

基于SNCA基因治疗帕金森病的研究进展

李昕 刘亦晨 王攀*

(陕西师范大学生命科学学院, 西安 710119)

摘要 帕金森病是常见的威胁人类健康的神经退行性疾病之一, 其主要病理特征为中脑黑质路易小体的形成和多巴胺能神经元的丢失, 而路易小体的主要成分是 α -突触核蛋白(α -synuclein, α -syn)。现已证实, 编码 α -syn的SNCA基因是帕金森病的关键致病基因之一, 该基因的突变可引起 α -syn的过量表达, 进而形成路易小体, 导致帕金森病的发生。因此, SNCA基因被认为是对帕金森病进行治疗的有效靶点。该文从SNCA基因在帕金森病发病中的作用与机制出发, 讨论了SNCA基因与 α -syn在帕金森病的发生和进行性恶化中的具体作用通路及过程, 并从减少 α -syn的表达水平、抑制 α -syn聚集体的形成、促进 α -syn聚集体的降解及抑制和阻断 α -syn聚集体的传播等方面, 总结了目前基于SNCA基因和 α -syn调控的治疗方法, 为开发帕金森病诊疗新策略提供参考。

关键词 帕金森病; SNCA基因; α -突触核蛋白

Advances in Treatment of Parkinson's Disease Based on SNCA Gene

LI Xin, LIU Yichen, WANG Pan*

(College of Life Science, Shaanxi Normal University, Xi'an 710119, China)

Abstract Parkinson's disease is one of the common neurodegenerative diseases that threaten human health. Its main pathological features are the formation of midbrain nigra Lewy bodies and the loss of dopaminergic neurons, and the main component of Lewy bodies is α -synuclein. It has been confirmed that the SNCA gene encoding α -synuclein is one of the key pathogenic genes of Parkinson's disease. The mutation of SNCA can cause the overexpression of α -synuclein, which in turn leads to the formation of Lewy bodies, leading to Parkinson's disease. Therefore, SNCA gene can be considered as an effective target for the precise treatment of Parkinson's disease. Based on the role and mechanism of SNCA gene in the pathogenesis of Parkinson's disease, this paper discusses the specific pathway and process of SNCA gene and α -syn in the occurrence and progressive deterioration of Parkinson's disease. The current treatment methods based on SNCA gene and α -syn regulation are summarized from the aspects of reducing the expression level of α -syn, inhibiting the formation of α -syn aggregates, promoting the degradation of α -syn aggregates, inhibiting and blocking the spread of α -syn aggregates, so as to provide reference for the development of new diagnostic and therapeutic strategies for Parkinson's disease.

Keywords Parkinson's disease; SNCA gene; α -synuclein

帕金森病(Parkinson's disease, PD)是一种好发于中老年神经系统的变性疾病, 是继阿尔茨海默病

之后的第二大常见神经退行性疾病^[1]。PD的典型病理特征是中枢神经系统中以异常 α -突触核蛋白

收稿日期: 2020-05-12

接受日期: 2020-06-19

国家自然科学基金(批准号: 81872497)和中央高校基本科研业务费专项资金(批准号: 2020CSLY013)资助的课题

*通讯作者。Tel: 029-85310275, E-mail: wangpan@snnu.edu.cn

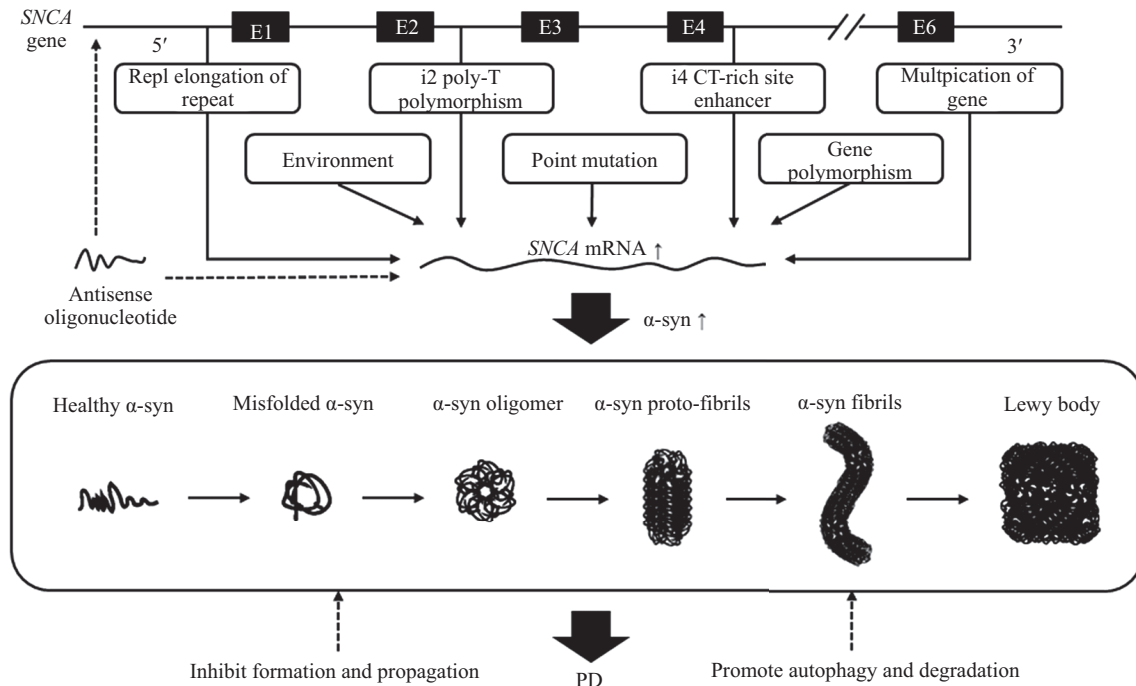
Received: May 12, 2020

Accepted: June 19, 2020

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.81872497) and the Fundamental Research Funds for the Central Universities (Grant No.2020CSLY013)

*Corresponding author. Tel: +86-29-85310275, E-mail: wangpan@snnu.edu.cn

URL: <http://www.cjcb.org/arts.asp?id=5368>



E1~6: 外显子1~6; α -syn: α -突触核蛋白; PD: 帕金森病; Repl elongation of repeat: Repl 多态性简单重复序列通过上调 *SNCA* 基因转录增加PD的患病风险; i2 poly-T polymorphism: 内含子2的poly-T通过影响外显子3的剪接效率而调控 *SNCA* 的水平; i4 CT-rich site enhancer: 内含子4处富含CT区发挥增强子作用促进 α -syn 的表达; Multiplication of gene: *SNCA* 拷贝数重复变异的二倍体型及三倍体型。实箭头表示PD病理进程, 虚箭头表示PD治疗进程。

E1-6: Exon1-6; α -syn: α -synuclein; PD: Parkinson's disease; Repl elongation of repeat: Repl polymorphic simple repeat sequence increases the risk of PD by up-regulating *SNCA* gene transcription; i2 poly-T polymorphism: poly-T of intron 2 directly affects the level of *SNCA* by affecting the splicing efficiency of exon 3; i4 CT-rich site enhancer: 4 intron-rich CT regions play an enhancer role to promote the expression of α -syn; Multiplication of gene: *SNCA* copy number repeated variation of diploid and triploid forms. Solid arrow indicates the progression of Parkinson's disease, and dashed arrow indicates the treatment of Parkinson's disease.

图1 PD发病及治疗示意图

Fig.1 Schematic representation of the progression and the treatment of PD

(α -synuclein, α -syn)不溶性聚集体为主要成分的路易小体(Lewy body, LB)的形成, 导致多巴胺(dopamine, DA)能神经元的进行性死亡和丢失。PD的临床症状主要表现为静止性震颤、肢体僵硬、运动迟缓和缺乏自主性运动^[2]。大量证据表明, 由于运动性的退化, PD患者继而出现如自主功能不全、认知缺损、抑郁、嗅觉丧失、精神和睡眠障碍等非运动特征的并发症。世界PD协会资料和流行病学调查显示, 全球已有500多万PD患者。其中, 55岁以上人群中PD患病率为1.4%, 75岁以上人群中患病率为3.4%, 85岁以上人群中患病率可达4.0%^[3]。自1997年首个PD致病基因—— α -syn的编码基因 *SNCA*(α -synuclein)被发现以来^[4], 已陆续发现10余种PD相关致病基因, 并从中识别检测出500余种致病突变^[5]。其中, 编码 α -syn的 *SNCA* 基因(PARK1/PARK4), 已被证实与PD的发病和相关功能障碍密切相关。此外, 基因型-表型关联研究亦揭示了 *SNCA* 基因遗传变异与PD发病机制之间

的对应关系。*SNCA* 基因编码区及非编码区不同类型的变异均会引起转录及翻译水平的上调, 继而导致 α -syn 的过表达和不溶性聚集体的形成及播散, 因此, 下调 *SNCA* 基因的表达水平、减少 α -syn 聚集体的形成和播散、促进 α -syn 聚集体的降解等途径能够有效缓解因 *SNCA* 基因变异引起的PD病变(图1)。本文针对 *SNCA* 基因在PD中的作用机制进行综述, 并讨论了基于 *SNCA* 基因和 α -syn 调控的治疗方法以及相关研究进展, 为开发PD治疗的新靶点提供相关依据。

1 基因变异和PD发病

目前认为, PD的发病可由环境因素和基因因素共同引起^[6]。环境因素如1-甲基-4-苯基-1, 2, 3, 6-四氢吡啶(1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridin, MPTP)、除草剂百草枯(paraquat)、杀虫剂鱼藤酮(rotenone)和铁、锰等通过抑制线粒体复合酶活性和线粒体呼吸链, 损伤多巴胺能神经元。流行性

感冒病毒、流行性甲型脑炎、流行性乙型脑炎和儿童EB病毒性脑炎的感染也会通过激活小胶质细胞,促进脑区纹状体和黑质的炎症反应,增加PD的罹患风险。基因因素所致PD患者约占总患病人群的27%~60%,而单基因变异因素致病率甚至超过33%^[7]。通过连锁分析和全基因组关联研究(genome-wide association study, GWAS)技术分析,研究者已陆续发现了包括*SNCA*基因、富含氨酸重复序列激酶基因*LRRK2*(leucine-rich repeat kinase 2)、囊泡分选蛋白35基因(vacuolar protein sorting 35, *VPS35*)等在内的10余种PD相关致病基因和20余种风险基因^[8],揭示了基因因素在PD发病中的关键性作用。

*SNCA*基因是第一个被证实的PD致病基因,位于染色体4q21~q23上,包含6个外显子,其编码的 α -syn蛋白聚集体的形成被认为是PD病理改变的关键因素。遗传学数据统计显示,PD大多以散发性为主,家族性PD仅占10%。目前,已有多项研究探讨了国内外不同人群中PD患者的*SNCA*基因与发病风险的关系,如意大利和希腊PD患者主要以A53T点突变为主^[9],德国PD患者主要以A30P点突变为主^[10],在欧洲、亚洲的PD患者中,通过基因定量发现存在*SNCA*基因的拷贝数重复变异^[11-13]。虽然不同人群中*SNCA*基因的变异类型不同,但*SNCA*基因变异是引起PD发病的重要因素之一。PIHLSTROM等^[14]的研究表明,*SNCA*基因变异与家族性和散发性PD的发病机制及相关功能障碍均密切相关,且与散发性PD的相关性更强,而其错义突变位点如A30P、E46K、H50Q、G51D和A53T则与家族性PD发病相关联。

*SNCA*基因发生点突变(PARK1)或拷贝数重复变异(PARK4)均会引起 α -syn表达水平升高且形成蛋白聚集,导致常染色体显性遗传性PD的发生。而*SNCA*拷贝数重复变异中三倍体型比二倍体型引起的病症程度更加严重,说明 α -syn表达水平可能与PD病症严重程度呈正相关^[15]。在*SNCA*三倍体型诱导的多能干细胞衍生的神经前体细胞中, α -syn水平比正常水平高出两倍,且对氧化应激及毒素的敏感性也增加了^[16]。然而,当*SNCA*拷贝数重复变异型被敲除后,其表型上的变化则发生了逆转^[17]。此外,*SNCA*基因被证实具有多态性,包含rs356200、rs12021074、rs2583988、rs356219、rs2736990等基因位点^[18]。田等^[19]分析了*SNCA*多态性与PD发病和

临床特征之间的相关性发现,rs356200位点等位基因A和A/A基因型分别是诱发PD的危险等位基因和基因型,其多态性对PD发病具有一定的预测作用。FANG等^[20]研究显示,rs2736990(C/T)多态性的T等位基因、TT和TC基因型可能降低PD的危险性。

除了编码区变异的影响之外,*SNCA*基因非编码区的单核苷酸变异可通过调控基因的转录、剪接和翻译影响 α -syn水平。当某些顺式作用元件存在于特定转录因子(transcription factor, TF)结合位点的附近区域时,可通过非共价结合影响TF-DNA的结合效率,从而影响*SNCA*基因的表达^[21]。*SNCA*126是外显子3发生了缺失突变的*SNCA*变体,可导致N末端蛋白-膜相互作用域失活,从而减少 α -syn的聚集,起到保护神经的作用。BEYER等^[22]研究发现,内含子2的poly-T可通过影响外显子3的剪接效率进而影响*SNCA*126的水平,poly-T的长度越长,*SNCA*126 mRNA的水平越高,且对衰老具有一定缓解作用。此外,*SNCA*内含子4处富含CT的区域可发挥增强子作用来促进 α -syn的表达^[23]。Rep1是位于*SNCA*基因转录起始位点上游10 Kb处的多态性简单重复序列,已报道的关联研究分析表明,其重复序列长度与PD患病风险呈正相关。CRONIN等^[24]通过荧光素酶报告基因测定和小鼠实验发现,Rep1可提高*SNCA*的转录水平,进一步证实了*SNCA*过表达对PD的致病作用。因此,目前认为*SNCA*基因变异引起的 α -syn过表达对PD的发病产生了不可忽视的诱导作用。

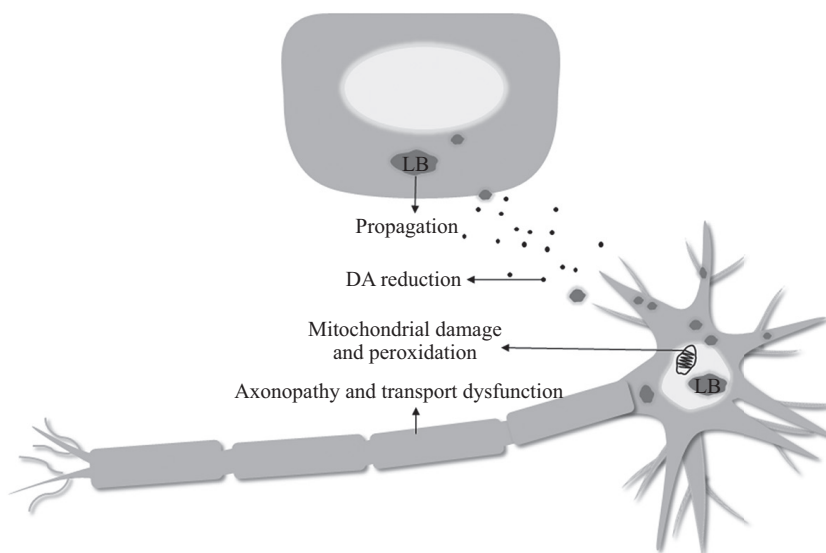
2 α -syn过表达和PD发病

突触核蛋白主要有 α -、 β -、和 γ -3种亚型,其中 α -syn是由140个氨基酸组成的小分子蛋白(19 kDa),具有高度保守性和一定的神经特异性。在生理情况下, α -syn以无规则卷曲形式存在,主要分布在中枢神经系统突触前及核周,其富含的脯氨酸和负电荷残基的羧基末端结构对维持其蛋白溶解性起重要作用^[25],而其疏水的非淀粉样 β 蛋白组件区(non-amyloid- β -component, NAC)有形成 β -折叠的潜能。当*SNCA*基因发生变异时,不仅改变了 α -syn的二级结构和可溶性,使其形成富含 β -折叠的不溶性聚集体导致神经元变性,而且还通过 α -syn水平的升高增加了单体间的碰撞率和聚集体形成的可能性。 α -syn聚集体在趋于聚集的过程中呈现出多种状态^[26],包括部分折叠状的聚合物和纤维化的中间体,低寡聚

物,膜绑定状态、纤维状和无定形的聚合物等。

内源性 α -syn表达水平的升高和聚集体的形成,会引起中脑神经元多方面的生理结构异常和通讯功能紊乱。如图2所示,具体表现为:一方面, α -syn通过参与神经元的发育^[27]、神经递质的释放和贮存^[28]、储存性突出囊泡池大小的调节^[29]等生理过程调节轴突结构与功能。在PD患者大脑的黑质、纹状体、海马和下丘脑等多个部位中,过表达的 α -syn沉积于神经突起,形成肿胀的路易突起(Lewy neurite, LN)^[30],继而沉积于神经元胞内,形成富含 α -syn放射状淀粉样纤维的球状包涵体——路易小体^[31]。路易小体的形成会引起纹状体内多种轴突病变和轴突运输功能障碍,包括神经纤维密度降低^[32]、神经突起平均长度降低^[33]、轴突再生能力降低^[34]、突触囊泡和线粒体运动速度降低^[35]、黑质多巴胺能神经元内驱动蛋白(kinesin)和动力蛋白(dynein)表达水平下降等^[36-37]。另一方面, α -syn的过表达诱导了多巴胺能神经元内线粒体的结构损伤及其功能障碍,表现为线粒体膜去极化和呼吸作用衰减。 α -syn聚集体分布于线粒体中,与线粒体相关蛋白酶如ATP合酶十分接近。因此,聚集体首先损害线粒体复合物I依赖性呼吸链,氧化ATP合酶的 β 亚基,诱导活性氧(reactive oxygen species, ROS)产生,随后刺激线粒体内膜脂质过氧化,造成神经元损伤^[38]。此外,这些氧化反应增加了线粒体膜通透性转运孔(permeability transition pore, PTP)

开放的可能,导致离子梯度平衡紊乱,随后基质膨胀呈十字形展开,刺激线粒体外膜破裂,最终触发多巴胺能神经元死亡^[39]。此外, α -syn寡聚体还可以通过线粒体特异性心磷脂(cardiolipin, CL)介导的与线粒体呼吸系统关键酶细胞色素c(Cytochrome c, Cyt c)的反应来发挥其氧化作用,这种 α -syn-CL-Cyt c三元复合物能够维持线粒体的高氧化性势能,并作为多巴胺能神经元中持续性氧化应激的来源之一,导致PD的慢性神经变性^[40]。多巴胺等神经递质的释放是神经元间进行物质交换和信息通讯的桥梁,可溶性NSF附着蛋白受体(soluble NSF attachment protein receptor, SNARE)复合体对神经递质的释放起重要的作用,而 α -syn与胞膜结合形成多聚体可促进SNARE复合体的组装^[41]。有学者提出“功能缺失”^[42]假说,认为大量 α -syn沉积导致有生理活性的 α -syn减少,影响了SNATR复合体的形成,从而引起内质网应激和内质网-高尔基体囊泡运输障碍,降低了多巴胺神经递质的释放。同时,胞质内多巴胺浓度升高促进氧化应激,影响神经元的正常功能。另有学者提出,SNCA基因与 β -葡萄糖脑苷脂酶(β -glucocerebrosidase, GBA)基因在PD中可相互作用形成双向正反馈,加剧病理恶化。GBA是位于溶酶体膜内面可将葡萄糖脑苷脂水解为葡萄糖和神经酰胺的代谢酶,该酶的缺乏及功能损伤会导致其作用底物葡萄糖脑苷脂在吞噬细胞中聚集,抑制正常的自噬及代谢途径。研究显示, α -syn聚



LB: 路易小体; DA: 多巴胺。

LB: Lewy body; DA: dopamine.

图2 α -syn引起神经元结构和功能异常

Fig.2 α -synuclein causes abnormal neuronal structure and function

集体会阻遏囊泡循环和GBA从内质网到高尔基体的转运,降低在高尔基体上加工成熟的GBA水平,使高尔基体向溶酶体转运的活性GBA代谢酶减少,进而抑制细胞的代谢和自噬水平,导致受损线粒体不能通过自噬途径被有效清除,增加细胞氧化应激;此外,成熟GBA的水平下降和功能损伤增加了其作用底物溶酶体膜上脑苷脂的沉积,抑制 α -syn与自噬受体溶酶体相关膜蛋白2a(lysosome-associated membrane protein 2a, LAMP2a)的结合,导致 α -syn降解途径受阻,形成正反馈加剧 α -syn的聚集^[43]。

α -syn聚集体不仅可直接导致PD的发生,而且其高度有序的原纤维还具有类朊病毒样的传播特性^[44]。随着PD疾病进程的发展, LB聚集体首先在轴突中形成,然后通过神经元细胞间直接运输、内吞作用和受体介导的转运等多种传播方式^[45]逐渐扩散到体细胞和树突当中^[46]。不仅如此, α -syn原纤维还能以胞吞形式被星形胶质细胞摄取,通过神经元细胞和星形胶质细胞之间的传播,产生广泛性的细胞毒性^[47]。这种以原纤维为载体的病变传播,首先发生在迷走神经、舌咽神经和嗅觉神经中,继而扩散到延髓、黑质区,最终导致与运动相关的脑区多巴胺能神经元死亡规模的扩大和PD病变的持续恶化^[48]。综上所述, *SNCA*基因变异会引起 α -syn表达水平的升高和聚集体的形成,可被认为是PD的关键性致病因素。

3 *SNCA*基因表达调控与PD治疗

针对PD的常见治疗药物有左旋多巴制剂、多巴胺受体激动剂、抗胆碱能药物、单胺氧化酶抑制剂、儿茶酚胺氧位甲基转移酶等。此类拟多巴胺类药物可以补充多巴胺的含量,减少多巴胺的降解,维持体内多巴胺的正常水平;抗胆碱能药物通过拮抗相对过高的胆碱能神经功能,缓解运动障碍症状。然而,这些药物仅能延缓PD早中期病变而不能达到阻断病程的效果,且受到对运动并发症疗效低、疗效持续时间短及多种药物不良反应的制约。在患者不能耐受药物治疗或经长期药物治疗产生耐药性时,常采用深部脑刺激术和磁共振聚焦超声刀等手术解除对多巴胺释放的抑制效果,恢复神经元的正常生理功能。除此之外,随着PD遗传学研究的不断深入,开发靶向性分子药物、运用基因修饰调节异常信号通路已成为当前PD研究的热点。*SNCA*是关键的PD致病因子,通过对其基因进行精准化修饰调

控,从而干预 α -syn的过度表达及毒性构象的积累和传播,为延缓PD病理进展提供了治疗新思路。

3.1 减少 α -syn的表达水平

通过调控*SNCA*基因的转录和翻译过程,可有效降低 α -syn的表达水平,减少 α -syn的积累和聚集体的形成。反义寡核苷酸主要与*SNCA* mRNA互补结合并使其沉默,减少 α -syn的表达。LUNA等^[49]对啮齿类动物使用小干扰RNA(small interfering RNA, siRNA)沉默*SNCA*基因的研究表明,反义寡核苷酸可促进核糖核酸酶H介导的*SNCA* mRNA降解,降低 α -syn的蛋白表达水平。siRNA干扰往往受其短期疗效的限制,因此, ZENG等^[50]使用了具有延长药效潜力的短发夹RNA(short hairpin RNA, shRNA)干扰*SNCA*的表达,成功减轻了小鼠受损脊髓的神经炎症。KANTOR等^[51]通过将失活的Cas9蛋白(dCas9)与DNA甲基转移酶3A(DNA methyltransferases 3A, DNMT3A)相融合,筛选了靶向*SNCA*内含子1区的有效小向导RNA(small guide RNA, sgRNA),并通过体外细胞实验证实了通过CRISPR干扰(clustered regularly interspaced short palindromic repeats interference, CRISPRi)技术提高*SNCA*内含子1区CpG二核苷酸的甲基化水平,能够有效降低*SNCA*基因的转录水平。然而,慢病毒介导基因原位注射的递送方法对人为操作的精准度要求较高,尤其是对PD等脑部疾病治疗的风险较大。随着靶向治疗技术的深入研究,外泌体被发现作为一种天然、低免疫原性、低毒的递送载体,可搭载siRNA、shRNA及CRISPRi等基因干扰系统,通过静脉注射来实现向中枢神经系统的靶向递送,从而有效降低*SNCA*基因的表达^[52]。除了使用与*SNCA* mRNA互补的反义寡核苷酸干扰基因表达过程外, REN等^[53]使用了与*SNCA* DNA互补的DNA适配体,同样可以有效减少小鼠PD模型中 α -syn的神经病理缺陷。除了在基因水平上干预 α -syn之外,小分子药物如 β_2 肾上腺素受体(β_2 adrenergic receptor, β_2 AR)激动剂通过*SNCA*基因启动子和增强子的组蛋白去乙酰化,可降低*SNCA*的转录水平。MITTAL等^[54]进行了大量药物筛选,发现沙丁胺醇作为 β_2 AR的激动剂可以显著改善神经退行性变化,而 β_2 AR受体的阻断剂普萘洛尔与其作用效果截然相反。因此,上述基因干扰及药物抑制等手段都能有效下调 α -syn的表达。

3.2 抑制 α -syn聚集体的形成

当*SNCA*基因在脑区稳定表达时,通过修饰或改

造 α -syn聚集性关键肽段,减少 α -syn单体间的碰撞接触频率进而降低聚集体形成的可能性,也是延缓PD病理进程的途径之一。 α -syn非淀粉样 β 蛋白组件区的疏水性7肽⁶⁷GGAVVTG⁷³是 α -syn聚集体形成过程中单体间结合能力最强的肽段^[55],HUGHES等^[56]通过在该7肽两端分别修饰精氨酸,形成了溶解性显著提高的短肽RGGAVVTGR,进一步研究发现,羧基端修饰为多聚精氨酸的短肽RGGAVVTGRRRRRR能够明显抑制 α -syn聚集体的形成。亨廷丁酵母相互作用蛋白E(huntingtin yeast-interacting protein E, HYPE)是一种能够缓解细胞负面生存压力的Fic(filamentation induced by cAMP)蛋白,SANYAL等^[57]研究发现,HYPE蛋白可通过单磷酸腺苷酸化修饰 α -syn单体,降低错误折叠的不溶性 α -syn单体的积累,减少 α -syn聚集体的形成。除了抑制脑区 α -syn聚集体的形成之外,近期研究发现,益生菌及新型药物可靶向作用肠道中的 α -syn单体,减少肠道神经系统中 α -syn毒性聚集体的形成。枯草芽孢杆菌益生菌菌株(*Bacillus subtilis*) Pxn21通过差异调节宿主肠道中的鞘脂代谢途径,产生 α -syn的抗聚集效应并清除秀丽隐杆线虫模型中的 α -syn聚集体^[58]。BARBUT等^[59]使用名为ENT-01的角鲨烷合成衍生物清除和转移 α -syn单体,恢复了肠道神经元正常的电活性。

3.3 促进 α -syn聚集体的降解

细胞内 α -syn蛋白降解的途径主要包含泛素-蛋白酶体降解系统(ubiquitin-proteasome system, UPS)和溶酶体相关自噬途径(autophagy-lysosomal pathway, ALP)。有研究表明,促进泛素连接酶Parkin的表达,能够增强UPS对 α -syn的降解^[60]。此外,ZHANG等^[61]发现,分子伴侣介导的自噬(chaperone-mediated autophagy, CMA)、巨自噬(macroautophagy)及内吞作用等途径也能促进 α -syn的降解。例如,分子伴侣家族蛋白HSP70的高表达可促进CMA,缓解 α -syn蛋白的聚集毒性。雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)是抑制吞噬泡介导巨自噬途径的主要组分之一,目前研究已发现多种自噬促进剂通过抑制mTOR通路,提升 α -syn聚集体的清除水平。MSDC-0160是一种针对线粒体丙酮酸载体(mitochondrial pyruvate carrier, MPC)活性的抑制剂,GHOSH等^[62]在MPTP诱导小鼠PD模型中证实了MSDC-0160可通过降低MPC的活性抑制mTOR,维持正常的自噬功能,进而增加黑质中多巴胺能神经元的存活率。葡萄糖基神经酰

胺(glucosylceramide, GlcCer)合酶抑制剂PPMP和Genz-123346可通过下调葡萄糖苷脂酰鞘氨醇的合成增强AKT-mTOR依赖的自噬通路,进而促进 α -syn聚集体的降解^[63]。酪氨酸激酶家族成员非受体酪氨酸激酶(cellular-abelson gene, c-Abl)可通过酪氨酸磷酸化来抑制自噬,HEBRON等^[64]研究显示,酪氨酸激酶抑制剂尼洛替尼(nilotinib)可降低c-Abl的活性,预防Beclin-1依赖的自噬失调,从而导致 α -syn聚集体的自噬性降解。此外,海藻糖(trehalose)作为非依赖mTOR途径的巨自噬激动剂,可通过抑制Akt磷酸化活性,激活巨自噬调节剂转录因子EB(transcription factor EB, TFEB),促进 α -syn聚集体的降解,缓解十字孢碱诱导的神经毒性^[65]。

3.4 抑制和阻断 α -syn聚集体的传播

SNCA基因过表达会引起 α -syn的聚集及聚集体在胞内的积累,同时 α -syn聚集体能够通过外泌体、胞吐、细胞接触及受体介导的方式在神经元间传播。这种传播始于连接肠和大脑嗅球,沿脑干逐渐向中脑、低前脑渗透,最后扩散至皮质。PD发病进程也随着聚集体在神经系统中的播散呈阶段性地发展,PD患者的发病症状从嗅觉钝化、便秘和吞咽困难等逐步恶化为运动功能受损及丢失。因此,除了下调SNCA基因的表达和 α -syn的水平之外,抑制和阻断聚集体的“类朊蛋白状播散”也是延缓PD病理恶化的治疗思路之一。

PD免疫学研究结果显示, α -syn抗体不仅能通过细胞内表达及内吞的方式与胞内 α -syn特异结合,抑制胞内 α -syn聚集体的形成,还能与细胞间 α -syn特异结合形成抗原-抗体复合物,该复合物进而被溶酶体自噬作用清除,从而有效阻断 α -syn聚集体的进一步播散,延缓PD的病理恶化。目前,针对抑制 α -syn聚集体传播途径所研发的多种抗体疫苗已进入临床试验阶段。

根据抗体来源不同,免疫治疗被分为主动免疫和被动免疫2种方式。主动免疫是以 α -syn全长或部分片段为免疫原刺激机体发生免疫反应,促进内源性 α -syn抗体的分泌,如模拟 α -syn羧基端抗原决定簇的短肽疫苗PD01A^[66]和PD03A^[66](<https://ClinicalTrials.gov>, 试验编号: NCT02267434)。被动免疫是指通过补充外源抗体抑制 α -syn聚集体的形成和播散,如靶向 α -syn羧基端的人源化IgG1单克隆抗体PRX002^[67](<https://ClinicalTrials.gov>, 试验编号:

NCT03100149), 靶向 α -syn氨基端的人源化IgG1单克隆抗体BIB054^[68](<https://ClinicalTrials.gov>, 试验编号: NCT03318523)。免疫治疗临床试验的开展依赖于对相关病理进展节点的准确把握和监测, 然而由于目前无法对患者体内 α -syn病理恶化程度进行成像诊断, 对用于评估 α -syn病理学水平的对应生物标志物研究尚浅, 且仍不明确病理进程中运动症状出现的节点及是否存在无法逆转的节点, 这些挑战都限制了PD最有效疗法的选择及最佳剂量的确定。迄今为止, 虽然 α -syn抗体疗法的I、II期临床试验显示出一定的治疗效果, 但III期临床试验仍无取得成功的报道。

4 结语和展望

SNCA基因突变是PD的重要致病因素之一, α -syn、PARK7基因编码的DJ-1蛋白、磷酸化微管相关蛋白tau等已被证明可作为诊断PD的辅助生化指标, 关于SNCA基因和 α -syn的靶向调控方面已取得大量研究进展, 为PD的临床精准化治疗提供了重要的理论依据。然而, 由于目前对PD发病机制的认识仍不全面, 对PD不同阶段病理进程相应重要生物标志物的研究尚不明确, 使得PD起始及早期病变诊疗率低, 不能评估PD的发病速度及恶化程度, 限制了针对PD病变不同阶段对应治疗药物的开发和应用, 进而不能对临床试验的诊疗效果作出精准的评估。因此, 从致病机理和关键分子调控层面深入探究PD的生物学机制和有效治疗靶点, 发现PD各个病变阶段和不同病变程度的对应生物标志物, 对于PD的早期临床诊断、治疗策略的制定及预后评估都具有非常重要的指导意义。

参考文献 (References)

- [1] 刘亘梁, 冯涛. α -突触核蛋白作为帕金森病生物学标志物的研究进展[J]. 中华神经科杂志(LIU Y L, FENG T. Advances in α -synuclein as a biomarker of Parkinson's disease [J]. Chinese Journal of Neurology), 2017, 50(10): 797-800.
- [2] RAZA C, ANJUM R, SHAKEEL N U A. Parkinson's disease: mechanisms, translational models and management strategies [J]. Life Sci, 2019, 226: 77-90.
- [3] DE RIJK M C, LAUNER L J, BERGER K, et al. Prevalence of Parkinson's disease in Europe: a collaborative study of population-based cohorts [J]. Neurology, 2000, 54(11 supply 5): S21-3.
- [4] DENG H, WANG P, JANKOVIE J. The genetics of Parkinson disease [J]. Ageing Res Rev, 2018, 42: 72-85.
- [5] NUYTEMANS K, THEUNS J, CRUTS M, et al. Genetic etiology of Parkinson disease associated with mutations in the SNCA, PARK2, PINK1, PARK7, and LRRK2 genes: a mutation update [J]. Hum Mutat, 2010, 31(7): 763-80.
- [6] DAUER W, PRZEDBORSKI S. Parkinson's disease: mechanisms and models [J]. Neuron, 2003, 39(6): 889-909.
- [7] GAN-OR Z, DION P A, ROULEAU G A. Genetic perspective on the role of the autophagy-lysosome pathway in Parkinson disease [J]. Autophagy, 2015, 11(9): 1443-57.
- [8] SIMON-SANCHEZ J, SCHULTE C, BRAS J M, et al. Genome-wide association study reveals genetic risk underlying Parkinson's disease [J]. Nat Genet, 2009, 41(12): 1308-12.
- [9] POLYMERPOULOS M H, LAVEDAN C, LEROY E, et al. Mutation in the alpha-synuclein gene identified in families with Parkinson's disease [J]. Science, 1997, 276(5321): 2045-7.
- [10] KRUGER R, KUHN W, MULLER T, et al. Ala30Pro mutation in the gene encoding alpha-synuclein in Parkinson's disease [J]. Nat Genet, 1998, 18(2): 106-8.
- [11] IKEUCHI T, KAKITA A, SHIGA A, et al. Patients homozygous and heterozygous for SNCA duplication in a family with parkinsonism and dementia [J]. Arch Neurol, 2008, 65(4): 514-9.
- [12] IBANEZ P, LESAGE S, JANIN S, et al. Alpha-synuclein gene rearrangements in dominantly inherited parkinsonism: frequency, phenotype and mechanisms [J]. Arch Neurol, 2009, 66(1): 102-8.
- [13] SIRONI F, TROTTA L, ANTONINI A, et al. Alpha-synuclein multiplication analysis in Italian familial Parkinson disease [J]. Parkinsonism Relat Disord, 2010, 16(3): 228-31.
- [14] PIHLSTROM L, TOFT M. Genetic variability in SNCA and Parkinson's disease [J]. Neurogenetics, 2011, 12(4): 283-93.
- [15] MAJBOUR N K, VAIKATH N N, VAN DIJK K D, et al. Oligomeric and phosphorylated alpha-synuclein as potential CSF biomarkers for Parkinson's disease [J]. Mol Neurodegener, 2016, 11: 7.
- [16] SATAKE W, NAKABAYASHI Y, MIZUTA I, et al. Genome-wide association study identifies common variants at four loci as genetic risk factors for Parkinson's disease [J]. Nat Genet, 2009, 41(12): 1303-7.
- [17] BYERS B, LEE HL, REIJO PERA R. Modeling Parkinson's disease using induced pluripotent stem cells [J]. Curr Neurol Neurosci Rep, 2012, 12: 237-42.
- [18] LIU X, ZHU R, XIAO T, et al. An updated analysis with 45078 subjects confirms the association between SNCA rs11931074 and Parkinson's disease [J]. Neuro Sci, 2018, 39(12): 2061-9.
- [19] 田小军, 郝洁, 邢红霞, 等. SNCA基因多态性与PD患者发病和临床特征的相关性分析[J]. 实验与检验医学(TIAN X J, HAO J, XING H X, et al. Association of SNCA gene polymorphism with the morbidity and clinical features in patients with PD [J]. Experimental and Laboratory Medicine), 2018, 36(2): 159-61.
- [20] FANG J, HOU B, LIU H, et al. Association between SNCA rs2736990 polymorphism and Parkinson's disease: a meta-analysis [J]. Neurosci Lett, 2017, 658: 102-7.
- [21] AFEK A, SCHIPPER J L, HORTON J, et al. Protein-DNA binding in the absence of specific base-pair recognition [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2014, 111(48): 17140-5.
- [22] BEYER K, HUMBERT J, FERRER A, et al. A variable poly-T sequence modulates alpha-synuclein isoform expression and is associated with aging [J]. J Neurosci Res, 2007, 85(7): 1538-46.
- [23] LUTZ M W, SAUL R, LINNERTZ C, et al. A cytosine-thymine

- (CT)-rich haplotype in intron 4 of SNCA confers risk for lewy body pathology in Alzheimer's disease and affects SNCA expression [J]. *Alzheimers Dement*, 2015, 11: 1133-43.
- [24] CRONIN K D, GE D, MANNINGER P, et al. Expansion of the Parkinson disease-associated SNCA-Rep1 allele upregulates human alpha-synuclein in transgenic mouse brain [J]. *Hum Mol Genet*, 2009, 18(17): 3274-85.
- [25] WANG C, ZHAO C, LI D, et al. Versatile Structures of α -synuclein [J]. *Front Mol Neurosci*, 2016, 9: 48.
- [26] SAMUEL F, FLABIN W P, IABAL S, et al. Effects of serine 129 phosphorylation on α -synuclein aggregation, membrane association, and Internalization [J]. *J Biol Chem*, 2016, 291(9): 4375-85.
- [27] GARCIA-REITBOECK P, ANICHTCHIK O, DALLEY J W, et al. Endogenous alpha-synuclein influences the number of dopaminergic neurons in mouse substantia nigra [J]. *Exp Neurol*, 2013, 248: 541-5.
- [28] CHADCHANKAR H, IHALAINEN J, TANILA H, et al. Decreased reuptake of dopamine in the dorsal striatum in the absence of α -synuclein [J]. *Brain Res*, 2011, 1382: 37-44.
- [29] CABIN D E, SHIMAZU K, MURPHY D, et al. Synaptic vesicle depletion correlates with attenuated synaptic responses to prolonged repetitive stimulation in mice lacking α -synuclein [J]. *J Neurosci*, 2002, 22(20): 8789-807.
- [30] PRASAD K, BEACH T G, HEDREEN J, et al. Critical role of truncated α -synuclein and aggregates in Parkinson's disease and incidental Lewy body disease [J]. *Brain Pathol*, 2012, 22(6): 811-25.
- [31] UCHIHARA T. An order in lewy body disorders: retrograde degeneration in hyperbranching axons as a fundamental structural template accounting for focal/multifocal lewy body disease [J]. *Neuropathology*, 2017, 37(2): 129-49.
- [32] DECRESSAC M, MATTSON B, LUNBLAD M, et al. Progressive neurodegenerative and behavioural changes induced by AAV mediated overexpression of α -synuclein in midbrain dopamine neurons [J]. *Neurobiol Dis*, 2012, 45(3): 939-53.
- [33] LEE H J, KHOSHAGHIDEH F, LEE S, et al. Impairment of microtubule-dependent trafficking by overexpression of alpha-synuclein [J]. *Eur J Neurosci*, 2006, 24(11): 3153-62.
- [34] TONGES L, SZEGO E M, HAUSE P, et al. Alpha-synuclein mutations impair axonal regeneration in models of Parkinson's disease [J]. *Front Aging Neurosci*, 2014, 6: 239.
- [35] O'DONNELL K C, LULLA A, STAHL M C, et al. Axon degeneration and PGC-1 α -mediated protection in a zebrafish model of α -synuclein toxicity [J]. *Dis Model Mech*, 2014, 7(5): 571-82.
- [36] CHU Y, MORFINI G A, LANGHAMER L B, et al. Alterations in axonal transport motor proteins in sporadic and experimental Parkinson's disease [J]. *Brain*, 2012, 135(Pt 7): 2058-73.
- [37] XIA Q, LIAO L, CHENG D, et al. Proteomic identification of novel proteins associated with Lewy bodies [J]. *Front Biosci*, 2008, 13: 3850-6.
- [38] CREMADES N, COHEN S I A, DEAS E, et al. Direct observation of the interconversion of normal and toxic forms of α -synuclein [J]. *Cell*, 2012, 149(5): 1048-59.
- [39] LUDTMANN M H R, ANGELOVA P R, HORROCKS M H, et al. α -Synuclein oligomers interact with ATP synthase and open the permeability transition pore in Parkinson's disease [J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 2293.
- [40] AGUIRRE J D, DUNKERLEY K M, MERCIER P, et al. Structure of phosphorylated UBL domain and insights into PINK1-orchestrated parkin activation [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2017, 114(2): 298-303.
- [41] CHOI B K, CHOI M G, KIM J Y, et al. Large α -synuclein oligomers inhibit neuronal SNARE-mediated vesicle docking [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110(10): 4087-92.
- [42] BURRE J, SHARMA M, SUDHOF T C. α -Synuclein assembles into higherorder multimers upon membrane binding to promote SNARE complex formation [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111(40): E4274-83.
- [43] AFLAKI E, BORGER D K, MOAVEN N, et al. A new glucocerebrosidase chaperone reduces α -synuclein and glycolipid levels in iPSC-derived dopaminergic neurons from patients with gaucher disease and parkinsonism [J]. *J Neurosci*, 2016, 36(28): 7441-52.
- [44] MASATACCHIA C, HINDA M, GERHARDT E, et al. Membrane binding, internalization, and sorting of alpha-synuclein in the cell [J]. *Acta Neuropathol Commun*, 2018, 6(1): 2-10.
- [45] HANSEN C, ANGOT E, BERGSTROM A L, et al. α -Synuclein propagates from mouse brain to grafted dopaminergic neurons and seeds aggregation in cultured human cells [J]. *J Clin Invest*, 2011, 121(2): 715-25.
- [46] VOLPICELLI-DALEY L A, LUK K C, LEE V M. Addition of exogenous α -synuclein preformed fibrils to primary neuronal cultures to seed recruitment of endogenous α -synuclein to lewy body and lewy neurite-like aggregates [J]. *Nat Protoc*, 2014, 9(9): 2135-46.
- [47] CABALIERE F, CERF L, DEHAY B, et al. *In vitro* α -synuclein neurotoxicity and spreading among neurons and astrocytes using Lewy body extracts from Parkinson disease brains [J]. *Neurobiol Dis*, 2017, 103: 101-12.
- [48] JELLINGER K A. Is Braak staging valid for all types of Parkinson's disease [J]? *J Neural Transm (Vienna)*, 2019, 126(4): 423-31.
- [49] LUNA E, DECKER S C, RIDDLE D M, et al. Differential α -synuclein expression contributes to selective vulnerability of hippocampal neuron subpopulations to fibril-induced toxicity [J]. *Acta Neuropathol*, 2018, 135(6): 855-75.
- [50] ZENG H, LIU N, YANG Y Y, et al. Lentivirus-mediated downregulation of α -synuclein reduces neuroinflammation and promotes functional recovery in rats with spinal cord injury [J]. *J Neuroinflammation*, 2019, 16(1): 283.
- [51] KANTOR B, TAGLIAFIERRO L, GU J, et al. Downregulation of SNCA expression by targeted editing of DNA methylation: a potential strategy for precision therapy in PD [J]. *Mol Ther*, 2018, 26(11): 2638-49.
- [52] SHI M, LIU C, COOK T J, et al. Plasma exosomal α -synuclein is likely CNS-derived and increase in Parkinson's disease [J]. *Acta Neuropathol*, 2014, 128(5): 639-50.
- [53] REN X, ZHAO Y, XUE F, et al. Exosomal DNA aptamer targeting α -synuclein aggregates reduced neuropathological deficits in a mouse parkinson's disease model [J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2019, 17: 726-40.
- [54] MITTAL S, BJORNEVIK K, IM D S, et al. β_2 -adrenoreceptor is a regulator of the α -synuclein gene driving risk of Parkinson's disease [J]. *Science*, 2017, 357: 891-8.

- [55] PALEOLOGOU K E, IRVINE G B, EL-AGNAF O M A. Alpha-synuclein aggregation in neurodegenerative diseases and its inhibition as a potential therapeutic strategy [J]. *Biochem Soc Trans*, 2005, 33(Pt 5): 1106-10.
- [56] HUGHES E, BURKE R M, DOIG A J. Inhibition of toxicity in the beta-amyloid peptide fragment beta-(25-35) using N-methylated derivatives: a general strategy to prevent amyloid formation [J]. *J Biol Chem*, 2000, 275(33): 25109-15.
- [57] SANYAL A, DUTTA S, CAMARA A, et al. Alpha-synuclein is a target of Fic-mediated adenylation/ampylation: possible implications for Parkinson's disease [J]. *J Mol Biol*, 2019, 431(12): 2266-82.
- [58] GOYA M E, XUE F, SAMPEDRO-TORRES-QUEVEDO C, et al. Probiotic *Bacillus subtilis* protects against α -synuclein aggregation in *C. elegans* [J]. *Cell Rep*, 2020, 30(2): 367-80.e7.
- [59] BARBUT D, STOLZENBERG E, ZASLOFF M. Gastrointestinal immunity and alpha-synuclein [J]. *J Parkinson Dis*, 2019, 9(S2): S313-22.
- [60] PANICKER N, DAWSON V L, DAWSON T M. Activation mechanisms of the E3 ubiquitin ligase parkin [J]. *Biochem J*, 2017, 474 (18): 3075-86.
- [61] ZHANG C W, ADELIN H B, CHAI B H, et al. Pharmacological or genetic activation of Hsp70 protects against loss of parkin function [J]. *Neurodegener Dis*, 2016, 16(5): 304-16.
- [62] GHOSH A, TYSON T, GEORGE S, et al. Mitochondrial pyruvate carrier regulates autophagy, inflammation, and neurodegeneration in experimental models of Parkinson's disease [J]. *Sci Transl Med*, 2016, 8(368): 368ra174.
- [63] SHEN W, HENRY A G, PAUMIER K L, et al. Inhibition of glucosylceramide synthase stimulates autophagy flux in neurons [J]. *J Neurochem*, 2014, 129(5): 884-94.
- [64] HEBRON M L, LONSKAYA I, MOUSSA C E. Nilotinib reverses loss of dopamine neurons and improves motor behavior via autophagic degradation of α -synuclein in Parkinson's disease models [J]. *Hum Mol Genet*, 2013, 22(16): 3315-28.
- [65] PALMIERI M, PAL R, NELVAGAL H R, et al. mTORC1-independent TFEB activation via Akt inhibition promotes cellular clearance in neurodegenerative storage disease [J]. *Nat Commun*, 2017, 8: 14338.
- [66] MANDLER M, VALERA E, ROCKERISTEIN E, et al. Next-generation active immunization approach for synucleinopathies: Implications for Parkinson's disease clinical trials [J]. *Acta Neuropathol*, 2014, 27(6): 861-79.
- [67] SCHENK D B, KOLLER M, NESS D K, et al. First-in-human assessment of PRX002, an anti- α -synuclein monoclonal antibody, in healthy volunteers [J]. *Mov Disord*, 2017, 32(2): 211-8.
- [68] WEIHOFEN A, LIU Y, ARNDA J W, et al. Development of an aggregate-selective, human-derived α -synuclein antibody BIIB054 that ameliorates disease phenotypes in Parkinson's disease models [J]. *Neurobiol Dis*, 2019, 124: 276-88.