

• 综 述 •

海藻糖治疗帕金森病的作用机制研究进展

孙亚男

天津医科大学总医院 神经内科, 天津 300052

摘 要: 帕金森病是一种常见的神经变性疾病, 特征性病理改变主要是黑质多巴胺能神经元丢失和路易小体的形成。路易小体中主要成分是纤维化的 α -突触核蛋白, 研究表明多巴胺能神经元中异常的蛋白质沉积可能与溶酶体自噬途径的失调有关。自噬调节剂的治疗潜力已在帕金森病动物模型中得到证实。海藻糖是一种天然双糖, 被认为是治疗神经退行性疾病的新候选药物。它具有类似伴侣活性, 防止蛋白质错误折叠或聚集, 并有助于通过促进自噬去除积聚的蛋白质。总结异常自噬在帕金森病疾病发展过程中的潜在机制, 讨论使用海藻糖对抗帕金森病的促进自噬、蛋白质稳定和抗神经炎症作用。

关键词: 海藻糖; 帕金森病; 自噬

中图分类号: R971

文献标志码: A

文章编号: 1674-5515(2019)07-2238-05

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2019.07.066

Research progress on mechanism of trehalose in treatment of Parkinson's disease

SUN Ya-nan

Department of Neurology, General Hospital of Tianjin Medical University, Tianjin 300052, China

Abstract: Objective Parkinson's disease is a common neurodegenerative disease. The characteristic pathological changes are mainly the loss of dopaminergic neurons in substantia nigra and the formation of Lewis bodies. The main component of Lewis bodies is fibrotic α synuclein. There is evidence that abnormal protein deposition in dopaminergic neurons may be related to the imbalance of lysosomal autophagy pathway. The therapeutic potential of autophagy regulators has been confirmed in animal models of Parkinson's disease. Trehalose is a natural disaccharide and is considered as a new candidate for the treatment of neurodegenerative diseases. It has chaperone-like activity, prevents protein from misfolding or aggregating, and helps remove accumulated proteins by promoting autophagy. The potential mechanism of abnormal autophagy in the development of Parkinson's disease is summarized. The role of trehalose in promoting autophagy, protein stability, and anti-neuroinflammation in the treatment of Parkinson's disease are also discussed in this paper.

Key words: trehalose; Parkinson's disease; autophagy

帕金森病是一种常见的神经变性疾病, 静止性震颤、肌僵直、姿势平衡不稳和运动迟缓是其主要临床表现。其特征性病理改变主要是黑质多巴胺能神经元丢失和路易小体的形成。路易小体主要由 α -突触核蛋白的异常聚集物组成。证据表明遗传因素、环境、神经毒素引起的自噬途径的损害在帕金森病发病机制中起着重要作用^[1]。目前, 利用一些小分子去阻断或调节 α -突触核蛋白聚集的方法, 以及某些可以通过上调自噬溶酶体途径 (ALP) 来消除 α -

突触核蛋白聚集的化合物正在研发中^[2-3]。

海藻糖是一种非还原的天然双糖, 作为一种生物保护剂, 它保护细胞免受各种环境条件的影响, 包括热、冷、干燥、脱水和氧化, 其无毒性使其成为一种良好的药理剂^[4]。先前已有研究阐明了海藻糖的神经保护作用, 该药物可增强异常蛋白聚集的清除, 被视为治疗帕金森病的潜在药物^[5]。海藻糖对帕金森病具有促进自噬、稳定蛋白质结构和抗炎作用。海藻糖可以通过 mTOR 非依赖途径作为自噬

收稿日期: 2019-02-26

基金项目: 北京协和医学院“中央高校基本科研业务费”资助项目 (3332018181)

作者简介: 孙亚男, 博士, 研究方向为神经病学。E-mail: lemonmuqiu@163.com

诱导物,增加具有聚集倾向蛋白(如 α -突触核蛋白、突变亨廷顿蛋白和朊病毒蛋白)的清除率。其次,有证据表明海藻糖可作为化学分子伴侣通过与蛋白质的直接相互作用稳定蛋白质结构,降低蛋白的错误折叠和聚集^[6]。海藻糖还可能通过其对细胞的抗炎作用来诱导保护作用,可通过抑制 NF- κ B 途径抑制炎症反应^[7]。本文将总结可能涉及海藻糖治疗帕金森病的常见机制,并提供使用这种药物治疗的依据。

1 调节自噬机制

1.1 自噬机制与帕金森病

调节蛋白质清除的主要蛋白质降解系统有两种,泛素-蛋白酶体系统(UPS)和自噬溶酶体途径(ALP)。自噬是一个主要的蛋白水解系统,最终导致细胞质成分、细胞器和蛋白质的溶酶体降解。关于底物进入溶酶体的机制,ALP可细分为大自噬、微自噬和伴侣介导的自噬。自噬在神经系统蛋白质稳态的基础维持中起着关键作用。ALP受到干扰与几种人类神经变性疾病的发展有关如阿尔茨海默病、帕金森病和亨廷顿病^[8]。在帕金森病领域,几个编码 α -突触核蛋白、Lrrk2、Parin、PINK1、ATP13a2、Rab7l和VPS35的缺陷基因与自噬途径有关。 α -突触核蛋白是路易小体的主要成分,是一种易于聚集的蛋白质。该蛋白的两个主要突变(A53T和A30P)与早发性帕金森病有关。研究表明野生型 α -突触核蛋白由于其序列中存在分子伴侣介导的自噬靶向基序而被自噬途径降解。然而, α -突触核蛋白的突变体或过度表达形式经过翻译后修饰并异常结合到LAMP-2A,阻止其迁移进入溶酶体腔。因此,自噬活性的减低可以增加更多多聚蛋白质的聚集并增强多巴胺能神经元的退化。在这方面,发现自噬通路的损伤可刺激大自噬,作为维持细胞内稳态的补偿反应。研究表明大自噬在包括突变亨廷顿蛋白、 α -突触核蛋白和共济失调蛋白在内的聚集蛋白的清除中起着关键作用。尸检帕金森病大脑中自噬体的积累在很大程度上与大自噬的激活有关^[9]。总体而言,帕金森病患者中自噬的增加表明神经元在做着抵抗细胞损伤的努力^[10]。那么具有调节自噬能力的药物可能成为帕金森病的潜在治疗药物。

1.2 调节帕金森病自噬

帕金森病是一种蛋白病性疾病,蛋白水解系统的失效可导致LB样聚集物的形成。海藻糖主要通过诱导自噬途径来对神经变性起到治疗作用,具有降低聚集蛋白毒性的能力^[11]。体外研究表明海藻糖

通过激活自噬以mTOR非依赖方式加速了A53T和A30P α -突触核蛋白突变体的清除。另有研究表明在帕金森病和亨廷顿病的细胞模型中,海藻糖以自噬依赖的方式保护细胞免受二次促凋亡损伤^[12]。它还可以通过降低Akt活性来激活转录因子EB(TFEB)以增强ALP^[13]。He等^[14]研究显示海藻糖增加了大鼠帕金森病模型中 α -突触核蛋白的去除。它激活纹状体的自噬,显著减少 α -突触核蛋白聚集物的数量,提高多巴胺神经元的存活率,改善运动缺陷。对过表达野生型或A53T α -突触核蛋白的PC12细胞的研究表明海藻糖通过上调大自噬途径PI3K途径,增强了A53T α -突触核蛋白的清除。然而,它对WT α -突触核蛋白清除率没有显著影响^[15]。这与其他研究观察到的结果一致,大自噬是清除A53T α -突触核蛋白的主要途径,野生型 α -突触核蛋白可通过UPS途径有效清除。环氧酶素对UPS功能的抑制导致多泛素化蛋白的沉积,如总的和磷酸化的tau蛋白、p-GSK-3和 α -突触核蛋白,以及NB69人神经母细胞瘤细胞中的 α -突触核蛋白胞内聚集物。海藻糖治疗后,这些细胞的自噬体和自噬标记物以剂量和时间相关性的方式增加^[16]。此外,表达人 α -突触核蛋白的转基因秀丽隐杆线虫模型显示,用海藻糖治疗后,活性氧(ROS)和 α -突触核蛋白水平降低,而运动能力和多巴胺水平显著增加。

1.3 有效剂量和时间

既往已有研究证明高浓度海藻糖诱导的细胞毒性效应。最近一项研究表明海藻糖在低浓度(低于1 mol/L)下降低了转导PC12细胞中A53T α -突触核蛋白的表达水平。相反,在高浓度(大于1 mmol/L)下,海藻糖通过稳定A53T α -突触核蛋白低聚物诱导了A53T α -突触核蛋白的表达,并降低了细胞活力^[17]。另外,海藻糖在长期治疗(3或12周)后未能有效地诱导小鼠脑内自噬^[18]。海藻糖短期治疗通过诱导有丝分裂和改善氧化还原状态,缓解了小鼠“tau病理”模型中多巴胺相关病理。然而,长期治疗会导致能量不足,可能与不受控制的自噬激活有关。而且,海藻糖有害的长期效应在具有较高代谢活性和氧化应激的区域(如纹状体)更加明显,该区多巴胺含量较高^[19]。此外,如Zhao等^[17]研究所示PC12细胞中高海藻糖浓度影响线粒体形态并降低线粒体膜电位。因此,为了避免高剂量和长时间的不良反应,需要定义最低有效剂量和最大神经保护作用持续时间。

1.4 存争议的结果

尽管人们对海藻糖的自噬诱导活性有普遍共识,但一项帕金森病细胞体外研究表明,它阻止了自噬,从而导致脂质体 LC3 (LC3-II)、P62 和自噬体的积累,同时观察到自噬体数量减少。根据该研究结果,海藻糖干扰溶酶体膜完整性,抑制自噬体溶酶体融合。幸运的是,尽管 α -突触核蛋白聚集显著增加,但细胞活力没有改变,表明海藻糖可能具有通过自噬非依赖机制的神经保护功能^[20]。Tanji 等^[18]对小鼠 LB 疾病模型大脑的神经病理学分析结果表明:一方面,海藻糖增加了脑内自噬标记物 LC3-II 的累积, α -突触核蛋白异常聚集无明显改变,但不溶性 α -突触核蛋白水平在海藻糖小鼠中降低。另一方面,海藻糖可以通过调节不同的伴侣分子,如 HSP90 和 SigmaR1 来起作用。已知外源性应用 α -突触核蛋白预制纤维 (PFFs) 可促进细胞中蛋白质聚集的形成。一项研究表明单用海藻糖干预原始皮质神经元时,LC3-II 水平升高。同时用海藻糖和 α -突触核蛋白 PFFs 干预时,聚集 α -突触核蛋白水平没有明显变化,这表明即使用海藻糖治疗,在大自噬增强的条件下,PFFs 也能抵抗降解^[21]。

2 稳定蛋白机制

α -突触核蛋白聚集形成纤维的过程是帕金森病发病机制的重要步骤,其前体寡聚体具有神经毒性。海藻糖可抑制 α -突触核蛋白的异常聚集、甚至解聚已形成的纤维、稳定已形成的寡聚体、以及延迟纤维形成等。首先,海藻糖将变性蛋白折叠成其天然结构的能力已在早期研究中得到证明^[22]。其作为一种化学伴侣并通过与蛋白质的直接相互作用稳定增强了蛋白质的折叠^[6, 23]。研究证实蛋白分子的折叠态比未折叠态更加稳定。其次,海藻糖分子可能围绕寡聚体形成包裹层。寡聚体中蛋白结构的稳定限制了进一步结构重组,从而无法随着更多 β -交叉的形成而组成原纤维和纤维。此外,海藻糖还可通过稳定聚集体,阻止其“成核”,延迟纤维的形成。研究表明海藻糖能与 α -突触核蛋白相互作用,并以剂量相关性方式阻断其体外聚合^[24]。研究显示低浓度海藻糖可将预先形成的突变 α -突触核蛋白 (A53T) 原纤维和纤维分解成小的聚集体或溶解成无规则卷曲构象物质。在较高浓度下,A53T α -突触核蛋白向 β -交叉结构转变变迟缓,完全阻止了其成熟纤维的形成^[25]。另一项研究中,发现野生型 α -突触核蛋白与海藻糖的早期共孵育导致了无毒的无定形聚集物

的形成,而长时间的共孵育可以将大的无定形聚集体分解成小的无定形颗粒,或转变成无序卷曲的异构体^[26]。原纤维和寡聚体作为易于“成核”的物种,可能导致多巴胺能神经元的神经毒性。因此,能够阻止蛋白质寡聚体的药物可能是治疗帕金森病的一种潜在方法。

3 抗炎机制

神经炎症被认为是几种神经退行性疾病进展的重要机制,其发生在几乎所有涉及神经系统的溶酶体储存疾病中。如今,许多旨在减轻炎症反应的帕金森病治疗试验中,小胶质细胞是一个关键靶点。海藻糖抑制帕金森病炎症反应的作用得到了众多的支持证据。如在慢性 MPTP 中毒的帕金森病小鼠模型中使用海藻糖治疗可抑制小胶质细胞和星形胶质细胞的激活,从而减弱促炎和神经毒性分子的释放。且海藻糖避免了 MPTP 小鼠模型运动障碍的发生^[27]。在体外研究中证实了小胶质细胞活化与神经损伤之间的联系。NF- κ B 通路的激活增加了受脂多糖攻击的 BV-2 小胶质细胞中(包括 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 和 NO 在内的)细胞因子的释放。海藻糖还通过下调 Toll 样受体 4 有效地减弱了 NF- κ B 的激活,从而保护帕金森病动物模型免受脂多糖介导的神经炎症损害^[28]。Bussi 等^[29]研究表明雷帕霉素和海藻糖能有效地促进自噬,减少包括 NO 在内的促炎性介质对 BV-2 小胶质细胞中的 LPS 和 α -突触核蛋白的反应。自噬可能通过抑制假炎症激活和下调炎症激活时的免疫反应以及直接或间接抑制 I 型干扰素反应,在控制炎症反应中发挥关键作用。因此,通过靶向自噬来预防神经炎症的治疗策略可能有助于找到有效的神经退行性疾病治疗方法。

4 结语

大量数据表明海藻糖通过调节自噬作用在各种蛋白病中具有治疗潜力。真核细胞自噬调控的主要机制有 4 种:PI3K/AKT/mTOR、AMPK/ULK1/mTOR、Bcl-2/Beclin-1 和 TFEB 途径^[30]。证据表明海藻糖可能通过这些途径激活自噬,这取决于疾病类型和细胞。尽管在许多研究中,mTOR 非依赖通路被认为是主要的作用机制,但最近的研究表明海藻糖也可通过激活 TFEB 功能来驱动 ALP^[31]。帕金森病神经元中的溶酶体消耗和自噬体累积证实了这种观点,那么 TFEB 也可能是开发新型帕金森病治疗方法的一个有前途的靶点。其次,海藻糖可以通过稳定蛋白质来影响蛋白质聚集。在帕金森病中,海藻糖将

α -突触核蛋白聚集成无毒的无定形聚集物。此外,剂量和时间相关性是影响海藻糖治疗帕金森病疗效的主要因素,因为高剂量和长期使用海藻糖没有观察到更好的效果。因此,确定海藻糖的最佳剂量和疗程可能是今后研究的重要方向。值得强调的是,在帕金森病动物模型中海藻糖在改善与帕金森症相关的症状表现方面是有效的^[14],但仍缺乏临床试验。这类试验应考虑到人体对海藻糖的肠道吸收有限,是否有必要采用替代的给药途径,或使用可全身吸收这种双糖的特定制剂。因此,建议静脉注射海藻糖以解决海藻糖引起的肠道降解问题。目前,已有I期和II期试验的证据,包括眼咽肌营养不良(OPMD)和脊髓小脑共济失调(SCA3)患者长期静脉注射海藻糖的疗效和安全性^[32]。

综上所述,海藻糖能够通过多种不同的机制对抗环境压力并起到保护作用。由于聚集抑制、自噬增强和抗炎特性,它可能是治疗淀粉样蛋白相关疾病、 α -突触核蛋白相关疾病和神经退行性疾病的最佳候选药物。期待评估海藻糖是否能改善帕金森病症状的临床试验能得到有效结果。

参考文献

- [1] 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): 1443-1457.
- [2] Kalia L V, Kalia S K, Lang A E. Disease-modifying strategies for Parkinson's disease [J]. *Mov Disord*, 2015, 30(11): 1442-1450.
- [3] Oertel W, Schulz J B. Current and experimental treatments of Parkinson disease: a guide for neuroscientists [J]. *J Neurochem*, 2016, 139 Suppl 1: 325-337.
- [4] Chen Q, Haddad G G. Role of trehalose phosphate synthase and trehalose during hypoxia: from flies to mammals [J]. *J Exp Biol*, 2004, 207(Pt 18): 3125-3129.
- [5] Tanaka M, Machida Y, Niu S, et al. Trehalose alleviates polyglutamine-mediated pathology in a mouse model of Huntington disease [J]. *Nat Med*, 2004, 10(2): 148-154.
- [6] Welch W J, Brown C R. Influence of molecular and chemical chaperones on protein folding [J]. *Cell Stress Chaperones*, 1996, 1(2): 109-115.
- [7] Echigo R, Shimohata N, Karatsu K, et al. Trehalose treatment suppresses inflammation, oxidative stress, and vasospasm induced by experimental subarachnoid hemorrhage [J]. *J Transl Med*, 2012, 10: 80.
- [8] Wu F, Xu H D, Guan J J, et al. Rotenone impairs autophagic flux and lysosomal functions in Parkinson's disease [J]. *Neuroscience*, 2015, 284: 900-911.
- [9] Vila M, Bové J, Dehay B, et al. Lysosomal membrane permeabilization in Parkinson disease [J]. *Autophagy*, 2011, 7(1): 98-100.
- [10] Macchi B, Di Paola R, Marino-Merlo F, et al. Inflammatory and cell death pathways in brain and peripheral blood in Parkinson's disease [J]. *CNS Neurol Disord Drug Targets*, 2015, 14(3): 313-324.
- [11] Tien N T, Karaca I, Tamboli I Y, et al. Trehalose alters subcellular trafficking and the metabolism of the Alzheimer-associated amyloid precursor protein [J]. *J Biol Chem*, 2016, 291(20): 10528-10540.
- [12] Hosseinpour-Moghaddam K, Caraglia M, Sahebkar A. Autophagy induction by trehalose: Molecular mechanisms and therapeutic impacts [J]. *J Cell Physiol*, 2018, 233(9): 6524-6543.
- [13] Palmieri M, Pal R, Nelvagal H R, et al. mTORC1-independent TFEB activation via Akt inhibition promotes cellular clearance in neurodegenerative storage diseases [J]. *Nat Commun*, 2017, 8: 14338.
- [14] He Q, Koprach J B, Wang Y, et al. Treatment with trehalose prevents behavioral and neurochemical deficits produced in an AAV α -Synuclein rat model of Parkinson's disease [J]. *Mol Neurobiol*, 2016, 53(4): 2258-2268.
- [15] Lan D M, Liu F T, Zhao J, et al. Effect of trehalose on PC12 cells overexpressing wild-type or A53T mutant alpha-synuclein [J]. *Neurochem Res*, 2012, 37(9): 2025-2032.
- [16] Casarejos M J, Solano R M, Gómez A, et al. The accumulation of neurotoxic proteins, induced by proteasome inhibition, is reverted by trehalose, an enhancer of autophagy, in human neuroblastoma cells [J]. *Neurochem Int*, 2011, 58(4): 512-520.
- [17] Zhao J, Zhi X, Pan L, et al. Trehalose inhibits A53T Mutant α -Synuclein overexpression and neurotoxicity in transduced PC12 Cells [J]. *Molecules*, 2017, 22(8): E1293.
- [18] Tanji K, Miki Y, Maruyama A, et al. Trehalose intake induces chaperone molecules along with autophagy in a mouse model of Lewy body disease [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2015, 465(4): 746-752.
- [19] Rodríguez-Navarro J A, Rodríguez L, Casarejos M J, et al. Trehalose ameliorates dopaminergic and tau pathology in parkin deleted/tau overexpressing mice through autophagy activation [J]. *Neurobiol Dis*, 2010, 39(3): 423-438.
- [20] Yoon Y S, Cho E D, Jung Ahn W, et al. Is trehalose an autophagic inducer? Unraveling the roles of non-reducing

- disaccharides on autophagic flux and alpha-synuclein aggregation [J]. *Cell Death Dis*, 2017, 8(10): e3091.
- [21] Redmann M, Wani W Y, Volpicelli-Daley L, *et al*. Trehalose does not improve neuronal survival on exposure to alpha-synuclein pre-formed fibrils [J]. *Redox Biol*, 2017, 11: 429-437.
- [22] Melo E P, Chen L, Cabral J M, *et al*. Trehalose favors a cutinase compact intermediate off-folding pathway [J]. *Biochemistry*, 2003, 42(24): 7611-7617.
- [23] Jain N K, Roy I. Effect of trehalose on protein structure [J]. *Protein Sci*, 2009, 18(1): 24-36.
- [24] Ruzza P, Hussain R, Biondi B, *et al*. Effects of trehalose on thermodynamic properties of alpha-synuclein revealed through synchrotron radiation circular dichroism [J]. *Biomolecules*, 2015, 5(2): 724-734.
- [25] Yu W B, Jiang T, Lan D M, *et al*. Trehalose inhibits fibrillation of A53T mutant alpha-synuclein and disaggregates existing fibrils [J]. *Arch Biochem Biophys*, 2012, 523(2): 144-150.
- [26] Jiang T, Yu W B, Yao T, *et al*. Trehalose inhibits wild-type α -synuclein fibrillation and overexpression and protects against the protein neurotoxicity in transduced PC12 cells [J]. *RSC Adv*, 2013, 3(24): 9500-9508.
- [27] Sarkar S, Chigurupati S, Raymick J, *et al*. Neuroprotective effect of the chemical chaperone, trehalose in a chronic MPTP-induced Parkinson's disease mouse model [J]. *Neurotoxicology*, 2014, 44: 250-262.
- [28] Minutoli L, Altavilla D, Bitto A, *et al*. Trehalose: a biophysics approach to modulate the inflammatory response during endotoxic shock [J]. *Eur J Pharmacol*, 2008, 589(1/3): 272-280.
- [29] Bussi C, Peralta Ramos J M, Arroyo D S, *et al*. Autophagy down regulates pro-inflammatory mediators in BV2 microglial cells and rescues both LPS and alpha-synuclein induced neuronal cell death [J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 43153.
- [30] Wang Z Y, Liu J Y, Yang C B, *et al*. Neuroprotective natural products for the treatment of Parkinson's disease by targeting the autophagy-lysosome pathway: a systematic review [J]. *Phytother Res*, 2017, 31(8): 1119-1127.
- [31] Evans T D, Jeong S J, Zhang X, *et al*. TFEB and trehalose drive the macrophage autophagy-lysosome system to protect against atherosclerosis [J]. *Autophagy*, 2018, 14(4): 724-726.
- [32] Argov Z, Vornovitsky H, Blumen S, *et al*. First human use of high dose IV trehalose: safety, tolerability and pharmacokinetic results from the oculopharyngeal muscular dystrophy (OPMD) therapy trial (P7.068) [J]. *Neurology*, 2015, 84: P7.068.