉兰是一种选择性 MAO B 抑制剂,与司来吉兰结构相关,但不代谢成苯丙胺衍生物,可以抑制 GAPDH 的核移位^[14]。Choi 等^[15]研究表明,证明阿司匹林(乙酰基 SA)的主要代谢产物植物激素水杨酸(SA),它也抑制 GAPDH 的核移位和细胞死亡。并且还分析两种合成的 SA 衍生物(ac3AESA 和 5-SA)和两类来自中草药甘草,甘草甜素,发现它们比 SA 更紧密地结合 GAPDH,抑制 GAPDH 向细胞核移位和细胞死亡。白皮杉醇(一种最常见的多酚),能与 Cys149 共价结合,并直接参与催化反应。它能打破病理性二硫键,抑制 GAPDH 的聚集及其向核的移位,是一种特殊的抑制剂^[16]。GAPDH 的另一种有效结合剂是羟基壬烯酸,它与 Cys 149 直接相互作用,并且在高浓度下能够完全灭活酶。Lazarev 等^[17]研究表明 4,4-二甲基-6a-羟胆甾(RX 409)和 N-乙酰胍(RX 426)在体内及体外实验中均能够与 GAPDH 相互作用并且抑制 GAPDH 聚集。Muronetz 小组^[18]研究了多羟基-1,4-萘醌对 GAPDH 酶活性影响,结果表明棘胺 B 和棘色素 E 具有明显的抗聚集作用。Chernozov 等^[19]研究表示另外一种低分子量化合物芳香硫醇(NAC 和 GSH),能够与 GAPDH 的 NAD 结构域相互作用并修饰其活性中心的巯基,导致 GAPDH 的部分抑制。Mahdy 等^[20]在用 3-硝基丙酸(3-NP)诱导的类似于亨廷顿病(HD)模型中观察到大鼠纹状体的 GAPDH mRNA 表达水平明显高于对照组。然而,在用银杏叶提取物(EGB 761)治疗前和治疗过程中均对动物 GAPDH mRNA 的表达有下调作用。有研究提出,西维来司钠(SIV)能够通过抑制中性粒细胞释放 NO,而 NO 可使 GAPDH/Siah1 途径激活而引起 GAPDH 的核移位,使细胞凋亡,故 J Huo 在脊髓损伤模型中发现,脊髓损伤后 GAPDH 和 Siah1 均发生核移位,而西维来司钠能够有效地抑制 GAPDH 和 Siah1 核移位^[21]。

4 展 望

GAPDH 与神经变性疾病有着密切的关系,它是神经变性疾病治疗上的一个重要靶点。故了解它的作用及它与其他分子之间的相互作用显得尤为重要。因此,GAPDH 将成为减缓或终止变性疾病发展的一个有希望的靶点。

[参考文献]

- [1] Butera G, Mullappilly N, Masetto F, et al. Regulation of autophagy by nuclear GAPDH and Its aggregates in cancer and neurodegenerative disorders [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, 20(9):2062-2078.
- [2] Butterfield DA, Hardas SS, Lange MLB. Oxidatively modified glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) and Alzheimer Disease; many pathways to neurodegeneration [J]. *JAD*, 2010, 20(2):369-393.
- [3] Muronetz VI, Barinova KV, Stroylova YY, et al. Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase: Aggregation mechanisms and impact on amyloid neurodegenerative diseases [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2016; S0141813016304780.
- [4] Nakajima H, Itakura M, Kubo T, et al. Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) aggregation causes mitochondrial dysfunction during oxidative stress-induced cell death [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2017, 292(11):4727-4742.
- [5] Cumming RC, Schubert D. Amyloid-induces disulfide bonding and aggregation of GAPDH in Alzheimer's disease [J]. *The FASEB Journal*, 2006, 19(14):2060-2062.
- [6] Chang C, Su H, Zhang D, et al. AMPK-Dependent Phosphorylation of GAPDH Triggers Sirt1 Activation and Is Necessary for Autophagy upon Glucose Starvation [J]. *Mol Cell*, 2015, 60:930-940.
- [7] Vartanian A, Prudovsky I, Suzuki H, et al. Opposite effects of cell differentiation and apoptosis on Ap3A/Ap4A ratio in human cell cultures [J]. *FEBS Lett*, 415:160-162.
- [8] Ishitani R, Chuang DM. Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase antisense oligodeoxynucleotides protect against cytosine arabinonucleoside-induced apoptosis in cultured cerebellar neurons [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1996, 93(18):9937-9941.
- [9] Naletova I, Schmalhausen E, Kharitonov A, et al. Non-native glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase can be an intrinsic component of amyloid structures [J]. *Biochimica et Biophysica Acta-Proteins and Proteomics*, 2008, 1784(12):2052-2058.
- [10] Itakura M, Nakajima H, Kubo T, et al. Glyceraldehyde - 3-Phosphate Dehydrogenase Aggregates Accelerate Amyloid- β Amyloidogenesis in Alzheimer Disease [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2015; jbc. M115. 669291.
- [11] Mikhaylova ER, Lazarev VF, Nikotina AD, et al. Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase augments the intercellular transmission and toxicity of polyglutamine aggregates in a cell model of Huntington disease [J]. *Journal of Neurochemistry*, 2016, 136(5):1052-1063.
- [12] Barinova K, Khomyakova E, Semenyuk P, et al. Binding of alpha-synuclein to partially oxidized glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase induces subsequent inactivation of the enzyme [J]. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 2018, 642:10.
- [13] Nakamura T, Prikhodko OA, Pirie E, et al. Aberrant protein S-nitrosylation contributes to the pathophysiology of neurodegenerative diseases [J]. *Neurobiol Dis*, 2015, 84:99-108.
- [14] Maruyama W, Akao Y, Youdim MBH, et al. Transfection-enforced Bcl-2 overexpression and an anti-Parkinson drug, rasagiline, prevent nuclear accumulation of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase induced by an endogenous dopaminergic neurotoxin, N-methyl (R) salsolinol [J]. *Journal of Neurochemistry*, 2010, 78(4):9.
- [15] Choi HW, Tian M, Manohar M, et al. Human GAPDH is a target of aspirin's primary metabolite salicylic acid and its derivatives [J]. *PLoS One*, 2015, 10(11):e0143447.
- [16] Joanna G, Eligiusz S, Adam B, et al. Functional consequences of piceatannol binding to glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase [J]. *PLOS One*, 2018, 13(1):e0190656.
- [17] Lazarev VF, Nikotina AD, Semenyuk PI, et al. Small molecules preventing GAPDH aggregation are therapeutically applicable in cell and rat models of oxidative stress [J]. *Free Radic Biol*, 2016, 92:29-38.
- [18] Muronetz VI, Asryants RA, Semenyuk PI, et al. Natural Quinones: Antioxidant and Antiaggregant Action Towards Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase [J]. *Current Organic Chemistry*, 2017, 21(20):2125-2133.
- [19] Chernozov KA, Elkina JL, Semenyuk PI, et al. Novel inhibitors of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase: Covalent modification of NAD-binding site by aromatic thiols [J]. *Biochemistry*, 2010, 75(12):1444-1449.
- [20] Mahdy HM, Tadros MG, Mohamed MR, et al. The effect of Ginkgo biloba, extract on 3-nitropropionic acid-induced neurotoxicity in rats [J]. *Neurochemistry International*, 2011, 59(6):770-778.
- [21] Huo J, Zhu XL, Ma R, et al. GAPDH/Siah1 cascade is involved in traumatic spinal cord injury and could be attenuated by sivelestat sodium [J]. *Neuroscience*, 2016, 330:171-180.