

帕金森病相关蛋白LRRK2对囊泡运输的调节及机制

杨璇 张巍 胡月青 刘新秀 唐甜甜 贺菲菲 宋彬彬 于佳

【摘要】 帕金森病是仅次于阿尔茨海默病的第二大神经退行性疾病。富含亮氨酸重复序列激酶2 (LRRK2) 突变是PD发病最为常见的遗传因素, LRRK2突变所致的PD发病年龄晚, 有路易小体、黑质多巴胺能神经元缺失等多种病理改变特征, 在临床表现上与特发性PD更为接近。LRRK2在神经系统内广泛分布, 在神经元内, LRRK2定位于多种膜结构中, 包括线粒体、高尔基体、内体、自噬体以及溶酶体, 参与调节囊泡运输。现对近年来研究发现的LRRK2对囊泡运输的调节及相关机制进行综述。

【关键词】 帕金森病; 富含亮氨酸重复序列激酶2; 囊泡运输; 综述

doi: 10.3969/j.issn.1009-6574.2017.12.006

Regulation of Parkinson disease-related protein LRRK2 on vesicle trafficking and its mechanism

YANG Xuan, ZHANG Wei, HU Yue-qing, et al. Institute for Geriatrics and Rehabilitation, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing Geriatric Hospital, Beijing 100095, China

【Key words】 Parkinson disease; Leucine-rich repeat kinase 2(LRRK2); Vesicle trafficking; Review

帕金森病(Parkinson Disease, PD)是仅次于阿尔茨海默病的第二大神经退行性疾病。遗传、环境、衰老等多种因素参与PD发病。LRRK2突变是PD发病最为常见的遗传因素。约有5%的家族性PD病例存在富含亮氨酸重复序列激酶2(Leucine-Rich Repeat Kinase 2, LRRK2)基因突变, 此外还有1%的散发性PD患者发生LRRK2基因突变^[1]。LRRK2突变所致的PD发病年龄晚, 有路易小体、黑质多巴胺能神经元缺失等多种病理改变特征, 在临床表现上与特发性PD(静止性震颤, 动作迟缓及减少、肌张力增高、姿势不稳)更为接近, 但具体致病机制尚不清楚^[1]。因此, 探讨LRRK2的生理以及病理意义对于理解PD的发病机制有着重要的意义。

1 LRRK2的蛋白结构和表达分布

LRRK2在不同种属间高度保守, 由2 527个氨基酸组成。LRRK2蛋白包含有多个功能性结构域, 分别为ANK、LRR、Roc、COR、MAPKKK激酶和WD40结构域, 其中Roc和COR结构域共同组成了GTP酶结构域^[2]。人们已经证实了超过40个与PD发病

相关的LRRK2突变, 目前研究最多的突变位点有9个, 分别是位于ROC结构域的R1441C、R1441G、R1441H、R1514Q突变; 位于COR结构域的Y1699C突变; 位于激酶结构域的I2012T、G2019S、I2020T突变以及位于WD40结构域的G2385R突变^[3]。

LRRK2被证实广泛表达于中枢神经系统多个部位, 包括小脑、大脑皮质、延髓、脊髓和壳核。LRRK2在不同脑区含量有所不同, LRRK2在皮层海马以及纹状体内mRNA含量较高, 而在多巴胺能神经元中其含量较低, 即LRRK2高度表达于多巴胺受体区域, 而在多巴胺生成区域表达较低^[4]。

在神经元内, LRRK2定位于多种膜结构中, 包括细胞膜、线粒体、高尔基体、内体、自噬体以及溶酶体。LRRK2蛋白不含疏水的跨膜结构域或者线粒体膜定位序列, 因而LRRK2不能整合进入膜结构中^[5]。目前, 人们仍未能确定LRRK2是如何与膜结构相结合, 但是已有大量证据表明LRRK2可以与多种膜蛋白相互作用, 参与调节囊泡分泌、囊泡胞吞胞吐、内体-溶酶体系统功能。

2 LRRK2与囊泡分泌

LRRK2参与调节了蛋白的囊泡分泌过程。Migheli等^[6]发现在过表达LRRK2的SY5Y细胞培养基中生长激素明显升高, 而过表达G2019S则使得这一现象更加明显, 提示LRRK2促进了SY5Y细胞生长激素的分泌。Kim等^[7]也发现在HEK293细胞中敲减LRRK2导致自噬相关蛋白p62在细胞内大量积

基金项目: 国家自然科学基金项目(81601117); 国家留学基金国家公派访问学者项目(201709110044); 北京市自然科学基金项目(7184221); 北京市百千万人才工程项目(2017A14); 北京市科技新星计划项目(xx2018099); 北京市卫生系统高层次卫生技术人才项目(2015-3-117); 北京老年医院内科研基金项目(bjlnyy-青-5)

作者单位: 100095 北京中医药大学附属北京老年医院老年病临床与康复研究所

通讯作者: 于佳 Email: jyu319@163.com

聚,而胞外培养基中 p62 显著降低,提示敲减 LRRK2 抑制了 p62 的分泌。蛋白的囊泡分泌过程包括内质网至高尔基体以及高尔基体至细胞膜的囊泡运输,作用于任一环节均可影响蛋白的囊泡分泌。

Cho 等^[8]利用质谱分析鉴定并利用免疫共沉淀实验证实了 LRRK2 和 Sec16A 存在相互作用。Sec16A 是一个大分子量的亲水性膜外周蛋白,近来的研究发现 Sec16A 是内质网出口 (Endoplasmic Reticulum Exit Sites, ERES) 的重要组成部分,在内质网至高尔基体运输中对 COP II 有被小泡的形成至关重要。LRRK2 通过使 Sec16A 锚定与 ERES 从而促进蛋白从内质网运输至高尔基体^[8]。在海马神经元中, LRRK2 和 Sec16A 共定位于树突 ERES 中。LRRK2 表达缺失导致 Sec16A 在胞浆中弥散分布,无法锚定于 ERES,从而抑制蛋白从内质网运输至高尔基体。他们还发现 LRRK2 表达缺失的神经元在河豚毒素刺激下细胞内谷氨酸受体被运输至膜上的量明显减少,提示 LRRK2 可能通过调节受体蛋白从内质网至高尔基体的运输过程来调节其分泌,并最终影响其在细胞膜上的含量。

LRRK2 还可以调节高尔基体至细胞膜的囊泡运输。研究显示 LRRK (LRRK2 同源蛋白) 基因敲除的线虫感觉神经元中突触囊泡蛋白 SNB (synaptogyrin 同源蛋白) 和 SNG (synaptobrevin 同源蛋白) 不仅仅分布于突触前,在树突中也能观察到^[9]。在 LRRK2 基因敲除的线虫感觉神经元中表达 CFP-LRRK,发现 LRRK 并未在轴突以及树突分布,而是定位于高尔基体,因此推测 LRRK 可能是通过作用于高尔基体以调节突触囊泡蛋白的定向运输^[9],但是其中具体机制仍不明确。Lin 等^[10]发现果蝇神经元中 LRRK 可以通过竞争性的抑制 Lav (Lava lamp) 和动力蛋白重链 (Dynein heavy chain, Dhc) 蛋白的作用,以抑制树突内“外驻”高尔基体顺向转运至细胞膜,这种抑制作用和 LRRK 的激酶活性呈正相关。除此以外, Steger 等^[11]还发现 LRRK2 可以磷酸化 Rab8 和 Rab10,并抑制 Rab8 和 Rab10 与其调节蛋白的结合。Rab8 和 Rab10 均参与了蛋白从高尔基体至细胞膜的运输过程,据此推测 LRRK2 还可能通过调节 Rab8 和 Rab10 的功能以影响蛋白从高尔基体至细胞膜的运输。

此外,还有研究发现 LRRK2 的异常表达还会导致高尔基体的结构异常,严重的高尔基体的结构异常也可以使高尔基体正常的分泌功能受损。Maekawa 等^[12]发现 10 周龄的 I2020T 转基因小鼠黑质内发生高尔基体片段化多巴胺能神经元显著增高,提示高尔基体严重受损。Beilina 等^[13]发现在原代神经元内过表达 LRRK2 导致反面高尔基网 (Trans

Golgi Network, TGN) 形态异常,部分神经元中 TGN 聚集分布于核周,或仅有极弱的 TGN 标志物高尔基体蛋白 1 染色,而 LRRK2 突变体 (G2019S、R1441C 和 Y1699C) 使得 TGN 形态异常的神经元百分比进一步升高。

3 LRRK2 与囊泡胞吞和胞吐

3.1 LRRK2 与突触囊泡胞吞和胞吐 Xiong 等^[14]发现过表达 LRRK2 导致小鼠海马神经元中细胞对荧光标记物 FM4-64 的胞吞降低。Matta 等^[15]发现 LRRK 功能缺失果蝇神经元对荧光标记物 FM1-43 胞吞的速度下降。以上结果提示 LRRK 的过表达和功能缺失均可影响突触囊泡胞吞过程。进一步研究发现 LRRK 可以磷酸化 Endophilin A (EndoA) S75 残基,抑制其与胞膜结合。EndoA 参与网格蛋白介导的细胞胞吞过程。LRRK 功能缺失导致胞膜成分中 EndoA 含量增高,而 G2019S 的作用则相反,而这两种改变均有效地抑制了突触囊泡胞吞^[15]。随后 Arranz 等^[16]在小鼠纹状体神经元中也观察到 LRRK2 对 EndoA 的磷酸化。Shin 等^[17]发现在原代海马神经元中过表达野生型 LRRK2 或 LRRK2 突变体 (G2019S 和 R1441C) 或是敲减 LRRK2 均导致突触囊泡胞吞延缓。他们发现 LRRK2 和 Rab5 存在相互作用, Rab5 是一个调节胞吞小泡从质膜运输至初级内体的关键蛋白。过表达 Rab5 减轻过表达 LRRK2 所导致的突触囊泡胞吞功能障碍,这一课题组在随后的研究中证实了 LRRK2 可以使 Rab5b 的 T6 残基发生磷酸化,提高其 GTP 酶活性,提示 LRRK2 可能通过与 Rab5 相互作用以调节突触囊泡胞吞过程^[18]。Pan 等^[19]发现过表达 G2019S 的中脑神经元突触囊泡胞吞延缓。他们还发现 LRRK2 能够磷酸化 synaptojanin 1,一种在突触中大量表达的肌醇磷酸酶,在突触囊泡胞吞过程中发挥重要的作用。因此推测, LRRK2 还可能通过调节 synaptojanin 1 的功能来影响突触囊泡胞吞过程。

LRRK2 还参与调节了突触囊泡胞吐释放过程。Piccoli 等^[20]发现敲减原代皮层神经元 LRRK2 导致兴奋性突触后电位幅度升高了约 2 倍,且静息状态下 synaptotagmin 和 synaptophysin 双阳性的突触数目明显升高,提示 LRRK2 敲减导致处于活性状态的突触增加。他们还在电镜下观察到锚定于细胞膜的囊泡数目明显降低,这一现象与上述电生理结果似乎是矛盾的,作者推测可能是由于在静息状态下 LRRK2 表达沉默的神经突触内有更多的囊泡发生融合释放。但是, LRRK2 表达缺失导致了突触囊泡胞吞功能障碍,使得突触间隙内递质清除延缓,从而导致兴奋性突触后电位幅度的升高,因而上述现

象还可能由细胞胞吞功能障碍引起。Carrion等^[21]发现敲减LRRK2增加SY5Y细胞突触囊泡与突触前膜融合。Cirnar等^[22]提取了小鼠大脑皮层突触小体,发现LRRK2抑制IN-1和GSK降低了突触小体中谷氨酸释放,而敲除LRRK2则可以完全消除这一效应。Migheli等^[6]利用微透析法检测发现过表达G2019S使得PC12细胞多巴胺释放量上升约85%。上述结果表明LRRK2对突触囊泡胞吐的调节与其激酶活性相关。Piccoli等^[23]利用液相色谱串联质谱法鉴定出84个LRRK2相互作用蛋白,其中包括多个突触蛋白,如N-乙基马来酰亚胺敏感因子(N-ethylmaleimide Sensitive Factor, NSF)、syntaxin1A、synapsin I、synaptobrevin等。Belluzzi等^[24]证实了LRRK2和NSF之间的相互作用,并且发现LRRK2磷酸化NSF T645残基,增加了其ATP酶活性,从而提高可溶性NSF附着蛋白受体(Soluble NSF Attachment Protein Receptor, SNARE)复合体的解聚速率,因此可以推测LRRK2对突触囊泡释放的调节可能是通过与突触蛋白的相互作用来实现的,但LRRK2与其他突触蛋白的作用及机制仍需要进一步研究。

3.2 LRRK2与非突触囊泡胞吞和胞吐 LRRK2除了对突触囊泡的胞吞和胞吐有调节作用,还调节了细胞其他部位囊泡的胞吞和胞吐。Pereira等^[25]发现在过表达G2019S和R1441C的酵母细胞中出现胞吞功能障碍细胞的百分比要明显高于正常细胞。Maekawa等^[26]发现LRRK2基因敲除小胶质细胞对 α -突触核蛋白的清除能力显著增加,细胞内Rab5阳性的囊泡数目明显增加,且Rab5和发动蛋白(dynamin)相互作用增强,提示LRRK2基因敲除提高了小胶质细胞的胞吞功能。Rassu等^[27]也在SY5Y细胞中观察到G2019S损伤细胞的胞吞功能。他们发现当给予细胞多巴胺刺激时,过表达G2019S明显抑制胞膜上多巴胺受体1的内化,使其在胞膜大量积累。Mutez等^[28]对G2019S携带PD患者外周血单核细胞进行了转录组分析,发现了数个发生下调的信号通路,其中就包括网格蛋白(clathrin)介导的胞吞通路。Schreij等^[29]也利用了Pull-down实验证实LRRK2和clathrin轻链之间存在直接相互作用。Stafa等^[30]则发现LRRK2和dynamin家族蛋白之间存在相互作用,且体外实验证明dynamin 1-3均可被LRRK2磷酸化。根据以上报道推测,LRRK2对细胞胞吞作用的调节可能是通过调控clathrin及相关蛋白来实现的,但是其中的具体机制目前仍未能阐明,因此仍需要进一步研究。

肺泡II型上皮细胞在一定的刺激下,胞内的片层体会发生胞吐。Miklavc等^[31]利用ATP刺激小鼠

肺泡II型上皮细胞,发现LRRK2基因敲除导致发生片层体胞吐的细胞比率明显升高,提示LRRK2负性调节了肺泡II型上皮的胞吐作用。但是进一步的研究发现LRRK2基因敲除并未影响胞膜融合动力指标,而是增加了ATP刺激时细胞内 Ca^{2+} 浓度,因而LRRK2可能是通过影响细胞内 Ca^{2+} 浓度调节肺泡II型上皮的胞吐作用^[31]。

4 LRRK2与内体-溶酶体系统

在细胞发生胞吞后,胞吞小泡进入细胞形成初级内体,其内包含的蛋白如受体蛋白等经过分拣分别进入循环途径或者降解途径。进入循环途径的物质经过囊泡运输最终回到细胞膜表面继续发挥其功能;而进入降解途径的蛋白会在内体中与溶酶体融合,最终被溶酶体内蛋白酶系统降解。大量证据表明LRRK2与多个Rab蛋白存在相互作用,并通过调节Rab蛋白的功能在多个环节上影响内体-溶酶体系统。

首先,LRRK2影响了次级内体的成熟,免疫共沉淀实验结果表明LRRK和Rab7存在相互作用。在LRRK表达缺失的果蝇卵泡细胞中,Rab7阳性的次级内体体积显著增加,且均表现为溶酶体荧光探针Lysotracker阴性,提示这些异常的次级内体没有被正常酸化^[32]。在Hela细胞中过表达野生型LRRK2或突变体(G2019S和R1441C)导致细胞表面表皮生长因子受体进入Rab7阳性次级内体的过程被延缓。进一步研究发现LRRK2突变体(G2019S和R1441C)降低了HEK293T细胞中活性Rab7水平^[33],提示LRRK2可能通过调节Rab7的活性影响了次级内体的功能。

LRRK2还可以影响溶酶体的定位以及溶酶体降解功能。Rab7能够促使溶酶体被转运至核周,而共表达LRRK和Rab7果蝇卵泡细胞内位于核周的溶酶体与仅表达Rab7的果蝇卵泡细胞相比明显减少,表明LRRK2负性调节了Rab7对溶酶体的转运功能^[32]。Dodson等^[34]利用甲磺酸乙酯导致果蝇LRRK功能缺失,他们检测到LRRK功能缺失的果蝇卵泡细胞中溶酶体体积显著增大,提示溶酶体降解功能发生障碍。

最后,LRRK2还参与调节了retromer复合体功能。retromer复合体主要负责跨膜蛋白从内体到TGN的逆向运输,囊泡分拣蛋白35(Vacuolar Protein Sorting 35, Vps35)是retromer复合体的中心蛋白,可选择性转运所识别的不同种类受体蛋白并介导其自内体到TGN的逆向转运^[35]。MacLeod等^[36]发现在大鼠原代皮层神经元中过表达G2019S导致溶酶体体积增大,同时溶酶体和高尔基体中的甘露糖6磷

酸受体(Mannose-6-Phosphate Receptor, M6PR)含量明显下降,而过表达 Rab7L1 可以有效抑制 G2019S 所导致的溶酶体功能障碍。M6PR 是一个由 retromer 复合体转运的蛋白,对溶酶体水解酶的募集至关重要,抑制 retromer 复合体功能会导致 M6PR 大量被降解,溶酶体内水解酶不足^[35]。在 N2A 细胞中过表达 LRRK2 突变体 G2019S 或敲减 Rab7L1 均导致细胞内 Vps35 和 Vps29 水平降低,提示 LRRK2-Rab7L1 可能是通过调节 Vps35 蛋白水平以影响 retromer 复合体功能^[36]。Dodson 等^[34]利用免疫共沉淀实验证实 LRRK2 和 Rab9 之间存在相互作用,并发现过表达组成性激活状态的 Rab9 也可以抑制 LRRK2 表达缺失所导致的溶酶体功能障碍。Rab9 主要定位于次级内体上,也是 MPR 由次级内体向 TGN 转运过程的一个必需蛋白^[37]。因此推测, LRRK2 还可能通过与 Rab9 相互作用,调节 MPR 的转运从而影响溶酶体降解功能。

5 LRRK2 与细胞骨架

微管和微丝维持正常的细胞形态,为囊泡运输提供必要的轨道,对囊泡运动有重要作用。目前已有大量的实验证据表明 LRRK2 可以作用于细胞骨架蛋白,影响其稳定性。

Gandhi 等^[38]利用 Pull-down 和质谱实验证实 LRRK2 和 α/β -tubulin 二聚体之间有相互作用。Gillardon^[39]发现 LRRK2 可以磷酸化 β -tubulin,而 G2019S 可以使 β -tubulin 磷酸化水平提高约 3 倍,体外微管聚合实验显示在微管相关蛋白存在情况下, G2019S 提高了微管聚合水平,提示 LRRK2 介导的 β -tubulin 磷酸化增加了微管的稳定性。Esteves 等^[40]则发现 LRRK2 抑制剂 IN-1 导致 NT2 细胞内游离的 tubulin 水平升高,进一步证实微管稳定性和 LRRK2 激酶活性相关。微管稳定对于细胞正常功能起到至关重要的作用,但是微管过度稳定也可能会损害细胞。研究者在野生型 LRRK2、G2019S 和 I2020T 转基因小鼠均观察到了微管稳定性显著增加,影响微管网络的形成,导致高尔基体片段化^[12, 41]。LRRK2 还调节 tubulin 乙酰化, Law 等^[42]发现 LRRK2 基因敲除小鼠成纤维细胞内 α -tubulin 乙酰化水平明显高于野生型小鼠。但是, Esteves 等^[40]则观察到 IN-1 处理 NT2 细胞内 α -tubulin 乙酰化水平显著降低,因此推测 LRRK2 对 α -tubulin 乙酰化的调节可能并不是由于其激酶活性。 α -tubulin 的乙酰化与动力相关蛋白的募集和活性相关。Reed 等^[43]发现将 α -tubulin 的乙酰化位点突变失活导致驱动蛋白与 α -tubulin 的结合作用降低,同时轴丝运动速度明显降低,提示驱动蛋白的动力功能障碍。因此, LRRK2

可能通过调节对 α -tubulin 乙酰化水平进而调节动力相关蛋白影响囊泡运输。

Meixner 等^[44]发现在 NIH3T3 细胞中 LRRK2 与多个 actin 亚型以及 actin 调节蛋白存在相互作用。他们还通过体外实验证明 LRRK2 可以与 F-actin 结合,并且抑制了 actin 的聚合。Moesin、ezrin 和 radixin 共同组成 ERM 蛋白家族,磷酸化的 ERM 通过其 C 端和 F-actin 相连以及 N 端和胞膜相连以连接 F-actin 和胞膜,因此对于细胞骨架的组装以及细胞膜蛋白动力有着重要作用^[45]。Jaleel 等^[46]在体外实验中发现 moesin 可被 LRRK2 突变体 G2019S 磷酸化,随后 Parisiadou 等^[47]进一步证实海马神经元中 G2019S 可以磷酸化 ERM;他们还发现在 G2019S 转基因小鼠皮层和海马神经元中的 F-actin 含量明显升高, Caesar 等^[48]也在 R1441G 转基因小鼠突触神经小体中观察到 F-actin 水平升高,提示 LRRK2 突变体 G2019S 和 R1441G 可能促进了 actin 的聚合。LRRK2 功能异常可能会影响细胞内正常 actin 网络的形成,无法为囊泡运输提供必要的轨道,从而影响囊泡的运输。

6 小结

LRRK2 基因突变作为 PD 常染色体显性遗传最常见的原因,研究其生理以及病理功能对于理解 PD 的发病机制有着重要的意义。在本文中,我们总结了 LRRK2 对于囊泡运输的调节。LRRK2 在多个途径上通过与关键功能蛋白相互作用调节了囊泡的运输,包括囊泡的胞吞和胞吐释放、内体的成熟、溶酶体的定位和功能、retromer 复合体的功能以及囊泡分泌。LRRK2 对于囊泡运输的调节可能通过影响多个生理过程以参与 PD 发病,包括胞膜表面受体含量、蛋白的降解过程、神经突起的生长、神经递质的释放等。因此,随着 LRRK2 调节囊泡运输机制的研究的深入,人们将会加深对于 PD 发病机制的理解,并为选择治疗 PD 的新靶点提供指导。

参考文献

- [1] Kestenbaum M, Alcalay RN. Clinical Features of LRRK2 Carriers with Parkinson's Disease [J]. *Adv Neurobiol*, 2017, 14: 31-48.
- [2] Martin I, Kim JW, Dawson VL, et al. LRRK2 pathobiology in Parkinson's disease [J]. *J Neurochem*, 2014, 131(5): 554-565.
- [3] Monfrini E, Di Fonzo A. Leucine-Rich Repeat Kinase (LRRK2) Genetics and Parkinson's Disease [J]. *Adv Neurobiol*, 2017, 14: 3-30.
- [4] Sanna G, Del Giudice MG, Crosio C, et al. LRRK2 and vesicle trafficking [J]. *Biochem Soc Trans*, 2012, 40(5): 1117-1122.
- [5] Hatano T, Kubo S, Imai S, et al. Leucine-rich repeat kinase 2 associates with lipid rafts [J]. *Hum Mol Genet*, 2007, 16(6): 678-690.
- [6] Migheli R, Del Giudice MG, Spissu Y, et al. LRRK2 affects

- vesicle trafficking, neurotransmitter extracellular level and membrane receptor localization [J]. *PLoS One*, 2013, 8(10): e77 198.
- [7] Kim MJ, Deng HX, Wong YC, et al. The Parkinson's disease-linked protein TMEM230 is required for Rab8a-mediated secretory vesicle trafficking and retromer trafficking [J]. *Hum Mol Genet*, 2017, 26(4): 729–741.
- [8] Cho HJ, Yu J, Xie C, et al. Leucine-rich repeat kinase 2 regulates Sec16A at ER exit sites to allow ER-Golgi export [J]. *EMBO J*, 2014, 33(20): 2 314–2 331.
- [9] Sakaguchi-Nakashima A, Meir JY, Jin Y, et al. LRK-1, a *C. elegans* PARK8-related kinase, regulates axonal-dendritic polarity of SV proteins [J]. *Curr Biol*, 2007, 17(7): 592–598.
- [10] Lin CH, Li H, Lee YN, et al. Lrrk regulates the dynamic profile of dendritic Golgi outposts through the golgin Lava lamp [J]. *J Cell Biol*, 2015, 210(3): 471–483.
- [11] Steger M, Tonelli F, Ito G, et al. Phosphoproteomics reveals that Parkinson's disease kinase LRRK2 regulates a subset of Rab GTPases [J]. *Elife*, 2016, 5.
- [12] Maekawa T, Mori S, Sasaki Y, et al. The I2020T Leucine-rich repeat kinase 2 transgenic mouse exhibits impaired locomotive ability accompanied by dopaminergic neuron abnormalities [J]. *Mol Neurodegener*, 2012, 7: 15.
- [13] Beilina A, Rudenko IN, Kaganovich A, et al. Unbiased screen for interactors of leucine-rich repeat kinase 2 supports a common pathway for sporadic and familial Parkinson disease [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2014, 111(7): 2 626–2 631.
- [14] Xiong Y, Coombes CE, Kilaru A, et al. GTPase activity plays a key role in the pathobiology of LRRK2 [J]. *PLoS Genet*, 2010, 6(4): e1 000 902.
- [15] Matta S, Van Kolen K, da Cunha R, et al. LRRK2 controls an EndoA phosphorylation cycle in synaptic endocytosis [J]. *Neuron*, 2012, 75(6): 1 008–1 021.
- [16] Arranz AM, Delbroek L, Van Kolen K, et al. LRRK2 functions in synaptic vesicle endocytosis through a kinase-dependent mechanism [J]. *J Cell Sci*, 2015, 128(3): 541–552.
- [17] Shin N, Jeong H, Kwon J, et al. LRRK2 regulates synaptic vesicle endocytosis [J]. *Exp Cell Res*, 2008, 314(10): 2 055–2 065.
- [18] Yun HJ, Kim H, Ga I, et al. An early endosome regulator, Rab5b, is an LRRK2 kinase substrate [J]. *J Biochem*, 2015, 157(6): 485–495.
- [19] Pan PY, Li X, Wang J, et al. Parkinson's Disease-Associated LRRK2 Hyperactive Kinase Mutant Disrupts Synaptic Vesicle Trafficking in Ventral Midbrain Neurons [J]. *J Neurosci*, 2017, 37(47): 11 366–11 376.
- [20] Piccoli G, Condliffe SB, Bauer M, et al. LRRK2 controls synaptic vesicle storage and mobilization within the recycling pool [J]. *J Neurosci*, 2011, 31(6): 2 225–2 227.
- [21] Carrion MDP, Marsicano S, Daniele F, et al. The LRRK2 G2385R variant is a partial loss-of-function mutation that affects synaptic vesicle trafficking through altered protein interactions [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 5 377.
- [22] Cinaru MD, Marte A, Belluzzi E, et al. LRRK2 kinase activity regulates synaptic vesicle trafficking and neurotransmitter release through modulation of LRRK2 macro-molecular complex [J]. *Front Mol Neurosci*, 2014, 7: 49.
- [23] Piccoli G, Onofri F, Cinaru MD, et al. Leucine-rich repeat kinase 2 binds to neuronal vesicles through protein interactions mediated by its C-terminal WD40 domain [J]. *Mol Cell Biol*, 2014, 34(12): 2 147–2 161.
- [24] Belluzzi E, Gonnelli A, Cinaru MD, et al. LRRK2 phosphorylates pre-synaptic N-ethylmaleimide sensitive fusion (NSF) protein enhancing its ATPase activity and SNARE complex disassembling rate [J]. *Mol Neurodegener*, 2016, 11: 1.
- [25] Pereira C, Miguel Martins L, Saraiva L. LRRK2, but not pathogenic mutants, protects against H2O2 stress depending on mitochondrial function and endocytosis in a yeast model [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2014, 1 840(6): 2 025–2 031.
- [26] Maekawa T, Sasaoka T, Azuma S, et al. Leucine-rich repeat kinase 2 (LRRK2) regulates alpha-synuclein clearance in microglia [J]. *BMC Neurosci*, 2016, 17(1): 77.
- [27] Rassu M, Del Giudice MG, Sanna S, et al. Role of LRRK2 in the regulation of dopamine receptor trafficking [J]. *PLoS One*, 2017, 12(6): e0 179 082.
- [28] Mutez E, Nkiliza A, Belarbi K, et al. Involvement of the immune system, endocytosis and EIF2 signaling in both genetically determined and sporadic forms of Parkinson's disease [J]. *Neurobiol Dis*, 2014, 63: 165–170.
- [29] Schreij AM, Chaineau M, Ruan W, et al. LRRK2 localizes to endosomes and interacts with clathrin-light chains to limit Rac1 activation [J]. *EMBO Rep*, 2015, 16(1): 79–86.
- [30] Stafa K, Tsika E, Moser R, et al. Functional interaction of Parkinson's disease-associated LRRK2 with members of the dynamin GTPase superfamily [J]. *Hum Mol Genet*, 2014, 23(8): 2 055–2 077.
- [31] Miklavc P, Ehinger K, Thompson KE, et al. Surfactant secretion in LRRK2 knock-out rats: changes in lamellar body morphology and rate of exocytosis [J]. *PLoS One*, 2014, 9(1): e84 926.
- [32] Dodson MW, Zhang T, Jiang C, et al. Roles of the *Drosophila* LRRK2 homolog in Rab7-dependent lysosomal positioning [J]. *Hum Mol Genet*, 2012, 21(6): 1 350–1 363.
- [33] Gomez-Suaga P, Rivero-Rios P, Fdez E, et al. LRRK2 delays degradative receptor trafficking by impeding late endosomal budding through decreasing Rab7 activity [J]. *Hum Mol Genet*, 2014, 23(25): 6 779–6 796.
- [34] Dodson MW, Leung LK, Lone M, et al. Novel ethyl methanesulfonate (EMS)-induced null alleles of the *Drosophila* homolog of LRRK2 reveal a crucial role in endolysosomal functions and autophagy in vivo [J]. *Dis Model Mech*, 2014, 7(12): 1 351–1 363.
- [35] Cui Y, Yang Z, Teasdale RD. The functional roles of retromer in Parkinson's disease [J]. *FEBS Lett*, 2017.
- [36] MacLeod DA, Rhinn H, Kuwahara T, et al. RAB7L1 interacts with LRRK2 to modify intraneuronal protein sorting and Parkinson's disease risk [J]. *Neuron*, 2013, 77(3): 425–439.
- [37] Barbero P, Bittova L, Pfeffer SR. Visualization of Rab9-mediated vesicle transport from endosomes to the trans-Golgi in living cells [J]. *J Cell Biol*, 2002, 156(3): 511–518.
- [38] Gandhi PN, Wang X, Zhu X, et al. The Roc domain of leucine-rich repeat kinase 2 is sufficient for interaction with microtubules [J]. *J Neurosci Res*, 2008, 86(8): 1 711–1 720.
- [39] Gillardon F. Leucine-rich repeat kinase 2 phosphorylates brain tubulin-beta isoforms and modulates microtubule stability—a point of convergence in parkinsonian neurodegeneration? [J]. *J Neurochem*, 2009, 110(5): 1 514–1 522.

帕金森病与肠道菌群关系的研究进展

刘晨曦 许二赫 毛薇 陈彪

【关键词】 帕金森病; 益生元; 肠道菌群; 益生菌; 综述

doi: 10.3969/j.issn.1009-6574.2017.12.007

Progress of relationship between Parkinson disease and gut microbiota LIU Chen-xi, XU Er-he, MAO Wei, et al. Department of Neurology, Xuanwu Hospital, Capital Medical University, Beijing Institute of Geriatrics, National Clinical Research Center for Geriatrics Disorders, Beijing 100053, China

【Key words】 Parkinson disease; Prebiotics; Gut microbiota; Probiotics; Review

神经变性疾病大多以特定蛋白的异常聚集为特点, 而异常蛋白聚集的成因一直没有被阐明^[1]。不仅如此, 在不同神经变性疾病中, 异常蛋白沉积往往有其特征性的发展顺序。与这种病理上的蔓延同步, 疾病的表型从最轻微的前驱症状到典型症状, 再发展到晚期多脑区功能受累。以阿尔茨海默病和帕金森病(PD)为例, 在脑中, 前者的异常蛋白A β 遵循“从上到下”的发展顺序, 而其tau蛋白以及后者的 α -突触核蛋白则“由下而上”地发展^[2]。动物实验发现,

在特定脑区注射的异常蛋白可在脑中播散至距离较远的其他区域^[2-3], 这种现象被描述为“朊蛋白样”的传播, 是神经变性疾病发展的重要机制。也就是说, 疾病的发展在空间上是有序的, 如同多米诺骨牌, 一旦启动就会循着一定的顺序扩散开去。这样一来, 找到多米诺骨牌的起点就变得十分重要。这种有序的空间模式的起点在哪里, 疾病又是通过什么机制启动的, 回答这些问题对认识神经变性疾病, 乃至找到有效的治疗方案都十分关键。

1 结构基础: 肠道菌群和脑的联系

在哺乳动物中, 脑和肠道看似相距较远, 却均起源于早期胚胎的神经嵴^[4]。共同的胚胎起源提示这两个器官之间存在内在联系。近年研究发现, 在胚胎发育早已完善的成年人中, 脑和肠道之间亦存在密切的双向联系。肠道中存在的大量共生菌也参与两者间的沟通。肠道菌群、肠神经系统及中枢神经

基金项目: 国家重点研发计划重大慢性非传染性疾病防控研究重点专项(2017YFC1310202); 北京市医院管理局“使命”计划专项经费资助项目(SML20150803); 北京市科学技术委员会资助项目(Z161100000216140, Z171100000117013)

作者单位: 100053 首都医科大学宣武医院神经内科 北京市老年病医疗研究中心 国家老年疾病临床医学研究中心

通讯作者: 许二赫 Email: xuerhe@163.com; 陈彪 Email: pbchan90@gmail.com

- [40] Esteves AR, G-Fernandes M, Santos D, et al. The Upshot of LRRK2 Inhibition to Parkinson's Disease Paradigm[J]. Mol Neurobiol, 2015, 52(3): 1 804-1 820.
- [41] Lin X, Parisiadou L, Gu XL, et al. Leucine-rich repeat kinase 2 regulates the progression of neuropathology induced by Parkinson's-disease-related mutant alpha-synuclein[J]. Neuron, 2009, 64(6): 807-827.
- [42] Law BM, Spain VA, Leinster VH, et al. A direct interaction between leucine-rich repeat kinase 2 and specific beta-tubulin isoforms regulates tubulin acetylation[J]. J Biol Chem, 2014, 289(2): 895-908.
- [43] Reed NA, Cai D, Blasius TL, et al. Microtubule acetylation promotes kinesin-1 binding and transport[J]. Curr Biol, 2006, 16(21): 2 166-2 172.
- [44] Meixner A, Boldt K, Van Troys M, et al. A QUICK screen for Lrrk2 interaction partners-leucine-rich repeat kinase 2 is involved in actin cytoskeleton dynamics[J]. Mol Cell Proteomics, 2011, 10(1): M110 001172.
- [45] Parisiadou L, Cai H. LRRK2 function on actin and microtubule dynamics in Parkinson disease[J]. Commun Integr Biol, 2010, 3(5): 396-400.
- [46] Jaleel M, Nichols RJ, Deak M, et al. LRRK2 phosphorylates moesin at threonine-558: characterization of how Parkinson's disease mutants affect kinase activity[J]. Biochem J, 2007, 405(2): 307-317.
- [47] Parisiadou L, Xie C, Cho HJ, et al. Phosphorylation of ezrin/radixin/moesin proteins by LRRK2 promotes the rearrangement of actin cytoskeleton in neuronal morphogenesis[J]. J Neurosci, 2009, 29(44): 13 971-13 980.
- [48] Caesar M, Felk S, Aasly JO, et al. Changes in actin dynamics and F-actin structure both in synaptoneurosome of LRRK2(R1441G) mutant mice and in primary human fibroblasts of LRRK2(G2019S) mutation carriers[J]. Neuroscience, 2015, 284: 311-324.

(收稿日期: 2017-11-06)