

自噬在阿尔茨海默病发病机制中的作用

李春艳¹ 李学智² 邱开心¹ 朱瑾^{2*}

(¹山东大学齐鲁医学部, 济南 250000; ²济宁医学院, 山东省行为医学教育研究所, 济宁 272067)

摘要 阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)是一种常见的神经系统退行性疾病, 其主要病理变化是β淀粉样蛋白(β-amyloid protein, Aβ)大量堆积形成的老年斑(senile plaques, SP)和异常磷酸化的tau蛋白积聚形成的神经纤维缠结(neurofibrillary tangles, NFTs)。自噬(autophagy)是真核细胞内清除衰老或受损细胞器和长寿命蛋白质的主要途径, 在维持细胞内稳态方面起重要作用。当自噬过程受损时, Aβ与异常磷酸化的tau蛋白大量堆积于神经元内, 破坏了细胞的正常功能并加速其死亡。大量研究表明, 自噬异常是导致AD发生发展的重要因素, 调节自噬减少Aβ、tau蛋白在神经元内的堆积, 将为AD的治疗提供新的思路。

关键词 阿尔茨海默病; 自噬; β淀粉样蛋白; tau

The Role of Autophagy in the Pathogenesis of Alzheimer's Disease

LI Chunyan¹, LI Xuezhi², QIU Kaixin¹, ZHU Jin^{2*}

(¹Cheeloo College of Medicine, Shandong University, Jinan 250000, China; ²Institute of Behavioral Medicine Education of Shandong Province, Jining Medical University, Jining 272067, China)

Abstract Alzheimer's disease (AD) is one of the most common neurodegenerative diseases. Histopathologically, the hallmarks of AD include amyloid plaques (SP) constituted by amyloid-β peptide (Aβ) and neurofibrillary tangles (NFTs) primarily composed of hyperphosphorylated tau protein. Autophagy is the major intracellular degeneration pathway of aged or damaged organelles and long-lived proteins, which is critical for maintaining cellular homeostasis. Autophagy dysfunctions lead to the over-accumulation of Aβ and hyperphosphorylated tau protein in the neuron, disturbing neuronal functions and accelerating cell apoptosis. Mounting evidence suggested that defected autophagy plays an important role in the pathological process of Alzheimer's Disease. Reducing the over-accumulation of Aβ and hyperphosphorylated tau protein via regulating autophagy could be a potential therapeutic strategy for this disease.

Keywords Alzheimer's disease; autophagy; amyloid-β peptide; tau

阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)是一种最常见的老年痴呆, 占痴呆患者总数的50%~75%^[1]。截止至2016年, 美国AD患者达到540万人, 其中65岁以上老年人的患病率为11%^[2]。据统计, 到2010年, 我国AD患者达到569万人^[3], 随着人口老龄化的加剧, 预计

到2050年, 这个数字将超过2 000万。AD起病隐匿, 主要发生于老年期或老年前期, 其症状主要表现为记忆障碍、认知功能进行性减退、人格和行为改变及日常生活能力下降^[2]。该病典型的病理变化包括细胞外由β淀粉样蛋白(β-amyloid protein, Aβ)堆积形成

收稿日期: 2019-03-04 接受日期: 2019-04-24

国家自然科学基金(批准号: 31701247)资助的课题

*通讯作者。Tel: 15265772926, E-mail: zhujin516518@163.com

Received: March 4, 2019 Accepted: April 24, 2019

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.31701247)

*Corresponding author. Tel: +86-15265772926, E-mail: zhujin516518@163.com

网络出版时间: 2019-11-12 12:26:02

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20191112.1034.010.html>

的老年斑(senile plaques, SP)和细胞内由异常磷酸化的tau蛋白积聚形成的神经纤维缠结(neurofibrillary tangles, NFTs)^[4]。

自噬(autophagy)是一种在进化过程中高度保守的细胞生理过程,是真核细胞内清除衰老或受损细胞器和长寿命蛋白质的主要途径,在维持细胞内稳态和再循环细胞组分方面起重要作用^[5]。目前研究表明,自噬异常与AD等神经退行性疾病的发生发展有着密不可分的关系。笔者基于目前的研究,对自噬与AD主要病理改变的关系作一综述。

1 自噬

依据自噬底物到达溶酶体腔的方式不同,自噬可以分为巨自噬(macroautophagy)、微自噬(microautophagy)和分子伴侣介导的自噬(chaperon-mediated autophagy, CMA)^[6]。巨自噬是最主要也是目前研究较为深入的一种自噬类型,下文如没有特别说明均指巨自噬。

自噬过程一般分为3个阶段:起始阶段、延伸及自噬小体形成阶段、成熟降解阶段(图1)。

1.1 起始阶段

主要有ULK1-Atg13-FIP2000和Vps34-Vps15-Beclin-1两种复合物参与了自噬的起始阶段,利用细胞内的双层膜结构组成自噬囊泡。

1.1.1 ULK1-Atg13-FIP2000 复合物雷帕霉素靶蛋白(mTOR1)是一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,它与AMPK共同作为细胞内的营养传感器,根据细胞内营养物质、生长因子及AMP/ATP的比值判断细胞所处的营养状态并调节一系列的细胞生理活动,包括通过磷酸化反应调节ULK1-Atg13-FIP2000复合物的活性^[7-9]。在营养充足的情况下,mTOR1可以使Ulk1的Ser 757磷酸化,从而阻止AMPK磷酸化Ulk1并抑制其活性,从而对自噬起负性调控作用^[10]。相反,在某些因素的刺激下,一方面,AMPK可以直接抑制或者通过激活TSC1/2复合物间接抑制mTORC1的活性^[11-12]。另一方面,AMPK也可以磷酸化Ulk1的Ser 317、Ser 777,从而直接激活Ulk1^[10]。活化的Ulk1与Atg13和FIP2000组成ULK-1-Atg13-FIP2000复合物,并从细胞质转移至内质网、高尔基体等相应区域,利用细胞内双层膜结构组成吞噬泡。

1.1.2 Vps34-Vps15-Beclin-1 复合物Vps34与Vps15结合后被激活,进而与Beclin-1结合形成Vps34-

Vps15-Beclin-1复合物,即PtdIns3K复合物^[13]。Beclin-1是自噬起始的重要调节位点,生理条件下与Bcl2结合,使自噬保持基础水平。营养缺乏或氧化应激时,压力激活酶Jun N末端肌酶1(JNK1)通过磷酸化Bcl2减弱其与Beclin-1的相互作用,使Beclin-1与之分离^[14]。随后,Beclin-1与UVRAG、Vps34等因子结合激活自噬,募集其他自噬相关蛋白到自噬囊泡膜上^[15]。自噬抑制剂3-甲基腺嘌呤(3-MA)可通过抑制Vps34-Vps15-Beclin-1复合物负向调控自噬过程^[16]。

此外,以上两种复合物还具有协同作用,ULK-1-Atg13-FIP2000复合物是募集Vps34到自噬起始位点所必需的,而Vps34-Vps15-Beclin-1复合物催化产生的磷酸肌醇-3-磷酸(phosphate inositol triphosphate, PI3P)维持ULK1复合物在omegasome(一种自噬小体形成过程的中间产物)的稳定性具有重要作用^[17]。

1.2 延伸及自噬小体形成阶段

自噬囊泡不断延长伸展,形成一个杯口状的双层膜结构,被称为“杯状体”(phagophore),将自噬底物部分包绕。此后,“杯状体”继续延伸,将底物完全包裹,形成球状的自噬小体(autophagosome)。主要有Atg12-Atg5-Atg16复合物和Atg8/LC3两个泛素样蛋白偶联系统参与了此过程。此外,Atg9对自噬囊泡的延伸也起到了一定的作用。

1.2.1 Atg12-Atg5-Atg16 复合物Atg12在Atg7(E1-like enzyme)和Atg10(E2-like enzyme)的活化作用下,与Atg5共价键结合,Atg5-Atg12继而与Atg16非共价键结合形成Atg5-Atg12-Atg16复合物,此复合物可以结合于自噬囊泡膜上协助招募LC3,从而有助于自噬囊泡的延伸。

1.2.2 Atg8/LC3 LC3是酵母中Atg8的同源物。LC3合成以后,在半胱氨酸蛋白酶Atg4的作用下暴露其C末端的甘氨酸残基生成LC3-I,后者在Atg7(E1-like enzyme)、Atg3(E2-like enzyme)和Atg5-Atg12-Atg16复合物(E3-like enzyme)的催化作用下与磷脂酰乙醇胺(phosphatidyl ethanolamine, PE)结合生成LC3-II^[18]。LC3-II牢固附着于自噬小体膜上,促进自噬泡的延伸及扩展,是自噬最重要的标志物。

1.2.3 Atg9 跨膜蛋白Atg9也参与了自噬囊泡的延伸。在营养充足的条件下,Atg9定位于高尔基体反面的网络结构(trans Golgi network, TGN)及各时期的核内体,但在饥饿状态下会移位到自噬囊泡,此时

的Atg9充当“搬运工”的角色, 可以将细胞内的双层膜结构运送到自噬囊泡, 以便于后者的延伸扩展^[19]。研究表明, Atg9的这种作用依赖于ULK1和PtdIns3K的活性及自身的多聚化^[20]。

1.3 成熟降解阶段

自噬小体在驱动蛋白的协助下, 沿着微管蛋白被运送到溶酶体(lysosome)后, 其外层膜与溶酶体膜融合形成自噬溶酶体(autolysosome)。在溶酶体腔的酸性环境下, 多种水解酶将自噬小体内层膜和自噬底物降解成氨基酸等小分子^[21]。此外, 在哺乳动物细胞中, 部分自噬小体可以先与核内体(endosome)融合形成amphisome后再被溶酶体降解^[22]。研究表明, UVRA9及SNARE家族的VAM7、VAM9、syntaxin 17等多种因子参与了自噬小体与溶酶体的融合^[20]。

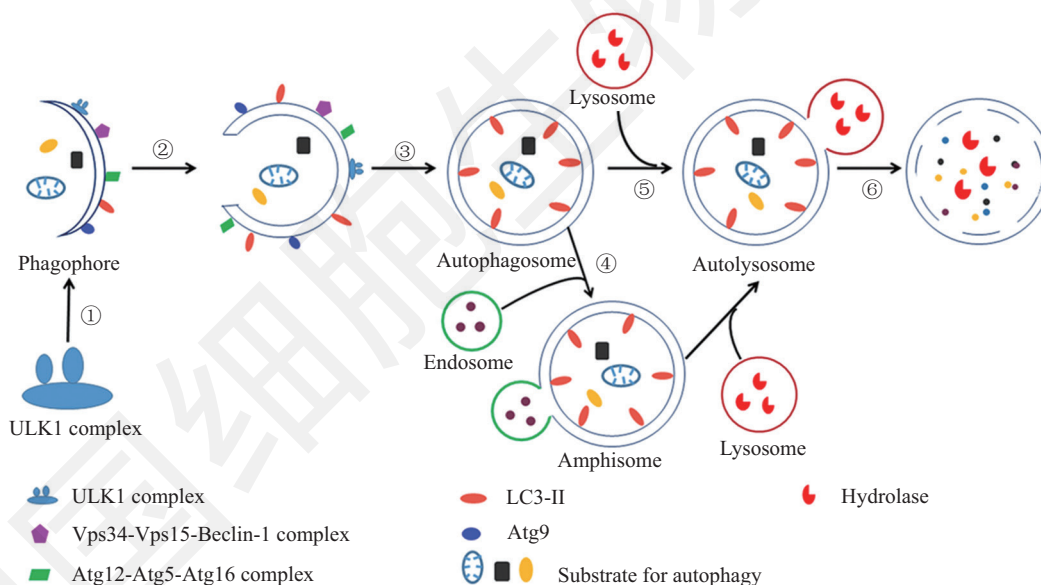
2 自噬与AD

自噬作为细胞内重要的降解途径, 对于维持神

经元的内稳态具有重要作用。即使是在生理状态下, 自噬仍处于高度活跃状态^[23]。由于神经元属于永久细胞^[24], 不能通过细胞分裂稀释自身产生的有毒物质, 所以对于神经元来说, 维持正常的自噬功能显得尤为重要。自噬障碍会导致蛋白质的异常堆积, 包括A β 和异常磷酸化的tau样蛋白, 从而形成两种AD最重要的病理改变, 即老年斑和神经纤维缠结。Hara等^[25]和Komatsu等^[26]发现, 敲除Atg5或Atg7的小鼠会在数周内发生泛素化蛋白的异常积累、神经元的大量丢失以及行为缺陷, 证明自噬异常在AD的发生发展中起着重要作用。

2.1 自噬与A β 代谢

2.1.1 自噬参与A β 的生成 A β 是老年斑的主要成分, 它是 β 淀粉样前体蛋白(A β precursor protein, APP)依次经过 β -分泌酶、 γ -分泌酶裂解生成。APP属于I型跨膜蛋白, 广泛分布于各个组织中, 尤以神经元轴突和树突为主^[27]。定位于细胞膜上的APP可



①: 起始阶段。ULK1复合物利用细胞内双层膜结构组成吞噬泡。Vps34-Vps15-Bec1-1复合物募集其他自噬相关蛋白到自噬囊泡膜上, 促进自噬囊泡延伸, 形成杯口状的双层膜结构, 即“杯状体”(phagophore)。②、③: 延伸及自噬小体形成阶段。在Atg12-Atg5-Atg16复合物、Atg8/LC3及Atg9的协助下自噬囊泡不断延伸将底物完全包裹, 形成球状的双层膜自噬小体(autophagosome)。④: 部分自噬小体可以先与核内体(endosome)融合形成amphisome后再被溶酶体降解。⑤、⑥: 成熟降解阶段。自噬小体或amphisome被运送到溶酶体(lysosome)融合形成自噬溶酶体(autolysosome)。在溶酶体腔的酸性环境下, 多种水解酶将自噬小体内层膜和自噬底物降解成氨基酸等小分子。

①: initiation. ULK1 complex utilizes intracellular bilayer membrane structure to form autophagic vesicles. Vps34-Vps15-Bec1-1 complex recruits autophagic-associated protein to the membrane of autophagic vesicles, promoting its prolongation and forming a primary cup-shaped membrane sequestering compartment called phagophore. ②, ③: elongation and autophagosome formation. With the help of Atg12-Atg5-Atg16 complex, Atg8/LC3 and Atg9, autophagic vesicles constantly expand and bend to engulf substrate, generating a spherical double-membraned structure called autophagosome. ④: partial autophagosome may fuse with an endosome, forming an amphisome, before fusing with the lysosome. ⑤, ⑥: maturation and degradation. The autophagosome or amphisome is transported to lysosome to produce autolysosome. Exposed to the acidic lumen, autophagosome inner membrane and the substrate for autophagy are digested by various lysosomal hydrolases into amino acids and other small molecules.

图1 自噬的基本过程

Fig.1 The basic steps of autophagic progression

以通过非淀粉样蛋白和淀粉样蛋白两条不同的途径降解。前者在 α -分泌酶的作用下, APP被裂解成可释放到细胞外的可溶性片段sAPP α 和仍结合于质膜上的 α -CTF(C terminal fragment), 后者在 γ -分泌酶的作用下生成水解产物p3。此外, 部分APP经内吞途径进入细胞腔形成内体。内体中含有丰富的 β 、 γ -分泌酶, 相对于 α -分泌酶, β -分泌酶能在更靠近N-端的位置将APP分解成sAPP β 和 β -CTF, γ -分泌酶继续将 β -CTF分解生成A β ^[28]。当内吞途径或者APP的内吞被选择性阻断后, A β 的生成明显下降, 说明内体是A β 的“生产厂房”之一。

Yu等^[29]在过表达APP的小鼠肝细胞中发现, 自噬囊泡(autophagic vacuoles, AVs)内含有大量的APP、 β -CTF、BACE等, 提示AVs可能是生成A β 的潜在部位。此后的研究进一步阐明, AD患者及模型鼠大脑中的AVs含有大量APP、 β -CTF及 γ -分泌酶复合物, 并证明在AD早期阶段自噬即被激活, 导致AVs扩增并生成大量A β ^[30]。体外诱导过表达APP的SH-SY5Y细胞发生氧化应激反应后, 其自噬水平明显升高且包裹有APP、A β 单体及寡聚体的AVs明显增多, 3-MA则可以明显降低SH-SY5Y细胞中A β 的含量^[31]。以上研究均表明, 自噬是生成A β 的重要途径。AVs不仅可以将其自身包裹的APP降解生成A β , 内体中的 β CTF也可以被运送到自噬小体内, 被 γ -分泌酶水解生成更多的A β ^[32]。

2.1.2 自噬参与A β 的清除 Yuan等^[33]发现, 自噬相关蛋白如Atg5、Beclin1、Ulk1等与A β 、APP-CTF的降解有着密切的关系, 利用siRNA敲除N2a-APP细胞中的Beclin-1后, 细胞中A β 40和APP-CTF的水平明显升高。Jaeger等^[34]的研究证实, APP及其降解产物均可作为自噬的底物, APP和CTF的积累常常伴随着自噬小体清除障碍。相反, 雷帕霉素或其他自噬激活剂如SMER28等则会明显增加细胞内CTF和A β 的清除^[33]。药理性抑制自噬可以明显削弱SMER28的作用^[33], 进一步证实了SMER28是基于对自噬的调控而增加了A β 的清除。

A β 清除障碍在AD的病理进程中发挥着重要作用。生理状态下, 富含A β 的AVs需要被运送到溶酶体降解, 这是因为溶酶体内含有A β 降解所必需的组织蛋白酶, 如组织蛋白酶B、组织蛋白酶D等^[35-36]。但由于溶酶体主要分布于核周体, 形成于神经突起的AVs须经过长距离的逆向运输才能到达胞体与溶酶

体融合^[37]。研究发现, 在AD患者及模型小鼠的大脑皮层和海马肿胀的轴突内堆积了大量含有APP及其相关分泌酶的自噬小体和其他类型的自噬囊泡^[38-39], 表明在AD大脑中AVs的清除发生了障碍。滞留的AVs不能被溶酶体降解, 导致A β 大量堆积于细胞内, 加速了AD的病理进程。值得注意的是, 虽然在AD中, A β 降解的两条途径即蛋白酶体途径和溶酶体途径均发生了异常, 但相对于啮齿动物, 人类似乎更依赖于溶酶体途径来消除脑内产生的A β ^[40]。

2.1.3 自噬参与A β 的分泌 自噬不仅可以调控A β 的生成与清除, 也参与了它的分泌。Nilsson等^[41]发现, 敲除APP转基因小鼠神经元中自噬相关基因Atg7, A β 的分泌和细胞外老年斑的数量会明显减少。随后利用携带Atg7的慢病毒感染上述神经元, 使Atg7恢复到正常水平以重新激活自噬, A β 的分泌也会恢复到之前相应水平。小剂量的雷帕霉素处理野生型小鼠的原代神经元后, 细胞内自噬小体明显增多并伴随A β 分泌的增加。相反, 利用spautin-1抑制自噬后会导致A β 向细胞外的分泌明显减少。目前已知, 自噬小体内生成的A β 可以通过与内体以“物质交流”的方式将A β 运输到内体, 后者与质膜融合后将A β 释放到胞外^[32]。除此之外, 内体也可以直接将自己生成的A β 通过与质膜融合的方式释放到胞外。

在AD患者大脑中, AVs滞留于营养不良神经突内, 增加了与质膜融合的机会, 导致更多的A β 被释放到细胞外形成淀粉样斑块, 所以细胞外的A β 一度被认为具有致病性。后来的一项研究证明, 在淀粉样斑块未形成的情况下, 胞内A β 水平的升高仍会导致AD模型鼠认知功能障碍^[42]。与以上研究结果一致, Tomiyama等^[43]发现, 即使没有老年斑的形成, 细胞内增多的A β 寡聚体不仅可以导致突触改变, 也可以使tau蛋白发生异常磷酸化, 提示淀粉样斑块并不是AD发病和发展的必要条件, 细胞内的A β 才是AD真正的致病因素。蓄积于胞内的A β 不仅影响自噬小体的转运及其与溶酶体的融合, 而且会破坏溶酶体膜的稳定性, 影响自噬底物的降解, 导致恶性循环, 进一步加重了AD的病理变化。

2.2 自噬与tau蛋白代谢

tau蛋白是一种微管结合蛋白, 主要分布于中枢神经系统神经元的轴突^[44]。正常情况下, tau蛋白可以促进微管的装配, 并与其结合维持其稳定性, 协助“分子货物”的轴突运输^[45]。tau蛋白内至少存在30个

磷酸化位点, 正常情况下, 它们大多数以脱磷酸化的形式存在^[46]。但在AD患者大脑中, 异常磷酸化的tau蛋白会增加4~8倍^[47]。这些异常磷酸化的tau蛋白不仅失去了正常功能, 并且形成不易被蛋白水解酶降解的神经纤维缠结, 堆积于细胞核周围, 加速细胞死亡^[44]。tau蛋白异常磷酸化的具体机制尚不明确, 已知蛋白磷酸酶2A(PP2A)为tau蛋白重要的磷酸酶^[48], 其功能异常会直接导致tau蛋白发生高度磷酸化, 促进其自我聚集、沉积, 最终加重AD的病理变化^[49]。

目前, 已知作用于不同阶段的自噬抑制剂, 如NH₄Cl、氯喹和3-MA等均可以阻断tau蛋白降解, 加速NFTs的形成^[50-52]。磷脂酶D1(phospholipase D1, PLD1)作为Vps34的负性调节因子, 可以阻碍自噬小体的成熟, 加速tau蛋白在脑内堆积^[53]。Berger等^[54]发现, 雷帕霉素可以通过增加tau蛋白的水解减少AD果蝇模型中tau蛋白的毒性。用蛋白酶体抑制剂MG-132处理细胞后, LC3-II和自噬小体的数量明显增多, 同时细胞内tau蛋白的水平明显下降^[52,55], 这是由于阻断蛋白酶体途径后, 自噬溶酶体途径的活性代偿性上调, 从而加快了对tau蛋白的水解。相反, 阻断神经元的自噬途径后, 通过泛素蛋白酶体途径(ubiquitin-proteasome pathway, UPS)降解的tau蛋白微乎其微^[56]。以上事实均说明, 自噬是神经元内降解tau蛋白最重要的途径, 且有研究发现, 自噬受体NDP52参与了介导过度磷酸化tau蛋白进入自噬溶酶体途径的清除^[57]。值得注意的是, 分子量不同的tau蛋白片段是通过不同自噬类型降解的, 例如: tauRDΔK280是一种截短tau蛋白, 它主要通过CMA途径被降解^[58]。

tau蛋白异常堆积会反向影响自噬过程。PP2A抑制剂冈田酸可以使tau蛋白发生高度磷酸化, 使其失去组装结合微管的功能, 阻碍了轴突逆向运输及自噬体-溶酶体融合, 使自噬小体在神经元中大量堆积^[59-60], 从而阻碍了异常蛋白的清除, 进一步加剧了AD的病理进程。

3 基于自噬的AD治疗

目前, 大多数用于治疗AD的药物只能改善症状, 并不能从根本上阻止病理进程的发展。自噬作为细胞内物质降解的重要途径, 对于维持内稳态具有重要作用。调节自噬来减少Aβ、tau蛋白的堆积, 为AD的治疗提供了新的思路。

3.1 作用于mTOR通路的药物

雷帕霉素作为mTOR的抑制剂, 可以通过上调自噬对AD有一定的治疗作用。动物实验证实, 雷帕霉素可以减少AD模型鼠脑内Aβ和tau蛋白的堆积, 从而减少了老年斑及神经纤维缠结的形成, 并能在一定程度上改善模型鼠的认知功能^[61-62]。Caccamo等^[63]发现, 雷帕霉素在过表达变异型tau蛋白的小鼠模型中表现出对运动神经元的保护作用。研究表明, 西罗莫司脂化物可能通过抑制mTOR通路激活细胞自噬, 进而增加了AD模型细胞中Aβ和高度磷酸化tau蛋白的清除, 并可以改善AD模型鼠的学习和记忆能力^[64-65]。除此之外, 白藜芦醇及其类似物也可以通过抑制mTOR复合物上调自噬, 提高Aβ、tau蛋白的降解速度, 改善AD的病理进程^[66]。但是, 由于mTOR通路还参与了其他一些重要的生理过程, 包括核糖体生物合成的调节和蛋白质转录等^[67], 因此长期服用雷帕霉素等可能会产生严重的毒副作用。

3.2 非依赖于mTOR通路的药物

目前经实验初步证实, 非依赖于mTOR通路的AD治疗药物有抗躁狂药锂盐^[68]、卡马西平^[69]和抗癫痫药丙戊酸钠^[70]等。此外, L型Ca²⁺通道阻断剂伊拉地平可以通过抑制Ca²⁺内流降低胞质内Ca²⁺浓度, 从而促进LC3的表达, 上调自噬活性^[71]。SMER28作为一种依赖于自噬相关蛋白Atg5的小分子自噬激活剂, 能显著降低细胞内Aβ和APP-CTF的水平^[33]。除此之外, 还有一些其他药物如卡巴咪嗪等^[72]可以通过诱导自噬从而改善AD病理变化, 但具体机制尚不清楚。

4 总结与展望

近些年来, 随着对自噬研究的深入, 我们逐渐认识到自噬异常可能是导致AD发生发展的重要因素。如前所述, 自噬与Aβ的产生、分泌和清除以及异常磷酸化tau蛋白的清除有着密切的关系, 但其中一些具体机制仍有待于进一步的研究。虽然目前一些体内外实验证实, 激活自噬可以增加Aβ及异常磷酸化tau蛋白的降解, 但是自噬是一把双刃剑, 适度的自噬可以清除异常堆积的Aβ及tau蛋白, 减轻AD的病理变化, 而过度激活自噬会降低溶酶体膜的稳定性, 导致溶酶体内的水解酶溢出, 加速细胞死亡。而且, 由于自噬在AD各病程阶段的活性状态尚未完全明确, 所以正确选择用药时机显得尤为重要。早期在溶酶

体功能正常的情况下激活自噬有利于毒性蛋白的清除,但后期溶酶体功能衰竭,单纯激活自噬只会加重异常蛋白的堆积。此外,自噬涉及多种细胞功能活动,为了降低药物的毒副作用,研发高选择性的自噬调节剂将是我们面临的又一巨大挑战。总之,进一步明确自噬在AD发病中的作用,以调节自噬为治疗靶点的研究将为AD的治疗提供广阔的前景。

参考文献 (References)

- Lane CA, Hardy J, Schott JM. Alzheimer's disease. *Eur J Neurol* 2018; 25(1): 59-70.
- 2016 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimers Dement* 2016; 12(4): 459-509.
- Chan KY, Wang W, Wu JJ, Liu L, Theodoratou E, Car J, *et al.* Epidemiology of Alzheimer's disease and other forms of dementia in China, 1990-2010: a systematic review and analysis. *Lancet* 2013; 381(9882): 2016-23.
- Blennow K, de Leon MJ, Zetterberg H. Alzheimer's disease. *Lancet* 2006; 368(9533): 387-403.
- Ravanan P, Srikumar IF, Talwar P. Autophagy: The spotlight for cellular stress responses. *Life Sci* 2017; 188: 53-67.
- Ohsumi Y. Historical landmarks of autophagy research. *Cell Res* 2014; 24(1): 9-23.
- Wullschlegel S, Loewith R, Hall MN. TOR signaling in growth and metabolism. *Cell* 2006; 124(3): 471-84.
- Hardie DG. AMP-activated/SNF1 protein kinases: conserved guardians of cellular energy. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2007; 8(10): 774-85.
- Meley D, Bauvy C, Houben-Weerts JH, Dubbelhuis PF, Helmond MT, Codogno P, *et al.* AMP-activated protein kinase and the regulation of autophagic proteolysis. *J Biol Chem* 2006; 281(46): 34870-79.
- Kim J, Kundu M, Viollet B, Guan KL. AMPK and mTOR regulate autophagy through direct phosphorylation of Ulk1. *Nat Cell Biol* 2011; 13(2): 132-41.
- Inoki K, Zhu T, Guan KL. TSC2 mediates cellular energy response to control cell growth and survival. *Cell* 2003; 115(5): 577-90.
- Yang Z, Klionsky DJ. Mammalian autophagy: core molecular machinery and signaling regulation. *Curr Opin Cell Biol* 2010; 22(2): 124-31.
- Itakura E, Kishi C, Inoue K, Mizushima N. Beclin 1 forms two distinct phosphatidylinositol 3-kinase complexes with mammalian Atg14 and UVRAG. *Mol Biol Cell* 2008; 19(12): 5360-72.
- Salminen A, Kaarniranta K, Kauppinen A, Ojala J, Haapasalo A, Soininen H, *et al.* Impaired autophagy and APP processing in Alzheimer's disease: The potential role of Beclin 1 interactome. *Prog Neurobiol* 2013; 106/107: 33-54.
- Kang R, Zeh HJ, Lotze MT, Tang D. The Beclin 1 network regulates autophagy and apoptosis. *Cell Death Differ* 2011; 18(4): 571-80.
- Wu YT, Tan HL, Shui G, Bauvy C, Huang Q, Wenk MR, *et al.* Dual role of 3-methyladenine in modulation of autophagy via different temporal patterns of inhibition on class I and III phosphoinositide 3-kinase. *J Biol Chem* 2010; 285(14): 10850-61.
- Dooley HC, Razi M, Polson HE, Girardin SE, Wilson MI, Tooze SA. WIPI2 links LC3 conjugation with PI3P, autophagosome formation, and pathogen clearance by recruiting Atg12-5-16L1. *Mol Cell* 2014; 55(2): 238-52.
- Geng J, Klionsky DJ. The Atg8 and Atg12 ubiquitin-like conjugation systems in macroautophagy. 'Protein modifications: beyond the usual suspects' review series. *EMBO Rep* 2008; 9(9): 859-64.
- Young AR, Chan EY, Hu XW, Kochl R, Crawshaw SG, High S, *et al.* Starvation and ULK1-dependent cycling of mammalian Atg9 between the TGN and endosomes. *J Cell Sci* 2006; 119(Pt 18): 3888-900.
- Parzych KR, Klionsky DJ. An overview of autophagy: morphology, mechanism, and regulation. *Antioxid Redox Signal* 2014; 20(3): 460-73.
- Feng Y, He D, Yao Z, Klionsky DJ. The machinery of macroautophagy. *Cell Res* 2014; 24(1): 24-41.
- Corona AK, Jackson WT. Finding the middle ground for autophagic fusion requirements. *Trends Cell Biol* 2018; 28(11): 869-81.
- Boland B, Kumar A, Lee S, Platt FM, Wegiel J, Yu WH, *et al.* Autophagy induction and autophagosome clearance in neurons: relationship to autophagic pathology in Alzheimer's disease. *J Neurosci* 2008; 28(27): 6926-37.
- Lee W, Kim SH. Autophagy at synapses in neurodegenerative diseases. *Arch Pharm Res* 2019; 42(5): 407-15.
- Hara T, Nakamura K, Matsui M, Yamamoto A, Nakahara Y, Suzuki-Migishima R, *et al.* Suppression of basal autophagy in neural cells causes neurodegenerative disease in mice. *Nature* 2006; 441(7095): 885-89.
- Komatsu M, Waguri S, Chiba T, Murata S, Iwata J, Tanida I, *et al.* Loss of autophagy in the central nervous system causes neurodegeneration in mice. *Nature* 2006; 441(7095): 880-84.
- Wang X, Zhou X, Li G, Zhang Y, Wu Y, Song W. Modifications and trafficking of APP in the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Front Mol Neurosci* 2017; 10: 294.
- Rajendran L, Annaert W. Membrane trafficking pathways in Alzheimer's disease. *Traffic* 2012; 13(6): 759-70.
- Yu WH, Kumar A, Peterhoff C, Shapiro KL, Uchiyama Y, 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.
- 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.
- Zheng L, Terman A, Hallbeck M, Dehvari N, Cowburn RF, Benedikz E, *et al.* Macroautophagy-generated increase of lysosomal amyloid beta-protein mediates oxidant-induced apoptosis of cultured neuroblastoma cells. *Autophagy* 2011; 7(12): 1528-45.
- Luzio JP, Rous BA, Bright NA, Pryor PR, Mullock BM, Piper RC. Lysosome-endosome fusion and lysosome biogenesis. *J Cell Sci* 2000; 113(Pt 9): 1515-24.

- 33 Tian Y, Bustos V, Flajolet M, Greengard P. A small-molecule enhancer of autophagy decreases levels of A β and APP-CTF via Atg5-dependent autophagy pathway. *FASEB J* 2011; 25(6): 1934-42.
- 34 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.
- 35 Embury CM, Dyavarshetty B, Lu Y, Wiederin JL, Ciborowski P, Gendelman HE, *et al.* Cathepsin B improves ss-Amyloidosis and learning and memory in models of Alzheimer's disease. *J Neuroimmune Pharmacol* 2017; 12(2): 340-52.
- 36 Di Domenico F, Tramutola A, Perluigi M. Cathepsin D as a therapeutic target in Alzheimer's disease. *Expert Opin Ther Targets* 2016; 20(12): 1393-95.
- 37 Tammineni P, Ye X, Feng T, Aikal D, Cai Q. Impaired retrograde transport of axonal autophagosomes contributes to autophagic stress in Alzheimer's disease neurons. *Elife* 2017; 6: e21776.
- 38 Nixon RA. Autophagy, amyloidogenesis and Alzheimer disease. *J Cell Sci* 2007; 120(Pt 23): 4081-91.
- 39 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.
- 40 LeBlanc AC, Goodyer CG. Role of endoplasmic reticulum, endosomal-lysosomal compartments, and microtubules in amyloid precursor protein metabolism of human neurons. *J Neurochem* 1999; 72(5): 1832-42.
- 41 Nilsson P, Loganathan K, Sekiguchi M, Matsuba Y, Hui K, Tsubuki S, *et al.* A β secretion and plaque formation depend on autophagy. *Cell Rep* 2013; 5(1): 61-9.
- 42 Koistinaho M, Ort M, Cimadevilla JM, Vondrous R, Cordell B, Koistinaho J, *et al.* Specific spatial learning deficits become severe with age in beta-amyloid precursor protein transgenic mice that harbor diffuse beta-amyloid deposits but do not form plaques. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98(25): 14675-80.
- 43 Tomiyama T, Matsuyama S, Iso H, Umeda T, Takuma H, Ohnishi K, *et al.* A mouse model of amyloid beta oligomers: their contribution to synaptic alteration, abnormal tau phosphorylation, glial activation, and neuronal loss *in vivo*. *J Neurosci* 2010; 30(14): 4845-56.
- 44 Li K, Wei Q, Liu FF, Hu F, Xie AJ, Zhu LQ, *et al.* Synaptic dysfunction in Alzheimer's disease: A β , tau, and epigenetic alterations. *Mol Neurobiol* 2018; 55(4): 3021-32.
- 45 Morris M, Maeda S, Vossel K, Mucke L. The many faces of tau. *Neuron* 2011; 70(3): 410-26.
- 46 Zhang CE, Tian Q, Wei W, Peng JH, Liu GP, Zhou XW, *et al.* Homocysteine induces tau phosphorylation by inactivating protein phosphatase 2A in rat hippocampus. *Neurobiol Aging* 2008; 29(11): 1654-65.
- 47 Iqbal K, Liu F, Gong CX, Alonso AC, Grundke-Iqbal I. Mechanisms of tau-induced neurodegeneration. *Acta Neuropathol* 2009; 118(1): 53-69.
- 48 Wu XL, Pina-Crespo J, Zhang YW, Chen XC, Xu HX. Tau-mediated neurodegeneration and potential implications in diagnosis and treatment of Alzheimer's disease. *Chin Med J(Engl)* 2017; 130(24): 2978-90.
- 49 Gao Y, Tan L, Yu JT, Tan L. Tau in Alzheimer's disease: mechanisms and therapeutic strategies. *Curr Alzheimer Res* 2018; 15(3): 283-300.
- 50 Hamano T, Gendron TF, Causevic E, Yen SH, Lin WL, Isidoro C, *et al.* Autophagic-lysosomal perturbation enhances tau aggregation in transfectants with induced wild-type tau expression. *Eur J Neurosci* 2008; 27(5): 1119-30.
- 51 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.
- 52 Ji C, Tang M, Johnson G. Assessing the degradation of tau in primary neurons: the role of autophagy. *Methods Cell Biol* 2017; 141: 229-44.
- 53 Dall'Armi C, Hurtado-Lorenzo A, Tian H, Morel E, Nezu A, Chan RB, *et al.* The phospholipase D1 pathway modulates macroautophagy. *Nat Commun* 2010; 1: 142.
- 54 Berger Z, Ravikumar B, Menzies FM, Oroz LG, Underwood BR, Pangalos MN, *et al.* Rapamycin alleviates toxicity of different aggregate-prone proteins. *Hum Mol Genet* 2006; 15(3): 433-42.
- 55 Kruger U, Wang Y, Kumar S, Mandelkow EM. Autophagic degradation of tau in primary neurons and its enhancement by trehalose. *Neurobiol Aging* 2012; 33(10): 2291-305.
- 56 Rodriguez-Martin T, Cuchillo-Ibanez I, Noble W, Nyenya F, Anderton BH, Hanger DP. Tau phosphorylation affects its axonal transport and degradation. *Neurobiol Aging* 2013; 34(9): 2146-57.
- 57 Jo C, Gundemir S, Pritchard S, Jin YN, Rahman I, Johnson GV. Nrf2 reduces levels of phosphorylated tau protein by inducing autophagy adaptor protein NDP52. *Nat Commun* 2014; 5: 3496.
- 58 Zhu XC, Yu JT, Jiang T, Tan L. Autophagy modulation for Alzheimer's disease therapy. *Mol Neurobiol* 2013; 48(3): 702-14.
- 59 Tian Q, Lin ZQ, Wang XC, Chen J, Wang Q, Gong CX, *et al.* Injection of okadaic acid into the meynert nucleus basalis of rat brain induces decreased acetylcholine level and spatial memory deficit. *Neuroscience* 2004; 126(2): 277-84.
- 60 Zhao L, Xiao Y, Wang XL, Pei J, Guan ZZ. Original Research: Influence of okadaic acid on hyperphosphorylation of tau and nicotinic acetylcholine receptors in primary neurons. *Exp Biol Med(Maywood)* 2016; 241(16): 1825-33.
- 61 Caccamo A, Majumder S, Richardson A, Strong R, Oddo S. Molecular interplay between mammalian target of rapamycin (mTOR), amyloid-beta, and Tau: effects on cognitive impairments. *J Biol Chem* 2010; 285(17): 13107-20.
- 62 Majumder S, Richardson A, Strong R, Oddo S. Inducing autophagy by rapamycin before, but not after, the formation of plaques and tangles ameliorates cognitive deficits. *PLoS One* 2011; 6(9): e25416.
- 63 Caccamo A, Magri A, Medina DX, Wisely EV, Lopez-Aranda MF, Silva AJ, *et al.* mTOR regulates tau phosphorylation and degradation: implications for Alzheimer's disease and other tauopathies. *Aging Cell* 2013; 12(3): 370-80.
- 64 Jiang T, Yu JT, Zhu XC, Tan MS, Wang HF, Cao L, *et al.* Temsirolimus promotes autophagic clearance of amyloid-beta and provides protective effects in cellular and animal models of Alzheimer's disease. *Pharmacol Res* 2014; 81: 54-63.
- 65 Jiang T, Yu JT, Zhu XC, Zhang QQ, Cao L, Wang HF, *et al.*

- Temsirolimus attenuates tauopathy *in vitro* and *in vivo* by targeting tau hyperphosphorylation and autophagic clearance. *Neuropharmacology* 2014; 85: 121-30.
- 66 Kou X, Chen N. Resveratrol as a natural autophagy regulator for prevention and treatment of Alzheimer's disease. *Nutrients* 2017; 9(9): pii: E927.
- 67 Switon K, Kotulska K, Janusz-Kaminska A, Zmorzynska J, Jaworski J. Molecular neurobiology of mTOR. *Neuroscience* 2017; 341: 112-53.
- 68 Sarkar S, Floto RA, Berger Z, Imarisio S, Cordenier A, Pasco M, *et al.* Lithium induces autophagy by inhibiting inositol monophosphatase. *J Cell Biol* 2005; 170(7): 1101-11.
- 69 Li L, Zhang S, Zhang X, Li T, Tang Y, Liu H, *et al.* Autophagy enhancer carbamazepine alleviates memory deficits and cerebral amyloid-beta pathology in a mouse model of Alzheimer's disease. *Curr Alzheimer Res* 2013; 10(4): 433-41.
- 70 Nalivaeva NN, Belyaev ND, Turner AJ. Sodium valproate: an old drug with new roles. *Trends Pharmacol Sci* 2009; 30(10): 509-14.
- 71 Anekonda TS, Quinn JF. Calcium channel blocking as a therapeutic strategy for Alzheimer's disease: the case for isradipine. *Biochim Biophys Acta* 2011; 1812(12): 1584-90.
- 72 Li Q, Liu Y, Sun M. Autophagy and Alzheimer's disease. *Cell Mol Neurobiol* 2017; 37(3): 377-88.