

内容酶体-自噬溶酶体对阿尔茨海默症 病理进程的影响

吴秋艳 陈琛 宋国丽*

(深圳大学生命科学学院, 深圳 518060)

摘要 自噬是在细胞受到胞内应激或饥饿条件下, 依赖于溶酶体将胞内异常蛋白质以及受损细胞器降解的过程。内体是由细胞内吞形成的单层膜结构细胞器, 它可以内吞进入细胞的异常蛋白质将其送入自噬体或通过内容酶体-自噬溶酶体途径降解。由于自噬体与内体在形态与功能上相互联系又有相似之处, 从而构成内容酶体-自噬溶酶体系统。在阿尔茨海默症(Alzheimer's disease, AD)患者的神经元中, 两种异常蛋白质[β 淀粉样物质(β amyloid, $A\beta$)和过度磷酸化的Tau蛋白]可以通过内容酶体-自噬溶酶体系统清除; 而当此系统功能受阻时, 神经元中出现异常自噬体与内体形成的颗粒空泡变性体, 导致AD病理改变加重。因此, 内容酶体-自噬溶酶体在阿尔茨海默病中扮演着重要角色。越来越多的研究结果提示, 对内容酶体-自噬溶酶体系统的调控可能为阿尔茨海默病的治疗提供新靶点和方向。

关键词 阿尔茨海默症; 自噬; 内容酶体-自噬溶酶体系统; 颗粒空泡变性体; 淀粉样物质 β ; Tau蛋白

The Role of Endolysosome-autophagic System in the Pathological Process of Alzheimer's Disease

Wu Qiuyan, Chen Chen, Song Guoli*

(College of Life Science, Shenzhen University, Shenzhen 518060, China)

Abstract Autophagy is an intracellular degradation pathway depended on lysosome that functions in protein and organelle turnover in response to starvation and cellular stress. Endosome is a kind of organelle with monolayer membrane structure formed by endocytosis. Extracellular abnormal proteins internalized by endocytosis can also pass through early endosomes to autophagosome or late endosome/lysosome for degradation. As the autophagic vacuole and endosome are similar in morphology and function, they are called endolysosome-autophagic system. β amyloid ($A\beta$) and hyperphosphorylated Tau as two major abnormal proteins of Alzheimer's disease (AD) can be cleared by endolysosome-autophagic system. Endolysosomal and autophagy dysfunctions in AD may also be linked via an underappreciated pathomorphological feature of this disease, namely the granulo vacuolar degeneration (GVD) bodies. Therefore, endolysosomal-autophagic system plays an important role in the pathological process of Alzheimer's disease. A growing number of research

收稿日期: 2015-05-25 接受日期: 2015-10-10

国家自然科学基金(批准号: 81400847)和深圳市科技研发资金项目(批准号: JCYJ20130408172946974)资助的课题

*通讯作者。Tel: 0755-26534152, E-mail: lilys@szu.edu.cn

Received: May 25, 2015 Accepted: October 10, 2015

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.81400847) and the Foundation of Shenzhen Science and Technology Research and Development Projects (Grant No.JCYJ20130408172946974)

*Corresponding author. Tel: +86-755-26534152, E-mail: lilys@szu.edu.cn

网络出版时间: 2015-12-24 15:46:19 URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20151224.1546.004.html>

suggested that regulation of this system could become a new target and direction in therapy of Alzheimer's disease.

Keywords Alzheimer's disease; autophagy; endolysosome-autophagic system; granulovacuolar degeneration bodies; β amyloid; Tau

阿尔茨海默症(Alzheimer's disease, AD)是一种与年龄相关的神经退行性疾病,常发病于老年期,是老年人痴呆病中最常见的类型^[1]。AD患者的临床表现为记忆能力衰退、认知能力持续下降、言语障碍并伴随着一系列的精神病症状。在病理学上AD患者具有两大特征:大脑皮层和海马区域的 β -淀粉样蛋白(β amyloid, A β)聚集形成的淀粉样斑块沉积(senile plaques, SP)以及由微管相关蛋白Tau蛋白过度磷酸化导致的神经纤维缠结(neurofibrillary tangles, NFTs)^[2]。大部分研究者认为,正是由于胞外SP和胞内NFTs形成过程中的一系列病理变化造成神经元损伤甚至大量丢失。

尽管A β 级联假说^[3]与Tau学说是AD病理机制的两大主流学说,也是研究最为充分的学说,但现阶段依然缺乏治疗或者减缓AD病症的有效药物。因此,越来越多的研究者们将目光转向了AD病理过程中的其他事件,希望对于治疗AD有新突破,其中自噬对AD的影响倍受重视。近年来,随着对自噬研究的不断深入,发现内体系统与自噬系统在形成以及功能上都有紧密联系^[4-5],所以将它们称为内溶酶体-自噬溶酶体系统(endolysosomal-autophagic system)^[5-6],在AD病理进程中,其扮演着非常重要的角色。

1 内溶酶体-自噬溶酶体系统

1.1 自噬概述

自噬被称为是细胞中的废物处理系统^[7],它可以将受损细胞器等“废物”分解成小分子提供给细胞自身循环利用。一方面,细胞内维持基础水平的自噬活性,可更新长寿命蛋白质,还能除去多余或受损的细胞器,其功能也许与细胞寿命延长有关^[8]。另一方面,细胞内自噬在多种胁迫条件如营养缺乏、氧化应激等情况下被激活,在先天性免疫、发育、细胞分化中发挥着重要作用。根据在细胞内发生机制的不同可将自噬分为三种类型:大自噬(macroautophagy)、小自噬(microautophagy)以及分子伴侣介导的自噬(chaperone-mediated autophagy, CMA)。由于大自噬是真核细胞内降解绝大多数长寿命蛋白质和有聚

集倾向毒性蛋白质的主要途径,也是在AD中讨论最多的自噬类型,本文提到的自噬即大自噬。自噬的形成过程中,动物雷帕霉素靶酶(mammalian target of rapamycin, mTOR)能感受细胞内多种变化信号,通过调节下游的自噬相关基因蛋白(autophagy-related gene, Atg),对自噬的调控发挥着主要作用。自噬过程主要包括三个阶段。自噬的起始阶段又称成核阶段:细胞饥饿或氧化应激条件下, mTOR调控Atg蛋白, Atg1-Atg13-Atg17构成的激酶复合物(the UNC51-like, ULK)使其去磷酸化引发自噬,由PI3C3K-Beclin1-VPS15-Atg14与UVRAG(ultraviolet radiation resistance-associated gene protein)结合形成PI3K核心复合体并招募更多Atg构成自噬组装位点(phagophore assembly site, PAS)^[9],使胞质中游离的隔离膜(isolation membrane, IM)相互融合形成杂合体即前自噬体(preautophagosomal structure)。延伸阶段:前自噬体继续扩展形成双层膜的“碗”状结构,并将胞质揽入“碗”中,最后形成封闭的球状双层膜结构自噬体(autophagosome),此时,大部分的Atg蛋白会从自噬体上解离下来再循环利用,而LC3(microtubule-associated protein1 light chain 3)^[10]却留在自噬体上直到被降解,因此LC3可以作为跟踪自噬体的标记物。成熟阶段:自噬体的成熟包括与细胞内吞作用过程中形成的内体(endosome)融合形成amphisome以及与溶酶体融合形成自噬溶酶体(autolysosome),接着自噬溶酶体中的内容物被降解。

1.2 内体概述

内体是真核细胞中由细胞内吞形成的单层膜结构细胞器,它是囊泡运输的枢纽环节,参与细胞内部多项重要生命活动,被称为分拣中心或分拣机器^[11]。内体可根据细胞内吞作用的不同时间阶段分为初级内体(early endosome)、次级内体(late endosome)以及再循环内体(recycling endosome)^[12]。细胞外的生长因子、营养物质、激素、病毒以及毒性蛋白等通过内吞作用形成的囊泡进入细胞与初级内体结合。其中,一部分初级内体会与不同的细胞器融合

起到分拣和运输作用;一部分初级内体会融入自噬体进入自噬过程,还有一部分初级内体逐渐成长为次级内体;其pH值通过膜上的质子泵V-ATPase的活动而降低^[13],并且通过融合同类型的内体成为更大的囊泡,所以次级内体又称为多泡体(multivesicular bodies, MVBs)^[14]。而次级内体与自噬体融合形成amphisome再融入溶酶体形成自噬溶酶体或者直接与溶酶体融合形成胞溶酶体(cytolysosome),从而将内体中的内容物降解。

从功能方面来看,自噬与内体系统有相互独立的一面。内体的功能主要是分拣和运输,细胞外物质通过内吞进入胞内后要通过内体系统的筛选分类继而送入各细胞器,其中的废物或有害物质会送入溶酶体或自噬系统进行降解,而自噬的功能就是清除。但是,由于内体与自噬都是依赖于溶酶体将胞外胞内“废物”降解,并且,部分内体最终会融入自噬体进入自噬过程,因此,自噬与内体系统在功能上也具有密切联系的一面。从形态方面来看,自噬体与内体都是胞内的膜泡结构,不同阶段具有不同形态^[15]。内体是单层膜泡,初级内体周围连接着许多小管结构,而次级内体周围的管状结构较少,并且在次级内体中可以观察到泡状结构,成熟内体的直径约500 nm。自噬体是双层膜结构,其内部包含胞质及细胞器,而自噬溶酶体却是单层膜结构,不同阶段其形态与大小存在较大差异,平均直径也是500 nm。因此,内体与自噬不仅在功能上存在交集,而在形态方面都具有变化且在有些阶段也较难区分,所以,它们构成了内溶酶体-自噬溶酶体系统。在神经细胞中,依靠此系统可将胞内胞外的异常蛋白质清除,随着年龄的增长,此系统的功能会受到影响,而在AD早期病理进程中,内溶酶体-自噬溶酶体系统就出现了异常,这可能是导致AD的发病机制之一^[16-17]。

2 内溶酶体-自噬溶酶体系统与阿尔茨海默病

在AD病理情况下,淀粉样前体蛋白(amyloid precursor protein, APP)会被 β -分泌酶1(β -secretase 1, BACE1)和 γ -分泌酶异常剪切形成 $A\beta$, $A\beta$ 会相互聚合形成聚集体,其中 $A\beta$ 寡聚体是最具神经毒性的。在AD小鼠模型神经元突触末端以及AD患者的神经元中可以观察到大量包含着 $A\beta$ 寡聚体的MVBs和自噬体^[18-19],在过表达APP的神经细胞系中也能观察

到含有大量 $A\beta$ 且异常膨大的内体及自噬泡^[20-21],因此,AD病程中,内溶酶体-自噬溶酶体系统的功能受到影响,除了清除 $A\beta$ 的作用外,它可能同时为 $A\beta$ 的聚集提供了条件,反而在某种程度上增强了其聚集。另外已有研究报道,内溶酶体-自噬溶酶体系统异常还与 $A\beta$ 的产生密切相关。通过免疫标记和亚细胞结构分离的方法发现,在AD模型中的自噬体内除了有 $A\beta$ 以外,还发现大量的APP、前体 β -C-末端片段(β -C-terminal fragment, β -CTF)以及 β -分泌酶1和 γ -分泌酶,在体外实验中, γ -分泌酶可以促进自噬体中的 β -CTF转化成 $A\beta$ ^[22],这说明,自噬体很可能也是 $A\beta$ 产生的场所之一。Retromer是一种复合体,它能促进内体识别特定蛋白并送往高尔基体,这些特定蛋白质中包括APP和分泌酶BACE1^[23],PI3K3K(又称为VPS35)是retromer复合物的成分之一,在过表达APP小鼠模型中敲除VPS35后发现,小鼠脑内的内体中 $A\beta$ 水平增高且小鼠的病理症状有所加重^[24]。PI3K3K-Beclin1-VPS15-Atg14复合物是自噬成核所必需的。研究发现,在AD小鼠模型中,Beclin1和PI3K3C的表达水平都明显降低^[25-26]。在敲除Beclin1的小鼠脑内,可以发现溶酶体酸化受阻;用此模型小鼠与AD小鼠杂交后,其后代脑中APP及LC3II的表达水平都会高于AD小鼠,这也说明Beclin1除了参与自噬起始,也可能对自噬过程中自噬体与溶酶体的融合具有重要作用^[27]。其他研究也证明,敲除小鼠Beclin1基因后不仅影响自噬体的形成,并且会阻碍内体与溶酶体的融合^[25,28]。还有学者认为,在AD病理进程中,PI3K3C水平的降低一方面会阻碍内体对APP的分拣及运输作用,另一方面会影响MVBs与自噬溶酶体的融合,从而促进老年斑沉积^[26]。综上所述,AD可引发内溶酶体-自噬溶酶体系统功能障碍而促进 $A\beta$ 聚集,而自噬与内体系统的异常又会促进 $A\beta$ 的产生,由此恶性循环,加速AD病理进程^[29-30]。

研究显示, $A\beta$ 的毒性作用需要Tau蛋白的介导,并且AD患者的痴呆程度与神经元中神经纤维缠结的量呈正相关,因此,Tau蛋白异常在AD患者的神经病变过程中起着重要作用^[31]。在AD患者大脑中导致神经纤维缠结的Tau蛋白包括异常过度磷酸化的Tau蛋白(P-tau)、Tau蛋白寡聚体以及异常修饰聚集成对螺旋丝样结构(paired helical filament, PHF)的Tau蛋白(PHF-Tau)。在细胞内,部分可溶性Tau和P-Tau会通过自噬清除^[32],这在许多研究中也得到了

证实。在成神经肿瘤细胞中, 用自噬抑制剂3-MA (3-methyladenine) 阻碍溶酶体的形成会导致可溶性和不可溶性的Tau蛋白增加^[32]。用甲基蓝(methylene blue)作用于海马组织, 可以促进自噬, 并且发现磷酸化的Tau和不可溶的Tau都有所减少^[33]。海藻糖可以激活自噬, 用海藻糖处理过的小鼠大脑中, 可观察到可溶Tau蛋白和T212/S214(AT100)位点过度磷酸化的Tau蛋白的减少, 并且在研究中观察到, LC3标记的自噬体与Tau蛋白共定位^[34]。以上证据均证明, Tau可以通过自噬而降解。但是, 在病理模型细胞中, 可见异常形态的内体、amphisome以及自噬体, 而且这些膜泡中都包含着大量磷酸化Tau^[35-36], 这也说明了受损的内溶酶体-自噬溶酶体系统会阻碍异常Tau蛋白的清除, 并且成为Tau聚集的场所。还有研究发现, mTOR活性的增强能促进Tau的磷酸化^[37]。实验证明, mTOR能与糖原合酶激酶3(glycogen synthase kinase 3, GSK3)相互作用, 在小鼠皮层中, 敲掉GSK3会使mTOR的活性受到抑制^[38], 而GSK3能促进tau的磷酸化并且通过抑制溶酶体酸化而影响溶酶体的功能^[39]。然而, 近期有文献报道, 不仅自噬受到mTOR的调控, 并且内溶酶体也可能是mTOR的潜在调控靶点^[40]。此外, 在AD中过度磷酸化的Tau可能源于某些蛋白激酶的活性下降或磷酸化如蛋白磷酸酶2A(protein phosphatase 2A, PP2A)^[41], 这些酶参与的信号转导要受到内体的调节, 内体膜作为信号平台将接收到的酶信号分子加以区分并隔离发送到它们分别参与的信号通路下游分子^[45]。不仅如此, 最近的研究发现, 这些酶还参与了MAPK/ERK信号通路从而调节自噬^[42]。这更加证明了Tau蛋白的磷酸化与内溶酶体-自噬溶酶体系统有着密切关联。

3 内溶酶体-自噬溶酶体系统障碍

自噬溶酶体障碍(autophagy-lysosome impairment) 又称自噬障碍, 它在AD病理发展中的重要角色作用已被肯定, 且已被报道多次^[43-44]。自噬障碍主要表现为, 细胞中出现大量包含内含物的高密度自噬泡聚集, 后来人们发现这是由于在自噬的成熟阶段, 自噬泡与溶酶体结合受阻而不能被降解造成的。在AD中, 会伴有自噬障碍, 自噬泡中的A β 或Tau不能被清除而聚集^[45], 异常蛋白的聚集又刺激了自噬的形成, 此恶性循环加重对细胞的毒性造成神经元死亡, 促进了AD的病理进程^[46]。而近年来的研究发现,

在自噬障碍的同时, 伴随着内体-溶酶体途径的异常, 大量不能被降解的自噬泡和内体聚集在神经细胞中^[17], 它们共同加速神经元死亡, 并且在AD病人以及AD模型中展现出独特的形态特征^[47]。

在AD病理进程中, 神经元中自噬及内体系统受损, 会出现颗粒空泡变性体(granulovacuolar degeneration bodies, GVD)^[48], 电镜下GVD是双层膜结构的致密颗粒。在许多不同的神经退行性疾病神经元中也观察到GVD, 但是只有在AD神经元中观察到的GVD是膨大的类似自噬泡的形态, 并且呈现出有序的多层膜结构^[16]。在聚集的GVD中含有大量的多泡体蛋白2B(multi-vesicular body protein 2B, CHMP2B), 它是ESCRT-III复合物的亚基, 也会以不同的形式储存于MVBs中。研究发现, CHMP2B的突变会影响自噬体的降解, 并且在细胞系中, 敲除ESCRT后也会导致自噬异常, 不能正常形成自噬体、amphisome以及自噬溶酶体^[49], 因此, 富含CHMP2B的GVD聚集被认为是由于内溶酶体-自噬溶酶体系统障碍导致的。最近的一项研究发现, 在GVB中包含着与Tau蛋白磷酸化有关的主要激酶CK1 δ 、GSK3 β 、CDK5等, 这说明异常的Tau蛋白磷酸化可能源自于内溶酶体-自噬溶酶体系统障碍^[50]。

4 总结

综上所述, 内溶酶体-自噬溶酶体系统的稳态在AD中扮演着至关重要的角色, 大量数据证明, 内体运输紊乱及溶酶体功能障碍与胞内A β 聚集共同影响自噬晚期阶段, 导致异常自噬体不能被清除。这也说明, 自噬降解途径依赖于溶酶体功能稳定与相关系统的正常运行。转录因子EB(transcription factor EB, TFEB)能促进溶酶体的产生和相关酶体活性, 参与调节内溶酶体的生物发生^[51], 并且它也是自噬体形成所必要的^[52]。而新近的研究发现, TFEB能加强自噬及溶酶体的产生与活性, 对清除异常Tau、A β 起到了非常积极的作用^[53-54]。随着人们对自噬及内体系统在AD病理进程中的分子机制的探究不断深入, 内溶酶体-自噬溶酶体系统的调控将为AD的治疗提供新的靶点和方向。

参考文献 (References)

- 1 Blennow K, de Leon MJ, Zetterberg H, Alzheimer's disease. Lancet 2006; 368(9533): 387-403.
- 2 Giannopoulos PF, Chu J, Joshi YB, Sperow M, Li JG, Kirby LG,

- et al.* 5-lipoxygenase activating protein reduction ameliorates cognitive deficit, synaptic dysfunction, and neuropathology in a mouse model of Alzheimer's disease. *Biol Psychiatry* 2013; 74(5): 348-56.
- 3 Jana A, Pahan K. Fibrillar amyloid-beta peptides kill human primary neurons via NADPH oxidase-mediated activation of neutral sphingomyelinase. Implications for Alzheimer's disease. *J Biol Chem* 2004; 279(49): 51451-9.
 - 4 Michelet X, Legouis R. Autophagy in endosomal mutants: Desperately seeking to survive. *Worm* 2012; 1(4): 216-20.
 - 5 Repnik U, Cesen MH, Turk B. The endolysosomal system in cell death and survival. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2013; 5(1): a008755.
 - 6 Peric A, Annaert W. Early etiology of Alzheimer's disease: Tipping the balance toward autophagy or endosomal dysfunction? *Acta Neuropathol* 2015; 129(3): 363-81.
 - 7 Levine B, Kroemer G. Autophagy in the pathogenesis of disease. *Cell* 2008; 132(1): 27-42.
 - 8 Levine B, Klionsky DJ. Development by self-digestion: Molecular mechanisms and biological functions of autophagy. *Dev Cell* 2004; 6(4): 463-77.
 - 9 Zhou C, Zhou J, Sheng F, Zhu H, Deng X, Xia B, *et al.* The heme oxygenase-1 inhibitor ZnPPIX induces non-canonical, Beclin 1-independent, autophagy through p38 MAPK pathway. *Acta Biochim Biophys Sin* 2012; 44(10): 815-22.
 - 10 Liu S, Li X. Autophagy inhibition enhances sensitivity of endometrial carcinoma cells to paclitaxel. *Int J Oncol* 2015; 46(6): 2399-408.
 - 11 Heilker R, Manning-Krieg U, Zuber JF, Spiess M. *In vitro* binding of clathrin adaptors to sorting signals correlates with endocytosis and basolateral sorting. *EMBO J* 1996; 15(11): 2893-9.
 - 12 Razi M, Chan EY, Tooze SA. Early endosomes and endosomal coatomer are required for autophagy. *J Cell Biol* 2009; 185(2): 305-21.
 - 13 Stenmark H. Rab GTPases as coordinators of vesicle traffic. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2009; 10(8): 513-25.
 - 14 Rink J, Ghigo E, Kalaidzidis Y, Zerial M. Rab conversion as a mechanism of progression from early to late endosomes. *Cell* 2005; 122(5): 735-49.
 - 15 Platta HW, Stenmark H. Endocytosis and signaling. *Curr Opin Cell Biol* 2011; 23(4): 393-403.
 - 16 Thal DR, de Tredici K, Ludolph AC, Hoozemans JJ, Rozemuller AJ, Braak H, *et al.* Stages of granulovacuolar degeneration: Their relation to Alzheimer's disease and chronic stress response. *Acta Neuropathol* 2011; 122(5): 577-89.
 - 17 Nixon RA, Yang DS. Autophagy failure in Alzheimer's disease—locating the primary defect. *Neurobiol Dis* 2011; 43(1): 38-45.
 - 18 Takahashi RH, Almeida CG, Kearney PF, Yu F, Lin MT, Milner TA, *et al.* Oligomerization of Alzheimer's beta-amyloid within processes and synapses of cultured neurons and brain. *J Neurosci* 2004; 24(14): 3592-9.
 - 19 Nixon RA, Wegiel J, Kumar A, Yu WH, Peterhoff C, Cataldo A, *et al.* Extensive involvement of autophagy in Alzheimer disease: An immuno-electron microscopy study. *J Neuropathol Exp Neurol* 2005; 64(2): 113-22.
 - 20 Yang DS, Stavrides P, Mohan PS, Kaushik S, Kumar A, ohno M, *et al.* Reversal of autophagy dysfunction in the TgCRND8 mouse model of Alzheimer's disease ameliorates amyloid pathologies and memory deficits. *Brain* 2011; 134(Pt1): 258-77.
 - 21 Cataldo AM, Petanceska S, Terio NB, Peterhoff CM, Durham R, Mercken M, *et al.* Abeta localization in abnormal endosomes: Association with earliest abeta elevations in AD and down syndrome. *Neurobiol Aging* 2004; 25(10): 1263-72.
 - 22 Yu WH, Kumar A, Peterhoff C, Shapiro Kulnane L, Uchiyama U, Lamb BT, *et al.* Autophagic vacuoles are enriched in amyloid precursor protein-secretase activities: Implications for beta-amyloid peptide over-production and localization in Alzheimer's disease. *Int J Biochem Cell Biol* 2004; 36(12): 2531-40.
 - 23 Berman DE, Ringe D, Petsko GA, Small SA. The use of pharmacological retromer chaperones in Alzheimer's disease and other endosomal-related disorders. *Neurotherapeutics* 2015; 12(1): 12-8.
 - 24 Wen L, Tang FL, Hong Y, Luo SW, Wang CL, He W, *et al.* VPS35 haploinsufficiency increases Alzheimer's disease neuropathology. *J Cell Biol* 2011; 195(5): 765-79.
 - 25 Pickford F, Masliah E, Britschgi M, Lucin K, Narasimhan R, Jaeger PA, *et al.* The autophagy-related protein beclin 1 shows reduced expression in early Alzheimer disease and regulates amyloid beta accumulation in mice. *J Clin Invest* 2008; 118(6): 2190-9.
 - 26 Morel E, Chamoun Z, Lasiecka ZM, Chan RB, Williamson RL, Vetanovetz C, *et al.* Phosphatidylinositol-3-phosphate regulates sorting and processing of amyloid precursor protein through the endosomal system. *Nat Commun* 2013; 4(2250).
 - 27 Jaeger PA, Pickford F, Sun CH, Lucin KM, Masliah E, Wyss-Coray T. Regulation of amyloid precursor protein processing by the Beclin 1 complex. *PLoS One* 2010; 5(6): e11102.
 - 28 Pasquier B. SAR405, a PIK3C3/Vps34 inhibitor that prevents autophagy and synergizes with MTOR inhibition in tumor cells. *Autophagy* 2015; 11(4): 725-6.
 - 29 Ling D, Song HJ, Garza D, Neufeld TP, Salvaterra PM. Abeta42-induced neurodegeneration via an age-dependent autophagic-lysosomal injury in *Drosophila*. *PLoS One* 2009; 4(1): e4201.
 - 30 Umeda T, Tomiyama T, Sakama N, Tanaka S, Lambert MP, Klein WL. Intraneuronal amyloid beta oligomers cause cell death via endoplasmic reticulum stress, endosomal/lysosomal leakage, and mitochondrial dysfunction *in vivo*. *J Neurosci Res* 2011; 89(7): 1031-42.
 - 31 王建枝, 田青. Tau蛋白过度磷酸化机制及其在阿尔茨海默病神经元变性中的作用. *生物化学与生物物理进展*(Wang Jianzhi, Tian Qing. Molecular mechanisms underlie Alzheimer-like Tau hyperphosphorylation and neurodegeneration. *Progress in Biochemistry and Biophysics*) 2012; (08): 771-7.
 - 32 Chesser AS, Pritchard SM, Johnson GV. Tau clearance mechanisms and their possible role in the pathogenesis of Alzheimer disease. *Front Neurol* 2013; 4: 122
 - 33 Wang Y, Martinez-Vicente M, Kruger U, Kaushik S, Wong E, Mandelkow EM, *et al.* Tau fragmentation, aggregation and clearance: the dual role of lysosomal processing. *Hum Mol Genet* 2009; 18(21): 4153-70.
 - 34 Schaeffer V, Lavenir L, Ozcelik S, Tolnay M, Winkler DT, Goedert M. Stimulation of autophagy reduces neurodegeneration in a mouse model of human tauopathy. *Brain* 2012; 135(Pt 7):

- 2169-77.
- 35 Elrick MJ, Yu T, Chung C, Lieberman AP. Impaired proteolysis underlies autophagic dysfunction in Niemann-Pick type C disease. *Hum Mol Genet* 2012; 21(22): 4876-87.
- 36 Jin LW, Shie FS, Maezawa I, Vincent I, Bird T. Intracellular accumulation of amyloidogenic fragments of amyloid-beta precursor protein in neurons with Niemann-Pick type C defects is associated with endosomal abnormalities. *Am J Pathol* 2004; 164(3): 975-85.
- 37 Cai Z, Chen G, He W, Xiao M, Yan LJ. Activation of mTOR: A culprit of Alzheimer's disease? *Neuropsychiatr Dis Treat* 2015; 11: 1015-30.
- 38 Ka M, Condorelli G, Woodgett JR, Kim WY. mTOR regulates brain morphogenesis by mediating GSK3 signaling. *Development* 2014; 141(21): 4076-86.
- 39 Avrahami L, Farfara D, Shaham-Kol M, Vassar R, Frenkel D, Eldar-Finkelman H. Inhibition of glycogen synthase kinase-3 ameliorates beta-amyloid pathology and restores lysosomal acidification and mammalian target of rapamycin activity in the Alzheimer disease mouse model: *In vivo* and *in vitro* studies. *J Biol Chem* 2013; 288(2): 1295-306.
- 40 Jacobs BL, Goodman CA, Hornberger TA. The mechanical activation of mTOR signaling: An emerging role for late endosome/lysosomal targeting. *J Muscle Res Cell Motil* 2014; 35(1): 11-21.
- 41 Martin L, Latypova X, Wilson CM, Magnaudeix A, Perrin ML, Terro F. Tau protein phosphatases in Alzheimer's disease: the leading role of PP2A. *Ageing Res Rev* 2013; 12(1): 39-49.
- 42 Martinez-Lopez N, Singh R. ATGs: Scaffolds for MAPK/ERK signaling. *Autophagy* 2014; 10(3): 535-7.
- 43 Metcalf DJ, Garcia-Arencibia M, Hochfeld WE, Rubinsztein DC. Autophagy and misfolded proteins in neurodegeneration. *Exp Neurol* 2012; 238(1): 22-8.
- 44 Wang Y, Mandelkow E. Degradation of tau protein by autophagy and proteasomal pathways. *Biochem Soc Trans* 2012; 40(4): 644-52.
- 45 Nassif M, Hetz C. Autophagy impairment: A crossroad between neurodegeneration and tauopathies. *BMC Biol* 2012; 10: 78.
- 46 Yu WH, Cuervo AM, Kumar A, Peterhoff CM, Schmidt SD, Lee JH, *et al.* Macroautophagy—a novel Beta-amyloid peptide-generating pathway activated in Alzheimer's disease. *J Cell Biol* 2005; 171(1): 87-98.
- 47 Yang DS, Stavrides P, Saito M, Kumar A, Rodriguez-Navarro JA, Pawlik M, *et al.* Defective macroautophagic turnover of brain lipids in the TgCRND8 Alzheimer mouse model: Prevention by correcting lysosomal proteolytic deficits. *Brain* 2014; 137 (Pt 12): 3300-18.
- 48 Funk KE, Mrak RE, Kuret J. Granulovacuolar degeneration (GVD) bodies of Alzheimer's disease (AD) resemble late-stage autophagic organelles. *Neuropathol Appl Neurobiol* 2011; 37(3): 295-306.
- 49 Filimonenko M, Stuffers S, Raiborg C, Yamamoto A, Malerod L, Fisher EM, *et al.* Functional multivesicular bodies are required for autophagic clearance of protein aggregates associated with neurodegenerative disease. *J Cell Biol* 2007; 179(3): 485-500.
- 50 Nishikawa T, Takahashi T, Nakamori M, Yamazaki Y, Kurashige T, Nagano Y, *et al.* Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate is enriched in granulovacuolar degeneration bodies and neurofibrillary tangles. *Neuropathol Appl Neurobiol* 2014; 40(4): 489-501.
- 51 Ploper D, Taelman VF, Robert L, Perez BS, Titz B, Chen HW, *et al.* MITF drives endolysosomal biogenesis and potentiates Wnt signaling in melanoma cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2015; 112(5): E420-9.
- 52 Settembre C, Di Malta C, Polito VA, Garcia Arencibia M, Vetrini F, Erdin S, *et al.* TFEB links autophagy to lysosomal biogenesis. *Science* 2011; 332(6036): 1429-33.
- 53 Polito VA, Li H, Martini-Stoica H, Wang B, Yang L, Xu Y, *et al.* Selective clearance of aberrant tau proteins and rescue of neurotoxicity by transcription factor EB. *EMBO Mol Med* 2014; 6(9): 1142-60.
- 54 Xiao Q, Yan P, Ma X, Liu H, Perez R, Zhu A, *et al.* Enhancing astrocytic lysosome biogenesis facilitates Abeta clearance and attenuates amyloid plaque pathogenesis. *J Neurosci* 2014; 34(29): 9607-20.