

DOI: 10.13376/j.cbls/2021018

文章编号: 1004-0374(2021)02-0154-12

线粒体结构和功能改变对阿尔茨海默病发生的影响

安超群^{1#}, 杨友涵^{1#}, 魏 珍^{1,2#}, 曾 燕^{1*}

(1 武汉科技大学脑科学先进技术研究院, 武汉 430065;

2 武汉科技大学职业危害识别与控制湖北省重点实验室, 武汉 430065)

摘要: 阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)是一种以进行性认知障碍和行为损害为主要特征的神经退行性疾病, 主要临床表现为认知功能障碍, 同时伴发精神障碍和情绪障碍。AD患者脑中早期即表现出细胞内线粒体功能紊乱和结构变化, 纠正线粒体稳态失衡及由其引起的细胞病理改变可能是早期治疗AD的潜在靶点。该文主要对线粒体膜、线粒体相关内质网膜和线粒体呼吸链的结构与功能改变在AD病理进程中的意义和生物学影响进行综述。

关键词: 阿尔茨海默病; 线粒体; 线粒体膜; 线粒体相关内质网膜; 线粒体呼吸链

中图分类号: R749.16 **文献标志码:** A

Effects of abnormal mitochondrial structure and function on the occurrence of Alzheimer's disease

AN Chao-Qun^{1#}, YANG You-Han^{1#}, WEI Zhen^{1,2#}, ZENG Yan^{1*}

(1 Brain Science and Advanced Technology Institute, Wuhan University of Science and Technology, Wuhan 430065, China; 2 Hubei Province Key Laboratory of Occupational Hazard Identification and Control,

Wuhan University of Science and Technology, Wuhan 430065, China)

Abstract: Alzheimer's disease (AD) is a neurodegenerative disease characterized by progressive cognitive impairment and behavioral impairment. The main clinical manifestations of AD are cognitive dysfunction, accompanied by mental and emotional disorders. In this review, we will systematically summarize the biological effects of structural and functional changes of mitochondria, including mitochondrial membranes, mitochondria-associated endoplasmic reticulum membranes and mitochondrial respiratory chain, on the pathological process of AD, and highlight the potential therapeutic applications for early treatment of AD.

Key words: Alzheimer's disease; mitochondria; mitochondrial membranes; mitochondria-associated ER membranes; mitochondrial respiratory chain

随着人口老龄化进程加快, 痴呆症已经成为继心血管疾病和癌症之后威胁人类健康的第三大杀手。据国际阿尔茨海默病协会(Alzheimer's Disease International, ADI)统计, 截至2019年, 全球大约有超过5 000万痴呆患者; 预计到2050年, 这一数字将增加到1.52亿, 每3秒将会增加一位患者^[1]。目前, 全球每年用于痴呆症的花费大约为1万亿美元, 到2030年这个数字将翻一番, 增至2万亿美元^[2]。阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)引起的痴呆症占总病例的50%~75%^[3], 是痴呆症的主要病因, 全球

约11%的65岁及以上老人和将近50%的85岁及以上老人受到AD的影响^[4]。而超过90%的AD患者还可能伴随有不同程度的失眠、抑郁、易怒、攻击性行

收稿日期: 2020-09-01; 修回日期: 2020-11-18

基金项目: 国家自然科学基金项目(81771488); 职业危害识别与控制湖北省重点实验室开放基金青年人才项目(OHIC2019Y03); 湖北省大学生创新创业训练计划项目(S202010488033)

[#]共同第一作者

*通信作者: E-mail: yanzeng11@foxmail.com

为和幻想妄想等精神行为症状(behavioral and psychological symptoms of dementia, BPSD)^[5], 这些症状可加快疾病进程, 加剧认知功能的降低^[6-7], 给其照护者们带来巨大的精神压力和经济负担。现今, 用于AD的花费已经超过癌症和心血管疾病, AD已逐渐成为人类不能忽视的公共卫生问题, 给世界经济带来严重的损失^[8]。

大量证据表明, AD患者及其动物模型脑中早期即表现出细胞内线粒体膜(mitochondrial membranes)和线粒体相关内质网膜(mitochondria-associated ER membranes, MAM)等超微结构变化, 以及线粒体酶活性异常和氧化代谢功能紊乱。本文主要综述了线粒体膜、线粒体相关内质网膜和线粒体呼吸链(mitochondrial respiratory chain, MRC)的结构与功能改变在AD病理进程中的意义和生物学影响。

1 AD病理特征

AD是一种复杂的神经退行性疾病, 严重影响老年人的认知功能, 主要是学习记忆能力^[9]。AD患者的主要病理特征是大脑中存在老年斑(senile plaque, SP)和神经纤维缠结(neurofibrillary tangles, NFTs), 以及出现明显的神经元死亡^[10-11]。SP是淀粉样 β 肽(β -amyloid peptide, A β)的丝状聚集体, 而NFTs的主要成分是高度磷酸化的微管相关蛋白Tau (p-Tau)^[10]。AD主要有两种类型: (1)家族性聚集发病且通常发病年龄在65岁以下的家族性AD (familial AD, FAD); (2)无家族性发病且通常发病年龄在65岁以上的散发性AD (sporadic AD, SAD)^[12]。FAD属于常染色体显性遗传疾病, 由早老素-1 (presenilin 1, PS1)、早老素-2 (presenilin 2, PS2)和(或)淀粉样前体蛋白(amyloid precursor protein, APP)突变造成, PS1和PS2是 γ -分泌酶的酶促活性成分, 与 β -分泌酶一起加工APP产生A β ^[13]。FAD占有AD患者的1%, 其临床症状出现早于SAD, 通常发现于30~50岁的人群^[13-14]。SAD的主要病因是由于A β 正常生成而清除机制失效, 导致大脑中A β 大量沉积^[15]。SAD发病涉及多种因素, 其中最重要的遗传危险因素是载脂蛋白E的亚型4 (ApoE4)基因; 与ApoE3基因亚型相比, ApoE4基因亚型可显著增加AD的发生风险, 并通过内体途径改变APP的运输^[16-17]。

AD的临床表现为: (1)记忆力逐渐衰退, 影响日常生活; (2)对熟悉事情的处理感到困难; (3)时间、地点以及人物的记忆混淆; (4)语言表达能力出

现障碍; (5)判断力减退; (6)常把东西错放在不适当处; (7)失去分辨事物以及理解抽象思维的能力; (8)情绪和性格的变化, 包括冷漠和抑郁; (9)焦虑和睡眠障碍增加^[4]。AD会逐渐使患者丧失独立生活的能力, 最终导致其死亡。

在AD被发现的一百多年以来, 科学界对于该疾病的认识仍然很粗浅。在这一百多年里, 提出了一系列假说, 经过了体外实验、动物实验以及无数的临床试验, 但到目前为止依然无法清晰地解释AD的发生机制^[18-20]。1992年, Hardy和Higgins^[21]正式提出“淀粉样级联假说”。该假说认为: A β 在脑内沉积是AD病理改变的起始和中心环节, 从而诱发A β 斑块、Tau磷酸化、神经纤维缠结和神经元死亡等一系列病理过程, 而这些病理过程又进一步促进A β 沉积, 形成级联式放大效应, 最终患者认知能力下降^[22]。在过去的30年里, 此假说一直占据着AD研究领域的主导地位。但由于所有基于该假说的药物研发项目在III期临床试验阶段均宣告失败^[19], 而且“淀粉样级联假说”无法对一些临床现象进行解释, 例如, 有些老年人脑内存在A β 的累积, 但并未发现明显的AD临床症状, 且A β 水平升高未引起明显的神经变性和其他临床症状^[23-25], 因此淀粉样级联假说需要大力修正, 或许与其他假说相结合是未来AD治疗的趋势。

脑神经元损伤可能在临床症状出现之前20~30年就已经开始^[26], 而氧化应激是导致神经元损伤的重要原因之一, 是AD病理过程的早期事件^[27-28]。线粒体作为活性氧(reactive oxygen species, ROS)的主要生产车间, 与氧化应激关系密切; 而且, 线粒体功能障碍是AD患者脑内神经元最早和最显著的特征之一^[29]。因此, 了解线粒体在AD中的作用, 对于解析AD的发病机制有着重要的理论与临床意义。

2 AD中线粒体形态异常且功能障碍

线粒体是一种存在于大多数细胞中的由两层膜包被的细胞器, 是细胞的能量工厂, 也是细胞进行有氧呼吸的主要场所。在主导神经冲动传递的突触结构内含有大量线粒体, 这为神经递质的释放提供了能量。作为一种高度动态的细胞器, 线粒体通过快速可逆的裂变和融合, 其形状可以从巨大的管状网络转变为小型圆的实体^[10]。线粒体外膜(outer membrane, OMM)可以自由渗透小分子和离子, 将线粒体内部与细胞的其他部分分离, 为线粒体与其他细胞器的交流互动提供了平台; 线粒体内膜

(inner membrane, IMM)对大多数分子和离子都不可渗透,存在电子传递链(electron transport chain, ETC)、三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)合成酶、二磷酸腺苷(adenosine diphosphate, ADP)/ATP转位酶和许多其他膜传递系统^[30]。IMM与OMM一起将线粒体分成两个主要的亚空间:一个内空间,即线粒体基质(mitochondrial matrix);一个外膜与内膜之间的小区域,即线粒体膜间隙(inter-mitochondrial space, IMS)。而IMM延伸到线粒体中央室的管状或片状结构,被称为嵴^[31],它增加了内膜表面积,从而最大限度地发挥线粒体合成生物能量的功能^[30]。线粒体功能在细胞代谢中起着核心作用,线粒体功能紊乱与多种疾病(如AD、帕金森病、癌症、心血管病和糖尿病等)的发生息息相关^[11, 32]。

有研究表明,轻度认知障碍(mild cognitive impairment, MCI)患者和AD患者大脑的颞叶和顶叶葡萄糖利用率与年龄相仿的正常人相比降低更为严重^[17]。ROS含量增加和线粒体动态平衡失调被认为是AD相关病理学的原因和后果^[10]。同时可以在AD脑中观察到线粒体状态异常:比如,在FAD和SAD患者脑中均观察到线粒体形态异常、线粒体的分裂和分布异常、线粒体呼吸链复合物蛋白表达和酶活性降低、ATP产量下降、ROS生成增多^[33-39]。约90%的AD患者为SAD,而SAD最重要的遗传危险因素为ApoE4。在SAD中,ApoE4下调了线粒体动力学水平,并降低ETC蛋白的表达以及活性^[40-41]。在ApoE4携带者和ApoE4 Tg小鼠海马中,线粒体融合蛋白1(mitofusin 1, Mfn1)、Mfn2以及动力相关蛋白1(dynammin-related protein1, Drp1)表达降低^[40-41]。在年轻的非痴呆ApoE4携带者大脑中,线粒体内细胞色素氧化酶(cytochrome oxidase, COX)活性明显降低^[42-43];在ApoE4携带者颞上回脑区和ApoE4 Tg小鼠初级视觉皮层和海马中,组成ETC复合物I、III、IV和V的蛋白显著下调而且酶活性明显降低,线粒体功能下降^[44-46]。而在线粒体呼吸链功能异常年轻的ApoE4携带者脑内并未发现高水平的毒性A β 和Tau,表明细胞内代谢异常可能比毒性A β 累积和Tau失调提前出现,这些现象表明线粒体代谢异常在AD病理学中起着关键的上游作用^[47]。

一方面,线粒体功能障碍促进A β 生成和累积^[48]。有研究表明,线粒体功能障碍导致细胞ATP产生不足,促使APP更倾向于剪切成A β ^[49-51],诱导单磷酸腺苷活化蛋白激酶[adenosine 5'-monophosphate (AMP)-activated protein kinase, AMPK]磷酸化激活

(P-AMPK),诱导p-Tau增加^[52]。利用线粒体复合物抑制剂和线粒体解偶联剂分别处理成纤维细胞,均可促进APP分解为A β 及其衍生物,导致Tau表达升高,p-Tau增加^[53-54]。利用线粒体激动剂处理3 \times Tg AD小鼠,可改善小鼠脑中A β 和p-Tau的病理水平和认知功能障碍^[55]。具有原发性线粒体DNA(mitochondrial DNA, mtDNA)突变的患者表现出明显的认知缺陷,这与AD常见临床表征相似,表明神经元对于线粒体缺陷高度敏感^[56-57]。在APP/Ld Tg小鼠模型中,随着年龄的增长,mtDNA突变的增加促进了A β 生成和累积^[58]。

另一方面,AD病理生理标记物(如A β 与Tau)会直接作用于线粒体,导致线粒体功能障碍进一步恶化。早在A β 大量沉积于细胞外之前,年轻AD模型小鼠的突触线粒体中就显示出A β 的显著积聚^[59],而线粒体是AD患者和AD模型小鼠神经元中A β 积聚的直接位点^[60]。A β 和线粒体中的A β 相关乙醇脱氢酶(A β -binding alcohol dehydrogenase, ABAD)之间相互作用的增强,加剧了A β 对线粒体和整个神经元的毒性^[47]。通过对AD患者和APP Tg、APP/PS1 Tg和3 \times Tg的AD模型小鼠脑皮质组织进行检测,发现A β 以及p-Tau与Drp1相互作用,促进线粒体自噬和分裂,线粒体融合减少,可能导致线粒体分裂异常^[11, 61-62]。A β 聚集体(可能是可溶性A β 寡聚体)可导致AD患者线粒体Ca²⁺超载,引起线粒体内Ca²⁺失衡,线粒体膜电位($\Delta\Psi_m$)降低,进而导致神经元凋亡^[60]。同时,p-Tau会导致线粒体 $\Delta\Psi_m$ 降低,引起氧化应激^[63],且处于NFTs的神经元存在更为严重的线粒体分布缺陷^[64]。而A β 作用于正常细胞时,也可引起线粒体功能障碍:如用A β_{25-35} 处理雄性Wistar小鼠的突触体,发现其突触小体的超微结构发生改变,突触小体数量减少,出现多形性囊泡,肿胀的突触小体中线粒体氧化还原能力降低^[65];而用A β_{40} 处理后,突触小体中 $\Delta\Psi_m$ 降低、Ca²⁺超载和ROS生成增加^[66]。在APP Tg或Tau Tg的AD模型小鼠中检测发现,与线粒体生物发生相关的蛋白[如:过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 辅激活因子1 α (peroxisome proliferator-activated receptor γ coactivator 1 α , PGC-1 α)、核呼吸因子1(nuclear respiratory factor 1, NRF1)、NRF2和线粒体转录因子A(transcription factor A, mitochondrial, TFAM)]的mRNA与蛋白水平降低^[67-70]。此外,ApoE4可以与AD病理生理标记物作用,增强其生物毒性。ApoE4可与A β 结合,增强其神经毒性。ApoE4结合A β 可导致A β 清除率降低和

沉积增加, 增加Tau的磷酸化程度, 损伤线粒体, 引起突触障碍, 加剧神经变性^[22, 71-73]。

以上证据表明, AD脑中线粒体形态异常和功能障碍以及线粒体病变与AD的发生发展密切相关。因此, 一个新的AD病理机制假说——“线粒体级联假说”^[33]逐渐引起重视。A β 沉积形成SP前, 就已经可以检测到能量代谢缺陷和氧化应激的增加, 以及线粒体形态异常^[12, 61-62, 74]。这表明线粒体功能可能影响APP的表达、加工以及SAD中A β 的积累。

“线粒体级联假说”作为“淀粉样级联假说”的补充, 不依赖于A β 与Tau是否以其任何形式导致AD功能障碍或变性, 而是认为线粒体功能状态改变了A β 与Tau的生成、修饰、累积以及寡聚物的形成^[75], 并认为能量代谢缺陷与过度氧化应激这两种AD脑内的表型是线粒体内ATP合成减少和ROS生成增加的直接后果^[12, 74], 线粒体功能障碍可能是AD最上游的病理改变。

3 线粒体结构功能改变促发AD早期病理表现

线粒体对细胞或组织的存活和分化起着重要的作用, 从ATP产生到ROS生成、脂肪酸分解、离子稳态和细胞凋亡, 线粒体都在其中扮演重要角色^[31]。目前可行性和可信性较高的AD诊断手段是检测患者脑脊液(cerebrospinal fluid, CSF)中的AD病理生理标记物, 以及利用正电子发射断层扫描(positron emission tomography, PET)对SP和NFTs进行影像学分析^[76]。然而, 在SP和NFTs这两个明显诊断特征出现之前, 胆固醇和磷脂代谢紊乱、Ca²⁺失衡以及能量代谢缺陷等病理表现已经开始在AD患者脑中出现。这些AD早期病理表现与线粒体相关内质网膜、线粒体膜和线粒体呼吸链的结构及功能关系密切。

3.1 线粒体膜功能受AD相关蛋白影响并促成AD病理发生

线粒体内外膜的主要组成部分是磷脂, 且OMM与IMM的脂质组成有着显著差异。线粒体的标志性脂质心磷脂(cardiolipin)富集于IMM, 含量为15%~20%, 与许多线粒体蛋白相互作用并调节其功能, 如脂质心磷脂与Drp1调控IMM的分裂^[31]。脂质心磷脂是IMM锚定呼吸链复合物以及ATP合酶正常组装所必需的, 它能稳定呼吸链超复合物, 促进呼吸链活性, 从而调节ATP的生成^[31, 77]。

线粒体和其他细胞器之间的通讯是通过OMM

实现的。离子和小分子直接通过高渗透性、非特异性的电压依赖性阴离子通道(voltage dependent anion channel, VDAC)进行交换^[78]; 大分子(特别是蛋白质)必须通过转位蛋白复合物导入线粒体^[79], 如外膜转位蛋白(translocase of the outer membrane, TOM), 它是主要的蛋白质输入通道, 运输大量带正电荷靶向序列的蛋白质^[79]。A β 进入线粒体似乎也是依赖TOM的转位作用(图1), 因为针对TOM(目前主要是TOM20、TOM40和TOM70)的抗体可以阻止A β_{40} 和A β_{42} 进入线粒体。在AD患者和APP Tg、APP/PS1 Tg或3 \times Tg的AD模型小鼠脑中, A β 和磷酸化的Tau与VDAC之间存在物理联系, 能阻断线粒体通透性转换通道(mitochondrial permeability transition pore, mPTP), 导致线粒体功能障碍^[80]。IMM上富含参与离子运输[即线粒体钙单向转运体(MCU)、Ca²⁺/Na⁺交换体]和代谢物运输(即丙酮酸载体、ATP/ADP交换体)的载体蛋白; 而蛋白质的运输主要依赖两种内膜转位蛋白(translocase of the inner membrane, TIM)——TIM22和TIM23^[31]。在AD脑中, 线粒体内的TOM和TIM可以与APP形成稳定的转位中间复合物(图1), 从而阻断由细胞核编码的细胞色素C氧化酶IV亚基和Vb亚基以及其他线粒体靶向蛋白导入线粒体, 导致细胞色素C氧化酶活性降低和H₂O₂水平升高^[10, 81-82]。

线粒体在维持细胞内Ca²⁺稳态中起着至关重要的作用, 而这需要通过位于线粒体膜上的离子通道才能实现。胞浆中的Ca²⁺可以通过位于OMM上的VDAC进入IMS, 而Ca²⁺从IMS内流入线粒体基质需要IMM中的MCU, 从线粒体基质外流到IMS则通常由Na⁺/Ca²⁺/Li⁺交换体来完成^[83]。线粒体内Ca²⁺水平对细胞生物能量合成非常重要。已知TCA循环的三个关键酶(丙酮酸脱氢酶、 α -酮戊二酸脱氢酶、异柠檬酸脱氢酶)是钙依赖性的^[84]: 丙酮酸脱氢酶依赖Ca²⁺进行脱磷酸化作用而被激活, 而 α -酮戊二酸脱氢酶和异柠檬酸脱氢酶可以直接被Ca²⁺激活^[85]。

虽然说线粒体基质中Ca²⁺的微量增加可以激活ATP合成, 但Ca²⁺超载会导致 $\Delta\Psi_m$ 紊乱, 扰乱正常线粒体功能, 并触发凋亡相关通道mPTP的打开^[83]。mPTP是一种由F₁F₀-ATP合成酶的c环和VDAC连接形成孔道, 腺嘌呤核苷酸转位酶(adenine nucleotide translocase, ANT)、寡霉素敏感性相关蛋白(oligomycin sensitivity conferring protein, OSCP)和线粒体磷酸盐载体(phosphate carrier, PiC)参与形成的通透性转换通道^[86](图1)。当mPTP打开时, Ca²⁺从线粒体基质

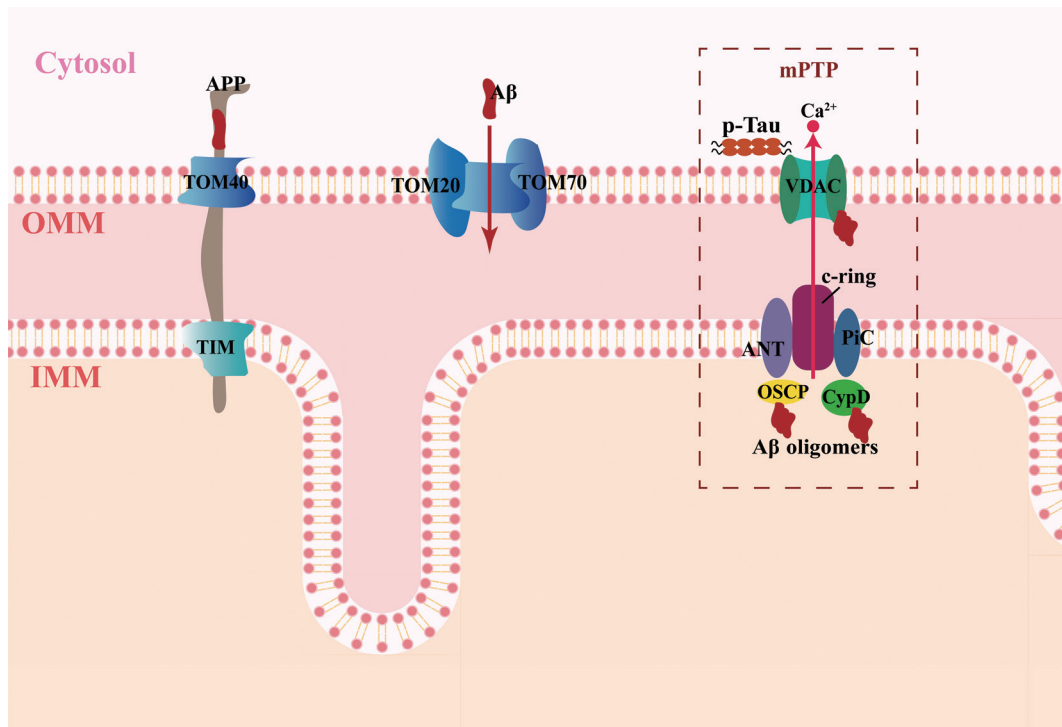


图1 APP和A β 进入线粒体的方式以及AD中mPTP的结构变化

中释放, 导致 $\Delta\Psi_m$ 降低, OMM渗透肿胀和破裂^[87]。通过研究 F_1F_0 -ATP合成酶在mPTP形成中的作用发现, 在AD中 F_1F_0 -ATP合成酶的异常调节确实激活了mPTP, 如果针对性地对 F_1F_0 -ATP合成酶的功能进行恢复治疗能减轻A β 所造成的神经元突触损伤^[88]。亲环蛋白D (cyclophilin D, CypD)是mPTP的关键调控因子^[27], 它是一种肽脯基氨酰异构酶F, 定位于线粒体基质, 细胞应激促进CypD向IMM的转移, 这是mPTP开放的关键事件^[87]。研究发现, 通过敲除CypD基因来阻断mPTP, 可以保护AD模型小鼠, 使其免于出现A β 引起的线粒体功能障碍以及突触传递缺陷^[27]。

AD中mPTP的不正常持续开放既是内质网(ER)对线粒体 Ca^{2+} 输入增加的正反馈调控结果, 也是因为A β 寡聚体与CypD或OSCP的相互作用, 这更有利于mPTP的形成^[83]。mPTP开放的持续增加将会严重损伤线粒体的功能, 最终导致细胞凋亡或死亡。这种严重后果主要通过以下途径造成: (1)线粒体基质中离子紊乱(包括 Ca^{2+} 稳态)再度恶化; (2)质子梯度被破坏, ATP合成进一步降低; (3)氧化还原平衡紊乱, ROS释放增加; (4)释放促凋亡和坏死因子^[83]。细胞色素C是最常见的由线粒体释放的促凋亡因子。mPTP持续开放, OMM通透性增加, 可促进细胞色素C从线粒体释放到胞浆从而激活Caspases,

协调促进细胞死亡^[89-90]。

3.2 线粒体相关内质网膜结构与功能改变促进AD病理发生

线粒体相关内质网膜MAM是ER中一个特殊的动态域, 与ER的其他亚区不同, 它具有脂质筏(lipid rafts, LRs)的特征, 富含胆固醇和鞘磷脂(sphingomyelin, SM)^[91]。线粒体与ER之间存在直接由“系链”结构来维持的物理联系, 这种结构主要由位于ER上的Mfn2与位于线粒体上的Mfn1/2连接, 同时ER上的1,4,5-三磷酸肌醇受体(inositol 1,4,5-trisphosphate receptors, IP₃Rs)通过葡萄糖调节蛋白75 (glucose regulated protein 75, Grp75)与线粒体OMM上的VDAC相互作用形成的^[85,92](图2)。MAM上的“系链”结构往往有6个或者更多集中出现, 并且长短不一^[93]。与滑面ER连接的系链长度约10 nm, 与糙面ER连接的系链长度约为25 nm^[93]。ApoE4和PS (特别是突变型)都可以增强这种ER与线粒体之间的物理联系, 以此来调节MAM功能^[91,94-95]。

MAM对于发生在线粒体和ER的生化过程是至关重要的, 富集或定位于MAM中的蛋白质负责整合多种细胞功能: 脂质代谢(如磷脂酰丝氨酸合成酶)、胆固醇代谢(如酰基辅酶A和类固醇激素合成急性调节蛋白)、 Ca^{2+} 稳态(如IP₃Rs)以及线粒体形态(如Drp1)和功能的维持(如VDAC)^[96]。值得注意的

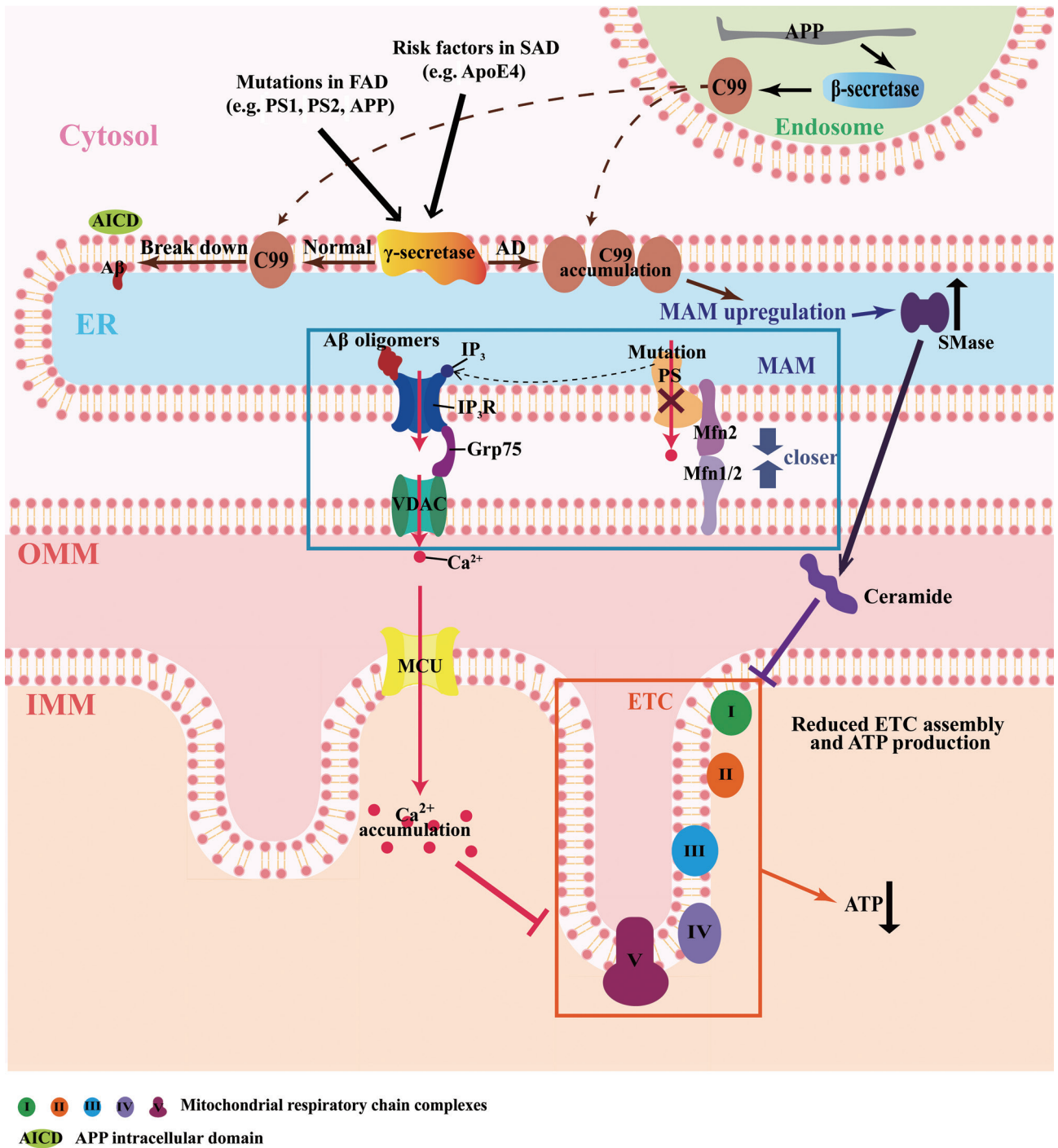


图2 线粒体与内质网直接的“系链”结构与AD中Ca²⁺的调节改变

是, 这些MAM参与的生化调节在AD患者脑内通常都是异常的。

PS1和PS2以及γ-分泌酶的活动主要位于MAM^[97-98](图2), 并且至少一种已知的MAM定位酶, 如酰基辅酶A:胆固醇酰基转移酶1 (acyl-CoA: cholesterol acyltransferase 1, ACAT1), 似乎是产生Aβ所必需的^[74]。全长APP (约700个氨基酸)的剪切

修饰主要通过两个途径完成: 非淀粉样蛋白生成途径和淀粉样蛋白生成途径。在非淀粉样蛋白生成途径中, 全长APP首先被α-分泌酶裂解, 产生一个长的可溶性N末端片段(sAPPα)和一个短的由83个氨基酸组成的膜结合C末端片段(C83); C83被γ-分泌酶切割产生两种肽: P3和APP细胞内结构域(APP intracellular domain, AICD)^[74]。在淀粉样蛋白生成途

径中, 全长APP首先被内体中的 β -分泌酶裂解, 产生一个稍短的可溶性N末端片段(sAPP β)和一个稍长的由99个氨基酸组成的膜结合C末端片段(C99)^[99]; C99传递至MAM被 γ -分泌酶裂解产生两种肽: A β 和AICD。正常情况下, C99被迅速切割成A β_{40} 。而在PS突变的情况下, C99被切割成比A β_{40} 更易产生淀粉样蛋白聚集和神经毒性的A β_{42} , 并且A β_{42} :A β_{40} 比率随AD进程逐渐增加^[74, 83]。如果AD中 γ -分泌酶活性被抑制, 会导致C99的积累; 而抑制 β -分泌酶的活性, 则会减少C99的形成^[91, 100]。不管是在AD的细胞/动物模型还是FAD/SAD患者的细胞中, 未被切割的A β 前体C99在MAM处的浓度显著增加, 影响MAM结构和功能^[91, 100]。

C99在MAM的积累增强了ER亚区内鞘磷脂酶(sphingomyelinase, SMase)的活性(图2), 促进SM水解为神经酰胺(ceramide)^[100]。神经酰胺不仅是促凋亡分子, 还可以作为线粒体呼吸的抑制剂, 影响呼吸链超复合物形成, 导致其活性降低^[100-101], 从而使细胞处于能量缺陷的状态。通过抑制神经酰胺合成途径来降低细胞中的神经酰胺水平, 可以修复这种能量缺陷^[100]。然而, 由C99累积造成的能量缺陷并不能通过添加相应生理浓度的A β_{42} :A β_{40} 、A β_{42} 寡聚体或AICD的过度表达来复制^[74]。这说明AD的生物能量缺陷仅仅是由于C99在MAM的积累引起的鞘脂周转增加和神经酰胺含量增加所致; 而且神经酰胺在线粒体中积累到一定程度时, 会在OMM上形成通道, 使线粒体内可溶性蛋白质转移到细胞质中^[99]。

在敲除PS的小鼠胚胎成纤维细胞(mouse embryonic fibroblasts, MEF)中发现, 酸性鞘磷脂酶(acid sphingomyelinase, aSMase)和中性鞘磷脂酶(neutral sphingomyelinase, nSMase)活性增加, 同时nSMase2的表达上调^[100]。nSMase对富含阴离子磷脂的膜表现出更强的亲和力, 与磷脂酰丝氨酸(phosphatidylserine, PtdSer)结合后, nSMase2的活性增强^[102]。PtdSer-磷脂酰乙醇胺(phosphatidylethanolamine, PtdEtn)-磷脂酰胆碱(phosphatidylcholine, PtdCho)可以相互转化合成, 这种转换发生在不同的亚细胞区室内^[103]。在MAM中, PtdSer从ER转移到线粒体, 在线粒体中转化为PtdEtn; 然后, PtdEtn返回ER, 转化为PtdCho或者PtdSer^[85, 91, 94]。PtdEtn与许多线粒体蛋白相互作用, 影响线粒体氧化磷酸化复合物的稳定性, 并稳定线粒体的形态^[103]。值得注意的是, 对于其他细胞器来说, 线粒体是

PtdEtn的主要供应商^[104]。在突变型PS细胞和FAD/SAD成纤维细胞中, PtdSer和PtdEtn的合成和运输显著增加, 这可能与MAM功能上调有关^[91]。

MAM具有LRs的特性, 调节胆固醇代谢是决定其结构和功能的重要因素。MAM中胆固醇含量受到严格控制, 过量的胆固醇可能被胆固醇羟化酶氧化, 或被MAM中常驻的ACAT1转化为胆固醇酯(cholesteryl ester), 储存在细胞质脂滴中^[105]。研究发现, FAD(PS1、PS2和APP突变)和SAD患者的成纤维细胞中胆固醇酯含量高于相应的对照细胞^[91]。AD患者体内由于MAM功能过度活化导致的胆固醇酯含量升高, 会促进APP被 β -分泌酶水解, 因为 β -分泌酶与 γ -分泌酶的活性都受到细胞内胆固醇浓度的影响, 而且 γ -分泌酶活性还受游离胆固醇与胆固醇酯比率的调控^[94]。

线粒体与ER之间物理联系的改变可以调节细胞内Ca²⁺稳态。MAM上存在大量Ca²⁺转运蛋白, 如Ca²⁺-ATPase、Sigma-1受体、兰尼碱受体(ryanodine receptors, RyRs)和IP₃R^[83]。位于MAM的PS可以与ER上的Ca²⁺调节蛋白相互作用^[106], 并且PS本身就可以形成Ca²⁺被动流失的“泄漏”通道^[107-108](图2)。FAD中大部分PS突变会丧失这种Ca²⁺“泄露”功能, 而突变型PS1- Δ E9是唯一似乎起着“增益”作用的“超泄漏”通道^[107]。大部分突变型PS导致的被动流失功能缺陷会引起ER中Ca²⁺过度积累, 从而通过RyR和IP₃R释放Ca²⁺^[106]。IP₃R释放的Ca²⁺可直接通过VDAC进入线粒体, 进而对线粒体的离子稳态产生影响^[85], 造成ATP减少。并且ER与线粒体的接触增加也会扰动MAM中Ca²⁺的浓度^[83]。这种Ca²⁺储备紊乱连同其他受干扰的细胞内信号可对神经元产生复杂影响。

MAM参与的APP水解产物C99的积累、磷脂与胆固醇代谢以及Ca²⁺稳态等一系列生化反应的改变是AD患者所共有的, 并早发于SP和NFTs^[13]。因此, ER与线粒体接触增加以及引起的MAM功能过度活化是AD病理前的共有生理改变, 针对MAM的结构和功能制定干预策略和进行药物设计也许是一种新的延缓AD进程的方法。

3.3 线粒体呼吸链活性下降促进AD病理发生

线粒体作为细胞的“能量工厂”, 其主要功能是通过氧化磷酸化与细胞呼吸的耦合产生ATP, 这个过程由线粒体呼吸链MRC(又称ETC)来完成。线粒体呼吸链由五种酶复合物组成: NADH-CoQ还原酶(复合物I)、琥珀酸CoQ还原酶(复合物II)、泛醌

细胞色素C还原酶(复合物III)、细胞色素C氧化酶(复合物IV)和F₁F₀-ATP合成酶(复合物V)。在呼吸过程中, 在复合物I参与反应的NADH与在复合物II参与反应的FADH₂共同提供电子, 通过辅酶Q转移到复合物III和复合物IV^[109]。MRC的小部分电子(主要在复合物I和复合物III)与氧气(O₂)反应, 并通过酶促反应和非酶促反应生成ROS^[81]; 在复合物IV中, 电子与O₂反应生成H₂O^[99, 109](图3)。嵌入IMM的复合物I、III和IV将质子(H⁺)从线粒体基质转移到线粒体膜间隙中, 形成质子梯度^[99]。这种质子梯度驱动复合物V合成ATP, 从而完成氧化磷酸化过程^[110]。

在死后AD患者大脑的新皮质、海马以及脉络丛上皮细胞中发现, 线粒体复合物I至IV的活性降低^[27, 111], 并且在经过A β 处理的大鼠脉络丛上皮细胞中也发现了这种降低^[111]。高磷酸化的Tau特异性地损害线粒体呼吸链复合物I^[112-113](图3)。对Tau P301L突变型转基因小鼠脑蛋白的分析显示, MRC复合物成分如复合物V和复合物I活性降低^[10]。有研究发现, A β ₄₂寡聚体以铜依赖的方式抑制复合物IV^[114]。在过度表达人源APP的AD动物模型新皮质中也发现了线粒体复合物IV的降解^[27]; 用A β 处理人神经母细胞瘤细胞后, 发现复合物IV亚单位的mRNAs水平下调^[111]。对死后AD患者的浦肯野神经元中COX IV和COX II的蛋白水平进行分析发现, 与正常同龄人相比, 其表达水平明显降低^[57]。有研究表明A β 能与血红素基团结合, 降低其在细胞内的生物利用度, 并产生过氧化物酶。而血红素基团的

减少会加剧复合物IV的缺乏, 因为血红素-A对于复合物IV的组装是必要的^[111]。在AD病理状态下复合物V的功能异常, 这种异常与OSCP亚单位的缺失以及OSCP与A β 的相互作用有密切关系。此外, MRC缺陷不仅仅局限于AD敏感的脑区, 在MCI和AD患者的血小板中同样检测到复合物IV活性降低^[115], 这表明MRC缺陷是AD的一个系统性改变。

4 总结

越来越多的研究结果证明了线粒体缺陷在AD突触损伤和氧化损伤中起到关键作用。“线粒体级联假说”作为目前流行的“淀粉样级联假说”的重要补充, 将APP及其相关蛋白与SAD联系起来, 提出线粒体功能障碍可能是AD病理中的上游事件, 为了解AD的发病机制提供了另一条新途径。线粒体在突触传递过程中起着关键作用, 其形态和功能异常将会导致胆固醇和磷脂代谢紊乱、Ca²⁺失衡、ROS水平增加以及能量代谢缺陷等细胞功能障碍, 且这些都被发现于AD早期病理进程中。线粒体功能障碍会促进AD病理生理标记物的产生和累积, 而AD病理生理标记物又可以直接作用于线粒体进一步引起线粒体功能障碍, 形成恶性循环。显然研究线粒体是了解AD早期病理机制的一个越来越有趣的方向。线粒体在AD中发挥的作用主要是通过线粒体膜、线粒体相关内质网膜和线粒体呼吸链这三个关键结构来实现的, 对这些关键结构进行深入剖析, 有助于为AD的早期干预和药物治疗提供新思路和新靶点。

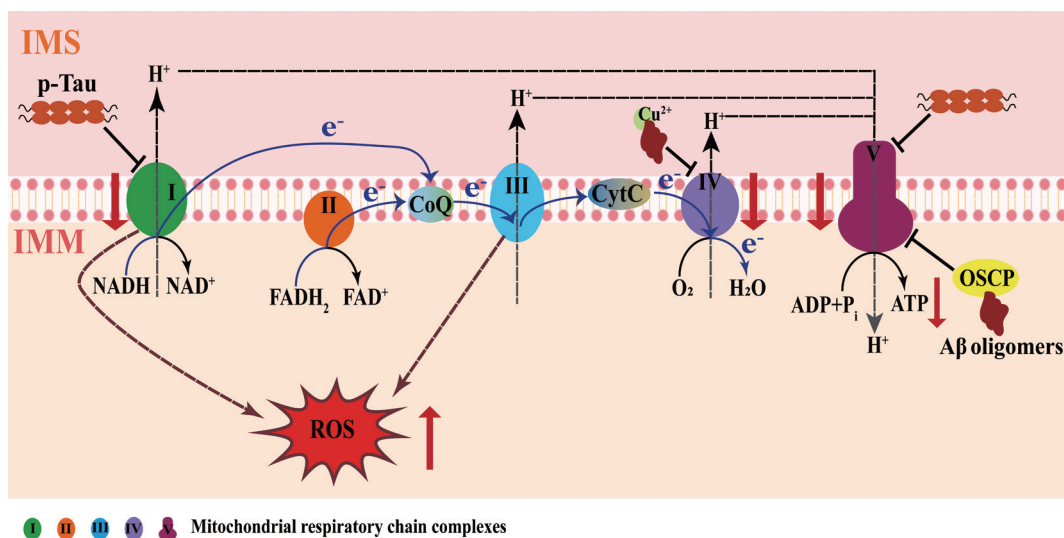


图3 AD生物标志物对线粒体呼吸链的作用

[参 考 文 献]

- [1] Alzheimer's Disease International. World Alzheimer Report 2019: attitudes to dementia. 2019
- [2] Alzheimer's Disease International. World Alzheimer Report 2018: the state of the art of dementia research: new frontiers. 2018
- [3] Alzheimer's Disease International. World Alzheimer report 2014: dementia and risk reduction. 2014
- [4] Alzheimer's Association. 2016 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimers Dement*, 2016, 12: 459-509
- [5] Magierski R, Sobow T. Serotonergic drugs for the treatment of neuropsychiatric symptoms in dementia. *Expert Rev Neurother*, 2016, 16: 375-87
- [6] Ford AH. Neuropsychiatric aspects of dementia. *Maturitas*, 2014, 79: 209-15
- [7] Harrison F, Aerts L, Brodaty H. Apathy in dementia: systematic review of recent evidence on pharmacological treatments. *Curr Psychiatry Rep*, 2016, 18: 103
- [8] McDade E, Bateman RJ. Stop Alzheimer's before it starts. *Nature*, 2017, 547: 153-5
- [9] Cenini G, Voos W. Mitochondria as potential targets in Alzheimer disease therapy: an update. *Front Pharmacol*, 2019, 10: 902
- [10] Garcia-Escudero V, Martin-Maestro P, Perry G, et al. Deconstructing mitochondrial dysfunction in Alzheimer disease. *Oxid Med Cell Longev*, 2013, 2013: 162152
- [11] Reddy PH, Oliver DM. Amyloid beta and phosphorylated Tau-induced defective autophagy and mitophagy in Alzheimer's disease. *Cells*, 2019, 8: 488
- [12] Lejri I, Agapouda A, Grimm A, et al. Mitochondria- and oxidative stress-targeting substances in cognitive decline-related disorders: from molecular mechanisms to clinical evidence. *Oxid Med Cell Longev*, 2019, 2019: 9695412
- [13] Area-Gomez E, Schon EA. Mitochondria-associated ER membranes and Alzheimer disease. *Curr Opin Genet Dev*, 2016, 38: 90-6
- [14] Bateman RJ, Aisen PS, De Strooper B, et al. Autosomal-dominant Alzheimer's disease: a review and proposal for the prevention of Alzheimer's disease. *Alzheimers Res Ther*, 2011, 3: 1
- [15] Yuan C, Guo X, Zhou Q, et al. OAB-14, a bexarotene derivative, improves Alzheimer's disease-related pathologies and cognitive impairments by increasing β -amyloid clearance in APP/PS1 mice. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2019, 1865: 161-80
- [16] Holtzman DM, Herz J, Bu G. Apolipoprotein E and apolipoprotein E receptors: normal biology and roles in Alzheimer disease. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2012, 2: a006312
- [17] Mattson MP, Arumugam TV. Hallmarks of brain aging: adaptive and pathological modification by metabolic states. *Cell Metab*, 2018, 27: 1176-99
- [18] Jansen IE, Savage JE, Watanabe K, et al. Genome-wide meta-analysis identifies new loci and functional pathways influencing Alzheimer's disease risk. *Nat Genet*, 2019, 51: 404-13
- [19] Rinaldi A. Setbacks and promises for drugs against Alzheimer's disease: as pharmaceutical companies are retreating from drug development for Alzheimer's, new approaches are being tested in academia and biotech companies. *EMBO Rep*, 2018, 19: e46714
- [20] Pospich S, Raunser S. The molecular basis of Alzheimer's plaques. *Science*, 2017, 358: 45-6
- [21] Hardy JA, Higgins GA. Alzheimer's disease: the amyloid cascade hypothesis. *Science*, 1992, 256: 184-5
- [22] Liu PP, Xie Y, Meng XY, et al. History and progress of hypotheses and clinical trials for Alzheimer's disease. *Signal Transduct Target Ther*, 2019, 4: 29
- [23] Selfridge JE, Lezi E, Lu J, et al. Role of mitochondrial homeostasis and dynamics in Alzheimer's disease. *Neurobiol Dis*, 2013, 51: 3-12
- [24] Berlau DJ, Corrada MM, Head E, et al. APOE epsilon2 is associated with intact cognition but increased Alzheimer pathology in the oldest old. *Neurology*, 2009, 72: 829-34
- [25] Sperling RA, Aisen PS, Beckett LA, et al. Toward defining the preclinical stages of Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement*, 2011, 7: 280-92
- [26] Jack CR Jr, Knopman DS, Jagust WJ, et al. Tracking pathophysiological processes in Alzheimer's disease: an updated hypothetical model of dynamic biomarkers. *Lancet Neurol*, 2013, 12: 207-16
- [27] Guo L, Tian J, Du H. Mitochondrial dysfunction and synaptic transmission failure in Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*, 2017, 57: 1071-86
- [28] Scheltens P, Blennow K, Breteler MM, et al. Alzheimer's disease. *Lancet*, 2016, 388: 505-17
- [29] Zhu X, Perry G, Smith MA, et al. Abnormal mitochondrial dynamics in the pathogenesis of Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*, 2013, 33 Suppl 1: S253-62
- [30] Cadonic C, Sabbir MG, Albensi BC. Mechanisms of mitochondrial dysfunction in Alzheimer's disease. *Mol Neurobiol*, 2016, 53: 6078-90
- [31] Rigotto G, Basso E. Mitochondrial dysfunctions: a thread sewing together Alzheimer's disease, diabetes, and obesity. *Oxid Med Cell Longev*, 2019, 2019: 7210892
- [32] Nicolas E, Tricarico R, Savage M, et al. Disease-associated genetic variation in human mitochondrial protein import. *Am J Hum Genet*, 2019, 104: 784-801
- [33] Swerdlow RH, Khan SM. A "mitochondrial cascade hypothesis" for sporadic Alzheimer's disease. *Med Hypotheses*, 2004, 63: 8-20
- [34] Swerdlow RH, Burns JM, Khan SM. The Alzheimer's disease mitochondrial cascade hypothesis: progress and perspectives. *Biochim Biophys Acta*, 2014, 1842: 1219-31
- [35] Lin MT, Beal MF. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in neurodegenerative diseases. *Nature*, 2006, 443: 787-95
- [36] Hou Y, Dan X, Babbar M, et al. Ageing as a risk factor for neurodegenerative disease. *Nat Rev Neurol*, 2019, 15: 565-81
- [37] Lou G, Palikaras K, Lautrup S, et al. Mitophagy and

- neuroprotection. *Trends Mol Med*, 2020, 26: 8-20
- [38] Boyman L, Karbowski M, Lederer WJ. Regulation of mitochondrial ATP production: Ca^{2+} signaling and quality control. *Trends Mol Med*, 2020, 26: 21-39
- [39] Cunnane SC, Trushina E, Morland C, et al. Brain energy rescue: an emerging therapeutic concept for neurodegenerative disorders of ageing. *Nat Rev Drug Discov*, 2020, 19: 609-33
- [40] Yin J, Reiman EM, Beach TG, et al. Effect of ApoE isoforms on mitochondria in Alzheimer disease. *Neurology*, 2020, 94: e2404-e11
- [41] Simonovitch S, Schmukler E, Masliah E, et al. The effects of APOE4 on mitochondrial dynamics and proteins *in vivo*. *J Alzheimers Dis*, 2019, 70: 861-75
- [42] Wilkins HM, Koppel SJ, Bothwell R, et al. Platelet cytochrome oxidase and citrate synthase activities in APOE ϵ 4 carrier and non-carrier Alzheimer's disease patients. *Redox Biol*, 2017, 12: 828-32
- [43] Perkins M, Wolf AB, Chavira B, et al. Altered energy metabolism pathways in the posterior cingulate in young adult apolipoprotein E ϵ 4 carriers. *J Alzheimers Dis*, 2016, 53: 95-106
- [44] Hesse R, Hurtado ML, Jackson RJ, et al. Comparative profiling of the synaptic proteome from Alzheimer's disease patients with focus on the APOE genotype. *Acta Neuropathol Commun*, 2019, 7: 214
- [45] Area-Gomez E, Larrea D, Pera M, et al. APOE4 is associated with differential regional vulnerability to bioenergetic deficits in aged APOE mice. *Sci Rep*, 2020, 10: 4277
- [46] Chen HK, Ji ZS, Dodson SE, et al. Apolipoprotein E4 domain interaction mediates detrimental effects on mitochondria and is a potential therapeutic target for Alzheimer disease. *J Biol Chem*, 2011, 286: 5215-21
- [47] Perez Ortiz JM, Swerdlow RH. Mitochondrial dysfunction in Alzheimer's disease: role in pathogenesis and novel therapeutic opportunities. *Br J Pharmacol*, 2019, 176: 3489-507
- [48] Li X, Huang L, Lan J, et al. Molecular mechanisms of mitophagy and its roles in neurodegenerative diseases. *Pharmacol Res*, 2020: 105240
- [49] Gabuzda D, Busciglio J, Chen LB, et al. Inhibition of energy metabolism alters the processing of amyloid precursor protein and induces a potentially amyloidogenic derivative. *J Biol Chem*, 1994, 269: 13623-8
- [50] Webster MT, Pearce BR, Bowen DM, et al. The effects of perturbed energy metabolism on the processing of amyloid precursor protein in PC12 cells. *J Neural Transm (Vienna)*, 1998, 105: 839-53
- [51] Leuner K, Schutt T, Kurz C, et al. Mitochondrion-derived reactive oxygen species lead to enhanced amyloid β formation. *Antioxid Redox Signal*, 2012, 16: 1421-33
- [52] Mairet-Coello G, Courchet J, Pieraut S, et al. The CAMKK2-AMPK kinase pathway mediates the synaptotoxic effects of A β oligomers through Tau phosphorylation. *Neuron*, 2013, 78: 94-108
- [53] Monzio Compagnoni G, Di Fonzo A, Corti S, et al. The role of mitochondria in neurodegenerative diseases: the lesson from Alzheimer's disease and Parkinson's disease. *Mol Neurobiol*, 2020, 57: 2959-80
- [54] Weidling IW, Swerdlow RH. Mitochondria in Alzheimer's disease and their potential role in Alzheimer's proteostasis. *Exp Neurol*, 2020, 330: 113321
- [55] Fang EF, Hou Y, Palikaras K, et al. Mitophagy inhibits amyloid- β and tau pathology and reverses cognitive deficits in models of Alzheimer's disease. *Nat Neurosci*, 2019, 22: 401-12
- [56] Wang W, Zhao F, Ma X, et al. Mitochondria dysfunction in the pathogenesis of Alzheimer's disease: recent advances. *Mol Neurodegener*, 2020, 15: 30
- [57] Weidling I, Swerdlow RH. Mitochondrial dysfunction and stress responses in Alzheimer's disease. *Biology (Basel)*, 2019, 8: 39
- [58] Kukreja L, Kujoth GC, Prolla TA, et al. Increased mtDNA mutations with aging promotes amyloid accumulation and brain atrophy in the APP/Ld transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *Mol Neurodegener*, 2014, 9: 16
- [59] Caspersen C, Wang N, Yao J, et al. Mitochondrial A β : a potential focal point for neuronal metabolic dysfunction in Alzheimer's disease. *FASEB J*, 2005, 19: 2040-1
- [60] Calvo-Rodriguez M, Hou SS, Snyder AC, et al. Increased mitochondrial calcium levels associated with neuronal death in a mouse model of Alzheimer's disease. *Nat Commun*, 2020, 11: 2146
- [61] Pradeepkiran JA, Reddy PH. Defective mitophagy in Alzheimer's disease. *Ageing Res Rev*, 2020, 64: 101191
- [62] Oliver D, Reddy PH. Dynamics of dynamin-related protein 1 in Alzheimer's disease and other neurodegenerative diseases. *Cells*, 2019, 8: 961
- [63] Perez MJ, Jara C, Quintanilla RA. Contribution of Tau pathology to mitochondrial impairment in neurodegeneration. *Front Neurosci*, 2018, 12: 441
- [64] Kopeikina KJ, Carlson GA, Pitstick R, et al. Tau accumulation causes mitochondrial distribution deficits in neurons in a mouse model of tauopathy and in human Alzheimer's disease brain. *Am J Pathol*, 2011, 179: 2071-82
- [65] Mungarro-Menchaca X, Ferrera P, Morán J, et al. β -amyloid peptide induces ultrastructural changes in synaptosomes and potentiates mitochondrial dysfunction in the presence of ryanodine. *J Neurosci Res*, 2002, 68: 89-96
- [66] Keller JN, Lauderback CM, Butterfield DA, et al. Amyloid β -peptide effects on synaptosomes from apolipoprotein E-deficient mice. *J Neurochem*, 2000, 74: 1579-86
- [67] Kandimalla R, Manczak M, Fry D, et al. Reduced dynamin-related protein 1 protects against phosphorylated Tau-induced mitochondrial dysfunction and synaptic damage in Alzheimer's disease. *Hum Mol Genet*, 2016, 25: 4881-97
- [68] Manczak M, Kandimalla R, Fry D, et al. Protective effects of reduced dynamin-related protein 1 against amyloid β -induced mitochondrial dysfunction and synaptic damage in Alzheimer's disease. *Hum Mol Genet*, 2016, 25: 5148-

- 66
- [69] Kandimalla R, Manczak M, Yin X, et al. Hippocampal phosphorylated tau induced cognitive decline, dendritic spine loss and mitochondrial abnormalities in a mouse model of Alzheimer's disease. *Hum Mol Genet*, 2018, 27: 30-40
- [70] Manczak M, Kandimalla R, Yin X, et al. Hippocampal mutant APP and amyloid β -induced cognitive decline, dendritic spine loss, defective autophagy, mitophagy and mitochondrial abnormalities in a mouse model of Alzheimer's disease. *Hum Mol Genet*, 2018, 27: 1332-42
- [71] Tzioras M, Davies C, Newman A, et al. APOE at the interface of inflammation, neurodegeneration and pathological protein spread in Alzheimer's disease. *Neuropathol Appl Neurobiol*, 2019, 45: 327-46
- [72] Jackson RJ, Rose J, Tulloch J, et al. Clusterin accumulates in synapses in Alzheimer's disease and is increased in apolipoprotein E4 carriers. *Brain Commun*, 2019, 1: fcz003
- [73] Uddin MS, Kabir MT, Al Mamun A, et al. APOE and Alzheimer's disease: evidence mounts that targeting APOE4 may combat Alzheimer's pathogenesis. *Mol Neurobiol*, 2019, 56: 2450-65
- [74] Area-Gomez E, de Groof A, Bonilla E, et al. A key role for MAM in mediating mitochondrial dysfunction in Alzheimer disease. *Cell Death Dis*, 2018, 9: 335
- [75] Swerdlow RH. Mitochondria and mitochondrial cascades in Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*, 2018, 62: 1403-16
- [76] Dubois B, Hampel H, Feldman HH, et al. Preclinical Alzheimer's disease: definition, natural history, and diagnostic criteria. *Alzheimers Dement*, 2016, 12: 292-323
- [77] Schlame M, Rua D, Greenberg ML. The biosynthesis and functional role of cardiolipin. *Prog Lipid Res*, 2000, 39: 257-88
- [78] Ellenrieder L, Dieterle MP, Doan KN, et al. Dual role of mitochondrial porin in metabolite transport across the outer membrane and protein transfer to the inner membrane. *Mol Cell*, 2019, 73: 1056-65
- [79] Sakaue H, Shiota T, Ishizaka N, et al. Porin associates with Tom22 to regulate the mitochondrial protein gate assembly. *Mol Cell*, 2019, 73: 1044-55
- [80] Manczak M, Reddy PH. Abnormal interaction of VDAC1 with amyloid β and phosphorylated tau causes mitochondrial dysfunction in Alzheimer's disease. *Hum Mol Genet*, 2012, 21: 5131-46
- [81] Pavlov PF, Hansson Petersen C, Glaser E, et al. Mitochondrial accumulation of APP and A β : significance for Alzheimer disease pathogenesis. *J Cell Mol Med*, 2009, 13: 4137-45
- [82] Devi L, Prabhu BM, Galati DF, et al. Accumulation of amyloid precursor protein in the mitochondrial import channels of human Alzheimer's disease brain is associated with mitochondrial dysfunction. *J Neurosci*, 2006, 26: 9057-68
- [83] Wang X, Zheng W. Ca²⁺ homeostasis dysregulation in Alzheimer's disease: a focus on plasma membrane and cell organelles. *FASEB J*, 2019, 33: 6697-712
- [84] Rizzuto R, Duchen MR, Pozzan T. Flirting in little space: the ER/mitochondria Ca²⁺ liaison. *Sci STKE*, 2004, 2004: re1
- [85] Hayashi T, Rizzuto R, Hajnoczky G, et al. MAM: more than just a housekeeper. *Trends Cell Biol*, 2009, 19: 81-8
- [86] Bernardi P, Rasola A, Forte M, et al. The mitochondrial permeability transition pore: channel formation by F-ATP synthase, integration in signal transduction, and role in pathophysiology. *Physiol Rev*, 2015, 95: 1111-55
- [87] Cai Q, Tammineni P. Mitochondrial aspects of synaptic dysfunction in Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*, 2017, 57: 1087-103
- [88] Beck SJ, Guo L, Phensy A, et al. Deregulation of mitochondrial F1FO-ATP synthase via OSCP in Alzheimer's disease. *Nat Commun*, 2016, 7: 11483
- [89] D'Amelio M, Cavallucci V, Cecconi F. Neuronal caspase-3 signaling: not only cell death. *Cell Death Differ*, 2010, 17: 1104-14
- [90] D'Amelio M, Sheng M, Cecconi F. Caspase-3 in the central nervous system: beyond apoptosis. *Trends Neurosci*, 2012, 35: 700-9
- [91] Area-Gomez E, Del Carmen Lara Castillo M, Tambini MD, et al. Upregulated function of mitochondria-associated ER membranes in Alzheimer disease. *EMBO J*, 2012, 31: 4106-23
- [92] de Brito OM, Scorrano L. Mitofusin 2 tethers endoplasmic reticulum to mitochondria. *Nature*, 2008, 456: 605-10
- [93] Csordas G, Renken C, Varnai P, et al. Structural and functional features and significance of the physical linkage between ER and mitochondria. *J Cell Biol*, 2006, 174: 915-21
- [94] Tambini MD, Pera M, Kanter E, et al. ApoE4 upregulates the activity of mitochondria-associated ER membranes. *EMBO Rep*, 2016, 17: 27-36
- [95] Fedeli C, Filadi R, Rossi A, et al. PSEN2 (presenilin 2) mutants linked to familial Alzheimer disease impair autophagy by altering Ca²⁺ homeostasis. *Autophagy*, 2019, 15: 2044-62
- [96] Schon EA, Area-Gomez E. Mitochondria-associated ER membranes in Alzheimer disease. *Mol Cell Neurosci*, 2013, 55: 26-36
- [97] Area-Gomez E, de Groof AJ, Boldogh I, et al. Presenilins are enriched in endoplasmic reticulum membranes associated with mitochondria. *Am J Pathol*, 2009, 175: 1810-6
- [98] Schreiner B, Hedskog L, Wiehager B, et al. Amyloid- β peptides are generated in mitochondria-associated endoplasmic reticulum membranes. *J Alzheimers Dis*, 2015, 43: 369-74
- [99] Area-Gomez E, Guardia-Laguarta C, Schon EA, et al. Mitochondria, OxPhos, and neurodegeneration: cells are not just running out of gas. *J Clin Invest*, 2019, 129: 34-45
- [100] Pera M, Larrea D, Guardia-Laguarta C, et al. Increased localization of APP-C99 in mitochondria-associated ER membranes causes mitochondrial dysfunction in Alzheimer disease. *EMBO J*, 2017, 36: 3356-71

- [101] Zigdon H, Kogot-Levin A, Park JW, et al. Ablation of ceramide synthase 2 causes chronic oxidative stress due to disruption of the mitochondrial respiratory chain. *J Biol Chem*, 2013, 288: 4947-56
- [102] Wu BX, Clarke CJ, Matmati N, et al. Identification of novel anionic phospholipid binding domains in neutral sphingomyelinase 2 with selective binding preference. *J Biol Chem*, 2011, 286: 22362-71
- [103] Flis VV, Daum G. Lipid transport between the endoplasmic reticulum and mitochondria. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2013, 5: a013235
- [104] Voelker DR. Phosphatidylserine functions as the major precursor of phosphatidylethanolamine in cultured BHK-21 cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1984, 81: 2669-73
- [105] Puglielli L, Konopka G, Pack-Chung E, et al. Acyl-coenzyme A: cholesterol acyltransferase modulates the generation of the amyloid β -peptide. *Nat Cell Biol*, 2001, 3: 905-12
- [106] Bezprozvanny I, Mattson MP. Neuronal calcium mishandling and the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Trends Neurosci*, 2008, 31: 454-63
- [107] Tu H, Nelson O, Bezprozvanny A, et al. Presenilins form ER Ca^{2+} leak channels, a function disrupted by familial Alzheimer's disease-linked mutations. *Cell*, 2006, 126: 981-93
- [108] Nelson O, Supnet C, Liu H, et al. Familial Alzheimer's disease mutations in presenilins: effects on endoplasmic reticulum calcium homeostasis and correlation with clinical phenotypes. *J Alzheimers Dis*, 2010, 21: 781-93
- [109] Willems PH, Rossignol R, Dieteren CE, et al. Redox homeostasis and mitochondrial dynamics. *Cell Metab*, 2015, 22: 207-18
- [110] Stock D, Gibbons C, Arechaga I, et al. The rotary mechanism of ATP synthase. *Curr Opin Struct Biol*, 2000, 10: 672-9
- [111] Moran M, Moreno-Lastres D, Marin-Buera L, et al. Mitochondrial respiratory chain dysfunction: implications in neurodegeneration. *Free Radic Biol Med*, 2012, 53: 595-609
- [112] Spires-Jones TL, Hyman BT. The intersection of amyloid β and tau at synapses in Alzheimer's disease. *Neuron*, 2014, 82: 756-71
- [113] Schulz KL, Eckert A, Rhein V, et al. A new link to mitochondrial impairment in tauopathies. *Mol Neurobiol*, 2012, 46: 205-16
- [114] Crouch PJ, Blake R, Duce JA, et al. Copper-dependent inhibition of human cytochrome *c* oxidase by a dimeric conformer of amyloid- β_{1-42} . *J Neurosci*, 2005, 25: 672-9
- [115] Fisar Z, Hroudova J, Hansikova H, et al. Mitochondrial respiration in the platelets of patients with Alzheimer's disease. *Curr Alzheimer Res*, 2016, 13: 930-41