



DOI: 10.11817/j.issn.1672-7347.2020.190506

http://xbjxb.csu.edu.cn/xbwk/fileup/PDF/2020121483.pdf

肌萎缩侧索硬化症发病机制的遗传学研究进展

王雁¹, 易航¹, 廖巧², 毕方方²

(1. 中南大学湘雅医学院, 长沙 410013; 2. 中南大学湘雅医院神经内科, 长沙 410008)

[摘要] 肌萎缩侧索硬化症(amyotrophic lateral sclerosis, ALS)是一种罕见的累及上、下运动神经元的神经退行性疾病, 临床表现为肌肉进行性无力、萎缩, 患者最终因吞咽、呼吸困难而死亡。ALS的病因众多, 其中遗传因素相关性极大。神经元中蛋白质内稳态失衡、异常蛋白质的朊病毒样增殖和传播、线粒体功能障碍、谷氨酸介导的兴奋性毒性、神经元内物质运输障碍是目前公认的发病机制。对发病机制相关基因突变的研究将搭起ALS分子水平研究和细胞水平研究的桥梁, 从而加深对ALS的发生和发展及基因突变在其中扮演角色的了解, 并为疾病的治疗提供新的思路与启示。

[关键词] 肌萎缩侧索硬化症; 基因突变; 蛋白质内稳态失衡; 朊病毒样增殖和传播; 线粒体功能障碍; 兴奋性毒性; 运输障碍

Advances in genetics research in the pathogenesis of amyotrophic lateral sclerosis

WANG Yan¹, YI Hang¹, LIAO Qiao², BI Fangfang²

(1. Xiangya School of Medicine, Central South University, Changsha 410013; 2. Department of Neurology, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410008, China)

ABSTRACT

Amyotrophic lateral sclerosis (ALS) is a rare neurodegenerative disease affecting the upper and lower motor neurons. It is characterized by progressive muscle weakness, atrophy and ultimate death due to dysphagia and dyspnea. There are many causes of ALS, among which the genetic factors show great relevance. Imbalance of protein homeostasis in neurons, prion-like proliferation and propagation of abnormal proteins, mitochondrial dysfunction, glutamate mediated excitotoxicity, and intraneuronal substance transport disorders are recognized as the pathogenesis. The study on gene mutation related to pathogenesis will bridge the molecular and cellular research of ALS, which can deepen the understanding of the occurrence and development of ALS and the role of gene mutation in ALS, and provide new ideas and enlightenment for the treatment of ALS.

收稿日期(Date of reception): 2019-07-12

第一作者(First author): 王雁, Email: wangy0331@126.com, ORCID: 0000-0002-9551-2417

通信作者(Corresponding author): 毕方方, Email: fangfangbi@csu.edu.cn, ORCID: 0000-0001-5040-823X

基金项目(Foundation item): 国家自然科学基金(81571256, 81760238)。This work was supported by the National Natural Science Foundation, China (81571256, 81760238)。

©Journal of Central South University (Medical Science). All rights reserved.

(C)1994-2022 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

KEY WORDS

amyotrophic lateral sclerosis; gene mutation; imbalance of protein homeostasis; prion-like proliferation and propagation; mitochondrial dysfunction; excitotoxicity; transport disorders

肌萎缩侧索硬化症(amyotrophic lateral sclerosis, ALS)是一种罕见的累及上、下运动神经元的神经退行性疾病,临床表现为全身肌肉的进行性无力、萎缩,患者最终因吞咽、呼吸困难而死亡^[1]。目前公认的ALS发病机制包括神经系统中蛋白质内稳态的失衡、异常蛋白质的朊病毒样增殖和传播、线粒体功能障碍、谷氨酸介导的兴奋性神经毒性、神经元内物质运输障碍、核糖核酸(ribonucleic acid, RNA)代谢紊乱、神经元异常凋亡等^[2]。遗传学研究方面的进展为阐明ALS发病机制提供了新的方向。迄今为止,已发现超过30个基因与ALS相关^[3]。其中,9号染色体开放阅读框72(chromosome 9 open reading frame 72, C9ORF72)基因,超氧化物歧化酶1(superoxide dismutase 1, SOD1)基因, TAR-DNA结合蛋白(TAR DNA-binding protein, TDP-43/TARDBP)基因和肉瘤融合(fused in sarcoma, FUS)基因与ALS的关系最为密切^[3]。本文从ALS主要发病机制的角度,对发病各机制相关的基因突变进行综述,将ALS分子水平的研究与细胞水平的研究联系起来,旨在更好地理解相关基因突变在ALS发生和发展中所起的重要作用。

1 神经元中蛋白质内稳态的失衡

在ALS发生和发展过程中,神经元内蛋白质的降解受到明显抑制,异常蛋白质在神经元内过度积聚,形成具有不同特征表现的包涵体,并发挥神经毒性作用,造成神经元的变性、坏死^[3]。

细胞内的蛋白质主要通过泛素-蛋白酶体系统(ubiquitin proteasome system, UPS)和自噬系统进行降解。UPS包括泛素活化酶(ubiquitin-activating enzyme, E1)、泛素缀合酶(ubiquitin-conjugating enzyme, E2)和泛素蛋白质连接酶(ubiquitin-protein ligase, E3)。E2在UPS中发挥桥梁作用,只有被泛素化的E2才能激活靶蛋白,从而促进靶蛋白降解。自噬过程包括底物识别、自噬小体形成、自噬小体-溶酶体融合、溶酶体降解,其中泛醌蛋白2(ubiquilin 2, UBQLN2)、选择性自噬接头蛋白1(sequestosome 1, SQSTM1/p62)、自噬受体蛋白(optineurin, OPTN)、自噬相关蛋白7(autophagy-related 7, ATG7)、轻链3(light chain 3, LC3)等分子在自噬过程中发挥重要作用^[3]。在与ALS相关的30多个基因中,

约15种基因直接影响UPS和自噬系统,本文重点介绍C9ORF72, SOD1, TARDBP, SQSTM1, UBQLN2基因突变在神经元蛋白质异常降解中扮演的角色^[3]。

1.1 C9ORF72

C9ORF72基因位于9号染色体短臂。2011年,在该区域发现1段6核苷酸重复序列[(GGGGCC)_n]与ALS有极大的相关性。(GGGGCC)_n位于外显子1a和1b之间。在正常人体中,GGGGCC序列的重复次数少于30次,在ALS患者中,GGGGCC可出现成百上千次的重复扩增。含有(GGGGCC)_n的RNAs和(GGGGCC)_n的翻译产物二肽重复蛋白(dipeptide repeat proteins, DPRs)均具有细胞毒性^[4],可干扰UPS,影响蛋白质降解。

存在C9ORF72突变的ALS患者UPS受损明显,异常出现的泛素阳性的神经元包涵体是其特征性病理表现^[5]。蛋白酶体抑制剂可以选择性诱导运动神经元死亡;而在C9ORF72突变体中,蛋白酶体亚基明显减少,包涵体中出现异常的蛋白酶体,说明C9ORF72突变通过干扰UPS促进ALS的发生和发展。C9ORF72突变,尤其是携带有GGGGCC重复序列的突变主要通过E2基因,如UBE2I, UBE2Q1, UBE2E1和UBE2N来干扰UPS,影响蛋白质的稳态^[6]。

在C9ORF72突变体中,p62蛋白出现明显的聚集。p62蛋白是一种自噬受体,可与C9ORF72编码的蛋白质相互作用。选择性敲除C9ORF72基因,神经元中p62蛋白明显增加,形成p62阳性包涵体,说明C9ORF72突变导致的单倍表达不足可能通过调节p62蛋白的活性和功能而影响细胞自噬^[7]。C9ORF72缺失导致LC3阳性自噬小体形成障碍,干扰自噬过程^[8]。另外,C9ORF72编码的蛋白质可作为鸟嘌呤核苷酸交换因子(guanine nucleotide exchange factors, GEFs),通过促进鸟苷三磷酸(guanosine triphosphate, GTP)-鸟苷二磷酸(guanosine diphosphate, GDP)的相互转换改变Rab-GTP酶的构型^[9]。Rab蛋白参与自噬小体的形成,C9ORF72突变导致的单倍表达不足将影响C9ORF72蛋白的活性和功能,并进一步影响Rab蛋白的活性以及自噬。C9ORF72编码的蛋白质还可与Rab1A和unc-51样自噬激活激酶1(unc-51 like autophagy activating kinase 1, ULK1)复合物相互作

用, 调控自噬的启动^[10]。以上研究均表明, C9ORF72 基因在 UPS 和自噬系统中均发挥不可忽视的作用。

1.2 SOD1

SOD1 基因位于 21 号染色体, 编码以 Cu-Zn 为辅基的超氧化物歧化酶。SOD1 突变的 ALS 患者中存在 SOD1/泛素阳性的包涵体, 说明突变可致 SOD1 蛋白不易被降解^[11]。此外, SOD1 突变可使其编码的蛋白质结构不稳定, 导致错误折叠或不折叠, 进而异常聚集诱发内质网应激, 激活 UPS^[12]。研究^[13]发现: SOD1 突变可导致 20 S 蛋白酶体亚基的表达减少, 从而抑制蛋白酶体活性。由热休克蛋白 70(heat shock protein 70, HSP70)和分子伴侣 Bcl-2 相关抗凋亡基因 3(Bcl-2 associated athanogene 3, BAG3)参与的自噬途径可清除突变的 SOD1, 而在 SOD1 突变体中, 自噬系统的活性降低, 从而进一步导致突变的 SOD1 过度聚集, 形成恶性循环^[3]。以上研究均表明: SOD1 突变不仅影响 UPS 和自噬途径, 而且会导致自身难以被有效清除。

1.3 TARDBP

TARDBP 基因编码 TDP-43 蛋白, TDP-43 是细胞核中重要的蛋白质, 广泛参与 RNA 代谢, 包括转录、剪接、微 RNA(micro RNA, miRNA)稳定性的调控以及 miRNA 的加工。同时, TDP-43 也参与轴浆运输以及对神经元可塑性的调控^[13]。在 TARDBP 突变体中, TDP-43 被错误定位于细胞质, 导致 TDP-43 阳性/泛素阳性包涵体形成^[14]。TDP-43 阳性包涵体中含有 p62 蛋白和 UBQLN2 蛋白, 而这两种蛋白均参与细胞自噬和 UPS, 因此 TDP-43 阳性包涵体的形成可干扰正常蛋白质的降解。同时, UPS 可清除可溶性 TDP-43, 而自噬途径主要清除异常聚集的 TDP-43, 使用蛋白酶体抑制剂可诱导泛素化的 TDP-43 聚集; 而激活自噬可促进 TDP-43 清除^[15]。以上研究表明, TDP-43 的异常可影响 UPS 和自噬系统, 而 UPS 和自噬系统的异常又进一步导致 TDP-43 的异常聚集, 形成恶性循环。另有研究^[16]发现选择性敲除 TARDBP 基因可导致 ATG7 的表达水平降低。在运动神经元中, TDP-43 异常聚集通过干扰各种蛋白复合体的动力学特性来干扰 UPS 和自噬系统^[17]。

1.4 SQSTM1

SQSTM1 基因编码 p62 蛋白, 调控转录、自噬、泛素-蛋白酶体途径以及细胞凋亡。p62 既是一种泛素缀合蛋白, 也是一种自噬受体, 与 LC3 相互作用调控自噬。当 p62 的表达被抑制时, 可以观察到自噬过

程被相应抑制^[3]。

1.5 UBQLN2

UBQLN2 基因编码 UBQLN2 蛋白, UBQLN2 蛋白的氨基端含有泛素样结构域(ubiquitin-like domain, UBL), 羧基端含有泛素相关结构域(ubiquitin associated domain, UBA)^[18]。UBL 结合 26 S 的蛋白酶体, UBA 结合泛素化的蛋白质。因此, UBQLN2 蛋白的主要作用是将泛素化的靶蛋白输送到蛋白酶体降解。此外, UBQLN2 蛋白还参与细胞自噬、信号转导以及细胞骨架的相互连接^[19]。研究^[20]发现: UBQLN2 蛋白通过与 HSP70 相互作用, 经由 UPS 清除异常聚集的蛋白质。而 UBQLN2 突变将减弱 UBQLN2 蛋白与分子伴侣的结合从而抑制 UPS。UBQLN2 蛋白还参与内质网相关的蛋白质降解途径, 与 LC3 蛋白反应参与自噬途径。UBQLN2 蛋白在调节神经元蛋白质稳态中发挥重要作用, 可通过多种途径促进蛋白质降解。因此, 可认为 UBQLN2 蛋白是神经元的保护性蛋白质, UBQLN2 的突变将通过以上途径直接影响蛋白质的降解^[21]。

1.6 含缬酪肽蛋白

含缬酪肽蛋白(valosin-containing protein, VCP)基因编码 p97 蛋白, 参与蛋白质结构和稳态的调节。p97 蛋白与泛素化的靶蛋白结合, 参与调控靶蛋白降解, 同时可以促进异常蛋白质从内质网中释放和蛋白酶体对其降解。VCP 突变也可影响自噬小泡的成熟从而干扰自噬途径^[22]。

此外, 囊泡相关膜蛋白相关蛋白 B/C(vesicle-associated membrane protein-associated protein B/C, VAP-B/C)、TANK 结合激酶 1(TANK-binding kinase 1, TBK1)、因子诱导的基因磷酸肌醇 5-磷酸酶(factor-induced gene phosphoinositide 5-phosphatase, FIG4)、sigma 胞内非阿片受体 1(sigma non-opioid intracellular receptor 1, SIGMAR1)和蛋白质二硫键异构酶家族 A 成员(protein disulfide isomerase family A member, PDIA)等基因在泛素-蛋白酶体途径、自噬中发挥作用^[3]。

2 异常蛋白质的朊病毒样增殖和传播

神经元胞质内异常蛋白质的朊病毒样增殖是神经退行性疾病的典型特征。具有朊病毒样增殖特性的蛋白质因其淀粉样纤维结构或异常构象而具有细胞毒性, 它们通过把正常蛋白质转变为异常构象的蛋白质而实现自我增殖, 并得以沿着神经元传播。神经退行性疾病的病理过程是不可逆的, 一旦触发,

神经元变性的范围将随着时间的推移而扩大,这种异常蛋白质的朊病毒样增殖和传播特性与疾病的发展模式有极大的相似性,提示其在疾病发展中发挥重要作用^[23]。

2.1 TARDBP

与ALS相关的TARDBP基因突变位点多位于其编码蛋白质TDP-43的羧基端,TDP-43羧基端构象的改变在TDP-43异常聚集及朊病毒样增殖与传播过程中发挥重要作用。TDP-43蛋白中聚集相关区域的氨基酸序列及构象与人类朊病毒相似,这一区域的存在可能导致异常TDP-43淀粉样纤维结构的形成和聚集,并使TDP-43具有朊病毒样增殖特性,可诱导正常结构的TDP-43发生类似的结构改变,并通过内体小泡的运输等方式在神经元间进行传播。从ALS患者脑组织中提取的异常TDP-43蛋白可在体外诱导正常的TDP-43蛋白发生构象改变,导致细胞质中形成异常磷酸化的TDP-43聚集体,这种改变后的构象与原异常蛋白质的构象几乎完全相同,异常构象的传递具有高度一致性^[7]。

2.2 FUS

FUS蛋白是由FUS基因编码的一种DNA/RNA结合蛋白,参与RNA代谢与DNA修复。FUS的主要功能是调控基因转录,FUS通过与相应基因的启动子结合而诱导基因转录。同时,FUS也可与某些转录因子和转录抑制子相互作用而间接调控基因的表达。FUS的突变与ALS的发生和发展关系密切。正常的FUS蛋白定位于细胞核中,而突变的FUS蛋白则错误地定位于细胞质,并且异常聚集形成包涵体。体外实验^[24]证明:FUS的朊病毒样结构域可促使其聚集成类似ALS病理表现的淀粉样纤维结构。在体内,突变的FUS蛋白可通过构象的改变而形成不可逆的异常聚集体,并诱导相关蛋白质发生类似的构象改变,产生淀粉样纤维样聚集^[24]。FUS蛋白中朊病毒样结构域(富含谷氨酸-甘氨酸-丝氨酸-酪氨酸)位于氨基端,该结构域在FUS蛋白的异常聚集过程中发挥重要作用,并可使异常的FUS蛋白沿着神经系统进行扩散和传播。因此,FUS突变可以部分解释ALS疾病的迅速进展。

2.3 SOD1

SOD1同样存在朊病毒样增殖和传播特性。在体外实验^[25]中,正常的重组SOD1蛋白可以被错误折叠的SOD1诱导发生构象改变,形成纤维样结构。同时,这些错误折叠的SOD1蛋白可以被培养的细胞摄取,证实其具有细胞间传递的性质。在体实验^[25]发

现:将错误折叠的SOD1蛋白注入正常小鼠中,也会诱导正常小鼠产生与ALS类似的疾病表现,更加有力地证明SOD1突变及其朊病毒样的传播方式在ALS发生和发展中发挥重要作用。

3 线粒体功能障碍

在各种神经退行性疾病的发生和发展中,线粒体电子传递链功能受损不仅影响氧的消耗及膜电位,还会导致活性氧增多和三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)生成减少。过多的活性氧进一步加重脂质和蛋白质的氧化损伤,诱导细胞产生氧化应激,加速神经元的变性、死亡。此外,也会影响线粒体的裂解、融合、运输等生理功能。线粒体在细胞能量生成、物质代谢及调控细胞内钙离子稳态中发挥重要作用。能量生成不足将严重影响神经元的活性,粒体发挥钙离子稳态失衡会触发神经元的变性凋亡^[26]。

3.1 SOD1

SOD1基因编码的SOD1蛋白作为一种超氧化物歧化酶,在清除活性氧的过程中发挥重要作用。异常的SOD1蛋白会错误地定位于线粒体内外膜间隙(mitochondrial intermembrane space, IMS),使其清除活性氧的能力下降,造成线粒体损伤。定位于IMS的SOD1表现为酶活性增强,并导致细胞色素c依赖的超氧化物毒性增强,加重线粒体损伤和神经元凋亡^[27]。此外,异常SOD1的过表达会通过上调线粒体裂解蛋白和下调融合蛋白而诱导线粒体碎片化,导致线粒体发生肿胀、空泡化、畸形等形态上的明显改变。突变的SOD1可与线粒体外膜上的Bcl-2蛋白和电压门控离子通道相互作用,通过改变其构象而影响线粒体内外的物质转运。在SOD1突变体中,发生在线粒体内外的钙离子转运活动明显减少,提示突变的SOD1通过影响钙通道蛋白来影响神经元内的钙稳态。SOD1基因突变也会抑制ATP的合成,并进一步抑制钠-钾泵的功能,从而使神经元的电活动受损^[28]。

3.2 SIGMAR1

SIGMAR1基因编码sigma-1受体(sigma non-opioid intracellular receptor 1, Sig-1R)蛋白,取代谷氨酰胺在谷氨酸中的位置。Sig-1R是定位于线粒体相关内质网膜上的分子伴侣,主要促进钙离子回流入线粒体,调节神经元胞质中钙离子的稳态。突变的Sig-1R会使线粒体ATP生成减少,抑制蛋白酶体活性,损伤线粒体,加重内质网应激诱导的神经元死

亡^[29]。研究^[29]发现, SIGMAR1 基因突变会导致 SIGMAR1 从内质网膜上解离并在细胞质中聚集。SIGMAR1 基因的过表达会导致 TDP-43 蛋白在核外的异常定位和聚集。在内质网应激状态下, 突变的 SIGMAR1 从内质网上解离并聚集在细胞质, 内质网-线粒体中 SIGMAR1/肌醇三磷酸受体 (inositol trisphosphate receptor, IP3R) 的丢失使得线粒体内外的钙离子转运受到抑制, 并减少钙离子依赖的 ATP 合成。

3.3 TARDBP

突变的 TARDBP 会诱导线粒体发生空泡化、碎片化、异常聚集以及嵴减少, 造成线粒体功能障碍。TDP-43 的错误定位和过度泛素化也会损伤线粒体功能和自噬功能。TDP-43 不仅定位于细胞核内, 还存在于线粒体中, 抑制线粒体 RNA 的表达^[17]。而突变的 TDP-43 更易定位于线粒体中。突变的 TDP-43 会缩短线粒体的长度, 改变线粒体的动力学特性。在 TDP-43 突变的神经元中, 线粒体膜电位明显降低, 同时伴有呼吸链复合体 I 活性的降低。因此, TDP-43 突变在线粒体功能损伤中发挥重要作用。

3.4 其他相关基因

在 FUS 突变体中, 线粒体表现出明显的异常聚集。OPTN 和 SQSTM1 基因编码的蛋白质通过清除受损线粒体来控制神经元内线粒体的质量。这些基因突变均可影响线粒体功能的正常发挥^[30]。

4 谷氨酸介导的兴奋性毒性

当神经元过度暴露于谷氨酸等兴奋性神经递质中时, 将产生明显的毒性反应^[30]。突触前神经元中谷氨酸的过度释放或突触间隙中谷氨酸清除的减少会导致突触后膜上谷氨酸受体过度激活, 进而触发神经元凋亡的级联反应。神经胶质细胞上兴奋性氨基酸转运体 2 (excitatory amino acid transporters 2, EAAT2) 的缺失会使突触间隙中谷氨酸的清除显著减少, 从而产生明显的兴奋性毒性。此外, 运动神经元上谷氨酸受体数目的异常或功能缺陷会导致钙离子的过度流入, 诱发神经元死亡。 α -氨基-3-羟基-5-甲基-4-异恶唑丙酮酸受体 (α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole-propionate receptor, AMPAR) 是谷氨酸离子通道型受体, 其亚单位 GluA1~4 不仅影响 AMPAR 功能的正常发挥, 而且影响突触的形成、稳定性和可塑性。其中亚单位 GluA2 可调节对钙离子的通透性, 其功能的异常将会影响神经元内钙离子的稳态。

4.1 SOD1

SOD1 基因突变可导致神经胶质细胞中出现异常聚集的磺酰化 EAAT2 羧基端碎片 (sumoylated EAAT2 C-terminus fragment, CTE-SUMO1)^[30]。CTE-SUMO1 在神经胶质细胞中的聚集会诱导该细胞表型发生改变, 并分泌对运动神经元有毒的物质。Caspase-3 可以特异性切割 EAAT2 的羧基端序列, 导致其异常聚集, 从而抑制神经胶质细胞对突触间隙中谷氨酸的正常摄取。人为抑制 caspase-3 对 EAAT2 羧基端的切割, 可对运动神经元产生明显的保护作用^[30]。非特异性组蛋白去乙酰化酶抑制剂 MC1568 可以调控 EAAT2 的转录, 提高 EAAT2 的表达以及翻译后修饰。MC1568 可以完全恢复神经胶质细胞中 EAAT2 的表达和对谷氨酸的摄取, 在 ALS 的亚临床模型中被证实具有治疗作用^[31]。SOD1 突变会导致错误折叠的 SOD1 结合到钠-钾 ATP 酶上, 使 GluA2 的表达减少, 同时促进胆碱能突触的形成^[32]。SOD1 突变的星形胶质细胞暴露于过多的谷氨酸中, 其代谢特征发生显著改变, 并影响运动神经元周围环境的稳态, 产生毒性作用。以上发现均提示: SOD1 突变通过影响中枢神经系统谷氨酸的代谢及稳态而在 ALS 疾病发生和发展中发挥重要作用^[25]。

4.2 C9ORF72

DPRs 可改变突触结构, 增加突触前神经元谷氨酸的释放并且诱发突触前神经元产生 N-甲基-D-天冬氨酸受体 (N-methyl-D-aspartate receptor, NMDAR) 依赖的细胞自主兴奋性毒性, 导致运动神经元发生退行性变。C9ORF72 突变通过激活 AMPAR 使运动神经元对谷氨酸毒性的敏感性增加, 并通过影响神经胶质细胞对谷氨酸的摄取而增加兴奋性毒性。C9ORF72 突变会导致 AMPAR 亚单位 GluA1 表达增加同时伴有对钙离子通透性的增加^[33]。神经元内过多的钙离子负荷也会产生明显的细胞毒性。具有长重复次数的 DPRs 或者表达高水平的 DPRs 其兴奋性毒性作用更为明显, 在 (GGGGCC)_n 长重复序列编码的 5 种 DPRs 中, 富含精氨酸的 DPRs 如多聚甘氨酸精氨酸/脯氨酸精氨酸产生的神经毒性更为明显^[33]。

4.3 其他相关基因

其他受体或离子通道的改变也会影响神经元内钙离子的稳态而产生兴奋性毒性。T 型钙通道基因 (calcium voltage-gated channel subunit alpha 1 H, CACNA1H) 突变, 会降低神经元的电压敏感性并增加神经元的兴奋性。FUS 突变将导致 GluA1 的 mRNA 表达减少, 从而降低 AMPAR 的表达, 影响突触间的

传递功能。而ALS2基因突变会导致细胞膜上GluA2表达减少而增加神经元对兴奋性毒性的敏感性^[34]。

5 神经元内物质运输障碍

对于神经元而言, 正常有序的物质运输尤为重要, 不仅决定着神经元轴突的营养供应、能量代谢、信号转导, 还影响神经元的各种生理功能及内稳态。FUS, TARDBP, C9ORF72基因突变与神经元的运输障碍密切相关。其中, 轴突运输障碍在ALS的发生和发展中发挥重要作用^[10]。

5.1 C9ORF72

(GGGGCC)_n大量扩增会导致C9ORF72蛋白表达不足、长重复RNA及DPRs异常聚集, 这些均可能诱导神经元内体小泡运输障碍, 导致蛋白质降解减少和聚集增加, 诱导神经元变性、死亡。研究^[34]发现: C9ORF72突变可导致运动神经元中的甘露糖-6-磷酸受体(mannose-6-phosphate receptors, M6PRs)以较慢的速率转运并在细胞内错误定位。M6PRs位于高尔基膜上, 可将靶蛋白运送到溶酶体而促进蛋白质降解, 而M6PRs转运障碍可能导致蛋白质降解异常。另外, 在运动神经元中, C9ORF72蛋白定位于Rab5阳性的内体小泡上, 辅助Rab蛋白进行GDP-GTP的交换。C9ORF72单倍表达不足会抑制神经元内体小泡的成熟, 使溶酶体生成减少, 影响蛋白质降解。此外, C9ORF72突变还可通过调节酪氨酸激酶受体B(tyrosine kinase receptor B, TrkB)的内吞作用来影响神经元的物质运输^[34]。

5.2 TARDBP

敲除TARDBP基因会导致表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)在细胞膜表面的表达减少, 进而使细胞表面受体的循环受损^[35]。而EGFR表达的减少将会影响神经元的存活和轴突功能。此外, TDP-43蛋白受损也会影响骨形态发生蛋白受体(bone morphogenetic protein receptor, BMPR)在细胞表面物质的循环及内体小泡-溶酶体的降解过程中发挥的作用^[35]。TARDBP基因突变可影响神经元细胞膜上物质的循环以及靶蛋白在降解过程中的运输, 进而损伤神经元。

5.3 其他相关基因

驱动蛋白家族成员5A基因(kinesin family member 5A, KIF5A)突变将导致驱动蛋白功能受损。SOD1基因突变可抑制神经元中动力蛋白介导的神经元逆向轴突运输。SOD1或FUS基因突变通过影响其

编码蛋白质的表达水平或磷酸化水平间接抑制驱动蛋白介导的神经元顺向轴突运输。神经微丝H基因(neurofilament H, NFH)突变使其编码的神经纤维重链功能受损, 磷酸化的神经元纤维蛋白异常聚集将导致轴突运输障碍。在ALS中, 多种基因的突变均可影响轴突运输, 导致受体信号转导、突触功能、基因调控、能量代谢、废物降解等受到明显的损害^[10]。

6 结 语

神经元中蛋白质内稳态的失衡、异常蛋白质的朊病毒样增殖和传播, 线粒体功能障碍、谷氨酸介导的兴奋性毒性及神经元内物质运输障碍等多种机制参与了ALS的发生和发展。与此同时, 各种相关基因的突变在不同发病机制中扮演不同的角色, 相互联系, 共同作用, 导致ALS的发生和发展。

利益冲突声明: 作者声称无任何利益冲突。

参考文献

- [1] Polymenidou M, Cleveland DW. Biological spectrum of amyotrophic lateral sclerosis prions[J]. Cold Spring Harb Perspect Med, 2017, 7(11): a024133.
- [2] Taylor JP, Brown RH, Cleveland DW. Decoding ALS: from genes to mechanism[J]. Nature, 2016, 539(7628): 197-206.
- [3] Maurel C, Dangoumau A, Marouillat S, et al. Causative genes in amyotrophic lateral sclerosis and protein degradation pathways: A link to neurodegeneration[J]. Mol Neurobiol, 2018, 55(8): 6480-6499.
- [4] Renton AE, Majounie E, Waite A, et al. A hexanucleotide repeat expansion in C9ORF72 is the cause of chromosome 9p21-linked ALS-FTD[J]. Neuron, 2011, 72(2): 257-268.
- [5] Türk M, Haaker G, Winter L, et al. C9ORF72-ALS: P62- and ubiquitin-aggregation pathology in skeletal muscle[J]. Muscle Nerve, 2014, 50(3): 454-455.
- [6] Serpente M, Fenoglio C, Cioffi SM, et al. Profiling of ubiquitination pathway genes in peripheral cells from patients with frontotemporal dementia due to C9ORF72 and GRN mutations[J]. Int J Mol Sci, 2015, 16(1): 1385-1394.
- [7] Al-Sarraj S, King A, Troakes C, et al. p62 positive, TDP-43 negative, neuronal cytoplasmic and intranuclear inclusions in the cerebellum and hippocampus define the pathology of C9orf72-linked FTL and MND/ALS[J]. Acta Neuropathol, 2011, 122(6): 691-702.
- [8] O'Rourke JG, Bogdanik L, Yáñez A, et al. C9orf72 is required for proper macrophage and microglial function in mice[J]. Science, 2016, 351(6279): 1324-1329.
- [9] Amick J, Ferguson SM. C9orf72: At the intersection of lysosome cell biology and neurodegenerative disease[J].

- Traffic, 2017, 18(5): 267-276.
- [10] Burk K, Pasterkamp RJ. Disrupted neuronal trafficking in amyotrophic lateral sclerosis[J]. *Acta Neuropathol*, 2019, 137(6): 859-877.
- [11] Rosen DR. Mutations in Cu/Zn superoxide dismutase gene are associated with familial amyotrophic lateral sclerosis[J]. *Nature*, 1993, 362(6415): 59-62.
- [12] Nishitoh H, Kadowaki H, Nagai A, et al. ALS-linked mutant SOD1 induces ER stress- and ASK1-dependent motor neuron death by targeting Derlin-1[J]. *Genes Dev*, 2008, 22(11): 1451-1464.
- [13] Scotter EL, Chen HJ, Shaw CE. TDP-43 proteinopathy and ALS: Insights into disease mechanisms and therapeutic targets [J]. *Neurotherapeutics*, 2015, 12(2): 352-363.
- [14] Lin G, Mao D, Bellen HJ. Amyotrophic lateral sclerosis pathogenesis converges on defects in protein homeostasis associated with TDP-43 mislocalization and proteasome-mediated degradation overload[J]. *Curr Top Dev Biol*, 2017, 121: 111-171.
- [15] Araki W, Minegishi S, Motoki K, et al. Disease-associated mutations of TDP-43 promote turnover of the protein through the proteasomal pathway[J]. *Mol Neurobiol*, 2014, 50(3):1049-1058.
- [16] Bose JK, Huang CC, Shen CK. Regulation of autophagy by neuropathological protein TDP-43[J]. *Biol Chem*, 2011, 286(52): 44441-44448.
- [17] Shenouda M, Zhang AB, Weichert A, et al. Mechanisms associated with TDP-43 neurotoxicity in ALS/FTLD[J]. *Adv Neurobiol*, 2018, 20: 239-263.
- [18] Ko HS, Uehara T, Tsuruma K, et al. Ubiquitin interacts with ubiquitinated proteins and proteasome through its ubiquitin-associated and ubiquitin-like domains[J]. *FEBS Lett*, 2004, 566(1/2/3):110-114.
- [19] Lee DY, Brown EJ. Ubiquitins in the crosstalk among proteolytic pathways[J]. *Biol Chem*, 2012, 393(6): 441-447.
- [20] Hjerpe R, Bett JS, Keuss MJ, et al. UBQLN2 mediates autophagy-independent protein aggregate clearance by the proteasome[J]. *Cell*, 2016, 166(4): 935-949.
- [21] Teyssou E, Chartier L, Amador MD, et al. Novel UBQLN2 mutations linked to amyotrophic lateral sclerosis and atypical hereditary spastic paraplegia phenotype through defective HSP70-mediated proteolysis[J]. *Neurobiol Aging*, 2017, 58: 239.e11-239.e20.
- [22] Christianson JC, Ye Y. Cleaning up in the endoplasmic reticulum: ubiquitin in charge[J]. *Nat Struct Mol Biol*, 2014, 21(4): 325-335.
- [23] Hasegawa M, Nonaka T, Masuda-Suzukake M. Prion-like mechanisms and potential therapeutic targets in neurodegenerative disorders[J]. *Pharmacol Ther*, 2017, 172: 22-33.
- [24] Chen C, Ding X, Akram N, et al. Fused in sarcoma: properties, self-assembly and correlation with neurodegenerative diseases [J]. *Molecules*, 2019, 24(8): 1622.
- [25] Madji Hounoum B, Mavel S, Coque E, et al. Wildtype motoneurons, ALS-Linked SOD1 mutation and glutamate profoundly modify astrocyte metabolism and lactate shuttling [J]. *Glia*, 2017, 65(4): 592-605.
- [26] Delic V, Kurien C, Cruz J, et al. Discrete mitochondrial aberrations in the spinal cord of sporadic als patients[J]. *J Neurosci Res*, 2018, 96(8): 1353-1366.
- [27] Vehvilainen P, Koistinaho J, Gundars G. Mechanisms of mutant SOD1 induced mitochondrial toxicity in amyotrophic lateral sclerosis[J]. *Front Cell Neurosci*, 2014, 8: 126.
- [28] Hayashi Y, Homma K, Ichijo H. SOD1 in neurotoxicity and its controversial roles in SOD1 mutation-negative ALS[J]. *Adv Biol Regul*, 2016, 60: 95-104.
- [29] Fukunaga K, Shinoda Y, Tagashira H. The role of SIGMAR1 gene mutation and mitochondrial dysfunction in amyotrophic lateral sclerosis[J]. *J Pharmacol Sci*, 2015, 127(1): 36-41.
- [30] Rosenblum LT, Shamamandri-Markandaiah S, Ghosh B, et al. Mutation of the caspase-3 cleavage site in the astroglial glutamate transporter EAAT2 delays disease progression and extends lifespan in the SOD1-G93A mouse model of ALS[J]. *Exp Neurol*, 2017, 292: 145-153.
- [31] Lapucci A, Cavone L, Buonvicino D, et al. Effect of Class II HDAC inhibition on glutamate transporter expression and survival in SOD1-ALS mice[J]. *Neurosci Lett*, 2017, 656: 120-125.
- [32] Ohgomori T, Yamasaki R, Takeuchi H, et al. Differential involvement of vesicular and glial glutamate transporters around spinal α -motoneurons in the pathogenesis of SOD1^(G93A) mouse model of amyotrophic lateral sclerosis[J]. *Neuroscience*, 2017, 356: 114-124.
- [33] Xu W, Xu J. C9orf72 dipeptide repeats cause selective neurodegeneration and cell-autonomous excitotoxicity in drosophila glutamatergic neurons[J]. *J Neurosci*, 2018, 38(35): 7741-7752.
- [34] Starr A, Sattler R. Synaptic dysfunction and altered excitability in C9ORF72 ALS/FTD[J]. *Brain Res*, 2018, 1693(Pt A): 98-108.
- [35] Chou CC, Zhang Y, Umoh ME, et al. TDP-43 pathology disrupts nuclear pore complexes and nucleocytoplasmic transport in ALS/FTD[J]. *Nat Neurosci*, 2018, 21(2): 228-239.

(本文编辑 郭征)

本文引用: 王雁, 易航, 廖巧, 毕方方. 肌萎缩侧索硬化症发病机制的遗传学研究进展[J]. 中南大学学报(医学版), 2020, 45(12): 1483-1489. DOI:10.11817/j.issn.1672-7347.2020.190506

Cite this article as: WANG Yan, YI Hang, LIAO Qiao, BI Fangfang. Advances in genetics research in the pathogenesis of amyotrophic lateral sclerosis[J]. *Journal of Central South University. Medical Science*, 2020, 45(12): 1483-1489. DOI: 10.11817/j. issn. 1672-7347.2020.190506