

综述

WDR45基因自噬相关功能

欧阳芊芊¹, 黄娜娜¹, 李文辉², 安宇^{1*}

(¹复旦大学人类表型组研究院, 医学遗传研究院, 教育部现代人类学重点实验室, 张江复旦国际创新中心, 上海 201203; ²国家儿童医学中心, 复旦大学附属儿科医院神经科, 上海 201102)

摘要: *WDR45* 基因与 β -螺旋桨蛋白相关神经退行性疾病(β -propeller protein-associated neurodegeneration, BPAN)及其他神经退行性疾病的发生发展密切相关。本文聚焦于*WDR45*在自噬过程中的作用, 探讨了其在自噬体形成、成熟和铁蛋白选择性自噬中的关键角色。*WDR45*的缺失或变异可能导致自噬缺陷、线粒体功能障碍、内质网应激和铁稳态失衡, 进而引发细胞损伤和死亡。*WDR45*与ATG2A/B的相互作用在自噬体的膜募集和脂质转运中至关重要。此外, *WDR45*在铁蛋白的选择性自噬中也发挥作用, 其缺失可能导致铁蛋白降解受阻, 影响铁代谢。*WDR45*基因敲除小鼠模型揭示了认知障碍和神经退行性病变, 为理解*WDR45*在神经退行性疾病中的作用提供了重要线索。这些发现为BPAN及其他神经退行性疾病的分子机制研究和潜在治疗策略的开发提供了新的方向。

关键词: *WDR45*; β -螺旋桨蛋白相关神经退行性疾病; 自噬; 铁蛋白; 铁死亡; 神经退行性疾病

The autophagy-related functions of the *WDR45* gene

OUYANG Qianqian¹, HUANG Nana¹, LI Wenhui², AN Yu^{1*}

(¹Human Phenome Institute, Institute of Medical Genetics and Genomics, MOE Key Laboratory of Contemporary Anthropology, Zhangjiang Fudan International Innovation Center, Fudan University, Shanghai 201203, China;

²Department of Neurology, Children's Hospital of Fudan University, National Children's Medical Center, Shanghai 201102, China)

Abstract: The *WDR45* gene is closely associated with the development of β -propeller protein-associated neurodegeneration (BPAN) and other neurodegenerative diseases. This review focuses on the role of *WDR45* in the autophagy process, discussing its critical role in autophagosome formation, maturation, and selective autophagy of ferritin. The loss or mutation of *WDR45* can lead to autophagy defects, mitochondrial dysfunction, endoplasmic reticulum stress, and iron homeostasis imbalance, resulting in cell damage and death. The interaction between *WDR45* and ATG2A/B is crucial for membrane recruitment and lipid transfer in autophagosome formation. Additionally, *WDR45* plays a role in the selective autophagy of ferritin, and its absence may impede ferritin degradation, affecting iron metabolism. *WDR45* knockout mouse models have revealed cognitive impairment and neurodegeneration, providing important clues for understanding the role of *WDR45* in neurodegenerative diseases. These findings offer new directions for research on the molecular mechanisms of BPAN and other neurodegenerative diseases and for the development of potential therapeutic strategies.

收稿日期: 2024-12-20

基金项目: 上海市科技重大专项国际人类表型组计划一期项目(2017SHZDZX01); 宁波市重点研发计划项目(2023Z178)

第一作者: E-mail: 22212030009@m.fudan.edu.cn

*通信作者: E-mail: anyu@fudan.edu.cn

Key Words: *WDR45*; β -propeller protein associated neurodegeneration; autophagy; ferritin; ferroptosis; neurodegenerative disease

2012年, Haack等^[1]发现, *WDR45*(WD repeat-containing protein 45, MIM#300526)基因的新发突变或半合突变导致 β -螺旋蛋白相关神经退行性疾病(β -propeller protein associated neurodegeneration, BPAN, MIM#300894)。BPAN早期称为儿童期静态性脑病成年神经变性病(static encephalopathy of childhood with neurodegeneration in adulthood, SENDA)或神经退行性变伴脑铁沉积症5型(neurodegeneration with brain iron accumulation 5, NBIA5), 是一种X连锁的显性遗传病, 其特征是从婴儿或儿童早期开始的全面发育迟缓, 随后在青春期或成年早期出现进行性肌紧张、帕金森病综合征和认知障碍, 脑磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)可观察到苍白球和黑质铁沉积^[2]。除了BPAN外, *WDR45*突变还会导致其他几种神经退行性疾病, 包括Rett样综合征(Rett-like syndrome, RLS)、智力障碍(intellectual disability, ID)、发育性癫痫性脑病(developmental and epileptic encephalopathy, DEE)、早发性癫痫性脑病(early-onset epileptic encephalopathy, EOEE)和West综合征(West syndrome)等。这些疾病的共同特征是脑铁积累, 这或许是它们的主要致病机制^[3]。此外, 有研究表明, 在帕金森病、阿尔茨海默症等各种常见的神经退行性疾病中, 自噬功能障碍同样会导致铁稳态的破坏和铁异常积累, 进而引发细胞损伤和死亡, 最终推动疾病的进展^[4-6]。因此, 脑铁积累可能是由自噬功能异常介导的神经退行性疾病中的一个重要致病因素。

自噬(autophagy)是真核细胞中一种高度保守的自身降解途径, 指细胞中清除和降解无用的蛋白质、损伤的细胞器和一些蛋白质低聚物的过程。自噬过程可分为分子伴侣介导的自噬(chaperone-mediated autophagy, CMA)、微自噬(microautophagy)以及巨自噬(macroautophagy)。分子伴侣介导的自噬仅在高等真核细胞中存在, 介导可溶性蛋白的选择性降解, 分子伴侣的结合底物蛋白通过热休克同源蛋白70(heat shock protein 70, HSP70)

和溶酶体相关膜蛋白2A型(lysosome-associated membrane protein 2A, LAMP2A)传递到溶酶体中进行降解^[7]。微自噬和巨自噬在进化上高度保守。在微自噬途径中, 被降解物质的隔离直接发生在溶酶体的表面, 含有被降解物的溶酶体膜内陷, 以小泡的形式挤进腔内, 并在腔内迅速降解^[8]。巨自噬是由自噬相关蛋白(autophagy-related protein, ATG)介导的过程, 其特征是通过双层膜泡(隔离膜)包裹需降解的细胞质成分, 形成自噬体, 随后自噬体与溶酶体融合并将内容物降解^[9]。在某些压力情况下, 如饥饿、细胞器受损或代谢废物过剩时, 巨自噬能够迅速被激活, 以应对细胞内环境失衡的状况。这一迅速响应的特性使巨自噬在维持细胞内稳态中具有不可或缺的功能, 与其余两种自噬途径相辅相成。值得注意的是, 几乎所有类型的细胞都存在巨自噬过程, 而通常提到的“自噬”大多是指巨自噬这一主要途径。

*WDR45*基因位于染色体Xp11.23, 由12个外显子和11个内含子组成, 在人体各组织广泛表达。该基因编码一个参与自噬的 β -螺旋桨支架蛋白^[1], 又被称为WIPI4, 与其他三个同源蛋白(WD repeat domain, phosphoinositide interacting 1-3, WIPI1-3)属于同一家族。WIPI家族拥有七个WD重复区域组成的 β 折叠片, 这些区域由约40个氨基酸组成, 并以色氨酸和天冬氨酸结尾, 是一种高度保守的结构域^[10]。基于氨基酸序列的同源性和相似性, WIPI家族可分为两个进化支, 不同进化分支成员之间的序列同源性和相似性较低(均小于31%), 而人类*WDR45*(WIPI4)和*WDR45B*(WIPI3)之间的同源性和相似性分别为46.0%和59.8%, WIPI1和WIPI2之间的同源性和相似性分别为53.8%和68.1%^[11]。这些数据表明, 尽管WIPI家族成员功能相关, 但其序列差异可能赋予了它们特定的生物学功能。

WIPI家族是哺乳动物PROPPIN(β -propellers that bind polyphosphoinositides)家族磷酸肌醇效应体, 对于自噬体的生物发生至关重要^[10]。WIPI家族中WIPI1和WIPI2被证实参与了经典巨自噬通路

中自噬体的起始形成, 而WDR45与WDR45B则在自噬小体的膜扩张以及和溶酶体的融合过程中发挥关键作用^[11,12]。WDR45是酵母ATG18的同源蛋白之一, 通过与内质网(endoplasmic reticulum, ER)上的磷脂酰肌醇-3-磷酸(phosphatidylinositol 3-phosphate, PtdIns3P)结合, 募集下游蛋白促进自噬发生^[13]。有证据表明, *WDR45*的缺失或变异可导致自噬缺陷、线粒体功能障碍、内质网应激和铁稳态失衡^[11]。这些发现为*WDR45*缺陷导致BPAN及其相关疾病的分子和细胞致病机制研究提供了线索。

1 WDR45在巨自噬中的作用

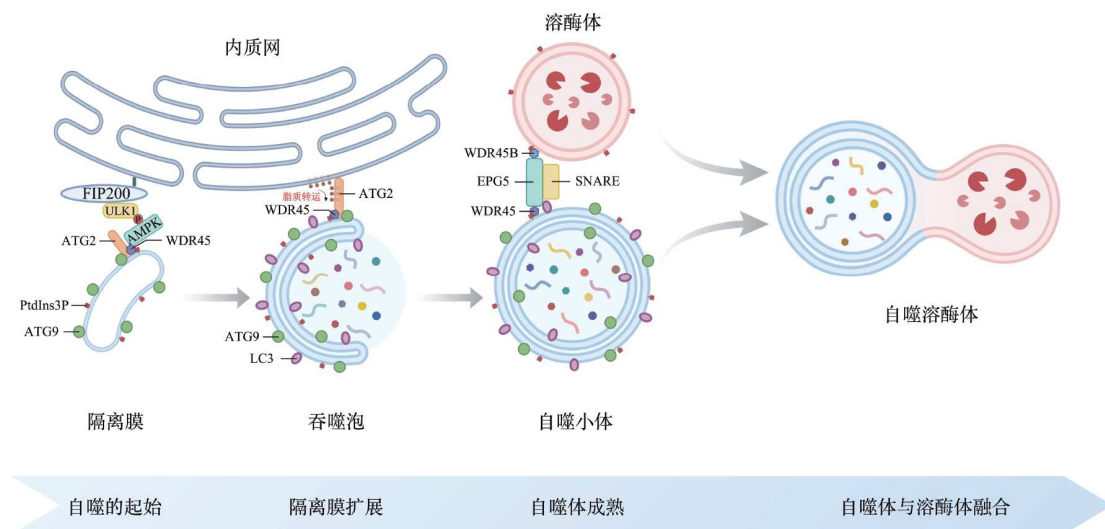
人类WIPI蛋白作为巨自噬(简称自噬)网络架构的联络点, 将自噬的关键调控因子与自噬体的形成联系起来, 且彼此之间也有不同关联^[12,14]。WIPI1与WIPI2相互作用, 并支持WIPI2在自噬中的PtdIns3P效应子功能, 起到对ATG16L复合体的招募, 然后酯化微管相关蛋白轻链3(microtubule-associated protein light chain 3, LC3)^[15,16]。WDR45与WIPI1-WIPI2复合体可共定位于新生自噬体上, 而WDR45B则与溶酶体共定位^[17]。虽然WIPI家族彼此关联, 但他们似乎也分别介导了更加特异的

底物降解利用途径。WDR45可特异响应AMPK(AMP-activated protein kinase)信号通路, WDR45B通过与TSC复合物(tuberous sclerosis complex)的相互作用特异影响mTOR(mechanistic target of rapamycin)通路^[14]。这些提示表明了WIPI家族在自噬的复杂网络中的重要功能——响应细胞在不同状态下特异底物的降解, 并以此应对不同环境。WDR45在自噬过程中扮演着多重关键角色, 包括调控自噬小体的形成与成熟、影响自噬体大小、促进自噬体与溶酶体的融合等(图1)。

1.1 WDR45调控自噬小体的形成与成熟

自噬小体的形成是一个高度有序且复杂的过程, 由ATG蛋白共同协调完成, 其中WDR45在多个阶段发挥了重要作用。作为一类关键调控因子, WDR45通过与ATG2A和ATG2B相互作用, 参与隔离膜的动态调控, 为自噬体的有效形成提供了重要支持。

在自噬体形成的早期, PtdIns3P是一个至关重要的分子, 其由PI3K(phosphatidylinositol 3-kinase)复合物产生, 能够调控自噬前体膜(pre-autophagosomal structure, PAS)的形成与成熟。PtdIns3P定位于自噬前体膜, 可以招募下游效应蛋白, 调节膜的物理特性(如膜的流动性和曲率), 促



在自噬的起始阶段, 调控细胞能量稳态的重要激酶AMPK可通过磷酸化ULK1激活自噬, 并与WDR45相互作用, 促进WDR45定位于新生的自噬体上。在隔离膜扩展阶段, WDR45与ATG2形成复合体, 促进磷脂从内质网转运至自噬体, 从而推动自噬体膜的扩展。在自噬体与溶酶体的融合阶段, WDR45能够与WDR45B协同作用, 共同招募EPG5并促进其与SNARE蛋白的相互作用, 最终介导膜融合

图1 WDR45在巨自噬过程中的作用

进隔离膜的扩展和自噬小体的形成；或者与自噬相关蛋白相互作用，直接参与调控自噬过程^[18]。WDR45含有能够识别并结合PtdIns3P的特定结构域，其通过结合PtdIns3P被招募到隔离膜上，并与ATG2A/B形成复合体^[13]。不仅如此，调控细胞能量稳态的重要激酶AMPK可以在LKB1(liver kinase B1)通路的激活下，刺激WDR45定位到新生的自噬体上^[19]。这些机制共同表明，WDR45通过多种途径参与调控自噬起始阶段，为后续隔离膜的扩展和自噬小体的生物合成奠定了基础。

在隔离膜扩展阶段，ATG2作为一种脂质转运蛋白，负责从ER提取形成自噬体所需的磷脂，并将其转运至自噬体。WIPI-ATG2复合体通过促进脂质在ER与隔离膜之间的流动，驱动自噬体的扩张和生物合成^[20]。研究表明，WDR45是ATG2A/B的强互作蛋白，与ATG2A/B形成的复合物对于控制自噬体大小至关重要^[19,21,22]。有意思的是，WDR45-ATG2复合体的形成一般依赖于PtdIns3P的存在，然而有研究发现，在PtdIns3P缺失的情况下，WIPI-ATG2复合体仍能被招募至隔离膜，表明其调控机制可能存在多种模式^[22]。

人类参与自噬体生物发生的主要ATG蛋白(包括ULK1蛋白激酶复合物、ATG9A囊泡、PI3K复合物、ATG12-ATG5-ATG16L1复合物、LC3和GABARAP家族酯化系统等)中，ATG2-WIPI复合物的相互作用在酵母和哺乳动物中高度保守。WIPI家族通过识别WIR(WIPI-interacting region)基序与其他蛋白质相互作用。在ATG2中发现的一段WIR序列与WDR45的N端大约30个氨基酸相互作用，其中WDR45上的基序为Y/HFS，而这一结构域在WIPI家族中也普遍存在^[23]。研究显示，这种互作在WDR45-ATG2B中最为显著^[21]，但当ATG2的Y/HFS结合位点发生突变时，即使WDR45介导的相互作用受到影响，ATG2-Y/HFS突变体仍能维持正常的自噬功能，这意味着WDR45在ATG2介导的自噬体成熟中并非完全必需^[24]。

高分辨率晶体结构解析进一步揭示了WIPI-ATG2A-WIR-Motif蛋白复合体的相互作用机制。Ren等^[21]研究发现，WIPI蛋白上的多个结合位点参与了与ATG2的相互作用，而这些位点的突变不仅会破坏复合体的形成，还会显著影响自噬的发生。

更重要的是，许多已知疾病相关的点突变分布在该相互作用界面上。生化实验结果也证实，这些突变会破坏WDR45/WDR45B蛋白与ATG2的结合能力，从而为这些突变的致病机制提供了重要线索。

1.2 WDR45促进自噬体与溶酶体的融合

在自噬过程后期，自噬体与溶酶体融合形成自噬溶酶体，这一过程需要多个膜动力学调节因子的协同作用，包括SNARE(soluble N-ethylmaleimide-sensitive factor attachment protein receptor)蛋白、ATG8家族蛋白、系绳因子HOPS(homotypic fusion and protein sorting)复合物以及ATG14蛋白等。SNARE复合体在自噬过程中起着至关重要的作用，它们不仅介导自噬体与溶酶体的融合，还参与调节这一融合过程中的多个步骤，确保自噬体内容物的有效降解^[25]。其中，SNARE蛋白和EPG5(ectopic P-granules autophagy protein 5)组成的融合机制在自噬体成熟过程中起着至关重要的作用，它们通过介导自噬小体与溶酶体的特异性融合来促进自噬过程。当这一机制受到抑制时，可能会导致自噬体与错误的膜泡结构融合，影响自噬效率，并可能引起细胞内溶酶体的损伤^[26]。

在细胞模型中，当WDR45与WDR45B被双敲除时，可导致自噬体和溶酶体融合受阻。WDR45和WDR45B与EPG5相互作用，并帮助其定位于晚期内吞体/溶酶体上，进而促进EPG5与SNARE蛋白的结合，调控自噬小体与溶酶体融合^[17]。在WDR45-WDR45B双基因敲除细胞中，由SNARE蛋白和EPG5组成的融合机制的形成受到抑制，EPG5错误定位于自噬体，导致自噬体、两性体(amphisome)和非降解性自溶酶体(non-degradative autolysosome)的积累^[27]。总之，WDR45和WDR45B的沉默可阻断WIPI2下游自噬体的形成。

2 WDR45与细胞内铁稳态

细胞内的铁离子参与许多的生理和病理过程，铁代谢的平衡关系着细胞的生长、分裂。WDR45在细胞铁稳态调控中的重要作用主要通过调节铁蛋白选择性自噬以及铁代谢相关蛋白表达来实现。WDR45缺陷会导致铁蛋白积累、铁过载、铁稳态失衡以及铁死亡，从而引发细胞损伤和神经退行

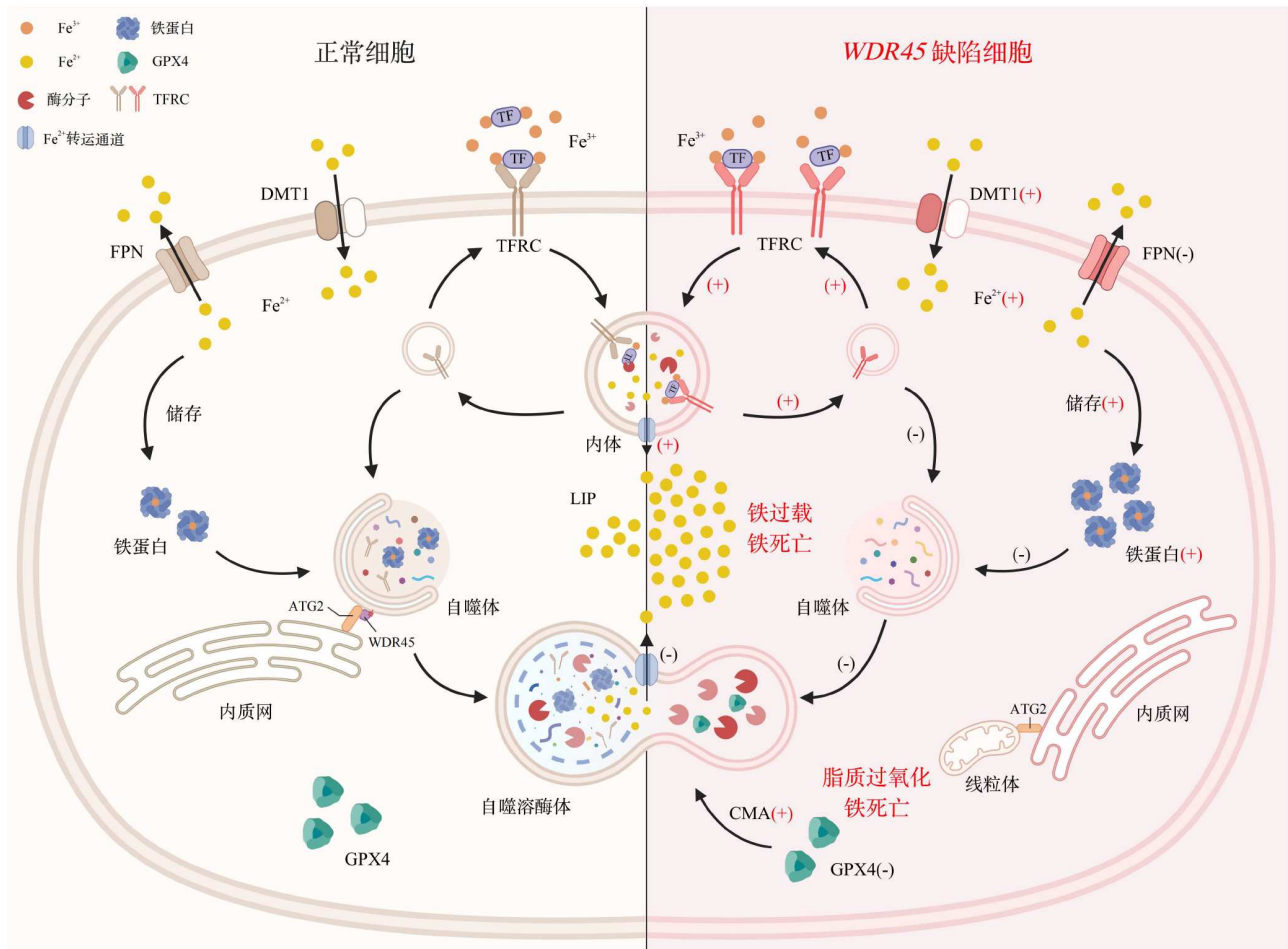
性病变(图2)。

2.1 *WDR45*缺陷影响铁蛋白选择性自噬

铁蛋白(ferritin)是细胞内储存铁的重要蛋白质,通常通过选择性自噬途径与溶酶体融合释放铁离子,以维持细胞铁稳态^[28]。然而,在BPAN患者的iPSC(induced pluripotent stem cell)来源的多巴胺能细胞中观察到胞质铁蛋白显著沉积^[29]。相比之下,患者来源的成纤维细胞虽也表现出铁蛋白积累表型^[30],但其程度与类型可能受*WDR45*突变的具体类型影响。不仅如此,在众多*WDR45*敲除细胞学实验的研究中,不同的细胞系表现出铁蛋白积累的表型不一致^[31-33],这揭示了*WDR45*缺失对神经细胞的影响具有特异性。

在神经细胞中,*WDR45*缺失引起的铁蛋白积累被认为是由于铁蛋白自噬受到了阻碍,但*WDR45*如何影响铁蛋白降解还不清楚。最近一项研究提供了重要线索,在HeLa细胞中过表达*WDR45*突变体能够通过诱导ER应激激活p38,进而磷酸化溶酶体表面的LAMP2A,激活CMA^[31]。该研究还证明了铁蛋白重链(ferritin heavy chain, FTH)能够与HSC70相互作用,通过CMA途径被降解,导致铁稳态失调^[31]。

此外,铁蛋白也可通过TAX1BP1(Tax1 binding protein 1)、NCOA4(nuclear receptor coactivator 4)、VPS34(vacuolar protein sorting 34 homolog)、ATG9A、ULK1/2-FIP200(Unc-51 like autophagy



*WDR45*缺陷阻碍转铁蛋白受体(transferrin receptor, TFRC)和铁蛋白的自噬性降解,同时导致二价金属离子转运蛋白1(divalent metal transporter 1, DMT1)上调和铁泵蛋白(ferroportin, FPN)下调,造成铁离子过度摄入和铁蛋白积累,进而引发铁过载和氧化应激,促进铁死亡。由于缺乏*WDR45*帮助ATG2定位至自噬体,致使ATG2错误定位于线粒体-内质网接触位点,增加线粒体膜的脂质过氧化底物合成,进而加剧铁死亡。此外,*WDR45*缺陷刺激谷胱甘肽过氧化物酶4(glutathione peroxidase 4, GPX4)通过分子伴侣介导的自噬通路(chaperone-mediated autophagy, CMA)降解,导致细胞内的过氧化脂质积累,促进铁死亡的发生。(+)表示上调;(-)表示下调;LIP: 不稳定铁池

图2 *WDR45*缺陷影响细胞内铁稳态

activating kinase 1/2-FAK family kinase-interacting protein of 200 kDa)等因子介导的内体分选途径(endosomal sorting complex required for transport, ESCRT)进行降解。ATG9A和NCOA4在高尔基体的定位是ESCRT降解铁蛋白的必要条件^[34], 而WDR45具有调节ATG9A的功能^[35], 因此WDR45很可能参与铁蛋白的ESCRT降解途径。在病人来源的原代细胞中, 存在ATG9与LC3的异常共定位, ATG9在高尔基体的共定位显著降低, ATG9的高尔基体定位将显著影响铁蛋白的降解利用, 且原本可聚集于核周的LC3阳性点也弥散开来^[34]。除了铁蛋白的降解以外, 对WDR45敲除的小鼠进行蛋白组化分析也发现, WDR45缺陷会导致ER蛋白的积累, 表明WDR45确实有运输特定膜泡的功能^[36]。

2.2 WDR45缺陷使得铁代谢相关蛋白失调

铁离子代谢平衡包括铁的摄入、利用和输出。细胞摄入铁离子的通道包括转铁蛋白(transferrin, TF)途径、二价金属离子转运体1(divalent metal transporter 1, DMT1)途径、金属膜蛋白SLC39A14(solute carrier family 39 member 14)途径和血红蛋白及血红素的形式摄取卟啉结合铁途径四种方式, 细胞输出铁几乎完全由铁泵蛋白(ferroportin, FPN)控制^[37]。研究表明, WDR45突变引起的BPAN都存在铁相关蛋白的代谢异常, 如铁离子摄入相关蛋白——转铁蛋白受体(transferrin receptor, TFRC)、DMT1增加, 抑制铁离子外排的铁调素(hepcidin)增加以及铁离子唯一外排途径FPN降低^[30,32,33]。有研究表明, WDR45的突变阻断了TFRC的自噬降解, 导致TFRC的积累, 进而使得细胞内输入更多的铁^[32]。

细胞摄入的铁离子一部分参与能量代谢以及含铁蛋白的合成, 多余的部分则“储存”起来。细胞内的铁可以两种形式“储存”——稳定地结合到铁蛋白中, 或作为活跃的未结合铁离子构成不稳定铁池(labile iron pool, LIP)^[38,39]。LIP主要通过铁调节蛋白(iron regulatory protein, IRP)/铁反应元件系统在转录后调节几种参与细胞铁运输的蛋白质的mRNA翻译, 包括DMT1、TFRC、FTH、FTL和FPN, 从而维持细胞铁稳态^[40,41]。细胞需要维持一定量的游离铁离子来组成具有调节功能的不稳定铁池。然而, 当摄入的铁离子过量时, 强还原

性的 Fe^{2+} 会通过芬顿反应(Fenton reaction)产生具有神经毒性的活性氧(reactive oxygen species, ROS), 使细胞处于极度氧化应激状态^[42,43]。芬顿反应是 Fe^{2+} 与过氧化氢(H_2O_2)反应生成羟基自由基($\cdot\text{OH}$) Fe^{3+} 的过程^[43]。其中, 羟基自由基($\cdot\text{OH}$)是一种活性极高的氧化剂, 会对细胞内的蛋白质、脂质和DNA造成严重的氧化损伤。铁过载引起的氧化应激会破坏细胞内的氧化还原平衡, 导致细胞功能紊乱, 最终触发细胞死亡。这种由铁过载和氧化应激共同导致的细胞死亡现象被称为铁死亡(ferroptosis)^[44]。

在神经系统中, 铁过载会引起神经细胞的氧化应激和炎症反应, 是神经退行性疾病的重要致病因素之一^[45,46]。研究发现, WDR45基因突变通过激活分子伴侣介导的自噬, 导致GPX4(glutathione peroxidase 4)表达下调以及细胞活力降低, 这是WDR45基因突变促进细胞铁死亡的第一个证据, 提示铁死亡参与了BPAN, 并可能促进BPAN的进展^[31,32]。Zhu等^[47]报道了WDR45缺陷通过一种自噬非依赖性机制引发铁死亡: WDR45缺失增加了线粒体-ER接触位点的ATG2A定位, 从而增强磷脂酰丝氨酸向线粒体的转运。这一过程促进了一种易于过氧化的主要脂质磷脂酰乙醇胺的合成增加, 从而加剧铁死亡的发生。这些发现表明, WDR45不仅在自噬过程中发挥作用, 还能通过调控细胞内铁稳态和脂质代谢, 在细胞功能维持中起着重要作用。

3 WDR45突变导致神经退行性疾病的机制

尽管关于WDR45的研究已取得显著进展, 但其缺失如何导致BPAN中神经元变性仍未明了, 自噬功能的障碍是否为该疾病的主要细胞基础亦尚不清楚。在WDR45基因的自噬功能研究中, 已通过细胞模型、小鼠模型等多种实验探讨了WDR45缺陷引起神经系统异常的机制及其分子基础。

3.1 WDR45基因敲除动物模型的表型

研究表明, WDR45基因的系统性敲除并不影响小鼠的生存能力和雄性生育力。然而, 敲除小鼠逐渐出现神经退行性病变、听力和视觉障碍、特定血液学变化, 但并未观察到脑内铁积累的现象^[48]。

有研究对6月龄*WDR45*敲除小鼠开展了一系列的行为学实验, 包括morris水迷宫实验、8臂迷宫实验、条件性恐惧实验、旋转实验、三箱社交实验、Pilocarpine诱发癫痫实验等, 结果显示, 敲除小鼠的运动协调能力未受显著影响, 但其空间学习能力和条件记忆存在缺陷^[36]。此外, 敲除小鼠的癫痫发作更频繁且潜伏期缩短, 相较于野生型小鼠表现出更严重的症状^[36]。另一项条件性敲除*WDR45*基因的研究进一步验证了这些现象: 实验小鼠表现出运动功能障碍、情绪不稳定及学习记忆功能受损^[49]。

*WDR45*敲除老年小鼠前额皮质和基底节神经元丢失, 伴随前额皮质细胞凋亡等神经退行性病变的特征。从细胞层面来说, 定量蛋白质组学分析显示, 敲除小鼠中ER蛋白积聚, 导致ER应激增加和质量控制功能受损, 进而通过ERN1/IRE1 (endoplasmic reticulum to nucleus signaling 1/inositol-requiring enzyme 1)和EIF2AK3/PERK(eukaryotic translation initiation factor 2 alpha kinase 3/protein kinase R-like endoplasmic reticulum kinase)通路触发未折叠蛋白反应(unfolded protein response, UPR), 最终导致神经元凋亡。此外, mTOR通路抑制可有效减轻ER应激, 激活自噬功能并减少细胞死亡^[36]。这些结果表明, *WDR45*的缺失导致神经元巨自噬功能损害及细胞器自噬调控异常, 为BPAN的分子病因提供了机制性解释。

3.2 *WDR45*基因敲除影响神经元发育

此前有研究发现, *WDR45*在小鼠大脑中的表达呈现发育阶段依赖性, 主要定位于兴奋性突触^[50], 揭示了其在神经系统发育过程中发挥重要

作用。此外, *WDR45*缺陷引起的神经元丢失表现出进行性特征。6周龄时, *WDR45*条件性敲除的小鼠与野生型小鼠的神经元数量未见显著差异, 但至16周龄时, 敲除小鼠出现了明显的神经元缺失^[51]。进一步的病理学分析显示, *WDR45*敲除导致小鼠轴突肿胀、ER应激加重、线粒体肿大, 伴随自噬活性下降等退行性病变^[48,51]。*WDR45*基因的缺陷还影响树突的发育及突触形成, 导致皮层发育期神经元形态异常, 且这些异常具有长期影响, 包括树突发育不良与突触功能损伤, 这与BPAN的神经退行性症状密切相关^[50]。此外, 有研究发现, *WDR45*基因缺陷会引起小鼠中脑多巴胺能神经元减少、轴突异常扩张及破碎ER积聚等轴突退行性改变, 进一步加深了对神经元功能障碍的理解^[49]。

3.3 *WDR45*基因缺陷致病分子机制

*WDR45*基因突变与BPAN在内的6种神经退行性疾病密切相关^[3](表1)。首先, Rett样综合征(Rett-like syndrome, RLS)的早期症状与BPAN重叠, 包括发育迟缓、手部运动异常、癫痫发作、睡眠障碍和痉挛。然而, 随着年龄增长, 部分患者会出现脑铁沉积的表型, 最终被重新诊断为BPAN。其次, 智力障碍(intellectual disability, ID)在18岁之前出现认知和适应功能严重受损的相关病例较少, 目前尚未观察到铁沉积现象。除此之外, 癫痫性脑病包括发育性癫痫性脑病(developmental and epileptic encephalopathy, DEE)、早发性癫痫性脑病(early-onset epileptic encephalopathy, EOEE)和West综合征, 也与*WDR45*变异相关。这些疾病的共同特征是严重的癫痫发作和发育迟缓。由于后两者发病较早, 目前尚未在患者的大脑中观察到

表1 *WDR45*缺陷相关疾病的症状对比

疾病名称	主要症状	脑铁沉积表现	发病时间
BPAN	婴儿/儿童早期: 早发性全面发育迟缓和神经系统退化 青春期/成年早期: 进行性肌紧张、帕金森病综合征和认知障碍	迟发性铁沉积	幼儿期与成年期均发病且症状表现不同
RLS	癫痫、手部运动异常、语言障碍、自闭症以及成年后技能丧失	迟发性铁沉积	6~18个月大时出现症状, 可能是BPAN的早期表现
ID	认知和适应功能严重损害	未出现铁沉积	发病在18岁之前
DEE	难治性癫痫、脑电图异常、频繁的癫痫样活动、发育迟缓和早逝	迟发性铁沉积	婴儿或儿童期发病
EOEE	严重的癫痫和神经发育障碍	未出现铁沉积	出生后3个月内发病
West综合征	婴儿痉挛、痉挛性心律失常和精神运动发育迟缓	未出现铁沉积	早期癫痫综合征, 通常在1岁前发病

铁沉积。

*WDR45*基因缺陷引起神经退行性变化涉及多条分子机制,主要包括ER应激、铁代谢紊乱、脂质稳态异常及线粒体功能障碍。(1) ER应激。*WDR45*缺陷影响ER的形态和功能,特别是管状ER的形态,从而影响蛋白质的合成、加工和运输,导致ER中未折叠蛋白质积累,激活UPR。通过ERN1/IRE1和EIF2AK3/PERK通路,UPR触发一系列信号级联,最终导致神经元凋亡^[36]。(2)铁代谢紊乱。*WDR45*突变导致自噬功能下降,影响铁相关蛋白的自噬性降解(包括铁蛋白和转铁蛋白受体),从而引发细胞内铁水平升高,过量的铁诱导ROS生成,触发氧化应激和铁死亡,最终导致神经元丧失^[31,32,52]。(3)脂质稳态异常。*WDR45*缺陷导致磷脂代谢通路紊乱,特别是引起LPCAT1(lysophosphatidylcholine acyltransferase 1)异常高表达,从而影响磷脂的合成和分解,削弱细胞膜的稳定性和功能^[49]。此外,*WDR45*缺失还会损害分子伴侣介导的脂肪酸合酶(fatty acid synthase, Fasn)自噬降解过程,促进脂滴形成,进而对细胞产生毒性^[53]。(4)线粒体功能障碍。*WDR45*缺失引起ATG2A更多地定位于ER-线粒体接触位点,促进脂质从ER转运至线粒体膜,从而加剧线粒体膜脂质过氧化和细胞铁死亡^[47]。此外,ER应激引发细胞内的钙平衡紊乱,导致线粒体钙超载,引发线粒体氧化应激及能量代谢障碍。线粒体的损伤促使细胞色素C等凋亡因子的释放,进一步推动神经元的凋亡过程^[54,55]。

4 总结与展望

本文聚焦于*WDR45*基因在自噬过程中的作用及其与 β -螺旋桨蛋白相关神经退行性疾病(如BPAN)的联系。*WDR45*是自噬体形成和成熟的关键蛋白,其突变与多种神经退行性疾病相关,包括BPAN。*WDR45*基因敲除小鼠模型揭示了认知障碍和神经退行性病变,而且发现*WDR45*缺失或功能异常导致自噬缺陷、线粒体功能障碍和内质网应激,进而影响代谢稳态(特别是铁代谢)和细胞存活。这为理解*WDR45*在神经退行性疾病中的作用提供了重要线索。然而,*WDR45*在自噬早期形成自噬体事件中的作用、其相互作用因子以及与其

他细胞器之间的互作机制、不同的自噬路径机制等仍需深入研究,尤其是铁蛋白自噬降解中的特殊功能,需精确解析其导致BPAN发病的细胞和分子机制,为未来治疗策略的开发提供新方向。

作者贡献声明:

欧阳芊芊:设计论文框架,文献阅读,整合内容,绘制图表;

黄娜娜:设计论文框架,文献阅读,起草论文;

李文辉:论文修改;

安宇:拟定写作思路,指导撰写文章并定稿。

利益冲突声明:本文不存在任何利益冲突。

参考文献

- [1] Haack TB, Hogarth P, Kruer MC, et al. Exome sequencing reveals *de novo* WDR45 mutations causing a phenotypically distinct, X-linked dominant form of NBIA. *Am J Hum Genet*, 2012, 91(6): 1144-1149
- [2] Hayflick SJ, Kruer MC, Gregory A, et al. Beta-propeller protein-associated neurodegeneration: a new X-linked dominant disorder with brain iron accumulation. *Brain*, 2013, 136(6): 1708-1717
- [3] Hor CHH, Tang BL. Beta-propeller protein-associated neurodegeneration (BPAN) as a genetically simple model of multifaceted neuropathology resulting from defects in autophagy. *Rev Neurosci*, 2019, 30(3): 261-277
- [4] Yan H, Zou T, Tuo Q, et al. Ferroptosis: mechanisms and links with diseases. *Sig Transduct Target Ther*, 2021, 6(1): 49
- [5] Chen LL, Huang YJ, Cui J, et al. Iron dysregulation in Parkinson's disease: focused on the autophagy-lysosome pathway. *ACS Chem Neurosci*, 2019, 10(2): 863-871
- [6] Zhang N, Yu X, Xie J, et al. New insights into the role of ferritin in iron homeostasis and neurodegenerative diseases. *Mol Neurobiol*, 2021, 58(6): 2812-2823
- [7] Yao R, Shen J. Chaperone-mediated autophagy: molecular mechanisms, biological functions, and diseases. *Med-Comm*, 2023, 4(5): e347
- [8] Schuck S. Microautophagy-istinct molecular mechanisms handle cargoes of many sizes. *J Cell Sci*, 2020, 133(17): jcs246322
- [9] Cuervo AM, Macian F. Autophagy, nutrition and immunology. *Mol Aspects Med*, 2012, 33(1): 2-13
- [10] Liang R, Ren J, Zhang Y, et al. Structural conservation of the two phosphoinositide-binding sites in WIPI proteins. *J Mol Biol*, 2019, 431(7): 1494-1505
- [11] Cong Y, So V, Tijssen MAJ, et al. *WDR45*, one gene

- associated with multiple neurodevelopmental disorders. *Autophagy*, 2021, 17(12): 3908-3923
- [12] Proikas-Cezanne T, Haas ML, Pastor-Maldonado CJ, et al. Human WIPI β -propeller function in autophagy and neurodegeneration. *FEBS Lett*, 2024, 598(1): 127-139
- [13] Obara K, Sekito T, Niimi K, et al. The Atg18-Atg2 complex is recruited to autophagic membranes via phosphatidylinositol 3-phosphate and exerts an essential function. *J Biol Chem*, 2008, 283(35): 23972-23980
- [14] Bakula D, Müller AJ, Zuleger T, et al. WIPI3 and WIPI4 β -propellers are scaffolds for LKB1-AMPK-TSC signaling circuits in the control of autophagy. *Nat Commun*, 2017, 8(1): 15637
- [15] Dooley HC, Razi M, Polson HEJ, et al. WIPI2 Links LC3 conjugation with PI3P, autophagosome formation, and pathogen clearance by recruiting Atg12-5-16L1. *Mol Cell*, 2014, 55(2): 238-252
- [16] Polson HEJ, de Lartigue J, Rigden DJ, et al. Mammalian Atg18 (WIPI2) localizes to omegasome-anchored phagophores and positively regulates LC3 lipidation. *Autophagy*, 2010, 6(4): 506-522
- [17] Ji C, Zhao H, Chen D, et al. β -propeller proteins WDR45 and WDR45B regulate autophagosome maturation into autolysosomes in neural cells. *Curr Biol*, 2021, 31(8): 1666-1677
- [18] Jang DJ, Lee JA. The roles of phosphoinositides in mammalian autophagy. *Arch Pharm Res*, 2016, 39(8): 1129-1136
- [19] Hosokawa N, Hara T, Kaizuka T, et al. Nutrient-dependent mTORC1 association with the ULK1-Atg13-FIP200 complex required for autophagy. *Mol Biol Cell*, 2009, 20(7): 1981-1991
- [20] Kotani T, Kirisako H, Koizumi M, et al. The Atg2-Atg18 complex tethers pre-autophagosomal membranes to the endoplasmic reticulum for autophagosome formation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2018, 115(41): 10363-10368
- [21] Ren J, Liang R, Wang W, et al. Multi-site-mediated entwining of the linear WIR-motif around WIPI β -propellers for autophagy. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 2702
- [22] Zheng JX, Li Y, Ding YH, et al. Architecture of the ATG2B-WDR45 complex and an aromatic Y/HF motif crucial for complex formation. *Autophagy*, 2017, 13(11): 1870-1883
- [23] Chowdhury S, Otomo C, Leitner A, et al. Insights into autophagosome biogenesis from structural and biochemical analyses of the ATG2A-WIPI4 complex. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2018, 115(42): E9792-E9801
- [24] Bozic M, van den Bekerom L, Milne BA, et al. A conserved ATG2-GABARAP family interaction is critical for phagophore formation. *EMBO Rep*, 2020, 21(3): e48412
- [25] Tian X, Teng J, Chen J. New insights regarding SNARE proteins in autophagosome-lysosome fusion. *Autophagy*, 2021, 17(10): 2680-2688
- [26] Nam SE, Cheung YWS, Nguyen TN, et al. Insights on autophagosome-lysosome tethering from structural and biochemical characterization of human autophagy factor EPG5. *Commun Biol*, 2021, 4(1): 291
- [27] Zhao YG, Codogno P, Zhang H. Machinery, regulation and pathophysiological implications of autophagosome maturation. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2021, 22(11): 733-750
- [28] Dowdle WE, Nyfeler B, Nagel J, et al. Selective VPS34 inhibitor blocks autophagy and uncovers a role for NCOA4 in ferritin degradation and iron homeostasis *in vivo*. *Nat Cell Biol*, 2014, 16(11): 1069-1079
- [29] Seibler P, Burbulla LF, Dulovic M, et al. Iron overload is accompanied by mitochondrial and lysosomal dysfunction in WDR45 mutant cells. *Brain*, 2018, 141(10): 3052-3064
- [30] Tsukida K, Muramatsu S, Osaka H, et al. *WDR45* variants cause ferrous iron loss due to impaired ferritinophagy associated with nuclear receptor coactivator 4 and WD repeat domain phosphoinositide interacting protein 4 reduction. *Brain Commun*, 2022, 4(6): fca304
- [31] Xiong Q, Sun H, Xing W, et al. WDR45 mutation dysregulates iron homeostasis by promoting the chaperone-mediated autophagic degradation of ferritin heavy chain in an ER stress/p38 dependent mechanism. *Free Radical Biol Med*, 2023, 201: 89-97
- [32] Xiong Q, Li X, Li W, et al. WDR45 mutation impairs the autophagic degradation of transferrin receptor and promotes ferroptosis. *Front Mol Biosci*, 2021, 8: 645831
- [33] Aring L, Choi E, Kopera H, et al. A neurodegeneration gene, *WDR45*, links impaired ferritinophagy to iron accumulation. *J Neurochem*, 2022, 160(3): 356-375
- [34] Goodwin JM, Dowdle WE, DeJesus R, et al. Autophagy-independent lysosomal targeting regulated by ULK1/2-FIP200 and ATG9. *Cell Rep*, 2017, 20(10): 2341-2356
- [35] Mann D, Fromm SA, Martinez-Sanchez A, et al. Atg18 oligomer organization in assembled tubes and on lipid membrane scaffolds. *Nat Commun*, 2023, 14(1): 8086
- [36] Wan H, Wang Q, Chen X, et al. WDR45 contributes to neurodegeneration through regulation of ER homeostasis and neuronal death. *Autophagy*, 2020, 16(3): 531-547
- [37] Gao G, Li J, Zhang Y, et al. Cellular iron metabolism and regulation. *Adv Exp Med Biol*, 2019, 1173: 21-32
- [38] Moreira AC, Mesquita G, Gomes MS. Ferritin: an inflammatory player keeping iron at the core of pathogen-host interactions. *Microorganisms*, 2020, 8(4): 589
- [39] Petronek MS, Spitz DR, Buettner GR, et al. Linking cancer metabolic dysfunction and genetic instability

- through the lens of iron metabolism. *Cancers*, 2019, 11(8): 1077
- [40] Carrondo MA. Ferritins, iron uptake and storage from the bacterioferritin viewpoint. *EMBO J*, 2003, 22(9): 1959-1968
- [41] Harrison PM, Arosio P. The ferritins: molecular properties, iron storage function and cellular regulation. *Biochim Biophys Acta (BBA)-Bioenergetics*, 1996, 1275(3): 161-203
- [42] Chansiw N, Kulprachakarn K, Paradee N, et al. Protection of iron-induced oxidative damage in neuroblastoma (SH-SY5Y) cells by combination of 1-(N-Acetyl-6-aminohexyl)-3-hydroxy-2-methylpyridin-4-one and green tea extract. *Bioinorg Chem Appl*, 2021, 2021: 1-11
- [43] Lee J, Hyun DH. The interplay between intracellular iron homeostasis and neuroinflammation in neurodegenerative diseases. *Antioxidants*, 2023, 12(4): 918
- [44] Xie Y, Hou W, Song X, et al. Ferroptosis: process and function. *Cell Death Differ*, 2016, 23(3): 369-379
- [45] Rosenblum SL, Kosman DJ. Aberrant cerebral iron trafficking co-morbid with chronic inflammation: molecular mechanisms and pharmacologic intervention. *Front Neurol*, 2022, 13: 855751
- [46] Cerasuolo M, Di Meo I, Auriemma MC, et al. Iron and ferroptosis more than a suspect: beyond the most common mechanisms of neurodegeneration for new therapeutic approaches to cognitive decline and dementia. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(11): 9637
- [47] Zhu Y, Fujimaki M, Snape L, et al. Loss of WIPI4 in neurodegeneration causes autophagy-independent ferroptosis. *Nat Cell Biol*, 2024, 26(4): 542-551
- [48] Biagosch CA, Vidali S, Faerberboeck M, et al. A comprehensive phenotypic characterization of a whole-body Wdr45 knock-out mouse. *Mamm Genome*, 2021, 32(5): 332-349
- [49] Wang P, Shao Y, Al-Nusaif M, et al. Pathological characteristics of axons and alterations of proteomic and lipidomic profiles in midbrain dopaminergic neurodegeneration induced by WDR45-deficiency. *Mol Neurodegener*, 2024, 19(1): 62
- [50] Noda M, Ito H, Nagata K. Physiological significance of WDR45, a responsible gene for β -propeller protein associated neurodegeneration (BPAN), in brain development. *Sci Rep*, 2021, 11(1): 22568
- [51] Zhao YG, Sun L, Miao G, et al. The autophagy gene Wdr45/Wipi4 regulates learning and memory function and axonal homeostasis. *Autophagy*, 2015, 11(6): 881-890
- [52] Diaw SH, Ganos C, Zittel S, et al. Mutant WDR45 leads to altered ferritinophagy and ferroptosis in β -propeller protein-associated neurodegeneration. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(17): 9524
- [53] Xiong Q, Sun H, Wang Y, et al. Lipid droplet accumulation in Wdr45-deficient cells caused by impairment of chaperone-mediated autophagic degradation of Fasn. *Lipids Health Dis*, 2024, 23(1): 91
- [54] Mohsin AA, Thompson J, Hu Y, et al. Endoplasmic reticulum stress-induced complex I defect: central role of calcium overload. *Arch Biochem Biophys*, 2020, 683: 108299
- [55] Chen T, Zhu J, Wang YH, et al. ROS-mediated mitochondrial dysfunction and ER stress contribute to compression-induced neuronal injury. *Neuroscience*, 2019, 416: 268-280