

异常蛋白质积聚与神经退行性疾病

胡红雨

(中国科学院上海生物化学研究所, 上海 200031. Email: hyhu@sunm.shenc.ac.cn)

神经退行性疾病(neurodegenerative diseases)是神经系统中一类与年龄相关联的进行性疾病. 这类疾病发生的病因比较复杂, 还没有找到有效的治疗方法. 近年来组织化学实验在人脑中陆续发现不溶性沉积物(包涵体), 如 Lewy 体(Lewy bodies)^[1]. 进一步研究发现, 这些沉积物是由某些蛋白质异常积聚(aggregation)或淀粉样化(amyloidogenesis)形成的, 它是某些神经退行性疾病的主要致病原因^[2](表 1). 神经病理学、遗传学、生物化学和生物物理学的共同研究已深入到探讨这些疾病相关蛋白质异常积聚的机理及与神经退行性疾病的内在联系^[3,4], 已形成了结构神经病学(structural neurology)的分支学科.

表 1 某些由异常蛋白质积聚引起的神经退行性疾病

类别	蛋白质	相关疾病
朊病毒	Prions (PrP)	克-雅病(CJD), GSS 病, 库鲁病(Kuru), 疯牛病(BSE), 致死家族性失眠症(FFI)
淀粉样蛋白	Aβ肽(β-Amyloid), Tau 蛋白	阿尔茨海默病(AD), 唐氏先天愚综合征(DS), 家族性 AD(FAD), 额颞痴呆症(FTD)
突触核蛋白家族	α-突触核蛋白(α-Synuclein, α-Syn), NAC (Syn61~95)	帕金森症(PD), 肌萎缩外侧硬化(ALS), 阿尔茨海默病(AD)
谷氨酰胺重复延伸	Huntingtin, Ataxin-3, 雄激素受体	亨廷顿病(HD), 脊椎小脑失调Ⅲ(SCA3 or MJD), 脊柱和延髓肌肉萎缩(SBMA or KD)
甲状腺素运载蛋白	Transthyretin (TTR)	家族性淀粉样多神经病(FAD)
Serpin 类	Neuroserpin	家族性脑病(FEP)

1 异常蛋白质积聚: Ab, a-Syn 和 PrP

Aβ是构成阿尔茨海默病(AD)人脑中淀粉样斑的主要成分, 它是 βAPP 前体蛋白在体内的剪切产物, 一般有 Aβ40 和 Aβ42 两种多肽片段. 它们容易以多肽链间的交叉β-折叠结构形成积聚物, 其中 Aβ42 比 Aβ40 更易形成淀粉样化积聚, 且在早发性 FAD 中 Aβ42 的量增加^[4]. 另外, 在 AD 淀粉样斑中还存在另一种称之为 NAC (non-amyloid component)的多肽片段, 它是 α-Syn 的剪切片段 Syn61~95. 在 PD 脑的 Lewy 体和肌萎缩外侧硬化(ALS)的星型胶质细胞中也发现α-Syn 的积聚体存在^[5]. 体外研究同样发现α-Syn 容易形成积聚, 在积聚形成过程中, 发生二级结构转换, β-折叠量明显增加^[6]. 在不溶性沉积物中还发现这些蛋白质积聚物与泛素蛋白(ubiquitin)共存的现象^[5].

曾经引起轰动的朊病毒(Prion)是引起疯牛病(BSE)和人类克-雅病(CJD)的主要病原体^[7]. 脑细胞存在正常的细胞型 PrP^c 蛋白, 其生理功能尚不清楚. PrP^c 易发生结构转换, 转化为交叉β-折叠为主的致病型 PrP^{sc} 蛋白. PrP^{sc} 不易被蛋白酶降解, 其沉积导致脑细胞胀破而形成空洞. 一旦 PrP^{sc} 进入正常脑细胞, 将诱导 PrP^c 型转化为 PrP^{sc}, 并形成多聚物在细胞内沉积, 再继续感染其他正常细胞, 引起神经系统坏死. 酵母 Prion 蛋白 Sup35 蛋白与翻译的终止有关, 若在体内转变为无活性的淀粉样积聚形式, 就使翻译过程的密码子通读, 酵母转化为[PSI⁺]态, 并

能进行非孟德尔式遗传^[8].

2 积聚形成蛋白的序列和结构特征

正常 Huntingtin 蛋白的 N-端含有 37 个谷氨酰胺重复序列, 若重复 Gln 量大于 41 个, 可产生遗传性的 HD 疾病. Gln 重复序列的长短决定了积聚形成的可能性和致病原因^[9]. PrP 蛋白含有 5 个 PHGGGWGQ 重复序列, 可能与自发性 PrP 病的发生有关. 酵母 PrP 蛋白 Sup35 含有 5 个 PQGGYQQYN 重复序列; 若增加两个重复序列或突变成 Gln 和 Asn 重复, 则使酵母产生 [PSI⁺] 态. Syn 蛋白家族一般均含有 5~7 个 KTKEGV 重复序列, 这些重复序列与积聚形成和疾病发生的关系尚未见报道. 我们比较 PrP, A β 和 Syn 3 类与积聚形成有关的异源蛋白质, 发现它们均有 VGGAVVAGV 的同源序列. 由于它由 Gly(G), Ala(A) 和 Val(V) 3 种氨基酸残基组成, 我们将其命名为 GAV 基序(GAV motif)(胡红雨, 未发表结果). 通过化学合成 PrP 和 A β 中的 GAV 同源序列发现这些多肽形成纤维状的 β -折叠结构^[10].

目前, 对积聚形成蛋白的空间结构认识较少, 只有 PrP^c 的三维空间结构已用 NMR 法测定^[11]. 其结构为 C-端 127~231 肽链形成 α -螺旋, 形成一个核心, N-端 1~126 位为伸展的天然无规卷曲. α -Syn 的圆二色性显示为天然未折叠蛋白(无规卷曲), 在脂及三氟乙醇等溶剂中形成 α -螺旋结构^[6]. 其他蛋白质, 如 A β , Sup35 在溶液状态下也是以无规卷曲结构存在, 且易发生 β -折叠形式积聚. 天然未折叠或熔球态(molten globule)蛋白发生结构转换, 形成以 β -折叠为主的结构, 容易形成淀粉样或纤维化积聚.

3 突变与积聚的形成

APP 和早老蛋白(Presenilin)的突变促进 A β 的淀粉样积聚和早发性 FAD 的发生^[12]. α -Syn 基因的突变产物 Ala30Pro 和 Ala53Thr 与家族性 PD 相关^[13], 体外研究表明两突变体比野生型蛋白更容易形成积聚^[6]. PrP 突变体 Ala117Val 与 GSS 病的发生有关, 而 Asp178Asn 和 Met129Val 双突变引起人类家族性 FFI 和 CJD 病^[4]. 体外研究也发现, Huntingtin 蛋白的 Gln 延伸突变(大于 41 个)容易产生积聚^[9]. TTR 突变体 Val30Met 和 Leu55Pro 改变四聚体蛋白的稳定性, 增加淀粉样化积聚, 与 FAP 的发生直接相关^[14]. Neuroserpin 的两个突变体 Ser49Pro 和 Ser52Arg 的淀粉样积聚被发现引起家族性脑病^[15]. 基因突变会影响蛋白质的稳定性, 突变体处在亚稳定的熔球态, 易于发生蛋白质结构转换和积聚^[16]. 人溶菌酶的 Asp67His 突变体的热稳定性下降, α -螺旋转化为 β -折叠, 在体内容易形成纤维状积聚, 造成人类的家族性内脏淀粉样病^[17].

4 有序蛋白质积聚: 成核模型

通过对 A β , PrP, Sup35 和 α -Syn 的积聚形成动力学的体外研究, 发现有序的蛋白质积聚存在一些共同特征^[4]: (i) 在蛋白质浓度低于某一阈值(critical concentration)时, 没有积聚发生; (ii) 在发生积聚之前有一个延滞时间(lag time), 在此期间存在较慢的成核期; (iii) 在积聚生长期, 蛋白质快速积聚形成更大的积聚体; (iv) 若在过饱和状态的延滞期, 加入“聚种”(seed), 体系立即发生积聚; (v) 在稳态期, 有序积聚体和单体间存在平衡. 图 1 为有序蛋白质积聚过程与蛋白质浓度和反应时间的关系示意图, 详细说明了有序蛋白质积聚的成核机制^[18].

成核机制中“聚种”的存在已得到许多实验结果的支持. 体外加入聚种、点突变或插入

特殊序列均能促进成核过程. 淀粉样纤维主要为 $A\beta_{40}$ 和少量 $A\beta_{42}$, 而 $A\beta_{42}$ 的成纤维速率快得多, 推测 $A\beta_{42}$ 起着病原性聚种的作用^[4]. 淀粉样斑中的主要成分为 $A\beta$, 少量的 NAC 或许也是一种聚种. 致病型 PrP^{Sc} 作为病原体, 能够诱导细胞型 PrP^C 转化成积聚物. 在 PrP^{Sc} 积聚物中发现共同存在野生型和突变型 PrP , 或许突变体 PrP 的成核作用也能诱导野生型 PrP 的积聚转化. 可以设想, 体内与疾病相关的蛋白质突变作为聚种, 加速正常蛋白质的积聚^[4,12,19].

蛋白质的结构转换和异常积聚是导致人类某些“构象病”的主要原因. 在神经系统中, 基因突变和蛋白质序列改变、错误剪接和运输、错误折叠和异常积聚、聚种引入(传染)与一些神经退化性疾病的发生存在某种内在联系^[16]. 对下列这些问题的进一步探讨将有助于在蛋白质构象和积聚的分子机制的基础上认识这类疾病: (i) 相关蛋白质的正常生理功能; (ii) 积聚和疾病发生关系的生物物理化学模型和动物模型^[12]; (iii) 神经退行疾病的自发性、遗传性和传染性^[7]; (iv) 蛋白质的稳定性、结构转换和积聚的诱发因素^[16,17]; (v) 神经细胞毒性是由积聚初期寡聚体还是由纤维状积聚引起的, Lewy 体是引起细胞毒性的因素还是使毒性物质形成纤维状而具有保护细胞作用^[3]; (vi) 异常蛋白质积聚的分子机制, 成核模型的生物学意义^[4]; (vii) 基因变异与蛋白质结构转换和积聚及疾病的关系^[12-15]; (viii) 体内防止蛋白质错误折叠的分子伴侣和参与泛素偶联蛋白质降解的蛋白酶体对积聚的影响; (ix) 为什么神经系统容易得此病, 是否与神经元的年龄有关; (x) 阻止神经元蛋白质异常积聚的药物^[3].

致谢 本工作为国家自然科学基金重大资助项目(批准号: 39990600).

参 考 文 献

- 1 Spillantini M G, Schmidt M L, Lee V M Y, et al. α -synuclein in Lewy bodies. *Nature*, 1997, 388: 839-840
- 2 Koo E H, Lansbury P T Jr, Kelly J W. Amyloid diseases: abnormal protein aggregation in neurodegeneration. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, 96: 9989-9990
- 3 Rochet J C, Lansbury P T Jr. Amyloid fibrillogenesis: themes and variations. *Curr Opin Struct Biol*, 2000, 10: 60-68
- 4 Harper J D, Lansbury P T Jr. Models of amyloid seeding in Alzheimer's disease and scrapie: mechanistic truths and physiological consequences of the time-dependent solubility of amyloid proteins. *Annu Rev Biochem*, 1997, 66: 385-407

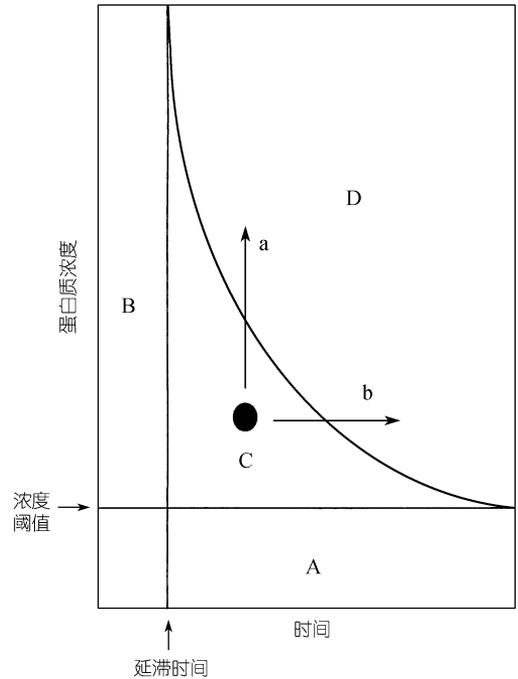


图 1 有序蛋白质积聚过程与蛋白质浓度和反应时间的关系示意图

图中分为 A, B, C, D 4 个区域, 圆点代表体内或体外的某个状态条件. 若圆点处于 A 或 B 区, 则体系没有积聚发生. 其中 A 区代表蛋白质浓度低于阈值, 无论时间多长, 都无积聚形成; B 为延滞区, 在此期间, 无论蛋白质浓度多大, 也无积聚发生. C 为积聚生长区域, 体系处于该过饱和状态, 蛋白质积聚生长旺盛. D 为积聚态, 存在有序聚集体和单体之间的平衡. 箭头 a 和 b 分别表示增大体系浓度和延长过饱和时间, 均能促进积聚的形成. 若在体系中加入“聚种”, 则 A, B 两区消失, 体系迅速进入积聚生长期, 很快就达到平衡

- 5 Mezey Z, Dehejia A, Harta G, et al. Alpha synuclein in neurodegenerative disorders: murderer or accomplice. *Nat Med*, 1998, 4: 755~757
- 6 Narhi L, Wood S J, Steavenson S, et al. Both familial Parkinson's disease mutations accelerate α -synuclein aggregation. *J Biol Chem*, 1999, 274: 9843~9846
- 7 Prusiner S B. Molecular biology and pathogenesis of prion diseases. *Trends Biochem Sci*, 1996, 21: 482~487
- 8 Patino M M, Liu J J, Glover J R, et al. Support for the prion hypothesis for inheritance of a phenotypic trait in yeast. *Science*, 1996, 273: 622~626
- 9 Perutz M F. Glutamine repeats and neurodegenerative diseases: molecular aspects. *Trends Biochem Sci*, 1999, 24: 58~63
- 10 Lansbury P T, Costa P R, Griffiths J M. Structural model for the β -amyloid fibril based on interstrand alignment of an antiparallel-sheet comprising a C-terminal peptide. *Nat Struct Biol*, 1995, 2: 990~998
- 11 Zahn R, Liu A, Luhrs T, et al. NMR solution structure of the human prion protein. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97: 145~150
- 12 Selkoe D J. Alzheimer's disease: genotypes, phenotype and treatments. *Science*, 1997, 275: 630~631
- 13 Polymeropoulos M H, Lavedan C, Leroy E, et al. Mutation in the α -synuclein gene identified in families with Parkinson's disease. *Science*, 1997, 276: 2045~2047
- 14 Lashuel H A, Wurth C, Woo L, et al. The most pathogenic transthyretin variant, L55P, forms amyloid fibrils under acidic conditions and protofilaments under physiological conditions. *Biochemistry*, 1999, 38: 13560~13573
- 15 Davis R L, Shrimpton, A E, Holohan P D, et al. Familial dementia caused by polymerization of mutant neuroserpin. *Nature*, 1999, 401: 376~379
- 16 胡红雨, 许根俊. 蛋白质的结构转换. *生物化学与生物物理进展*, 1999, 26: 9~12
- 17 Brooth D R, Sunde M, Bellotti V, et al. Instability, unfolding and aggregation of human lysozyme variants underlying amyloid fibrillogenesis. *Nature*, 1997, 385: 787~793
- 18 Jarrett J T, Lansbury P T Jr. Seeding "one-dimensional crystallization" of amyloid: a pathogenic mechanism in Alzheimer's disease and Scrapie? *Cell*, 1993, 73: 1055~1058
- 19 Suzuki N, Cheung T T, Cai X D. An increased percentage of long amyloid β protein secreted by familial amyloid β protein precursor (β APP₇₁₇) mutants. *Science*, 1997, 264: 1336~1340

(2000-05-08 收稿, 2000-06-23 收修改稿)