

自噬与神经系统疾病

杨小蕾 冉希 廖雪莲 韩莉 康焰

400013 重庆市人民医院重症医学科(杨小蕾、冉希); 610041 四川成都, 四川大学华西医院重症医学科(廖雪莲、韩莉、康焰)

通讯作者: 康焰, Email: kangyan@scu.edu.cn

DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2018.09.016

【摘要】 自噬是通过衰老蛋白、受损细胞器消化降解再利用来维持细胞正常稳态的一个动态的过程。近年来随着学者对自噬研究的深入,发现自噬参与许多神经系统疾病的病理改变过程,并在其中发挥重要作用。本文就自噬在常见神经系统疾病的发病及其调控机制方面的相关研究进展进行综述,从而加深对自噬的了解,引起研究者对动态调控自噬及减轻自噬流损伤的关注。

【关键词】 自噬; 神经系统疾病; 神经退行性疾病; 脑外伤; 缺血性脑损伤; 多发性硬化

基金项目: 国家自然科学基金(81701880); 重庆市渝中区科委项目(20180142)

Autophagy and neuronal diseases Yang Xiaolei, Ran Xi, Liao Xuelian, Han Li, Kang Yan

Department of Critical Care Medicine, Chongqing General Hospital, Chongqing 400013, China (Yang XL, Ran X);

Department of Critical Care Medicine, West China Hospital, Chengdu 610041, Sichuan, China (Liao XL, Han L, Kang Y)

Corresponding author: Kang Yan, Email: kangyan@scu.edu.cn

【Abstract】 Autophagy is a dynamic process that allows recycling of long-lived proteins and damaged organelles into biosynthetic materials for maintaining the normal cellular homeostasis. Recently, accumulating evidence has indicated that autophagy played important roles in the pathogenesis of neuronal diseases. In this article, the research progress of autophagy in the pathogenesis and regulation mechanism of common nervous system diseases were reviewed to deepen the understanding of autophagy, and arouse researchers' attention on dynamic regulation of autophagy and alleviating autophagic flow injury.

【Key words】 Autophagy; Neuronal disease; Neurodegenerative disease; Traumatic brain injury; Ischemic brain injury; Multiple sclerosis

Fund program: National Natural Science Foundation of China (81701880); Yuzhong District Science and Technology Commission Project of Chongqing (20180142)

自噬最早发现于20世纪50年代, Clark、Ashford等科学家通过电子显微镜在细胞内发现了包裹退化细胞器和溶酶体酶的独立膜性囊泡结构^[1]。在1963年溶酶体国际会议(CIBA)上,比利时科学家Christian de Duve首次提出了自噬的概念来描述这些囊泡,并指出自噬也发生在正常细胞内^[1-2]。

1 自噬的分类

自噬是通过衰老蛋白、受损细胞器消化降解再利用来维持细胞正常稳态的一个动态过程。自噬在进化上高度保守,根据自噬体膜形成和运输方式的不同,可以将自噬分为分子伴侣介导的自噬(chaperone-mediated autophagy)、巨自噬(macroautophagy)、微自噬(microautophagy)3种。分子伴侣介导的自噬是选择性自噬,先由分子伴侣热休克蛋白70(HSP70)识别含有KFERO(由赖氨酸-苯丙氨酸-谷氨酸-精氨酸-谷氨酰胺构成的五肽片段)的胞质蛋白并结合形成分子伴侣-底物复合物。之后分子伴侣HSP8等再介导复合物与溶酶体膜上的受体溶酶体膜相关蛋白2 α (LAMP-2 α)识别结合,从而固定到溶酶体表面。溶酶体内的HSP73和HSP70再帮助底物转运入溶酶体内部,最终溶酶体内水解酶将底物降解,得到的产物被细胞回收利用,合成新的蛋白或

供能量代谢^[3]。巨自噬是另一种经典的自噬类型。巨自噬启动后先在细胞质中形成双层膜性的分隔膜,膜的来源仍有争议,目前研究表明可能为细胞膜、高尔基复合体、内质网甚至线粒体^[4-6]。然后分隔膜延伸包裹目标大分子或细胞器形成双层膜性囊泡,即自噬体。自噬体进一步与溶酶体融合形成自噬溶酶体,囊内容物在溶酶体水解酶的作用下消化降解再利用。微自噬是溶酶体直接形变内陷形成小泡包裹底物,并在溶酶体内消化降解。目前关于微自噬的研究较少,且主要集中在形态学方面^[7]。研究最广泛的是巨自噬,即通常所说的自噬,也是本文所讨论的自噬。

2 自噬的过程

自噬是一个连续动态的过程,这个完整的过程称之为自噬流,通常分为3个阶段,即自噬的发生、自噬体的形成、自噬体与溶酶体融合形成自噬溶酶体并降解内容物^[8]。在1997年发现了第一个自噬相关基因Atg1,截至目前已发现的Atg有30多种。在哺乳动物中,当接受到相关自噬启动信号后,失调样激酶1/2(ULK1/2)复合物被激活,从而启动自噬。ULK1/2复合物是Atg相关蛋白唯一的蛋白激酶,包括ULK1/2(2个Atg1同系物)、Atg13、FIP200(一种相对分子质量为200000的黏着斑激酶家族相互作用蛋白)和Atg101,

激活后结合到分隔膜上。

激活后的 ULK1 复合物和跨膜蛋白 Atg9 招募 III 型磷脂酰肌醇 3 激酶 (III 型 PI3K) 复合物 (包括 Vps34、Vps15、Beclin-1、Ambra 和 Atg14L) 至分隔膜上, 其中液泡分选蛋白 Vps34 是催化亚基, 其他则是维持催化活性的必需蛋白。在 ULK1 复合物的作用下, III 型 PI3K 复合物的磷脂酰肌醇磷酸化生成 3-磷酸磷脂酰肌醇, 后者促进分隔膜进一步延伸、弯曲, 并募集其他 Atg 蛋白参与自噬体膜的形成^[9]。

分隔膜延伸和封闭形成自噬体的过程还需要两条泛素化蛋白系统, 即 Atg16L1 复合物 (Atg12-Atg5-Atg16L1) 和微管相关蛋白 1 轻链 3 (LC3)。Atg12 在 Atg7 和 Atg10 的作用下结合到 Atg5 上, 形成 Atg12-Atg5, 再与 Atg16 相互作用, 以 2:2:2 的形式形成 Atg16L1 复合物。Atg16L1 复合物结合在分隔膜的表面, 可以促进分隔膜由杯样结构逐渐形成环状结构, 并在自噬体形成后剥脱。LC3 被 Atg4 裂解产生胞质可溶性的 LC3-I。随后具有 E1 激酶活性的 Atg7 将 LC3-I 激活呈递给 Atg3, 所形成的 LC3-I-Atg3 催化 LC3-I 与磷脂酰乙醇胺 (PE) 的结合, 以共价结合的 LC3-I-PE 又被称为 LC3-II^[10]。LC3-II 融合到分隔膜上, 成为自噬体膜的一部分, 这是自噬体形成的关键步骤^[11]。因此, LC3-II 的含量或 LC3-II/LC3-I 比值在一定程度上与自噬的活性呈正相关。最终在这些分子的共同作用下, 分隔膜延伸、弯曲包裹衰老蛋白、受损细胞器, 形成自噬体。

最后, 在骨架蛋白的介导下自噬体与溶酶体相融合, 形成自噬溶酶体^[12]。最终包裹其中的降解底物被溶酶体内的水解酶消化降解, 产生的氨基酸、脂肪酸等小分子被重新利用。待底物完全降解后, 自噬溶酶体伸出管状结构, 从底部断裂, 再接受新的水解酶, 最终形成新的溶酶体^[13]。

3 自噬的调控机制

自噬的调控机制复杂, 随着研究越来越深入, 发现调控自噬的信号通路越来越多, 其中最主要的是哺乳动物雷帕霉素复合物 (mTOR) 通路和非 mTOR 依赖通路^[14]。

3.1 mTOR 通路: 雷帕霉素可与 mTOR 结合从而抑制 mTOR 的活性, 诱导自噬。mTOR 激酶有两种复合物, 即 mTORC1 和 mTORC2, 其中与自噬相关的是 mTORC1, 起负性调控作用, 被认为是自噬发生的“守门员”^[15]。mTOR 激酶在收到自噬抑制信号后, mTORC1 磷酸化包括核糖体蛋白 S6 激酶 B1/S6 激酶 (RPS6KB1/S6K)、真核翻译起始因子 4E 结合蛋白 1 (EIF4EBP1)、脂素 1 及其编码蛋白 (LPIN1/lipin1)、生长因子受体结合蛋白 10 (GRB10) 和 ULK1 等下游信号, 最终抑制自噬^[16-17]。mTORC1 的上游信号包括 PI3Ks-Akt、一磷酸腺苷活化蛋白激酶 (AMPK)、肿瘤抑制因子 p53 等信号途径^[18]。此外, Rag、表皮细胞生长因子 (EGF)、丝裂素活化蛋白激酶 / 细胞外信号调节激酶 (MEK/ERK)、胰岛素样生长因子-I (IGF-I) 等信号转导分子也可以直接或间接地作用于 mTOR, 从而调节自噬。

哺乳动物中 PI3Ks 分为 3 类, 其中起调节作用的是 I 型 PI3Ks。I 型 PI3Ks 可以活化蛋白激酶 B (PKB)/Akt、结节

性硬化症相关抑癌基因 TSC1/TSC2 等下游因子, 最后激活 mTOR, 从而抑制自噬。AMPK 在饥饿和钙离子信号环境下可抑制 mTORC1 活性^[19-20]。在饥饿等低能量时, AMPK 被激活, 通过磷酸化 TSC2 使 TSC1/TSC2 对 Rheb 蛋白的抑制作用增强, 从而抑制 mTORC1 的活性。此外, p53 也通过 mTOR 途径调节自噬, 但是目前的报道显示其对自噬具有双重作用, 一方面胞核 p53 通过转录效应激活自噬, 而另一方面胞质 p53 又可以抑制自噬^[21]。

3.2 非 mTOR 依赖通路: 自噬的形成过程需要 III 型 PI3K 复合物, 包括 Vps34、Vps15、Beclin-1、Ambra、Atg14L。Beclin-1 共有 4 个结构域, 分别是进化保守结构域 (ECR)、Bcl-2 结合结构域 (BH3)、螺旋-螺旋结构域 (CCD) 和核输出结构域。III 型 PI3K 是通过 ECR 与 Beclin-1 相互作用, 而自噬负性调节因子 Bcl-2、Bcl-xL 可通过 BH3 与 Beclin-1 相结合, 从而减弱 III 型 PI3K 与 Beclin-1 间的相互作用而抑制自噬^[14]。在饥饿等条件下, c-Jun 氨基末端激酶 1 (JNK1) 又会磷酸化 Bcl-2 或 Bcl-xL, 减弱 Bcl-2 与 Beclin-1 的结合从而增强自噬。此外, 死亡相关蛋白激酶 (DAPK) 也能竞争性结合 BH3 从而发挥促进自噬的作用^[22]。

Raf-1 是一种具有丝/苏氨酸蛋白激酶活性的信号分子, Raf-1-ERK1/2 通路也可以通过非 mTOR 依赖途径发挥自噬调节作用。ERK1/2 激活时能通过一种氨基酸依赖的方式促进 Gα 相互作用蛋白 (GAIP) 磷酸化而诱导自噬, 但氨基酸可以通过减少 Raf-1 的活化而抑制这种功能, 从而对自噬产生负性调节作用^[23]。其他通路还有氯化锂通过调节三磷酸肌醇 (IP3) 水平诱导自噬^[24]、蛋白激酶 A (PKA) 直接磷酸化 LC3 或者 TORC1 抑制自噬^[25-26]等。

4 自噬与神经退行性疾病

大部分神经退行性疾病在病理上都有异常蛋白质聚集的现象, 而自噬的功能正是清除异常蛋白和细胞器, 所以自噬与中枢神经系统疾病中研究最广泛和深入的就是神经退行性疾病。神经退行性疾病是一类疾病的总称, 以中枢神经元进行性丧失为特征, 常见的有阿尔兹海默病 (AD)、帕金森病 (PD)、亨廷顿舞蹈病 (HD)、肌萎缩性脊髓侧索硬化症 (ALS) 等, 本文主要介绍前 3 种。

4.1 自噬与 AD: AD 是最常见的神经退行性疾病类型, 其病理特征为神经细胞外 β-淀粉样蛋白 (Aβ) 蛋白聚集形成老年斑 (SP) 和神经细胞内 Tau 蛋白异常聚集形成神经纤维缠结 (NFTs)。自噬作为清除异常蛋白的溶酶体降解途径, 被认为是治疗 AD 的靶点。研究者先在受损神经元中观察到大量包含有 Aβ 蛋白的未成熟的自噬体结构^[27]。在随后的研究中证实, 轴索中自噬体的逆运输机制受损, 导致自噬体与溶酶体融合障碍, 最终造成自噬体的降解障碍^[28]。Liu 等^[29]用烟酰胺治疗 AD 小鼠, 通过增强溶酶体、自噬体的酸化来减少自噬体的堆积, 最终减少海马和皮质中 Aβ 蛋白和 Tau 蛋白的聚集, 改善了小鼠的认知功能。Caccamo 等^[30]使用自噬诱导剂雷帕霉素处理 AD 大鼠模型, 发现其也能通过增加自噬改善 Aβ 蛋白和 Tau 蛋白的聚集; 相反, 使用自噬

抑制剂氯喹抑制自噬体与溶酶体结合后, Tau 蛋白的清除能力下降, Tau 蛋白聚集增多^[31]。目前关于 AD 中自噬的具体机制仍在探究中,而关于如何减轻 AD 中的自噬溶酶体降解障碍仍需进一步研究。

4.2 自噬与 PD: PD 以静止性震颤、肌强直、运动徐缓和姿势异常为主要临床表现,而病理特征表现为路易小体(LBs)形成、多巴胺神经元进行性丢失。其中 α -突触核蛋白基因 SNCA 是 LBs 的主要成分,因此 SNCA 蛋白的降解是 PD 治疗的关键。Lachenmayer 和 Yue^[32]条件性基因敲除大鼠中脑神经元的自噬必需基因 Atg7,结果显示,大鼠的神经元早期出现轴突退化、晚期神经元进展性丢失,最终出现运动障碍的类 PD 样的病理变化,说明自噬可能在 PD 的发病方面发挥了保护性作用。许多研究证实,通过提高自噬水平可以减轻 PD 相关的神经病理改变,然而也有研究报道在 PD 中自噬具有损伤性的一面。Cheng 等^[33]抑制自噬后,减轻了大鼠多巴胺神经轴突的病变。而且,目前的研究表明,与 PD 发病有关的多种基因可影响自噬,比如: Orenstein 等^[34]研究表明,富含亮氨酸重复序列激酶 2(LRRK2)基因突变破坏了分子伴侣介导的自噬,最终导致家族型 PD 的发生。突变后的 PTEN 基因诱导的假定激酶 1(PINK1)能与 Beclin-1 相互作用而抑制自噬^[14]。总之,自噬调节异常与 PD 高度相关,但究竟是自噬异常导致了 PD 发病,还是 PD 影响了自噬仍未可知,需要开展更多的研究来探索。

4.3 自噬与 HD: HD 是一种常染色体显性遗传病,突变基因是编码亨廷顿蛋白(Htt)的基因,正常人基因上 CAG 三核苷酸重复序列少于 36,而 HD 患者的 CAG 重复序列增多,编码出的突变型 Htt 能导致神经细胞进行性退化,最终出现舞蹈样不自主动作和进行性认知功能障碍等临床表现。研究者于 1974 年首次在 HD 死亡患者尸检中观察到大脑中存在自噬^[35]。Martinez-Vicente 等^[36]发现,HD 小鼠模型中自噬功能下降,与 AD 不同的是,HD 中自噬体的生成以及自噬体的清除过程都没有异常,但是却不能有效包裹目标底物,特别是受损的细胞器,导致受损细胞器堆积,可能与突变型 Htt 与 p62(介导靶蛋白与 LC3 的结合从而被自噬体包裹)结合后损伤了 p62 的功能有关。当使用自噬抑制剂后可导致突变型 Htt 含量增加,说明自噬能清除突变型 Htt 从而起到神经保护作用^[37]。因此,许多研究表明可以通过提高自噬的活性来改善 HD 的病理改变。Ravikumar 等^[37]使用 mTOR 抑制剂诱导自噬后能减轻 HD 细胞模型中突变型 Htt 蛋白的累积并减少死亡细胞。通过激活非 mTOR 依赖途径的自噬也可以减轻各种模型中突变型 Htt 的聚集^[38]。诱导和改善自噬正成为 HD 的潜在治疗靶点。

5 自噬与脑外伤

在脑外伤早期,无论是在脑外伤的动物模型中^[39],还是在人体尸检标本中,都可以观察到自噬相关蛋白水平的升高,而且可以持续达数月之久^[40],但是其升高的机制和作用仍有争议。在落体打击模型中,研究者发现脑外伤后 LC3 水平的增高伴随着 Beclin-1 水平的同步增高^[41];与此同时,

p62 水平降低,当使用溶酶体抑制剂氯喹以后可以进一步提高 LC3 的水平,证明脑外伤中自噬水平提高且不存在自噬体的降解障碍^[42]。然而在液压脑损伤模型中,有研究报道脑外伤后发现了 p62 的堆积,在体外实验使用氯喹干预时也未能见进一步提高 LC3 的水平,证明此时存在自噬体降解障碍^[43]。造成这种截然相反结果的原因不明,考虑可能是由于损伤模型和损伤程度不同。同样,自噬在其中扮演的角色也是争议不断。早期的研究表明,抗氧化药物会引起自噬相关蛋白水平降低,同时改善脑外伤小鼠的行为和组织学结果,认为自噬是引起脑外伤后神经病理改变的机制之一^[44]。随后 Luo 等^[41]在落体打击模型中运用特异性自噬抑制剂 3-甲基腺嘌呤(3-MA)和巴非霉素 A1,发现其可以减小细胞损伤面积,并改善行为学结果,说明自噬促进了脑外伤后的病理生理过程。相反, Diskin 等^[45]发现产生自噬的神经元同时发生了凋亡,并认为自噬的激活可以使细胞及时处理受损细胞来对抗损害,从而保护神经细胞。需要特别说明的是,在脑外伤后自噬体降解障碍的研究中同时发现这种自噬流受阻只是暂时的,之后会自然恢复^[45-46]。因此有学者认为,在严重脑外伤时,早期的自噬流受阻、自噬体堆积可促进细胞死亡,而当晚期自噬流恢复后就会发挥神经保护作用^[47]。

6 自噬与缺血性脑损伤

早在 1995 年,人们就利用电子显微镜在短暂缺血的沙鼠海马神经中发现了自噬体。但直至目前,自噬在缺血性脑病中的作用仍有争议。一些学者认为自噬在缺血性脑病中具有损伤性作用。Koike 等^[48]研究表明,缺失 Atg7(自噬必需基因)新生小鼠的神经元死亡情况好转;之后 Uchiyama 等^[49]发现,不仅新生小鼠,在成年鼠也存在同一现象。Wen 等^[50]在大脑中动脉闭塞缺血大鼠模型中发现了自噬水平的提高,在应用自噬抑制剂后减轻了脑水肿、降低了梗死面积。这些结果似乎都说明自噬促进了缺血性脑病的损伤,然而另一些研究却显示自噬具有保护性作用。在新生儿缺血缺氧小鼠模型中,使用自噬抑制剂 3-MA 和渥曼青霉素处理后能减少 Beclin-1 的表达,并使神经细胞凋亡转为坏死,从而加重损伤;相反,使用自噬增强剂雷帕霉素处理后,能减少坏死细胞,减轻脑损伤;使用辛伐他汀或缺氧预处理也可以增加 Beclin-1 的表达获得相似结果^[51]。Chauhan 等^[52]对大脑中动脉闭塞大鼠模型腹腔注射雷帕霉素,发现其也能显著减小梗死面积,并改善运动障碍。周天恩等^[53]采用体外模拟神经元缺氧性损伤的方法,分别使用自噬抑制剂 3-MA 及自噬增强剂雷帕霉素,发现增强自噬可以减少神经元凋亡,减轻神经元损伤(乳酸脱氢酶释放率增加),从而增加神经元活性。目前的研究仍不能确定自噬在缺血性脑病中是利是弊,甚至得到截然相反的结果,模型动物不同、制模具体方式不同、干预的方式和干预的时机不同等都有可能是导致不同结果的原因。

7 自噬与多发性硬化(MS)

MS 是以白质弥漫性脱髓鞘为主要临床特征的自身免疫性疾病,目前具体的发病机制不明,但普遍认为 T 细胞参与

其中, 抗原致敏后的 T 细胞可攻击髓鞘碱性蛋白, 从而造成神经元轴突受损。研究者通过 T 细胞疫苗接种可以成功治疗实验性自身免疫性脑脊髓炎 (EAE, MS 常用动物模型), 更加证明了 T 细胞在其发病中的重要性^[54]。而研究者发现, 在 MS 患者及小鼠 EAE 的 T 细胞中都存在 Atg5 水平增高^[55]。Kovacs 等^[56]发现, 在 Beclin-1 基因缺失的小鼠中不能引起自身免疫性 T 细胞反应, 而且不能被诱导建立 EAE 模型, 并发现自噬是通过降解凋亡相关蛋白来保护 T 细胞的功能。自噬参与 MS 的机制除与 T 细胞有关外, 还与抗原呈递作用有关。Bhattacharya 等^[57]发现, 敲除 Atg7 可以降低树突细胞的抗原呈递作用, 从而改善 EAE 模型小鼠的预后, 并发现在 EAE 发病前应用自噬抑制剂氯喹可以延缓 EAE 的进展, 即使发病后使用也可以降低其严重程度。这些都为 MS 的治疗提供了新思路, 但仍有待进一步研究证实。

8 结 语

随着研究越来越深入, 我们对自噬的了解越来越多, 但自噬并不是独立存在的既定过程, 在复杂的细胞环境中, 涉及各种各样机制的交叉, 而我们对于完整的自噬调控仍知之甚少。当处于病理环境时, 自噬的调控更为复杂, 在许多神经系统疾病中, 自噬都扮演着重要的角色, 不同疾病中不完全相同, 甚至在同一疾病的不同研究报道中也相差甚远。未来自噬在神经系统中的研究仍道阻且长, 除通过单独调控自噬水平来观察其利弊外, 如何动态调控自噬、减轻自噬流损伤仍需要更多的关注。

参考文献

- [1] Yang Z, Klionsky DJ. Eaten alive: a history of macroautophagy [J]. *Nat Cell Biol*, 2010, 12 (9): 814–822. DOI: 10.1038/ncb0910-814.
- [2] Klionsky DJ. Autophagy revisited: a conversation with Christian de Duve [J]. *Autophagy*, 2008, 4 (6): 740–743.
- [3] Majeski AE, Dice JF. Mechanisms of chaperone-mediated autophagy [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2005, 36 (12): 2435–2444. DOI: 10.1016/j.biocel.2004.02.013.
- [4] Ge L, Schekman R. The ER-Golgi intermediate compartment feeds the phagophore membrane [J]. *Autophagy*, 2014, 10 (1): 170–172. DOI: 10.4161/aut.26787.
- [5] Yen WL, Shintani T, Nair U, et al. The conserved oligomeric Golgi complex is involved in double-membrane vesicle formation during autophagy [J]. *J Cell Biol*, 2010, 88 (1): 101–114. DOI: 10.1083/jcb.200904075.
- [6] Mari M, Griffith J, Rieter E, et al. An Atg9-containing compartment that functions in the early steps of autophagosome biogenesis [J]. *J Cell Biol*, 2010, 190 (6): 1005–1022. DOI: 10.1083/jcb.200912089.
- [7] 陈艾, 童煜, 毛萌. 小自噬的研究进展 [J]. *中国病理生理杂志*, 2012, 28 (5): 955–960. DOI: 10.3969/j.issn.1000-4718.2012.05.036. Chen A, Tong Y, Mao M. Advances in microautophagy [J]. *Chin J Pathophysiol*, 2012, 28 (5): 955–960. DOI: 10.3969/j.issn.1000-4718.2012.05.036.
- [8] Glick D, Barth S, Macleod KF. Autophagy: cellular and molecular mechanisms [J]. *J Pathol*, 2010, 221 (1): 3–12. DOI: 10.1002/path.2697.
- [9] Boya P, Reggiori F, Codogno P. Emerging regulation and functions of autophagy [J]. *Nat Cell Biol*, 2013, 15 (7): 713–720. DOI: 10.1038/ncb2788.
- [10] 刘奔, 潘频华. 细胞自噬与脓毒症 [J]. *中国感染控制杂志*, 2014, 13 (12): 764–766. DOI: 10.3969/j.issn.1671-9638.2014.12.019. Liu B, Pan PH. Autophagy and sepsis [J]. *Chin J Infect Dis*, 2014, 13 (12): 764–766. DOI: 10.3969/j.issn.1671-9638.2014.12.019.
- [11] Fujita N, Itoh T, Omori H, et al. The Atg16L complex specifies the site of LC3 lipidation for membrane biogenesis in autophagy [J]. *Mol Biol Cell*, 2008, 19 (5): 2092–2100. DOI: 10.1091/mbc.E07-12-1257.
- [12] Schulze RJ, McNiven MA. A well-oiled machine: DNM2/dynamin 2 helps keep hepatocyte lipophagy running smoothly [J]. *Autophagy*, 2014, 10 (2): 388–389. DOI: 10.4161/aut.27486.
- [13] Yu L, McPhee CK, Zheng L, et al. Termination of autophagy and reformation of lysosomes regulated by mTOR [J]. *Nature*, 2010, 465 (7300): 942–946. DOI: 10.1038/nature09076.
- [14] Levine B, Kroemer G. SnapShot: macroautophagy [J]. *Cell*, 2008, 132 (1): 162.e1–162.e3. DOI: 10.1016/j.cell.2007.12.026.
- [15] Yang YP, Liang ZQ, Gu ZL, et al. Molecular mechanism and regulation of autophagy [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2010, 26 (12): 1421–1434. DOI: 10.1111/j.1745-7254.2005.00235.x.
- [16] Hsu PP, Kang SA, Rameseder J, et al. The mTOR-regulated phosphoproteome reveals a mechanism of mTORC1-mediated inhibition of growth factor signaling [J]. *Science*, 2011, 332 (6035): 1317–1322. DOI: 10.1126/science.1199498.
- [17] Hosokawa N, Hara T, Kaizuka T, et al. Nutrient-dependent mTORC1 association with the ULK1-Atg13-FIP200 complex required for autophagy [J]. *Mol Biol Cell*, 2009, 20 (7): 1981–1991. DOI: 10.1091/mbc.E08-12-1248.
- [18] Hu Z, Yang B, Mo X, et al. Mechanism and regulation of autophagy and its role in neuronal diseases [J]. *Mol Neurobiol*, 2015, 52 (3): 1190–1209. DOI: 10.1007/s12035-014-8921-4.
- [19] Hoyer-Hansen M, Jäättelä M. AMP-activated protein kinase: a universal regulator of autophagy? [J]. *Autophagy*, 2007, 3 (4): 381–383.
- [20] Zheng M, Wang YH, Wu XN, et al. Inactivation of Rheb by PRAK-mediated phosphorylation is essential for energy-depletion-induced suppression of mTORC1 [J]. *Nat Cell Biol*, 2011, 13 (3): 263–272. DOI: 10.1038/ncb2168.
- [21] Tasdemir E, Chiara Maiuri M, Morselli E, et al. A dual role of p53 in the control of autophagy [J]. *Autophagy*, 2008, 4 (6): 810–814. DOI: 10.4161/aut.6486.
- [22] Zalckvar E, Berissi H, Mizrachi L, et al. DAP-kinase-mediated phosphorylation on the BH3 domain of beclin 1 promotes dissociation of beclin 1 from Bcl-XL and induction of autophagy [J]. *EMBO Rep*, 2009, 10 (3): 285–292. DOI: 10.1038/embor.2008.246.
- [23] Pattingre S, Bauvy C, Codogno P. Amino acids interfere with the ERK1/2-dependent control of macroautophagy by controlling the activation of Raf-1 in human colon cancer HT-29 cells [J]. *J Biol Chem*, 2003, 278 (19): 16667–16674. DOI: 10.1074/jbc.M210998200.
- [24] Berridge MJ. Inositol trisphosphate and calcium signaling [M]. New Jersey: Humana Press, 1993: 39–57.
- [25] Cherra SJ, Kulich SM, Uechi G, et al. Regulation of the autophagy protein LC3 by phosphorylation [J]. *J Cell Biol*, 2010, 190 (4): 533–559. DOI: 10.1083/jcb.201002108.
- [26] Mavragkis M, Lippincott-Schwartz J, Stratakis CA, et al. Depletion of type IA regulatory subunit of protein kinase A (PKA) in mammalian cells and tissues activates mTOR and causes autophagic deficiency [J]. *Hum Mol Genet*, 2006, 15 (19): 2962–2967. DOI: 10.1093/hmg/ddl239.
- [27] Nixon RA, Wegiel J, Kumar A, et al. Extensive involvement of autophagy in Alzheimer disease: an immuno-electron microscopy study [J]. *J Neuropathol Exp Neurol*, 2005, 64 (2): 113–122.
- [28] Yu WH, Cuervo AM, Kumar A, et al. Macroautophagy: a novel beta-amyloid peptide-generating pathway activated in Alzheimer's disease [J]. *J Cell Biol*, 2005, 171 (1): 87–98. DOI: 10.1083/jcb.200505082.
- [29] Liu D, Pitta M, Jiang H, et al. Nicotinamide forestalls pathology and cognitive decline in Alzheimer mice: evidence for improved neuronal bioenergetics and autophagy procession [J]. *Neurobiol Aging*, 2013, 34 (6): 1564–1580. DOI: 10.1016/j.neurobiolaging.2012.11.020.
- [30] Caccamo A, Majumder S, Richardson A, et al. Molecular interplay between mammalian target of rapamycin (mTOR), amyloid-beta, and Tau: effects on cognitive impairments [J]. *J Biol Chem*, 2010, 285 (17): 13107–13120. DOI: 10.1074/jbc.M110.100420.
- [31] Hamano T, Gendron TF, Causevic E, et al. Autophagic-lysosomal perturbation enhances tau aggregation in transfectants with induced wild-type tau expression [J]. *Eur J Neurosci*, 2008, 27 (5): 1119–1130. DOI: 10.1111/j.1460-9568.2008.06084.x.
- [32] Lachenmayer ML, Yue Z. Genetic animal models for evaluating the role of autophagy in etiopathogenesis of Parkinson disease [J]. *Autophagy*, 2012, 8 (12): 1837–1838. DOI: 10.4161/aut.21859.
- [33] Cheng HC, Kim SR, Oo TF, et al. Akt suppresses retrograde degeneration of dopaminergic axons by inhibition of macroautophagy [J]. *J Neurosci*, 2011, 31 (6): 2125–2135. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.5519-10.2011.
- [34] Orenstein SJ, Kuo SH, Tasset I, et al. Interplay of LRRK2 with

- chaperone-mediated autophagy [J]. *Nat Neurosci*, 2013, 16 (4): 394–406. DOI: 10.1038/nn.3350.
- [35] Tellez-Nagel I, Johnson AB, Terry RD. Studies on brain biopsies of patients with Huntington's chorea [J]. *J Neuropathol Exp Neurol*, 1974, 33 (2): 308–332.
- [36] Martinez-Vicente M, Tallozy Z, Wong E, et al. Cargo recognition failure is responsible for inefficient autophagy in Huntington's disease [J]. *Nat Neurosci*, 2010, 13 (5): 567–576. DOI: 10.1038/nn.2528.
- [37] Ravikumar B, Vacher C, Berger Z, et al. Inhibition of mTOR induces autophagy and reduces toxicity of polyglutamine expansions in fly and mouse models of Huntington disease [J]. *Nat Genet*, 2004, 36 (6): 585–595. DOI: 10.1038/ng1362.
- [38] Williams A, Sarkar S, Cuddon P, et al. Novel targets for Huntington's disease in an mTOR-independent autophagy pathway [J]. *Nat Chem Biol*, 2008, 4 (5): 295–305. DOI: 10.1038/nchembio.79.
- [39] Kanno H, Ozawa H, Sekiguchi A, et al. Induction of autophagy and autophagic cell death in damaged neural tissue after acute spinal cord injury in mice [J]. *Spine (Phila Pa 1976)*, 2011, 36 (22): E1427–1434. DOI: 10.1097/BRS.0b013e3182028c3a.
- [40] Sakai K, Fukuda T, Iwadata K. Immunohistochemical analysis of the ubiquitin proteasome system and autophagy lysosome system induced after traumatic intracranial injury: association with time between the injury and death [J]. *Am J Forensic Med Pathol*, 2014, 35 (1): 38–44. DOI: 10.1097/PAF.0000000000000067.
- [41] Luo CL, Li BX, Li QQ, et al. Autophagy is involved in traumatic brain injury-induced cell death and contributes to functional outcome deficits in mice [J]. *Neuroscience*, 2011, 184: 54–63. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2011.03.021.
- [42] Viscomi MT, D'Amelio M, Cavallucci V, et al. Stimulation of autophagy by rapamycin protects neurons from remote degeneration after acute focal brain damage [J]. *Autophagy*, 2012, 8 (2): 222–235. DOI: 10.4161/auto.8.2.18599.
- [43] Sarkar C, Zhao Z, Aungst S, et al. Impaired autophagy flux is associated with neuronal cell death after traumatic brain injury [J]. *Autophagy*, 2014, 10 (12): 2208–2222. DOI: 10.4161/15548627.2014.981787.
- [44] Lai Y, Hickey RW, Chen Y, et al. Autophagy is increased after traumatic brain injury in mice and is partially inhibited by the antioxidant γ -glutamylcysteinyl ethyl ester [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2008, 28 (3): 540–550.
- [45] Diskin T, Tal-Or P, Erlich S, et al. Closed head injury induces upregulation of Beclin 1 at the cortical site of injury [J]. *J Neurotrauma*, 2005, 22 (7): 750–762. DOI: 10.1089/neu.2005.22.750.
- [46] Liu S, Sarkar C, Dinizo M, et al. Disrupted autophagy after spinal cord injury is associated with ER stress and neuronal cell death [J]. *Cell Death Dis*, 2015, 6: e1582. DOI: 10.1038/cddis.2014.527.
- [47] Lipinski MM, Wu J, Faden AI, et al. Function and mechanisms of autophagy in brain and spinal cord trauma [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2015, 23 (6): 565–577. DOI: 10.1089/ars.2015.6306.
- [48] Koike M, Shibata M, Tadakoshi M, et al. Inhibition of autophagy prevents hippocampal pyramidal neuron death after hypoxic-ischemic injury [J]. *Am J Pathol*, 2008, 172 (2): 454–469. DOI: 10.2353/ajpath.2008.070876.
- [49] Uchiyama Y, Koike M, Shibata M. Autophagic neuron death in neonatal brain ischemia/hypoxia [J]. *Autophagy*, 2008, 4 (4): 404–408. DOI: 10.4161/auto.5598.
- [50] Wen YD, Sheng R, Zhang LS, et al. Neuronal injury in rat model of permanent focal cerebral ischemia is associated with activation of autophagic and lysosomal pathways [J]. *Autophagy*, 2008, 4 (6): 762–769. DOI: 10.4161/auto.6412.
- [51] Carloni S, Buonocore G, Balduini W. Protective role of autophagy in neonatal hypoxia-ischemia induced brain injury [J]. *Neurobiol Dis*, 2008, 32 (3): 329–339. DOI: 10.1016/j.nbd.2008.07.022.
- [52] Chauhan A, Sharma U, Jagannathan NR, et al. Rapamycin protects against middle cerebral artery occlusion induced focal cerebral ischemia in rats [J]. *Behav Brain Res*, 2011, 225 (2): 603–609. DOI: 10.1016/j.bbr.2011.08.035.
- [53] 周天恩, 曾朝涛, 方家俊, 等. 自噬调节剂对不同时间氧糖剥夺所致大鼠海马神经元损伤的影响 [J]. *中华危重病急救医学*, 2017, 29 (8): 738–743. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2017.08.013.
- Zhou TE, Zeng CT, Fang JJ, et al. Effect of autophagy regulator on the injury of rat hippocampal neurons induced by oxygen-glucose deprivation [J]. *Chin Crit Care Med*, 2017, 29 (8): 738–743. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2017.08.013.
- [54] Lider O, Reshef T, Beraud E, et al. Anti-idiotypic network induced by T cell vaccination against experimental autoimmune encephalomyelitis [J]. *Science*, 1988, 239 (4836): 181–183. DOI: 10.1126/science.2447648.
- [55] Alirezai M, Fox HS, Flynn CT, et al. Elevated Atg5 expression in autoimmune demyelination and multiple sclerosis [J]. *Autophagy*, 2009, 5 (2): 152–158. DOI: 10.4161/auto.5.2.7348.
- [56] Kovacs JR, Li C, Yang Q, et al. Autophagy promotes T-cell survival through degradation of proteins of the cell death machinery [J]. *Cell Death Differ*, 2012, 19 (1): 144–152. DOI: 10.1038/cdd.2011.78.
- [57] Bhattacharya A, Parillon X, Zeng S, et al. Deficiency of autophagy in dendritic cells protects against experimental autoimmune encephalomyelitis [J]. *J Biol Chem*, 2014, 289 (38): 26525–26532. DOI: 10.1074/jbc.M114.575860.

(收稿日期: 2018-02-04)

• 科研新闻速递 •

阿替普酶溶栓治疗轻度缺血性脑卒中的疗效并不优于阿司匹林

超过一半的急性缺血性脑卒中 (ACIS) 患者存在轻度神经功能受损, 表现为用美国国立卫生研究院卒中量表 (NIHSS) 评分为 0~5 分。目前对于如何改善这类患者的临床预后研究较少。为此, 有学者进行了一项 III 期、双盲、安慰剂、多中心临床试验 (PRISMS 试验), 旨在评价阿替普酶对轻微中风患者 (NIHSS 评分 0~5 分) 的有效性及安全性。受试对象为 2014 年 5 月 30 日至 2016 年 12 月 20 日收治于美国 75 家卒中医院的 ACIS 患者 (NIHSS 评分 0~5 分), 研究人员将受试对象随机分为两组, 患者分别在发病后 3 h 内接受阿替普酶标准溶栓治疗 (0.9 mg/kg 静脉滴注; $n=156$) 或阿司匹林治疗 (325 mg 口服, $n=157$)。主要评价指标为 90 d 预后功能较好的患者比例 (改良 Rankin 量表评分 0~1 分)。结果显示: 共有 313 例来自 53 家美国卒中医院的患者纳入了该研究, 男性 169 例 (占 54.0%), 女性 144 例 (占 46.0%); 平均年龄 62 岁; 中位 NIHSS 评分 2 (1, 3) 分; 发病至治疗的中位时间为 2.7 (2.1, 2.9) h。90 d 后, 阿替普酶组中有 122 例患者 (78.2%) 预后功能较好, 而阿司匹林组中有 128 例患者 (81.5%) 预后功能较好 [两组间风险差为 -1.1%, 95% 可信区间 (95%CI) = -9.4% ~ 7.3%]。阿替普酶组有 5 例患者 (3.2%) 出现症状性脑出血不良事件, 而阿司匹林组无症状性脑出血不良事件发生 (两组间风险差为 3.3%, 95%CI = 0.8% ~ 7.4%)。研究人员据此得出结论: 对于轻度非致残性 ACIS 患者, 相比于阿司匹林, 阿替普酶溶栓治疗并不能提高患者 90 d 功能预后, 反而会增加脑出血的风险。

罗红敏, 编译自《JAMA》, 2018, 320 (2) : 156–166