

自噬与中枢神经系统疾病及小胶质细胞活化研究进展*

刘娜 综述 李文娟[△] 审校

(济宁医学院法医学与医学检验学院, 济宁 272067)

摘要 自噬是真核细胞进化中高度保守的过程,用于降解和回收利用细胞内生物大分子和受损细胞器。自噬对神经细胞的动态平衡以及其在营养缺乏时的存活至关重要,在中枢神经系统疾病的发生发展过程中也发挥重要作用。小胶质细胞是中枢神经系统介导天然免疫应答反应的主要成分,持续活化的小胶质细胞能够产生多种免疫效应分子,其介导的慢性炎症已成为神经损伤过程的重要参与者。本文将简要介绍自噬与中枢神经系统疾病相关研究进展,并针对小胶质细胞活化与自噬在中枢神经系统疾病发病机制中的作用进行讨论。

关键词 自噬;小胶质细胞;活化;中枢神经系统疾病

中图分类号:R741 **文献标识码**:A **文章编号**:1000-9760(2018)10-358-05

Research progress in autophagy and central neurological diseases related to microglial activation

LIU Na, LI Wenjuan

(School of Forensic Medicine and Laboratory Medicine, Jining Medical University, Jining 272067, China)

Abstract: Autophagy is a highly conserved process in eukaryotic cells, which is used to degrade and recycle the biological macromolecules and organelles in cells. Autophagy is critical to maintain the dynamic balance of nerve cells and their survival in the absence of nutrients, and plays an important role in the development of central neurological diseases. Microglia is the main component of the central nervous system, which plays an important role in immune surveillance under normal conditions. Activated microglia produces a variety of immune effector molecules mediating the chronic inflammation which has become an important participant in the process of neuronal injury. This review will briefly introduce the research progress of autophagy and central neurological diseases, and discuss the role of microglia activation and autophagy in the pathogenesis of central neurological diseases.

Keywords: Autophagy; Microglia; Activation; Central neurological diseases.

1 自噬

自噬 (autophagy) 是细胞通过溶酶体 (或液泡) 清除损伤、衰老细胞器以及冗余蛋白的一种重要生理过程。细胞通过双层膜包裹待降解物形成自噬体 (autophagosome), 然后运送到溶酶体形成自噬溶酶体, 降解其所包裹的内容物, 以实现细胞代谢需要和细胞器的更新。自噬主要受 2 条信号通路调控: 一是哺乳动物雷帕霉素靶蛋白依赖的信号通

路 (mTOR-dependent); 二是非哺乳动物雷帕霉素靶蛋白依赖的信号通路 (mTOR-independent)。mTOR 属于磷酸酰肌醇激酶相关激酶 (phosphoinositide kinase related kinases, PIKKs) 家族中的新型丝/苏氨酸蛋白激酶。氨基酸、生长因子、炎症介质、缺氧、DNA 损伤和 Wnt 信号通路都能通过 mTOR 依赖的信号通路来调节自噬^[1]; 而在非 mTOR 依赖的信号通路中, 则是通过 IP3 和 PKA 等其他蛋白激酶来完成的^[2]。

正常情况下, 细胞内自噬水平相当低, 其主要作用是维持细胞的内环境稳定, 避免大量有害物质蓄积对细胞造成伤害; 当处于营养和能量缺乏、氧

* [基金项目] 山东省自然科学基金 (ZR2017LH056); 济宁市医疗卫生科技计划项目 (2016-56-74)

[△] [通信作者] 李文娟, E-mail: liwenjuan_sdu@163.com

化应激、感染以及蛋白质大量聚集等不利因素下,细胞自噬被激活,以提高自身耐受力,有助细胞的生存。若自噬过度激活且长期高水平存在,则造成细胞损伤甚至发生自噬性死亡。因此,自噬对细胞生存有促进和抑制的双面作用^[3]。

自噬异常与多种疾病的发生发展密切相关^[4]。由于自噬对神经细胞的动态平衡及其在营养缺乏时的存活至关重要,神经细胞对自噬比其他细胞更敏感。小胶质细胞是中枢神经系统介导天然免疫应答反应的主要成分,几乎参与所有的神经病理生理过程。持续活化的小胶质细胞产生多种免疫效应分子,其介导的炎症反应已成为促进神经损伤过程和诱发神经退行性疾病的重要进程。

2 自噬与神经退行性疾病

目前研究认为,大量突变和错误折叠的蛋白质在细胞内聚集是神经退行性疾病产生的物质基础。在神经元胞体和突触内,有毒蛋白质和受损细胞器聚集而引发的蛋白质和细胞器的质量控制障碍可能扰乱正常的神经功能,最终导致神经退行性疾病的发生,如阿尔茨海默症(Alzheimer's disease, AD)^[5]、帕金森病(Parkinson's disease, PD)^[6]、亨廷顿病(Huntington's disease, HD)^[7]和肌萎缩性侧索硬化(amyotrophic lateral sclerosis, ALS)^[8]等。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。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。然而,随着疾病的进展,蛋白质聚集物越来越多,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细胞死亡,这样自噬又促进了神经元的死亡^[9]。

2.1 自噬与 AD

AD 是最为常见的一种与年龄密切相关的神经退行性疾病,主要表现为进行性的记忆和认知功能障碍,最典型的病理特征为脑内相关区域 β 淀粉样蛋白(β -amyloid, A β)沉积、磷酸化 Tau 蛋白沉积、神经纤维缠结和突触及神经元丢失。APP 是 A β 的前体蛋白,除了作为自噬的底物以外,本身可诱导自噬活化^[10],并抑制 mTOR 活性。正常生理条件下,细胞内 A β 活化自噬促进自身降解,形成一种负反馈平衡调节机制。在健康的大脑中,成熟的自噬溶酶体能够有效清除自噬小泡,抑制细胞内

A β 的堆积;而疾病状态下,溶酶体功能障碍促进了 A β 的产生和堆积。家族性 AD 患者体内 ps-1 基因突变导致溶酶体酸性下降,自噬小体的成熟转化过程受阻,导致自噬小泡大量堆积,引起神经元损伤和死亡。

2.2 自噬与 PD

PD 是中老年常见的神经退行性疾病之一,其主要临床表现为静息震颤、肌肉僵硬、动作迟缓以及步态不稳。细胞内 α -synuclein 聚集形成包涵体又称为 Lewy 小体,是其典型的病理改变。目前研究发现至少有 6 种基因突变,即 α -synuclein、Parkin、PINK-1、UCH-L1、DJ-1 以及 LRRK2,可以导致家族遗传型 PD。野生型和突变型 α -synuclein 均能诱导巨自噬活化作为代偿机制;当代偿失衡时, α -synuclein 形成聚集体,对细胞产生毒性作用。另外,自噬是参与线粒体循环更新的重要途径,这也是 PD 发病的重要机制之一。当线粒体损伤时,PINK-1 和 Parkin 被募集至线粒体膜,诱导线粒体自噬(mitophagy)活化,从而清除损伤的线粒体。家族遗传型 PD 患者 PINK-1 和 Parkin 突变导致线粒体自噬受阻,受损线粒体和 ROS 大量堆积对神经元造成损伤^[11]。

3 自噬与神经损伤性疾病

中枢神经系统发生急性损伤时,作为常驻免疫细胞的小胶质细胞被激活,启动免疫反应。活化的小胶质细胞能够产生多种免疫效应分子,如活性氧(reactive oxygen species, ROS)、促炎细胞因子(如 TNF、IL-1、IL-12、IL-6)等。小胶质细胞的适当活化有利于损伤的恢复,但若活化过度则加重损伤。多项研究发现,自噬在急性神经损伤的发展中发挥重要作用。

3.1 自噬与创伤性脑/脊髓损伤

急性脑损伤或脊髓损伤是一类严重的神经损伤,能够诱导神经细胞发生自噬。适当水平的自噬可起到保护作用,而自噬过度则加重病情。Goldshmith 等^[12]研究发现,在小鼠脊髓损伤模型中,注射自噬诱导剂雷帕霉素后脊髓损伤部位小胶质细胞的活化减少,同时炎症反应减少,星形胶质细胞增生,从而促进了神经元的存活。在创伤性脑损伤(trumatic brain injuries, TBI)模型中,通过加入自噬抑制剂氯喹^[13]抑制自噬,减少炎症因子 TNF- α 和 IL-1 β 的表达,减少脑水肿、增加神经细胞功能

恢复从而起到神经保护作用。由此可推测,在 TBI 中炎症因子对病情发展具有重要作用,而自噬过程则直接或间接地与炎症因子联系,但自噬和小胶质细胞炎症反应间的确切关系还有待进一步证实。

3.2 自噬与缺血性脑损伤

脑灌注不足是指因两支或两支以上脑动脉主干终末之间的边缘地带供血不足所引起的一种临床综合征,多见于弥散性动脉硬化,充血性心力衰竭以及能引起血流缓慢的疾病。脑灌注不足可激活小胶质细胞并发生自噬。Yang 等^[14]研究发现,小鼠模型的慢性脑低灌注可诱导小胶质细胞激活和自噬,加重脑白质病变与小鼠认知功能缺陷;而自噬抑制剂 3-甲基腺嘌呤(3-methyladenine, 3-MA)可抑制小胶质细胞自噬发生,减少脑白质病变。另一项在局灶性脑缺血小鼠模型的研究中发现,缺血导致小胶质细胞发生自噬,并促进了炎症发生和神经损伤;使用自噬抑制剂 3-MA 可减少小胶质细胞的自噬和炎症反应^[15],表明抑制自噬可改善脑灌注不足的病情。

4 自噬与神经感染性疾病

自噬不仅参与神经退行性疾病和神经损伤性疾病的发生与发展,也是一种重要的抗病毒机制。当发生病毒感染时,一方面机体会启动自噬反应来激活天然和适应性免疫应答以清除病毒,另一方面病毒也可能进化出逃逸自噬对自身降解作用的机制,甚至利用自噬来促进病毒的复制^[16]。嗜神经病毒包括单纯疱疹病毒 1 型(Herpes simplex virus type 1, HSV-1)^[17]、流行性乙型脑炎病毒(Japanese encephalitis virus, JEV)^[18]、寨卡病毒(Zika Virus, ZIKA)^[19]。

4.1 自噬与单纯疱疹病毒(HSV-1)脑炎

HSV-1 为有包膜的双链 DNA 病毒,HSV-1 脑炎是最严重的急性脑炎之一,在无治疗措施干预时病死率达 70%^[20]。在 HSV-1 感染早期,蛋白激酶 R(protein kinase R, PKR)被病毒来源的双链 DNA 激活,通过介导翻译起始因子 eIF2 α 磷酸化阻断细胞蛋白质的合成,并激活自噬,降解清除病毒颗粒和病毒蛋白。HSV-1 则利用编码的蛋白质干扰细胞自噬过程,从而保护自身不受损害。研究发现,HSV-1 神经毒力因子 ICP34.5 的 C-末端结构域(GADD34 结构域)通过募集蛋白磷酸酶 1 α (protein phosphatase 1 α , PP1 α),使 PKR 磷酸化的 e

IF2 α 去磷酸化,抑制 HSV-1 诱导的自噬激活。ICP34.5 的 N-末端结构域(68-87 位氨基酸)能够与 Beclin 1 结合,导致自噬体的累积和成熟障碍,抑制自噬降解作用。在感染晚期,病毒皮层蛋白 Us11 可以通过直接与 PKR 结合抑制 eIF2 α 磷酸化。HSV-1 的免疫反应依赖于 TLR2 和 TLR9 的表达以及 IFN 的产生^[21]。小胶质细胞通过 TLR-2 识别病原体,并释放多种炎症因子,如 MCP1、IL-1 β 、I 型 IFN、IFN- γ 、TNF- α 等。HSV-1 脑炎时的免疫应答、免疫损伤、抗病毒、病毒逃逸等是复杂的动态平衡的过程,自噬和小胶质细胞的作用有待进一步细致探讨。

4.2 自噬与流行性乙型脑炎

流行性乙型脑炎(Japanese encephalitis, JE)是由 JEV 感染引起的中枢神经系统感染性疾病。JEV 感染神经元细胞导致内质网(endoplasmic reticulum, ER)压力和活性氧的产生,从而诱导细胞凋亡和炎症反应(RIG-1/IRF-3、PI3K/NF 等信号通路)。病毒感染细胞内质网应激通路与自噬存在密切联系。JEV 感染神经元后能够激活 eIF2 α /PERK、IRE1 / XBP1 和 ATF6 介导的内质网(endoplasmic reticulum, ER)应激通路,而 XBP1 和 ATF6 可以激活自噬。XBP1 和 ATF6 都在病毒诱导的细胞死亡中起着至关重要的作用,且很可能通过自噬诱导发挥作用^[22]。作为单正链 RNA 病毒,JEV 需要依赖细胞内膜结构进行病毒的复制和组装,JEV 感染诱导小胶质细胞自噬能够提高自身复制效率^[23]。在 JEV 感染初期,自噬具有抗病毒和延迟病毒诱导的细胞死亡的作用;随着感染进展,自噬体成熟受到抑制,导致错误折叠蛋白的聚集和神经退行性改变^[24]。

4.3 自噬与 ZIKA 感染

黄病毒科感染与自噬和 ER 应激过程紧密联系。黄病毒感染期间自噬的诱导最初被认为是 ER 应激衍生的非折叠蛋白反应(unfolded protein response, UPR)的结果;进一步研究发现病毒的一些非结构蛋白也可以不依赖 UPR 的方式诱导自噬。ZIKV 隶属于黄病毒科黄病毒属,其感染与严重的临床出生缺陷如小头畸形等有关^[25]。在人类神经干细胞中,ZIKV 感染导致的 ER 重排和囊泡簇的形成被认为是病毒 RNA 复制和病毒粒子组装的部位^[26]。研究发现,ZIKV 感染人类胚胎神经干细胞后,NS4A 和 NS4B 可协同抑制 Akt-mTOR 信号通

路,而 Akt-mTOR 信号通路正是大脑发育和细胞自噬调节过程中的关键细胞通路之一。因此,NS4A 和 NS4B 可能是 ZIKV 感染导致自噬的异常激活和神经缺陷发生的重要分子^[27],以 ZIKV 蛋白为靶点的小分子可能成为一种潜在的治疗手段。

5 自噬与小胶质细胞活化

小胶质细胞是中枢神经系统的常驻免疫细胞,介导天然免疫应答反应。小胶质细胞的适度活化对神经突触的发生、神经元结构和功能的维持以及调节血脑屏障的完整性具有重要作用。活化的小胶质细胞可作为抗原递呈细胞,表达 MHC-II 等免疫分子,主要诱导 Th1 反应,激活 CTL 细胞的直接杀伤作用。持续活化的小胶质细胞能够产生多种免疫效应分子,如 ROS、活性氮(reactive nitrogen species, RNS)、促炎细胞因子(如 TNF、IL-1、IL-12、IL-6 等)、抗炎因子(如 IL-10、TGF- β 、PGE2 等)及分泌蛋白酶等。这些效应分子在早期促进宿主防御和修复的同时,也促成了慢性炎症反应形成和炎性产物水平持续升高,从而影响神经系统多种病理过程的启动、进展直至最后结局的全过程^[28]。

研究表明,脑低灌注、缺血及脊髓损伤、病毒感染等均可导致小胶质细胞的激活、炎症反应,并诱发自噬发生。基于自噬与小胶质细胞活化过程都与神经疾病的发生密切相关,越来越多的研究开始探索自噬与小胶质细胞活化的关系。小胶质细胞内高水平的自噬可能是小胶质细胞激活时同时启动的自稳调节,有助于抑制小胶质细胞的过度激活。如果细胞出现自噬缺陷,会引起老化细胞器和蛋白质的大量聚集,可能会由于清除减少细胞内 ROS 增加,激活细胞凋亡或其他炎性信号。中枢神经系统小胶质细胞内的自噬可能是其激活时同时启动的,通过调节自噬充分发挥小胶质细胞的神经保护作用,抑制小胶质细胞活化来保护神经元有可能为神经损伤等疾病治疗提供新的策略。

6 小结与展望

作为真核细胞重要的物质降解过程,自噬的分子细胞机理和生理病理意义正在被逐渐认识。自噬不仅可以清除受损细胞器和冗余蛋白,维持细胞内环境平衡,也是固有免疫的重要组成。适度的自噬可以促进疾病的恢复,而自噬紊乱则使病情恶化。自噬在神经退行性疾病、损伤性疾病和感染性

等疾病进程中扮演重要角色,小胶质细胞作为中枢神经系统中一类重要的免疫细胞,在维护中枢神经系统的稳定性中发挥重要作用。深入探索自噬与小胶质细胞活化的具体作用机制,将对小胶质细胞活化相关的神经系统疾病的靶向治疗具有深远意义。

参考文献:

- [1] Zhu XC, Yu JT, Jiang T, et al. Autophagy modulation for Alzheimer's disease therapy[J]. *Mol Neurobiol*, 2013, 48 (3): 702-714. DOI: 10.1007/s12035-013-8457-z.
- [2] Li Q, Liu Y, Sun M. Autophagy and Alzheimer's Disease [J]. *Cell Mol Neurobiol*, 2017, 37 (3): 377-388. DOI: 10.1007/s10571-016-0386-8.
- [3] Deretic V, Levine B. Autophagy balances inflammation in innate immunity [J]. *Autophagy*, 2018, 14 (2): 243-251. DOI: 10.1080/15548627.2017.1402992.
- [4] Cortes CJ, La Spada AR. TFEB dysregulation as a driver of autophagy dysfunction in neurodegenerative disease: Molecular mechanisms, cellular processes, and emerging therapeutic opportunities [J]. *Neurobiology of Disease*, 2018. DOI: 10.1016/j.nbd.2018.05.012.
- [5] Chung KM, Hernández N, Sproul AA, et al. Alzheimer's disease and the autophagic-lysosomal system [J]. *Neurosci Lett*, 2018. pii: S0304-3940 (18) 30344-6. DOI: 10.1016/j.neulet.2018.05.017.
- [6] Moors TE, Hoozemans JJ, Ingrassia A, et al. Therapeutic potential of autophagy-enhancing agents in Parkinson's disease [J]. *Mol Neurodegener*, 2017, 12 (1): 11. DOI: 10.1186/s13024-017-0154-3.
- [7] Guedes-Dias P, Pinho BR, Soares TR, et al. Mitochondrial dynamics and quality control in Huntington's disease [J]. *Neurobiol Dis*, 2016, 90: 51-57. DOI: 10.1016/j.nbd.2015.09.008.
- [8] Weishaupt JH, Hyman T, Dikic I. Common molecular pathways in amyotrophic lateral sclerosis and frontotemporal dementia [J]. *Trends Mol Med*, 2016, 22 (9): 769-783. DOI: 10.1016/j.molmed.2016.07.005.
- [9] Menzies FM, Fleming A, Caricasole A, et al. Autophagy and neurodegeneration: pathogenic mechanisms and therapeutic opportunities [J]. *Neuron*, 2017, 93 (5): 1015-1034. DOI: 10.1016/j.neuron.2017.01.022.
- [10] Shin HJ, Kim H, Oh S, et al. AMPK-SKP2-CARM1 signalling cascade in transcriptional regulation of autophagy [J]. *Nature*, 2016, 534 (7608): 553-557. DOI: 10.1038/nature18014.

- [11] 张敬美, 刘海青, 白波. 自噬及其在神经退行性疾病中的作用[J]. 济宁医学院学报, 2016, 39(10): 58-63.
- [12] Goldshmit Y, Kanner S, Zacs M, et al. Rapamycin increases neuronal survival, reduces inflammation and astrocyte proliferation after spinal cord injury[J]. Mol Cell Neurosci, 2015, 68: 82-91. DOI: 10. 1016/j. mcn. 2015. 04. 006.
- [13] Cui CM, Gao JL, Cui Y, et al. Chloroquine exerts neuroprotection following traumatic brain injury via suppression of inflammation and neuronal autophagic death[J]. Mol Med Rep, 2015, 12(2): 2323-2328. DOI: 10. 3892/ mmr. 2015. 3611.
- [14] Yang Z, Zhang N, Shen H, et al. Microglial activation with reduction in autophagy limits white matter lesions and improves cognitive defects during cerebral hypoperfusion[J]. Curr Neurovasc Res, 2014, 11(3): 223-229. DOI: 10. 2174/1567202611666140520124407.
- [15] Yang Z, Zhong L, Zhong S, et al. Hypoxia induces microglia autophagy and neural inflammation injury in focal cerebral ischemia model[J]. Exp Mol Pathol, 2015, 98(2): 219-224. DOI: 10. 1016/j. yexmp. 2015. 02. 003.
- [16] 史颖颖, 邱文洪, 初敏, 等. 细胞自噬和正链 RNA 病毒的相互作用研究[J]. 中国病毒病杂志, 2017, 7(03): 232-238.
- [17] OConnell D, Liang C. Autophagy interaction with herpes simplex virus type-1 infection[J]. Autophagy, 2016, 12(3): 451-459. DOI: 10. 1080/15548627. 2016. 1139262.
- [18] Xu Q, Zhu N, Chen S, et al. E3 ubiquitin ligase Nedd4 promotes Japanese encephalitis virus replication by suppressing autophagy in human neuroblastoma cells[J]. Sci Rep, 2017, 7: 45375. DOI: 10. 1038/ srep45375.
- [19] Liu Y, Gordesky-Gold B, Leney-Greene M, et al. Inflammation-induced, STING-dependent autophagy restricts Zika virus infection in the Drosophila brain[J]. Cell Host Microbe, 2018, 24(1): 57-68. e3. DOI: 10. 1016/j. chom. 2018. 05. 022.
- [20] Bradley H, Markowitz LE, Gibson T, et al. Seroprevalence of herpes simplex virus types 1 and 2--United States, 1999-2010[J]. J Infect Dis, 2014, 209(3): 325-333. DOI: 10. 1093/ infdis/ jit458.
- [21] Kurt-Jones EA, Orzalli MH, Knipe DM. Innate immune mechanisms and herpes simplex virus infection and disease[J]. Adv Anat Embryol Cell Biol, 2017, 223: 49-75. DOI: 10. 1007/978-3-319-53168-7_3.
- [22] Sharma M, Bhattacharyya S, Sharma KB, et al. Japanese encephalitis virus activates autophagy through XBP1 and ATF6 ER stress sensors in neuronal cells[J]. J Gen Virol, 2017, 98(5): 1027-1039. DOI: 10. 1099/ jgv. 0. 000792.
- [23] Wang X, Hou L, Du J, et al. Capsid, membrane and NS3 are the major viral proteins involved in autophagy induced by Japanese encephalitis virus[J]. Vet Microbiol, 2015, 178(3-4): 217-229. DOI: 10. 1016/j. vetmic. 2015. 05. 026.
- [24] Sharma M, Bhattacharyya S, Nain M, et al. Japanese encephalitis virus replication is negatively regulated by autophagy and occurs on LC3-I- and EDEM1-containing membranes[J]. Autophagy, 2014, 10(9): 1637-1651. DOI: 10. 4161/ auto. 29455.
- [25] Faizan MI, Abdullah M, Ali S, et al. Zika virus-induced microcephaly and its possible molecular mechanism[J]. Intervirology, 2016, 59(3): 152-158. DOI: 10. 1159/ 000452950.
- [26] Cortese M, Goellner S, Acosta EG, et al. Ultrastructural characterization of Zika virus replication factories[J]. Cell Rep, 2017, 18(9): 2113-2123. DOI: 10. 1016/j. celrep. 2017. 02. 014.
- [27] Liang Q, Luo Z, Zeng J, et al. Zika virus NS4A and NS4B proteins deregulate Akt-mTOR signaling in human fetal neural stem cells to inhibit neurogenesis and induce autophagy[J]. Cell Stem Cell, 2016, 19(5): 663-671. DOI: 10. 1016/j. stem. 2016. 07. 019.
- [28] Cogut V, Bruintjes JJ, Eggen BJ, et al. Brain inflammatory cytokines and microglia morphology changes throughout hibernation phases in Syrian hamster[J]. Brain Behav Immun, 2018, 68: 17-22. DOI: 10. 1016/j. bbi. 2017. 10. 009. E.

(收稿日期 2018-06-08)

(本文编辑:石俊强)