doi:10.11659/jjssx.08E018115

·综 述·

Tau 蛋白及其异常磷酸化在肌萎缩侧索硬化症中的研究进展

吴虹辰,胡 俊 (陆军军医大学第一附属医院神经内科,重庆 400038)

[摘 要] 肌萎缩侧索硬化症是一种以脊髓前角和大脑皮层运动神经元死亡为病理特征,表现为上、下运动神经元损害症状的运动神经元病。Tau 蛋白是脑内非常重要的微管相关蛋白,其异常磷酸化在神经退行性疾病中起重要的作用。过度磷酸化的 Tau 蛋白不但影响 Tau 蛋白与微管的结合能力,而且还能影响其他微管集合蛋白与微管的结合能力,进而导致神经元和皮质轴突的病理性改变,发生神经元退变。已有研究表明,在肌萎缩侧索硬化症的病理过程中,Tau 蛋白的过度磷酸化可能是疾病过程的关键事件。对 Tau 蛋白的相关功能及调控机制进行深入的研究可能为 ALS 的发病机制增加新的理论基础,为该病的治疗提供新的靶点。

[关键词] 蛋白质;Tau;异常磷酸化;肌萎缩侧索硬化;微管相关蛋白;脊髓前角;运动神经元病

[中图分类号] R310.11 [文献标识码] A [收稿日期] 2018-08-30

Progress of Tau and its abnormal phosphorylation in amyotrophic lateral sclerosis

WU Hong-chen, HU Jun (Department of Neurology, First Hospital Affiliated to Army Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective Amyotrophic lateral sclerosis (ALS) is a motor neuron disease characterized by the death of motor neurons in the anterior horn of the spinal cord and cerebral cortex. The clinical features were upper and lower motor neuron damage symptoms. Tau protein is an important microtubule-associated protein in the brain, and its abnormal phosphorylation plays an important role in neurodegenerative diseases. Hyperphosphorylation of Tau protein not only affects the binding ability of Tau protein to microtubules, but also affects the binding ability of other microtubule collecting proteins to microtubules. It will lead to pathological changes of neurons and cortical axons and eventually neuron degeneration. Some studies suggestted that Tau hyperphosphorylation may play a key role in the pathogenesis of amyotrophic lateral sclerosis. Further study on the relative function and regulation mechanism of Tau protein may provide a new theoretical basis for the pathogenesis of ALS and provide a new target for the treatment of the disease.

Keywords: protein; Tau; abnormal phosphorylation; amyotrophic lateral sclerosis; microtubule-associated protein; spinal anterior horn; motor neuron disease

肌萎缩侧索硬化症(amyotrophic lateral sclerosis, ALS),俗称渐冻人症,与癌症和艾滋病并列,为世界卫生组织列出的五大绝症之一[1]。目前除了利鲁唑能延缓病情进展外,尚无其他有效的治疗方法。ALS 的具体致病机制目前尚不清楚,有研究表明,超氧化物歧化酶 1(superoxide dismutase 1, SOD1)基因突变是导致 ALS 的原因之一[2]。关于突变后 SOD1 基因导致的细胞毒性作用机制,目前存在众多的理论,包括氧化应激、轴突转运损伤、线粒体功能异常、细胞兴奋性毒性作用等机制,但均不能完全解释 SOD1 导致 ALS 的发病过程[2-5]。近年来有研究认为,在多种神经退行性疾病(包括 ALS 在内)的致病过程中,Tau(Tubulin-associated unit)蛋白的异常磷酸化是关键事件之一[1,6]。有研究发现 SOD1 对 Tau 蛋白的过度磷酸化和毒性作用有调节作用[7]。因此,Tau 蛋白在 ALS 发病过程中的作用逐渐得到重视,成为研究的热点之一。本文就 Tau 蛋白磷酸化在 ALS 中的研究进展综述如下。

1 ALS 概述

ALS 是一种成年起病、进展迅速的神经变性疾病,以大脑运动皮层和脊髓中的运动神经元变性为病理特征。临床症状包括肌肉无力、行走丧失、手臂和手功能丧失、言语困难,最后导致呼吸肌衰竭而死亡,患者的平均生存期为 2~5 年[8]。近来的研究发现,ALS 患者的病变组织中蓄积有大量不溶性蛋白质聚集体,进而影响微管依赖的轴突运输、干扰细胞内正常蛋白质的代谢,最终导致细胞死亡[9-11]。这些研究提示蛋白质的异常聚集可能是 ALS 的重要发病机制之一。同时,有研究证实多种神经系统变性疾病,包括阿尔茨海默病(alzheimer's disease, AD)、Huntington 舞蹈病(huntington's disease, HD)、唐氏综合征(down syndrome)和帕金森病(parkinson's disease, PD)和 ALS 等

[基金项目] 重庆市自然科学基金(cstc2016jcyjA2163);第三军医大学附属西南医院院管课题(SWH2016LHJC-08)

[通信作者] 胡 俊,E-mail:hujuncq@163.com.

多种神经变性疾病可能具有共同的致病机制,具有相似的病理生理学特点和细胞死亡方式(均为凋亡),均在病灶中发现不溶性蛋白质沉积[12-13]。有研究表明,这些不溶性蛋白沉积物正是 Tau 蛋白沉积所致[14]。

2 Tau 蛋白功能

Tau 蛋白是一种微管相关蛋白,主要存在于神经元轴突中[15]。同时还存在于少突胶质细胞和星形胶质细胞中,在这些细胞中的功能和神经元中的功能相似[16]。人类 Tau 基因位于 17q21 染色体上,全长大约 133.9 kb,至少包括 16 个外显子[17]。其生物学功能是诱导促进微管蛋白聚合成微管和防止微管解聚,维持微管结构的稳定性,从而维持正常神经细胞的形态结构及其功能[18]。这种稳定性是神经细胞胞体与轴突间正常传输营养物质的基础。此外,Tau 蛋白还在细胞内的信号传导、调节神经元的可塑性、细胞周期的调控上起到重要作用[16]。Tau 蛋白主要包括 4 个区域:N-末端的酸性区域、C-末端区域、富脯氨酸区域及由 9-12 号外显子编码的微管结合域(MBDs),该区域包括了 4 个不完全的 18-氨基酸重复序列-R1、R2、R3、R4。N-末端结构域的作用是维持微管之间的间距。富含脯氨酸结构域在细胞信号转导和蛋白激酶相互作用中起着重要作用。微管结合结构域的作用是能够促进 Tau 蛋白与微管的结合。C 末端结构域在微管聚合中起着重要的调控作用[19]。Tau 蛋白与微管的结合非常重要,这种结合可以诱导 Tau 蛋白发生构象变化。通过质子光谱法发现,生理状态下 Tau 蛋白天然展开,并不具有任何二级结构,如 α-螺旋或 β-折叠。而在病理状态下,Tau 蛋白发生过度磷酸化和异常聚集,并且具有 β 样折叠结构[20]。

Tau 蛋白的翻译后修饰包括磷酸化、糖基化、糖化、泛素化、硝化、去顶端等等。在正常人脑中,每分子 Tau 蛋白修饰有 2 ~ 3 分子的磷酸基团,Tau 蛋白磷酸化和去磷酸化之间的平衡调节起着调节细胞骨架稳定性,影响轴突形态的作用。Tau 蛋白的过度磷酸化导致 Tau 蛋白与微管的结合受损,从而导致微管功能失调,进而影响轴突运输,最后导致细胞结构和功能异常。但在病理情况下,如神经退行性变时,Tau 蛋白发生异常磷酸化,每个分子连接有 9 ~ 10 个磷酸基团。目前在 Tau 蛋白上至少已经发现 45 个磷酸化位点,其中大部分是丝氨酸残基(Ser)和苏氨酸残基(Thr),其中约有一半是以 Ser 或 Thr 后续脯氨酸(Pro)的连接形式存在。这些磷酸化位点主要分布于 Tau 蛋白重复区附近的两个侧区内,而在重复区内的磷酸化位点只有 Ser 262 和 Ser 356。但是目前还有研究指出,Tau 蛋白的过度磷酸化是由于磷酸化的 Tau 序列比例增加,而不是每个 Tau 序列上磷酸化表位数目的增加所致[21]。

目前在成年大脑中至少发现存在 6 种不同的 Tau 蛋白亚型。这 6 种亚型中有 3 种来自于 Tau 基因中 3 种不同的 N-末端外显子的选择性剪接:exon 2,exon 3,exon 10。其中有 3 种是由于 exon 10 的不同剪接,有 4 个重复的微管结合结构域(Tau isoform with 4 repeats in the microtubule-binding domain,4R 亚型),而其他 3 种异构体是 exon 10 剪接的不同结果,有 3 个重复的微管结合结构域(Tau isoform with 3 repeats in the microtubule-binding domain,3R 亚型)。在健康人脑中,4R 亚型与 3R 亚型的比例是基本一样的。但是在原发性 Tau 病中,一些是 4R 亚型占优势(4R Tau 病),一些是 3R 亚型占优势(3R Tau 病),还有一些是 4R 亚型和 3R 亚型近似相等混合(3R +4R Tau 病)。

3 Tau 蛋白过度磷酸化后的神经毒性

目前关于翻译后修饰 Tau 蛋白的异常过度磷酸化的研究最为广泛。过度磷酸化的 Tau 蛋白堆积是神经原纤维缠结构成过程中最早期细胞骨架改变之一,可能是在细胞受到某些不良刺激后,使神经细胞进入退行性变性的共同机制。研究表明,可能是蛋白激酶和磷酸化酶的调节异常导致了 Tau 蛋白的异常磷酸化[22]。已经证实,不同蛋白激酶和磷酸化酶系统对 Tau 蛋白的过度磷酸化作用能引发 Tau 蛋白的结构和构型改变,进而影响它与微管蛋白结合,微管聚合能力下降[21]。这一病理机制在 Tau 病中起到了重要的作用。过度磷酸化的 Tau 蛋白失去了其生物学功能,具有高度的聚集倾向,从而形成成对螺旋纤维细丝(paired helical filament,PhF)、直纤维丝(SF)等聚集物,并进一步形成诸多神经退行性疾病的典型病理学表现:神经纤维缠结(NFT)[4,22]。过度磷酸化的 Tau 蛋白不但影响 Tau 蛋白与微管的结合能力,而且还能影响其他微管集合蛋白与微管的结合能力,从而导致微管及细胞骨架功能紊乱,微管结构崩解,阻碍轴索的运输作用[23],进而导致神经元和皮质轴突的病理性改变,发生神经元退变。

现已证实,Tau 磷酸化受到一系列激酶的调节,包括:MAPK(MAP/微管亲和力调节激酶),Par-1,JNK 和 PKA 等[24]。还有研究发现,在一系列的神经变性疾病中(如 AD,Pick 病,进行性核上性麻痹,唐氏综合征和 ALS),过度磷酸化的一些磷酸化特异性抗血清标记包

括 AT8、AT180 和 PHF-1 等[25]。

4 Tau 蛋白与 ALS

目前认为,Tau 蛋白的异常过度磷酸化是 AD、ALS、PD 等神经退行性疾病致病过程中的关键事件。在 ALS 患者的脑病理切片研究中进一步发现,星型细胞玻璃样包涵体中有 Tau 蛋白聚集。在 ALS 转基因小鼠模型的研究中发现,在亚临床阶段即有 Tau 蛋白的异常聚集。而新的研究结果表明,Tau 45-230 对 ALS 的病情进展有促进作用[26]。

由于 Tau 蛋白是一种细胞内蛋白,因此当细胞外或脑脊液中出现多量的 Tau 蛋白,则可能提示皮质轴突的退化和神经元的死亡。脑脊液 Tau 含量仍可作为 AD 等神经退行性疾病的诊断和评定病情程度的一个重要指标。Tau 蛋白与 AD、FTD 等神经退行性疾病的相关性已得到证实,但其与 ALS 的关系及作用机制尚不清楚。一项大规模的临床研究发现,引起额颞叶痴呆的 Tau 编码基因 MAPT 的变异并不与 ALS 相关,而且 SOD1 小鼠研究中也发现 Tau 蛋白的表达水平不会影响小鼠的运动功能而出现类似人类 ALS 样的表现[27]。值得注意的是,虽然研究证实脑脊液中 Tau 蛋白含量过高提示存在诸如 AD、FTD 等神经退行性疾病可能,还有研究发现,伴随认知功能障碍的 ALS(ALSci)的神经元和胶质细胞中存在的过度磷酸化的 Tau 蛋白沉积物。但在对比了散发性 ALS 患者和正常人群的脑脊液 Tau 含量后发现,两者并无显著差异。因此脑脊液 Tau 尚不能作为诊断 ALS 的标记物[28]。由于 Tau 蛋白多位于大脑额叶、颞叶、海马和嗅区神经元以及外周神经的轴突内。因此 Tau 蛋白异常多表现为认知功能障碍[29]。由于目前的研究结果不一致,因此 Tau 蛋白的异常是否与 ALS 或者 ALS 的部分特殊类型有关,尚有待进一步研究证实。

在一项对两种特殊类型的 ALS 和 PDC 的研究中发现,Tau 基因多态性和肌萎缩侧索硬化-帕金森痴呆叠加综合征(ALS-PDC-G)存在于西太平洋关岛查摩洛人群中的两个特别的 Tau 病:被命名为 ALS-G 的肌萎缩侧索硬化的罕见型,以及被命名为 PDC-G 的帕金森痴呆叠加综合征。两个疾病都以脊髓和大脑中的神经原纤维缠结为神经病理特点。由于 ALS-G 和 PDC-G临床与病理相似,并同存在于关岛,这两类综合征可能被证实为同一种疾病即 ALS 的不同表现型。同时,在这两类 ALS 的变异型中,116507(TG) n 多态性的连锁平衡分析发现两病例组中 H1 和 H2 单倍型的频率与对照组相比,并无显著性差异[30]。并且该研究后续新的研究结果发现,在纳入 18 例 ALS/PDC 的临床研究表明,在患者的星型胶质细胞中发现 Tau 蛋白的异常表达[31]。

SOD1 突变被认为是 ALS 的致病因素之一,但是目前对 SOD1 的致病机制尚不清楚。因此通过对突变 SOD1 导致 ALS 的深入研究,有可能揭示这些神经系统变性疾病的发病机制,为其治疗和预防打下理论基础。有研究证实,SOD1 增强了 Tau 的过度磷酸化和毒性作用,从而导致果蝇模型出现比如生存期缩短、运动能力下降、更严重的神经变性等改变。而 Tau(S2A)由于失去了磷酸化能力,所以对 SOD1 的这种作用不产生反应[9]。因此,SOD1 和 Tau 毒性作用之间可能存在联系,可能是 ALS 的致病机制之一。但是目前对这种机制的具体情况还不了解。

5 总结

综上所述,Tau 蛋白参与了很多的神经变性疾病的病理过程,Tau 过度磷酸化增强了其毒性作用,导致微管功能障碍,最终导致细胞结构和功能障碍,进而出现凋亡。而在 ALS 患者的运动神经元胞浆中发现存在不溶性沉积物,有研究表明,这些沉积物不但有 Tau 蛋白沉积物,还有 SOD1 蛋白等其他蛋白的沉积[31]。因此我们推测:Tau 蛋白异常磷酸化,聚合成不溶性的蛋白质沉积,从而使得神经元死亡。需要进一步研究 Tau 蛋白磷酸化造成神经元损害的机制,明确其在 ALS 发病中是否具有普遍性,为 ALS 的发病机制增加新的理论基础,为该病的治疗提供新的靶点。

[参考文献]

[1] Hanger DP, Anderton BH, Noble W. Tau phosphorylation: the therapeutic challenge for neurodegenerative disease [J]. Trends Mol Med, 2009,15(3):112-119. doi:10.1016/j.molmed.2009.01.003.

[2] Morgan S, Orrell RW. Pathogenesis of amyotrophic lateral sclerosis [J]. Br Med Bull,2016,119(1):87-98. doi:10.1093/bmb/ldw026.

[3] Kiskinis E, Sandoe J, Williams LA, et al. Pathways disrupted in human als motor neurons identified through genetic correction of mutant sod1[J]. Cell stem cell, 2014,14(6):781-795. doi:10.1016/j.stem.2014.03.004.

[4] Alavi Naini SM, Soussi-Yanicostas N. Tau hyperphosphorylation and oxidative stress, a critical vicious circle in neurodegenerative tauopathies? [J]. Oxid Med Cell Longev, 2015, 2015: 151979. doi: 10.1155/2015/151979.

[5] Palomo GM, Manfredi G. Exploring new pathways of neurodegeneration in als: the role of mitochondria quality control[J]. Brain Res, 2015, 1607:36-46. doi:10.1016/j.brainres.2014.09.065.

[6] Tafuri F, Ronchi D, Magri F, et al. SOD1 misplacing and mitochondrial dysfunction in amyotrophic lateral sclerosis pathogenesis[J]. Front Cell Neurosci, 2015,9:336. doi:10.3389/fncel.2015.00336.

[7] Dimitriadi M, Kye MJ, Kalloo G, et al. The neuroprotective drug riluzole acts via small conductance Ca^{2+}-activated K^+ channels to ameliorate defects in spinal muscular atrophy models[J]. J Neurosci, 2013, 33(15):6557-6562. doi:10.1523/JNEUROSCI.1536-12.2013.

[8] Bakota L, Ussif A, Jeserich G, et al. Systemic and network functions of the microtubule-associated protein tau: implications for tau-based therapies [J]. Mol Cell Neurosci, 2017, 84:132-141. doi:10.1016/j.mcn.2017.03.003.

[9] Huang Y, Wu Z, Zhou B. hSOD1 promotes tau phosphorylation and toxicity in the drosophila model[J]. J Alzheimers Dis, 2015, 45(1): 235-244. doi:10.3233/JAD-141608.

[10] Sirangelo I, Iannuzzi C. The role of metal binding in the amyotrophic lateral sclerosis-related aggregation of copper-zinc superoxide dismutase [J]. Molecules, 2017, 22(9). doi: 10.3390/molecules22091429.

[11] Furukawa Y, Tokuda E. Aggregation of fet proteins as a pathological change in amyotrophic lateral sclerosis[J]. Adv Exp Med Biol, 2017, 925:1-12. doi:10.1007/5584_2016_32.

[12] Spires-Jones TL, Attems J, Thal DR. Interactions of pathological proteins in neurodegenerative diseases[J]. Acta Neuropathol, 2017, 134(2):187-205. doi:10.1007/s00401-017-1709-7.

[13] Goedert M, Spillantini MG. Pathogenesis of the tauopathies[J]. Journal of Molecular Neuroscience, 2011, 45(3):425-431. doi:10.1007/s12031-011-9593-4.

[14] Pérez MJ, Jara C, Quintanilla RA. Contribution of Tau pathology to mitochondrial impairment in neurodegeneration[J]. Front Neurosci, 2018, 12:441. doi:10.3389/fnins.2018.00441.

[15] Kempf M, Clement A, Faissner A, et al. Tau binds to the distal axon early in development of polarity in a microtubule- and microfilament-dependent manner[J]. J Neurosci, 1996, 16(18):5583-5592.

[16] Josephs KA. Current understanding of neurodegenerative diseases associated with the protein Tau[J]. Mayo Clin Proc, 2017, 92(8):1291-1303. doi:10.1016/j.mayocp.2017.04.016.

[17] Neve RL, Harris P, Kosik KS, et al. Identification of cdna clones for the human microtubule-associated protein tau and chromosomal localization of the genes for tau and microtubule-associated protein 2[J]. Brain Res, 1986, 387(3):271-280.

[18] Weingarten MD, Lockwood AH, Hwo SY, et al. A protein factor essential for microtubule assembly[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1975, 72(5):1858-1862.

[19] Arendt T, Stieler JT, Holzer M. Tau and tauopathies[J]. Brain Res Bull, 2016, 126(Pt3):238-292. doi:10.1016/j.brainresbull.2016.08.018.

[20] Jeganathan S, von Bergen M, Mandelkow EM, et al. The natively unfolded character of Tau and its aggregation to Alzheimer-like paired helical filaments[J]. Biochemistry, 2008, 47(40):10526-10539. doi:10.1021/bi800783d.

[21] Morris M, Knudsen GM, Maeda S, et al. Tau post-translational modifications in wild-type and human amyloid precursor protein transgenic mice[J]. Nat Neurosci, 2015, 18(8):1183-1189. doi:10.1038/nn.4067.

[22] Šimić G, Babić Leko M, Wray S, et al. Tau protein hyperphosphorylation and aggregation in alzheimer's disease and other tauopathies, and possible neuroprotective strategies[J]. Biomolecules, 2016, 6(1):6. doi:10.3390/biom6010006.

[23] Xia D, Li C, Götz J. Pseudophosphorylation of Tau at distinct epitopes or the presence of the p301l mutation targets the microtubule-associated protein tau to dendritic spines[J]. Biochim Biophys Acta, 2015, 1852(5):913-924. doi:10.1016/j.bbadis.2014.12.017.

[24] Moszczynski AJ, Hintermayer MA, Strong MJ. Phosphorylation of threonine 175 tau in the induction of Tau pathology in amyotrophic lateral sclerosis-frontotemporal spectrum disorder (als-ftsd). A review[J]. Front Neurosci, 2018, 12:259. doi:10.3389/fnins.2018.00259.

[25] Hokkanen SRK, Hunter S, Polvikoski TM, et al. Hippocampal sclerosis, hippocampal neuron loss patterns and tdp-43 in the aged population[J]. Brain Pathol, 2018, 28(4):548-559. doi:10.1111/bpa.12556.

[26] Vintilescu CR, Afreen S, Rubino AE, et al. The neurotoxic Tau45-230 fragment accumulates in upper and lower motor neurons in amyotrophic lateral sclerosis subjects[J]. Mol Med, 2016, 22: 477-486. doi:10.2119/molmed.2016.00095.

[27] Sundar PD, Yu CE, Sieh W, et al. Two sites in the mapt region confer genetic risk for guam ALS/PDC and dementia[J]. Hum Mol Genet, 2006, 16(3):295-306. doi:10.1093/hmg/ddl463.

[28] Mattsson N, Eriksson O, Lindberg O, et al. Effects of APOE ε4 on neuroimaging, cerebrospinal fluid biomarkers, and cognition in prodromal Alzheimer's disease[J]. Neurobiol Aging, 2018, 71:81-90. doi:10.1016/j.neurobiolaging.2018.07.003.

[29] Gohar M, Yang W, Strong W, et al. Tau phosphorylation at threonine-175 leads to fibril formation and enhanced cell death: Implications for amyotrophic lateral sclerosis with cognitive impairment[J]. J Neurochem, 2009, 108(3):634-643. doi:10.1111/j.1471-4159.2008.05791.x.

[30] Poorkaj P, Tsuang D, Wijsman E, et al. Tau as a susceptibility gene for amyotropic lateral sclerosis-parkinsonism dementia complex of guam [J]. Arch Neurol, 2001, 58(11):1871-1878.

[31] Mimuro M, Yoshida M, Kuzuhara S, et al. Amyotrophic lateral sclerosis and parkinsonism-dementia complex of the hohara focus of the kii peninsula: A multiple proteinopathy? [J]. Neuropathology, 2018, 38(1):98-107. doi:10.1111/neup.12434.

(编辑:魏 源)