

DOI: 10.13376/j.cblls/2021065

文章编号: 1004-0374(2021)05-0621-09

内质网-线粒体结构偶联在内质网应激中的作用及其与阿尔茨海默病的关联性

周鹤妍, 孙谕莹, 黄汉昌*

(北京联合大学生物活性物质与功能食品北京市重点实验室, 北京 100191)

摘要: 阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 是老年人中最常见的神经退行性疾病之一, 以在大脑中细胞外 β -淀粉样蛋白沉积形成老年斑和神经元内 tau 蛋白过度磷酸化形成神经纤维原缠结为主要病理特征。AD 的病因目前以 tau 蛋白磷酸化、A β 蛋白的沉积和代谢紊乱假说为主, 但确切的机制尚未明确。内质网-线粒体结构偶联又称线粒体相关内质网膜 (mitochondria-associated ER membranes, MAM), 近年来 MAM 在内质网应激中的作用得到广泛的关注。许多研究表明 MAM 与 AD 的发生有密切的联系。Ca²⁺ 稳态是维持细胞正常生命活动所必需的, 当 MAM 完整性遭到破坏, 会直接或间接地导致 Ca²⁺ 稳态失衡和氧化应激, Ca²⁺ 浓度异常则会触发内质网应激, 从而导致神经元死亡, 引发 AD。该文介绍了 MAM 对内质网应激的调节作用, 评述了 MAM 与 AD 发生的关联性。

关键词: 阿尔茨海默病; β -淀粉样蛋白; 内质网应激; 线粒体相关内质网膜

中图分类号: R749.16 **文献标志码:** A

Role of mitochondria-associated ER membranes in endoplasmic reticulum stress and its association with Alzheimer's disease

ZHOU He-Yan, SUN Yu-Ying, HUANG Han-Chang*

(Beijing Key Laboratory of Bioactive Substances and Functional Foods, Beijing Union University, Beijing 100191, China)

Abstract: Alzheimer's disease (AD) is one of the most common neurodegenerative diseases in the elderly. The main pathological features in the brain are the formations of senile plaques outside the cells containing amyloid- β (A β) and neurofibrillary tangles composed of hyperphosphorylated tau protein in neurons. At present, the etiology of AD is mainly based on the hypothesis of A β deposition, tau protein phosphorylation, and metabolic disorders, but the exact mechanism is not yet clear. The coupling structure between mitochondria and endoplasmic reticulum (ER) is also known as mitochondria-associated ER membranes (MAM). In recent years, the role of MAM in endoplasmic reticulum stress has been paid widespread attention to. Many studies have shown that MAM is closely related to the occurrence of AD. Ca²⁺ homeostasis is necessary to maintain the physiological activities of cells. When the integrity of MAM is damaged, it will directly or indirectly lead to the imbalance of Ca²⁺ homeostasis and oxidative stress. Abnormal Ca²⁺ will trigger ER stress, lead to neuronal death and cause AD. This article introduces the regulation and role of MAM on the endoplasmic reticulum stress and reviews the potential association of MAM with the AD development.

Key words: Alzheimer's disease; amyloid- β (A β); endoplasmic reticulum stress(ERS); mitochondria-associated ER membranes (MAM)

收稿日期: 2020-09-27; 修回日期: 2020-11-16

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(31471587); 北京联合大学科研项目(JZ10202001); 北京联合大学研究生科研创新资助项目(YZ2020K001)

*通信作者: E-mail: hanchang@buu.edu.cn

阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 是常见的神经退行性疾病, 临床上主要表现在语言功能方面的障碍、记忆力的受损和其他认知功能的下降等。AD 具有年龄相关性, 到 2020 年, 在美国, 将有超过 500 万 65 岁以上老年人患有阿尔茨海默病, 且 80% 的人年龄在 75 岁以上^[1]。目前, 我国已有 1 000 多万阿尔茨海默病患者, 是全球患者数量最多的国家, 约占世界痴呆总人口的 25%。预计到 2050 年, 我国阿尔茨海默病患者人数将超过 3 000 万^[2]。

AD 病理特征主要表现为: 大脑中 β -淀粉样蛋白沉积在细胞外形成神经炎性老年斑、脑神经细胞内 tau 蛋白过度磷酸化形成神经原纤维缠结、大量的突触和神经元丢失^[3]。 β -淀粉样蛋白 (amyloid- β , A β) 是由 β -淀粉样前体蛋白 (amyloid- β precursor protein, APP) 经 β -和 γ -分泌酶依次水解而形成的。APP 基因在表达过程中产生一系列介于 100~130 kDa 的异构体, 其中 APP₆₉₅、APP₇₅₁、APP₇₇₀ 三种亚型能产生 A β , 大脑中 APP 亚型主要为 APP₆₉₅^[4]。A β 在 AD 病变过程中处于关键地位。在病理状态下, A β 的产生和降解处于不平衡状态而造成 A β 的积累, 最终形成老年斑 (senile plaques, SP)^[5]。尽管对 A β 过度生成或清除异常的机制有大量研究, 但是它们对临床 AD 的预防和治疗效果乏善可陈, 因此, 亟需从全新的角度去研究 AD 的发病机理。

线粒体已被证明参与 AD 的发病。线粒体是产生 ROS 的主要部位, 而 AD 患者大脑中氧化应激和 ROS 的增加证明了这一点^[6]。已有研究表明, A β 可以直接影响线粒体功能, APP 氨基端进入线粒体, 而羧基端不能进入, 导致蛋白进入线粒体通道受阻, 导致 ROS 产生增加及其他线粒体功能障碍。此外, A β 还调节 Ca²⁺ 稳态, 打开线粒体通透性转换孔 (mitochondrial permeability transition pore, mPTP), 降低线粒体膜电位, 造成线粒体损伤^[7]。在细胞和动物模型中, A β 增加了进入细胞的 Ca²⁺ 量, 这会干扰线粒体功能, 降低 ATP 的产生, 从而介导甚至引发 AD 中的病理分子级联反应^[8]。

近年来, 内质网和线粒体的相互作用受到广泛的关注。线粒体相关内质网膜 (mitochondria-associated endoplasmic reticulum membrane, MAM) 是线粒体和内质网之间形成的结构偶联域, 是真核细胞内线粒体和内质网之间重要的物理和生化连接, 它的存在对细胞维持正常生命活动有着重要的意义。目前认为 MAM 参与调控内质网应激、未折叠蛋白反应过程, MAM 异常与神经退行性疾病密切相

关^[9]。本文就 MAM 对内质网应激的调控作用及其与 AD 的关系作一综述。

1 内质网、线粒体与MAM

内质网 (endoplasmic reticulum, ER) 是所有真核细胞中一种动态的细胞内膜性细胞器, 具有蛋白质合成与分泌、Ca²⁺ 储存与释放等多种功能。它在蛋白质的合成、修饰与加工, 新合成肽链的折叠、组装和运输中起着基本作用^[10]。分泌性蛋白、跨膜蛋白、需要修饰的蛋白等在核糖体上合成后转入内质网-高尔基体, 经正确修饰、折叠后形成成熟的蛋白质, 而不能正常成熟的蛋白质将被识别并降解。蛋白质折叠和降解过程失衡会导致未折叠蛋白在内质网中累积而导致内质网应激 (endoplasmic reticulum stress, ERS)^[11], 从而激活未折叠蛋白反应 (unfolded protein response, UPR) 来清除内质网中的错误折叠的蛋白以恢复细胞稳态^[12]。

线粒体是位于细胞内的微小生命结构, 提供人体消耗所需的大部分能量^[13]。线粒体是能量生产场所, 也参与了细胞内钙稳态调节等细胞活动。中枢神经系统线粒体功能障碍表现为异常的线粒体质量控制、线粒体驱动的炎症和生物能量缺陷等^[14]。Ca²⁺ 内流、突触释放神经递质等神经元活动在细胞通讯和适应环境中起相关作用, 这些过程也是一个消耗能量的过程。在许多情况下, Ca²⁺ 作为第二信使调节突触分泌, 线粒体通过氧化磷酸化提供 ATP^[15]。线粒体通过调控神经内 Ca²⁺ 信号来缓冲 Ca²⁺ 浓度变化, 但当线粒体摄取的 Ca²⁺ 过多时会导致细胞死亡。研究显示, 在 AD 小鼠模型中, 线粒体内 Ca²⁺ 水平的增加与 A β 斑块沉积和神经元死亡有关^[16]。此外, 流行病学研究表明, 代谢紊乱可增加 AD 发病风险。代谢重构发生在中枢神经系统周围, 线粒体功能障碍被认为是代谢紊乱的重要因素。2020 年, Peng 等^[7] 的研究表明, 线粒体重构可能是 AD 的早期征兆之一。

1.1 MAM结构与功能

细胞器间的接触对细胞活动的调控作用越来越受到关注。尽管这些接触通常只涉及内膜表面的很小部分^[17], 但对胞内通信却起着重要的介导作用。最典型的细胞器接触部位是内质网和线粒体之间的接触部位——线粒体相关内质网膜 (MAM)^[18] (图 1)。MAM 是高度专门化的内质网和线粒体相关的亚细胞区室, 但在功能上不同于内质网和线粒体。Kornmann 等^[19] 在酵母细胞中鉴定了内质网-线粒体接触

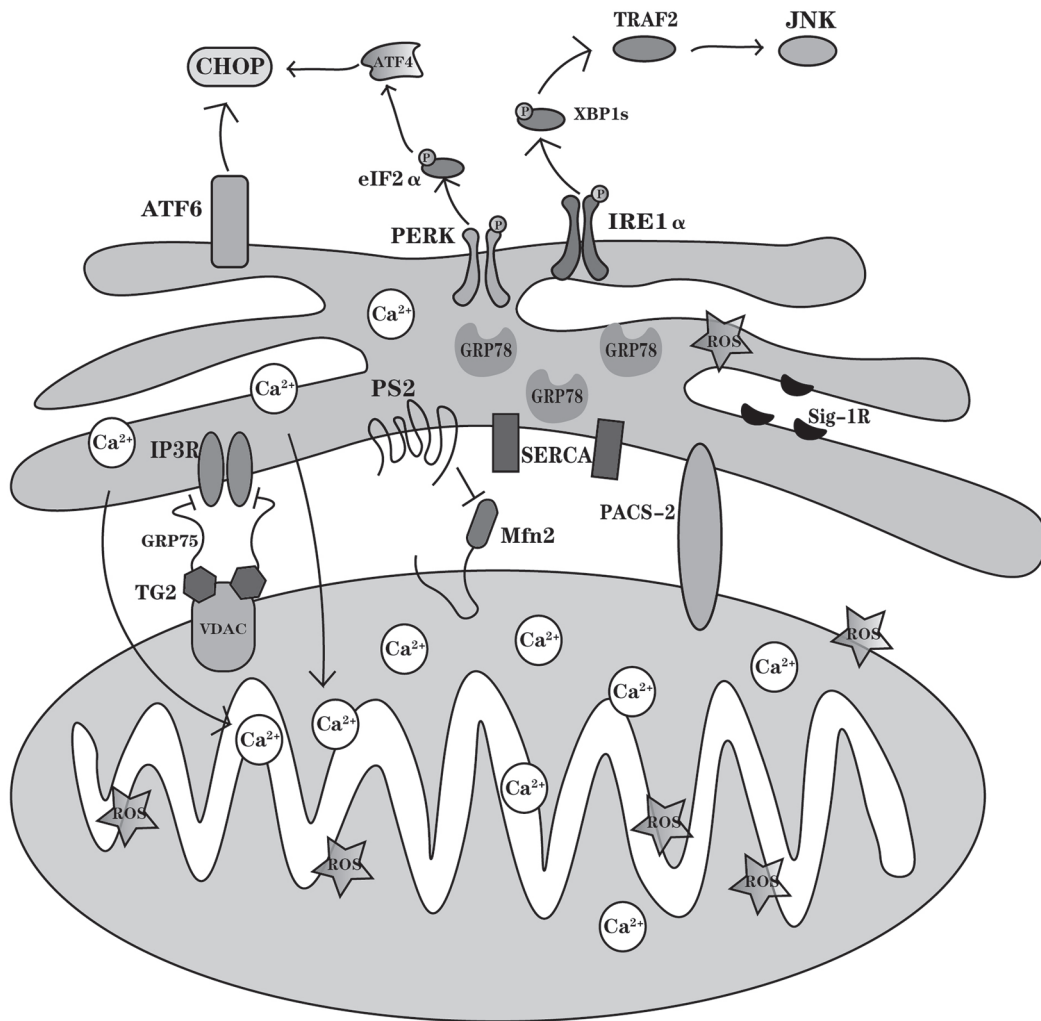


图1 MAM的组成及其在ERS通路中的作用

结构 (ER-mitochondria encounter structures, ERMESs)。ERMES 的核心组成部分是异源四聚体蛋白复合物, 由 Mmm1、Mdm12、胞质蛋白、Mdm34、Mdm10 组成。MAM 富含钙转移通道以及具有致癌或抑制肿瘤作用的蛋白, 这些蛋白可调节与生理和病理过程相关的细胞信号通路^[20], 对维持 MAM 稳态具有重要作用, 且其功能与 ERS 通路密切相关。

MAM 是调节 Ca^{2+} 平衡和氧化还原平衡的关键点。MAM 是内质网的一个子域, 与线粒体紧密相连并互相通信^[21], MAM 的存在促进了 Ca^{2+} 从内质网向线粒体的转移, 对多种生理功能具有重要作用^[22]。MAM 调节了钙稳态、自噬和线粒体动力学等多种生物过程^[23]。 Ca^{2+} 向线粒体的转移必须受到精确的调节, 过量的 Ca^{2+} 会干扰氧化磷酸化过程, 从而增加活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 的生成。

总的来说, MAM 是内质网和线粒体之间的物

理和生化连接, 介导了这两种亚结构间的细胞信号通讯 (图 1)。

1.2 MAM中ERS相关的蛋白质

蛋白质是生命活动的主要执行者。与线粒体动力学有关的蛋白质最初是在酵母中被鉴定的, 其中许多基因在哺乳动物中具有直系同源基因, 它们主要属于大的 GTPase 蛋白家族^[24]。MAM 上存在丰富的调节细胞稳态的蛋白质, 如内质网氧化还原酶 1α (endoplasmic reticulum oxidoreductin-1α, Ero1α)、心肌肌浆网 Ca^{2+} -ATP 酶 (sarco endoplasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase, SERCA)、1,4,5-三磷酸肌醇受体 (inositol 1,4,5-triphosphate receptor, IP3R)、线粒体孔蛋白 (voltage-dependent anion channel, VDAC)、线粒体动力相关蛋白 (dynamin-related protein 1, Drp1)、线粒体融合蛋白 2 (mitofusin-2, Mfn2)、葡萄糖调节蛋白 75 (glucose-regulated protein 75, GRP75) 和磷酸呋喃酸

簇状分选蛋白 2 (phosphofurin acidic cluster sorting protein 2, PACS-2) 等。此外, 还有其他分子伴侣和 Sigma R1 受体 (sigma-1 receptor, Sig-1R)。

Mfn2 是一种定位于线粒体外膜的 GTP 酶, 其具有促进线粒体间融合的作用。另外, Mfn2 通过与线粒体外膜的蛋白质的相互作用促进 MAM 的形成^[25]。早老素 2 (presenilin 2, PS2) 在 ER 膜上高表达, Mfn2 可以与 PS2 结合而并在 MAM 中形成 Mfn2-PS2 复合物。Mfn2 与 PS2 的相互作用强度可能与 AD 发病相关, PS2 的突变 (N141I) 导致其与 Mfn2 相互作用增强。在转 PS2 突变体 (N141I) 基因小鼠中, PS2 突变体更多地聚集在 MAM 中^[26]。此外, 线粒体裂变与内质网应激有关, 在小鼠胚胎成纤维细胞和 HeLa 细胞中, Mfn2 的敲低促进线粒体裂变表型, 降低了细胞 Ca^{2+} 摄取能力和速度, 表明线粒体形态对细胞内 Ca^{2+} 稳态起到一定作用^[27]。

GRP75 通过组装 VDAC1-GRP75-IP3R 复合物充当两个细胞器之间的桥联分子, 该复合物参与 Ca^{2+} 从内质网到线粒体的转运^[28]。GRP75 的表达对调节细胞死亡有着影响。有研究显示, 在氧化应激情况下, 通过抑制 GRP75 可以减弱内质网-线粒体的连通性, 以达到保护细胞的目的^[29]。2 型转谷氨酰胺酶 (transglutaminase type 2, TG2) 是一种多功能酶, 在细胞应激情况下对维持线粒体稳态起关键作用, 它在 MAM 中与 GRP75 相互作用。TG2-GRP75 相互作用的缺失导致 IP3R-GRP75 的相互作用增加, 内质网线粒体 Ca^{2+} 通量改变, 导致 MAM 蛋白质组分改变从而影响 MAM 功能^[30]。

PACS-2 是一种多功能的分选蛋白, 参与了内质网-线粒体轴对细胞内环境稳态的调控。采用 siRNA 干扰技术敲除 PACS-2 导致内质网与线粒体解偶联的研究表明, PACS-2 是 MAM 形成或稳定所必需的。有趣的是, PACS-2 的敲减增加了内质网中钙离子的水平, 但也诱导了 UPR, 导致内质网应激反应^[31]。

Sig-1R 是一种伴侣蛋白, 是最具特征的钙调节蛋白之一。通常情况下, Sig-1R 与另一种伴侣蛋白 GRP78/BiP 在 MAM 上形成复合物, 当发生内质网应激时, Sig-1R 与 GRP78/BiP 发生解离, 促进 Ca^{2+} 从内质网转运到线粒体^[32]。Sig-1R 还通过调节 ER 中 Ca^{2+} 传感器 STIM1 与 Orai1 的耦合来调节 Ca^{2+} 流至线粒体^[33], 从而增加 ATP 的生成。Sig-1R 可通过减轻 ERS 使细胞存活。现已证实, Sig-1R 与 AD 相关, 并作为潜在治疗靶点^[34]。

2 MAM在内质网应激中的作用

内质网稳态对 AD 患者的神经元具有重要意义。当发生内质网应激反应时, ERS 启动 UPR 维持内质网的稳态。但当超过细胞处理能力的时候, 即内质网承受压力过大或持续时间过长时, 应激信号通路将转变为细胞凋亡通路, 导致细胞死亡^[35]。许多研究显示, ERS 在 AD 中起到重要作用。在 AD 患者的大脑中, 可检测到 ERS 的标志性蛋白葡萄糖调节蛋白 78 (glucose-regulated protein78, GRP78) 显著增高, 而且 UPR 相关的蛋白 pThr981-PERK、pSer51-eIF2 α 、IRE1 α 等均增加。研究显示, AD 患者神经元 ERS 显著增强, 神经元呈现不可逆性损伤^[36]。

UPR 由蛋白激酶 R 样内质网激酶 (protein kinase R (PKR) like ER kinase, PERK)、肌醇需求酶 1 α (inositol requiring enzyme 1 α , IRE1 α) 和活化转录因子 6 (activating transcription factor 6, ATF6) 介导启动^[37]。在正常生理状态下, GRP78 与 PERK、IRE1 α 和 ATF6 结合形成复合物而处于稳定状态, 下游通路的相关信号处于关闭状态。但在病理状态下, 即内质网内未折叠蛋白、错误蛋白聚集时, GRP78 感应到信号后与 PERK、IRE1 α 和 ATF6 三种蛋白发生解离, 解离后三种蛋白分别激活下游因子, 以达到促进蛋白正常折叠、清除未折叠或错误折叠蛋白、恢复内质网功能稳态的目的^[38-39]。

Ca^{2+} 参与酶激活、囊泡释放、细胞凋亡等细胞过程, 因此, Ca^{2+} 稳态是细胞内维持生理功能的重要因素^[40]。MAM 是细胞内 Ca^{2+} 和 ROS 交换的媒介, 当 MAM 的完整性遭到破坏时, 会直接或间接地导致 Ca^{2+} 稳态失衡并诱发 ERS 和氧化应激^[41]。内质网中 Ca^{2+} 通过 IP3R 释放, 并由特定的线粒体外膜的 VDAC 吸收进入线粒体^[42]。FUNDC1 是一种高度保守的线粒体外膜蛋白, 与 IP3R 结合, 调节 Ca^{2+} 释放。FUNDC1 的敲低与前文提到的 APP 对 VDAC 的影响, 导致细胞内 Ca^{2+} 稳态失衡, 进而导致 ERS 的发生。内质网应激诱导的 Ca^{2+} 释放到胞质中引起线粒体内膜去极化, 导致线粒体活性氧形成, 进而通过损害蛋白质加工促进内质网内错误折叠蛋白质的积累, 反过来加剧内质网应激的发生^[44]。

2.1 MAM与PERK内质网应激通路

PERK 通路在内质网应激中处于重要地位。PERK 是 I 类跨膜蛋白, N 端处于内质网腔内, C 端处于细胞质中。当发生 ERS 时, PERK 第 981 位苏氨酸

发生磷酸化, 激活下游的翻译起始因子 2α (eukaryotic initiation factor 2α , eIF 2α), 使其第 51 位丝氨酸发生磷酸化, 从而抑制翻译起始复合物的形成, 导致蛋白质合成受阻^[45]。另外, PERK 通路被激活后, 其下游靶点活化转录因子 4 (activating transcription factor 4, ATF4) 被激活, 上调 C/EBP 同源蛋白 (C/EBP homologous protein, CHOP) 和促凋亡蛋白 Bcl2 相关蛋白 x (Bcl2-associated x, Bax) 的表达、抑制 Bcl2 同源拮抗蛋白 (Bcl2 homologous antagonist/killer, Bak) 的表达, 从而激活细胞凋亡通路, 促使神经元凋亡^[46]。使用抗 myc 抗体对稳定表达标记 myc PERK 的细胞裂解物进行免疫共沉淀, 并对沉淀物进行 western blot 分析, 结果显示 PERK 与内源性 Mfn2 具有物理相互作用。这一结果验证了 Mfn2 与 PERK 活性呈负相关、存在物理相互作用的假说^[47], 但其作用机制尚未明确。Mfn2 功能的丧失导致 PERK 通路的持续激活、ROS 产生的增加, 引起线粒体钙超载、线粒体形态和功能损害。此外, PERK 作为 MAM 的连接体, 在细胞损伤后通过在内质网和线粒体之间传递 ROS 介导的信号促进细胞凋亡。Mfn2 缺乏导致的上述变化可能协同加速 ROS 介导的凋亡^[48]。因此, PERK 的沉默在一定程度上挽救了因 Mfn2 丢失引起的线粒体断裂和线粒体 Ca^{2+} 含量异常^[47]。因此, UPR 和 MAM 可能存在双向通信, 通过 PERK 通路调节内质网和线粒体动力学以及细胞内 Ca^{2+} 稳态。

2.2 MAM与IRE1 α 内质网应激通路

IRE1 α 是富集于 MAM 处的一种 I 型跨膜蛋白, 当自身二聚化和磷酸化后, IRE1 α 剪切无活性的 X-盒结合蛋白 1(X box binding protein 1, XBP1) 的 mRNA, 使之经翻译后产生更稳定且有活性的 XBP1s, XBP1s 可以调节多个 UPR 靶基因的表达^[49]。IRE1 α -XBP1 轴是 UPR 中最保守的通路。IRE1 α 是特定位于 MAM 的三个内质网应激传感器之一, 同时对线粒体内质网产生的 ROS 引起的应激作出反应。除此之外, MAM 上的 IRE1 α 也可以通过线粒体 Ca^{2+} 超载诱导细胞死亡。在人神经瘤细胞中, IRE1 α 基因敲除会导致 Ca^{2+} 失调, 导致 ROS 积聚和细胞死亡^[50]。用产生线粒体 ROS 的诱导剂处理细胞, 发现线粒体来源的 ROS 触发了 IRE1 α -XBP1 信号转导。当发生内质网应激时, Ca^{2+} 向线粒体流动, 这种 Ca^{2+} 流动可能与氧化磷酸化调节有关; 最初表现为 ERS 的适应性反应, 但当 Ca^{2+} 过度流动和 ROS 积累时, 则导致细胞的死亡。

在细胞凋亡通路方面, 当 IRE1 α 被激活后, 肿瘤坏死因子受体相关因子 2 (tumor necrosis factor receptor-associated factor 2, TRAF2)、凋亡信号调节激酶 1 (apoptosis signal regulating kinase 1, ASK1)、c-Jun 氨基末端激酶 (c-Jun N-terminal kinase, JNK) 等被激活。JNK 是含有苏氨酸/丝氨酸蛋白激酶的蛋白家族, 由三种不同亚型组成。当 JNK 被激活后, Bcl2 发生磷酸化, 磷酸化后的 Bcl2 失去活性, 进而导致神经元凋亡^[51]。有研究表明, 在分子水平上, IRE1 α 的抑制降低了 AD 小鼠海马区 APP 的表达和 A β 的沉积, 可完全恢复 AD 小鼠的学习和记忆能力并改善突触功能。此外, 体外实验证明, IRE1 α 下游信号 XBP1s 被抑制可使 APP 水平降低, 与其在内质网处的残留和蛋白酶体介导的降解有关^[52]。

2.3 MAM与ATF6内质网应激通路

ATF6 是 II 型跨膜蛋白, 在正常生理状况下 ATF6 与 GRP78 结合处于无活性状态。当 ERS 发生后, 其与 GRP78 分离后被转运至高尔基体中, 在高尔基体中被第一位点蛋白酶 (site-1 protease, S1P) 和第二位点蛋白酶 (site-2 protease, S2P) 依次切割而被激活, 激活后的 ATF6 被移至核内, 上调 CHOP 基因的表达。有研究表明, 在 APP/PS1 AD 模型小鼠中, ATF6 的表达较野生型小鼠中减少, ATF6 可通过下调 BACE1 表达减轻 A β 沉积, 从而提升小鼠学习记忆能力^[53], 以 ATF6 作为靶点进行 AD 治疗可能成为新方向。

在一定的应激范围内, ATF6 通路具有维持内质网内环境稳定、恢复内质网功能的作用, 但当应激强度超出稳态范围时, 则会诱导细胞的凋亡。目前, MAM 是否参与了 ERS 的 ATF6 通路还有待研究。

3 MAM在阿尔茨海默病中的作用

除了神经炎症斑块和神经原纤维缠结之外, AD 中还存在其他生化和形态学特征改变, 通常在疾病过程的早期表现出来, 如钙、胆固醇代谢、线粒体动力学的改变。AD 的这些其他特征可能与 MAM 异常密切相关^[54]。

APP 与 AD 发生发展密切相关。APP 是一种 I 型跨膜蛋白, APP 可经淀粉样蛋白生成途径和非淀粉样蛋白生成途径而裂解^[55-56]。在淀粉样蛋白生成途径中, APP 被 β -分泌酶切割生成 99 个氨基酸的 C-末端片段 (C99), 然后 C99 被 γ -分泌酶切割生成老年斑的主要成分 A β ^[57]。在大多数细胞中, 胆固醇位于质膜, AD 细胞模型研究结果表明, 未切割的

C99 通过诱导细胞外胆固醇内转运及其从质膜到内质网的运输来干扰细胞内稳态, 造成胆固醇紊乱, 介导 AD 的发生^[58]。此外, 有研究发现, C99 在脆弱的神经元中积累, 其水平与 AD 患者认知障碍程度相关^[59]。C99 除了存在于内吞体 (endosomes) 外, 还存在于 MAM 中, 在正常情况下由 γ -分泌酶分解。但在 AD 的细胞模型中, 未经 γ -分泌酶处理的 C99 在 MAM 区域的浓度增加, 并且这种增加抑制了线粒体的呼吸作用。因此, AD 患者的代谢紊乱可能是由于内质网线粒体通讯的增加引起的, 这种通讯是由 MAM 处 C99 水平的增加所驱动的^[60-61], 从而可能导致 AD 中的生物能量缺陷。因此, 关于 C99 对于 AD 的作用还须进一步研究。

在 APP 转基因小鼠模型中, 可以看到 ER-线粒体关联和功能的改变, 用 $A\beta$ 处理神经元会对 ER-线粒体接触产生影响^[62]。此外, 在野生型过表达 APP 或带有双重瑞典或伦敦家族 AD 突变的 APP 的细胞模型中, 以及在 AD 转基因小鼠模型的脑中, 可以检测到 MAM 中的 β -淀粉样前体蛋白及其蛋白水解产物, 且证明了 β -和 γ -分泌酶均存在于 MAM 中, 并且具有 APP 加工活性^[63]。 $A\beta$ 由 γ -分泌酶切割产生, $A\beta$ 已被证明可产生于 MAM^[64]。在对 APP/PS1 小鼠模型和同龄 C57BL/6 对照小鼠大脑皮层分离的 MAM 中的蛋白质水平进行比较显示, 抑制 $A\beta$ 积累的 ATP 结合盒转运蛋白 G1 (ATP binding cassette transporter G1, ABCG1) 具有较大差异, 且 ABCG1、PACS-2 等对 MAM 起到主要调节作用的蛋白在 $A\beta$ 诱导的早期 MAM 失调中起重要作用, 表明 MAM 参与 AD 的初始阶段^[65]。在 MAM 产生并积累的 $A\beta$ 会影响线粒体的功能。线粒体中的自由基、氧化应激和 Ca^{2+} 浓度的增加会导致 ATP 产生的减少。线粒体的动态和运输也由于 $A\beta$ 毒性而改变^[66]。有研究显示, 转染 PS1 的海马神经元胞质内 Ca^{2+} 浓度高于对照神经元细胞, 而线粒体 Ca^{2+} 浓度降低, 且转染 PS1 的海马神经元细胞经氧化应激物处理后存活率降低。表明该细胞钙调节受损, 抗氧化应激能力降低, 可能导致细胞死亡, 引发 AD^[67]。由此, 是否可以通过维持细胞内钙稳态来降低线粒体损伤, 减轻 AD 症状, 可作为预防或治疗 AD 的新方向。

家族性阿尔茨海默病 (familial Alzheimer's disease, FAD) 中早老素和 APP 突变体的表达会改变钙稳态, 通过影响 ER 钙存储而影响细胞内钙水平。研究表明, PS2 通过与 MAM 中 Mfn2 的相互作用促进内质网与线粒体间 Ca^{2+} 交换^[26]。载脂蛋白 E

的 $\zeta 4$ 突变体 (ApoE4) 是散发性 AD (sporadic Alzheimer's disease, SAD) 的重要风险因素。磷脂酰丝氨酸 (phosphatidylserine, PtdSer) 在 MAM 中合成, 并从内质网转移至线粒体, 而后脱羧形成磷脂酰乙醇胺 (phosphatidylethanolamine, PtdEtn), 因此 PtdSer 是 MAM 通讯的标志物^[68]。成纤维细胞几乎不表达 ApoE。在一项研究中, 用含 ApoE3 或 ApoE4 的星形胶质细胞条件培养基 (astrocyte-conditioned media, ACM) 来处理小鼠胚胎成纤维细胞 (mouse embryonic fibroblasts, MEFs), 比较磷脂酰丝氨酸 (phosphatidylserine, PtdSer) 和磷脂酰乙醇胺 (phosphatidylethanolamine, PtdEtn) 的含量, 并使用敲除 Mfn2 的 MEFs 进行同样的实验验证, 结果表明 ApoE4 上调了 MAM 的活性^[69]。持续的 ERS 促使 ER 中的 Ca^{2+} 持续向线粒体流动, 过量的 Ca^{2+} 导致线粒体动力学、形态等发生改变, 释放出细胞色素 c 并产生 ROS。细胞色素 c 激活一系列细胞凋亡信号, 促使细胞发生凋亡。而 ROS 对细胞的抗氧化损伤机制造成损害, 使细胞失去抗氧化机制的保护, 从而介导神经细胞的死亡, 加重 AD 病程。

目前, 已有很多证据表明, MAM 参与 AD 的初始阶段, 因此寻找对 ERS 等机制具有调节作用的生物活性物质可能成为预防 AD 的新途径。

4 结论与展望

目前 AD 的发病机制尚未明确, 仍处于探索阶段, 也未有针对 AD 的特效药。近年的研究结果显示, 内质网应激与 AD 之间具有紧密的联系。ERS 最终会导致细胞凋亡通路的触发, 导致细胞凋亡。由此可见, ERS 对神经元的损伤和细胞凋亡通路的激活有重要影响。近年来, MAM 与 AD 之间的联系逐渐被关注, 且 MAM 与 ERS 之间具有紧密的联系, 有研究表明 ERS 通路与 Mfn2 具有双向作用。研究显示, Mfn2 对 UPR 具有调节作用, Mfn2 功能的丧失可导致 UPR 三个分支的过度激活。因此, 是否可以通过上调 Mfn2 的表达来抑制 UPR 三条通路以达到减轻 AD 症状的目的, 以及上调 Mfn2 的表达是否会产生其他的影响, 可能具有一定的研究价值。

[参 考 文 献]

- [1] Hsiao YH, Chang CH, Gean PW. Impact of social relationships on Alzheimer's memory impairment: mechanistic studies. *J Biomed Sci*, 2018, 25: 3
- [2] 王英全, 梁景宏, 贾瑞霞, 等. 2020-2050年中国阿尔茨海默病患者情况预测研究. *阿尔茨海默病及相关病*, 2019,

- 2: 289-98
- [3] Murphy MP, LeVine H 3rd. Alzheimer's disease and the amyloid- β peptide. *J Alzheimers Dis*, 2010, 19: 311-23
- [4] Julia TCW, Goate AM. Genetics of β -amyloid precursor protein in Alzheimer's disease. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2017, 7: a024539
- [5] 张赫, 郑焱. β 淀粉样蛋白级联假说相关的阿尔茨海默病发病机制及防治策略研究进展. *中国医学科学院学报*, 2019, 41: 702-8
- [6] 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
- [7] Peng Y, Gao P, Shi L, et al. Central and peripheral metabolic defects contribute to the pathogenesis of Alzheimer's disease: targeting mitochondria for diagnosis and prevention. *Antioxid Redox Signal*, 2020, 32: 1188-236
- [8] Swerdlow RH. Mitochondria and mitochondrial cascades in Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*, 2018, 62: 1403-16
- [9] Hayashi T, Rizzuto R, Hajnoczky G, et al. MAM: more than just a housekeeper. *Trends Cell Biol*, 2009, 19: 81-8
- [10] Bravo R, Gutierrez T, Paredes F, et al. Endoplasmic reticulum: ER stress regulates mitochondrial bioenergetics. *Int J Biochem Cell Biol*, 2012, 44: 16-20
- [11] Oakes SA, Papa FR. The role of endoplasmic reticulum stress in human pathology. *Annu Rev Pathol*, 2015, 10: 173-94
- [12] Pobre KFR, Poet GJ, Hendershot LM. The endoplasmic reticulum (ER) chaperone BiP is a master regulator of ER functions: getting by with a little help from ERdj friends. *J Biol Chem*, 2019, 294: 2098-108
- [13] Kramer P, Bressan P. Our (Mother's) mitochondria and our mind. *Perspect Psychol Sci*, 2018, 13: 88-100
- [14] Yan X, Wang B, Hu Y, et al. Abnormal mitochondrial quality control in neurodegenerative diseases. *Front Cell Neurosci*, 2020, 14: 138
- [15] Martinez J, Marmisolle I, Tarallo D, et al. Mitochondrial bioenergetics and dynamics in secretion processes. *Front Endocrinol*, 2020, 11: 319
- [16] 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
- [17] Csordás G, Weaver D, Hajnoczky G. Endoplasmic reticulum-mitochondrial contactology: structure and signaling functions. *Trends Cell Biol*, 2018, 28: 523-40
- [18] Rowland AA, Voeltz GK. Endoplasmic reticulum-mitochondria contacts: function of the junction. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2012, 13: 607-25
- [19] Kornmann B, Osman C, Walter P. The conserved GTPase Gem1 regulates endoplasmic reticulum-mitochondria connections. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108: 14151-6
- [20] Morciano G, Marchi S, Morganti C, et al. Role of mitochondria-associated ER membranes in calcium regulation in cancer-specific settings. *Neoplasia*, 2018, 20: 510-23
- [21] Liu Y, Zhu X. Endoplasmic reticulum-mitochondria tethering in neurodegenerative diseases. *Translat Neurodegener*, 2017, 6: 21
- [22] Mueller M, Ahumada-Castro U, Sanhuesa M, et al. Mitochondria and calcium regulation as basis of neurodegeneration associated with aging. *Front Neurosci*, 2018, 12: 470
- [23] Xu L, Wang X, Tong C. Endoplasmic reticulum-mitochondria contact sites and neurodegeneration. *Front Cell Dev Biol*, 2020, 8: 428
- [24] Malhotra JD, Kaufman RJ. ER stress and its functional link to mitochondria: role in cell survival and death. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2011, 3: a004424
- [25] Larrea D, Pera M, Gonnelli A, et al. MFN2 mutations in Charcot-Marie-Tooth disease alter mitochondria-associated ER membrane function but do not impair bioenergetics. *Hum Mol Genet*, 2019, 28: 1782-800
- [26] Filadi R, Greotti E, Turacchio G, et al. Presenilin 2 modulates endoplasmic reticulum-mitochondria coupling by tuning the antagonistic effect of mitofusin 2. *Cell Rep*, 2016, 15: 2226-38
- [27] de Brito OM, Scorrano L. Mitofusin 2 tethers endoplasmic reticulum to mitochondria. *Nature*, 2008, 456: 605-10
- [28] Szabadkai G, Bianchi K, Várnai P, et al. Chaperone-mediated coupling of endoplasmic reticulum and mitochondrial Ca^{2+} channels. *J Cell Biol*, 2006, 175: 901-11
- [29] Honrath B, Metz I, Bendridi N, et al. Glucose-regulated protein 75 determines ER-mitochondrial coupling and sensitivity to oxidative stress in neuronal cells. *Cell Death Discov*, 2017, 3: 17076
- [30] D'Eletto M, Rossin F, Occhigrossi L, et al. Transglutaminase type 2 regulates ER-mitochondria contact sites by interacting with GRP75. *Cell Rep*, 2018, 25: 3573-81
- [31] Simmen T, Lynes EM, Gesson K, et al. Oxidative protein folding in the endoplasmic reticulum: Tight links to the mitochondria-associated membrane (MAM). *Biochim Biophys Acta*, 2010, 1798: 1465-73
- [32] Hayashi T, Su TP. Sigma-1 receptor chaperones at the ER-mitochondrion interface regulate Ca^{2+} signaling and cell survival. *Cell*, 2007, 131: 596-610
- [33] Srivats S, Balasuriya D, Pasche M, et al. Sigma1 receptors inhibit store-operated Ca^{2+} entry by attenuating coupling of STIM1 to Orai1. *J Cell Biol*, 2016, 213: 65-79
- [34] Penke B, Fulop L, Szucs M, et al. The role of sigma-1 receptor, an intracellular chaperone in neurodegenerative

- diseases. *Curr Neuropharmacol*, 2018, 16: 97-116
- [35] Ron D, Walter P. Signal integration in the endoplasmic reticulum unfolded protein response. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2007, 8: 519-29
- [36] Shen H, Pan XD, Zhang J, et al. Endoplasmic reticulum stress induces the early appearance of pro-apoptotic and anti-apoptotic proteins in neurons of five familial Alzheimer's disease mice. *Chin Med J (Engl)*, 2016, 129: 2845-52
- [37] Walter P, Ron D. The unfolded protein response: from stress pathway to homeostatic regulation. *Science*, 2011, 334: 1081-6
- [38] Zeng L, Lu M, Mori K, et al. ATF6 modulates SREBP2-mediated lipogenesis. *EMBO J*, 2004, 23: 950-8
- [39] Mori K. The unfolded protein response: the dawn of a new field. *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci*, 2015, 91: 469-80
- [40] Dong Y, Kalueff AV, Song C. N-methyl-D-aspartate receptor-mediated calcium overload and endoplasmic reticulum stress are involved in interleukin-1 β -induced neuronal apoptosis in rat hippocampus. *J Neuroimmunol*, 2017, 307: 7-13
- [41] Wang J, He W, Tsai PJ, et al. Mutual interaction between endoplasmic reticulum and mitochondria in nonalcoholic fatty liver disease. *Lipids iHealth Dis*, 2020, 19: 72
- [42] Reddy PH. Is the mitochondrial outer membrane protein VDAC1 therapeutic target for Alzheimer's disease? *Biochim Biophys Acta*, 2013, 1832: 67-75
- [43] Wu S, Lu Q, Wang Q, et al. Binding of FUN14 domain containing 1 with inositol 1,4,5-trisphosphate receptor in mitochondria-associated endoplasmic reticulum membranes maintains mitochondrial dynamics and function in hearts *in vivo*. *Circulation*, 2017, 136: 2248-66
- [44] Martucciello S, Masullo M, Cerulli A, et al. Natural products targeting ER stress, and the functional link to mitochondria. *Int J Mol Sci*, 2020, 21: 1905
- [45] Rozpedek W, Markiewicz L, Diehl JA, et al. Unfolded protein response and perk kinase as a new therapeutic target in the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Curr Med Chem*, 2015, 22: 3169-84
- [46] Devi L, Ohno M. PERK mediates eIF2 α phosphorylation responsible for BACE1 elevation, CREB dysfunction and neurodegeneration in a mouse model of Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*, 2014, 35: 2272-81
- [47] Pablo Munoz J, Ivanova S, Sanchez-Wandelmer J, et al. Mfn2 modulates the UPR and mitochondrial function via repression of PERK. *EMBO J*, 2013, 32: 2348-61
- [48] Saito A, Imaizumi K. Unfolded protein response-dependent communication and contact among endoplasmic reticulum, mitochondria, and plasma membrane. *Int J Mol Sci*, 2018, 19: 3215
- [49] Ni H, Rui Q, Li D, et al. The role of IRE1 signaling in the central nervous system diseases. *Curr Neuropharmacol*, 2018, 16: 1340-7
- [50] Son SM, Byun J, Roh SE, et al. Reduced IRE1 α mediates apoptotic cell death by disrupting calcium homeostasis via the InsP3 receptor. *Cell Death Dis*, 2014, 5: e1188
- [51] Rahman S, Archana A, Jan AT, et al. Dissecting endoplasmic reticulum unfolded protein response (UPRER) in managing clandestine modus operandi of Alzheimer's disease. *Front Aging Neurosci*, 2018, 10: 30
- [52] Duran-Aniotz C, Cornejo VH, Espinoza S, et al. IRE1 signaling exacerbates Alzheimer's disease pathogenesis. *Acta Neuropathol*, 2017, 134: 489-506
- [53] Du Y, Liu X, Zhu X, et al. Activating transcription factor 6 reduces A β 1-42 and restores memory in Alzheimer's disease model mice. *Int J Neurosci*, 2020, 130: 1015-23
- [54] Area-Gomez E, Schon EA. On the pathogenesis of Alzheimer's disease: the MAM hypothesis. *FASEB J*, 2017, 31: 864-7
- [55] Geng L, Zhang T, Liu W, et al. Inhibition of miR-128 abates A β -mediated cytotoxicity by targeting PPAR- γ via NF- κ B inactivation in primary mouse cortical neurons and Neuro2a cells. *Yonsei Med J*, 2018, 59: 1096-106
- [56] Xu X. γ -secretase catalyzes sequential cleavages of the A β PP transmembrane domain. *J Alzheimers Dis*, 2009, 16: 211-24
- [57] Uemura K, Lill CM, Banks M, et al. N-cadherin-based adhesion enhances A β release and decreases A β (42/40) ratio. *J Neurochem*, 2009, 108: 350-60
- [58] Montesinos J, Pera M, Larrea D, et al. The Alzheimer's disease-associated C99 fragment of APP regulates cellular cholesterol trafficking. *EMBO J*, 2020, 39: e103791
- [59] Pulina MV, Hopkins M, Haroutunian V, et al. C99 selectively accumulates in vulnerable neurons in Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement*, 2020, 16: 273-82
- [60] 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
- [61] 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
- [62] Paillusson S, Stoica R, Gomez-Suaga P, et al. There's something wrong with my MAM; the ER-mitochondria axis and neurodegenerative diseases. *Trends Neurosci*, 2016, 39: 146-57
- [63] Del Prete D, Suski JM, Oules B, et al. Localization and processing of the amyloid- β protein precursor in mitochondria-associated membranes. *J Alzheimers Dis*, 2017, 55: 1549-70
- [64] 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
- [65] Volgyi K, Badics K, Sialana FJ, et al. Early presymptomatic changes in the proteome of mitochondria-

- associated membrane in the APP/PS1 mouse model of Alzheimer's disease. *Mol Neurobiol*, 2018, 55: 7839-57
- [66] Volgyi K, Juhasz G, Kovacs Z, et al. Dysfunction of endoplasmic reticulum (ER) and mitochondria (MT) in Alzheimer's disease: the role of the ER-MT cross-talk. *Curr Alzheimer Res*, 2015, 12: 655-72
- [67] Korkotian E, Meshcheriakova A, Segal M. Presenilin 1 regulates $[Ca^{2+}]_i$ and mitochondria/ER interaction in cultured rat hippocampal neurons. *Oxid Med Cell Longev*, 2019, 2019: 7284967
- [68] Xu Q, Bernardo A, Walker D, et al. Profile and regulation of apolipoprotein E (ApoE) expression in the CNS in mice with targeting of green fluorescent protein gene to the ApoE locus. *J Neurosci*, 2006, 26: 4985-94
- [69] Tambini MD, Pera M, Kanter E, et al. ApoE4 upregulates the activity of mitochondria-associated ER membranes. *EMBO Rep*, 2016, 17: 27-36