



## 内质网应激中 GRP78 和 ATF4-CHOP-Puma 信号通路 与帕金森病的关系及其治疗靶点的研究进展

王 琪 段冷昕

河南科技大学医学院, 洛阳, 471003, 中国

**【摘要】** 内质网是真核细胞中重要的细胞器之一, 与维持细胞稳态关系密切。当缺乏葡萄糖、缺氧、体内钙平衡紊乱或者发生氧化应激时, 会引起细胞内未折叠蛋白或错误折叠蛋白的积累, 导致内质网应激。帕金森病是一种慢性进行性脑变性疾病, 典型的病理变化是黑质纹状体多巴胺能神经细胞变性丢失导致的多巴胺神经递质缺乏。目前对帕金森病的治疗多为缓解症状, 但不能阻止疾病的进展。通过对内质网应激中的信号通路的研究发现: 在帕金森病的发病过程中, 多巴胺能神经元的选择性死亡与内质网应激有关。内质网应激过程中的中心调节因子: 葡萄糖调节蛋白 78 (glucose regulated protein 78, GRP78) 及其下游 ATF4-CHOP-Puma 信号通路与帕金森病的发病过程有密切的联系, 本文对 GRP78 及其下游 ATF4-CHOP-Puma 信号通路近些年来的研究进展进行综述, 以期对帕金森病的治疗提供新的靶点和思路。

**【关键词】** 内质网应激; 信号转导通路; 帕金森病; 葡萄糖调节蛋白 78; ATF4-CHOP-Puma

**【中图分类号】** R964      **【文献标识码】** A      **文章编号** 2095-1396(2013)03-0019-008

## Progress on the Involvement of GRP78 and ATF4 – CHOP – Puma Signaling Pathway in Endoplasmic Reticulum Stress and Parkinson's Disease

WANG Qi, DUAN Leng-xin

Medical College, Henan University of Science and Technology, Luoyang, 471003, China

**【ABSTRACT】** Endoplasmic reticulum is one of the important organelles in eukaryotic cells, and it is closely related to the cellular homeostasis state. Glucose shortage, hypoxia, calcium imbalance and oxidative stress all can lead to the accumulation of unfolded or misfolded proteins in the cells, which will lead to endoplasmic reticulum stress. Parkinson's disease is a chronic progressive neurodegenerative disease, with the typical pathological changes being the lack of the neurotransmitter dopamine resulting from the degeneration and loss of the dopaminergic nerve cells in the substantia nigra striatum. Current treatments of Parkinson's disease is to relieve the symptoms rather than prevent the progression of the disease. Recent research suggests that the selective death of dopaminergic neurons is associated with endoplasmic reticulum stress in the process of the Parkinson's disease. The central modulating factors of endoplasmic reticulum stress, i.e. glucose regulated protein 78 (GRP78) and the downstream ATF4-CHOP-Puma signaling pathway, are closely linked to the progress of the Parkinson's disease. This review summarized recent developments of the GRP78 and its downstream ATF4-CHOP-Puma

基金项目: 国家自然科学基金项目 (No.U1204826), 河南省卫生厅科技攻关项目 (No.200903110)

作者简介: 王琪, 女, 在读硕士生, E-mail: 765006812@qq.com

通讯作者: 段冷昕, 博士, 硕士生导师; 研究方向: 神经药理学方面基础研究; E-mail: lengxinduan@163.com

signaling pathways, in the hope of providing information for the potential new targets in the treatment of Parkinson's disease.

**【KEY WORDS】** endoplasmic reticulum stress(ERS); signal transduction pathway; Parkinson's disease (PD); glucose regulated protein, 78 (GRP78); ATF4-CHOP-Puma

随着凋亡机制研究的深入,细胞凋亡的诱导或抑制在疾病治疗领域呈现越来越重要的作用。近年来,有许多的研究发现细胞的凋亡途径除了经典的死亡受体途径和线粒体途径外,内质网可能是细胞内诱导凋亡新的重要场所,提出内质网应激(endoplasmic reticulum stress, ERS)引起的反应性凋亡是一种新的细胞凋亡途径。国内外有许多研究都证明了ERS在细胞凋亡过程中的重要作用。本文对ERS中的调节因子葡萄糖调节蛋白78(glucose regulated protein 78, GRP78)及其下游ATF4-CHOP-Puma信号通路在神经元死亡中的作用进行总结,说明在帕金森病(Parkinson's disease, PD)的发生发展中,多巴胺能神经元的死亡与内质网应激关系紧密,为今后PD的临床治疗提供一个新策略。

## 1 内质网应激及其信号通路

### 1.1 内质网应激和非折叠蛋白反应

内质网是真核细胞中蛋白质合成、糖基化、折叠与分泌的重要细胞器。在正常的细胞中,内质网拥有极强的内稳态体系,这与内质网功能的实现有密切的关系。ERS就是内质网功能的内稳态失衡。许多因素,如:葡萄糖的缺乏、缺氧、体内钙平衡紊乱或者氧化应激均会引起细胞内未折叠蛋白或错误折叠蛋白的积累,从而导致ERS。当发生ERS时,细胞通过激活一系列的信号通路做出防御反应来应对未折叠蛋白或错误折叠蛋白的积累,称为非折叠蛋白反应(unfolded protein response, UPR)<sup>[1]</sup>。UPR是生物进化过程中保留下来的一种相对保守的,具有保护作用的细胞应答。在ERS发生初期或者发生较轻的ERS时,UPR的发生能提高蛋白质的折叠能力、停滞大多数蛋白质的翻译或者将异常蛋白转运至内质网相关降解系统(endoplasmic reticulum associated degradation systems, ERAD)而被泛素-蛋白酶体所降解,从而减少了内质网中异常蛋白质的堆积,缓解了内质网受迫情况,重新建立内质网环境的平衡。当发生强烈或者持续性ERS时,内质网受压超出了细胞自身调节范围,细胞将启动caspase-12依赖的细胞凋亡程序,最终导致细胞死亡<sup>[2-3]</sup>。

目前有研究表明,ERS诱发的神经细胞凋亡与PD的发病有着密切的关系。

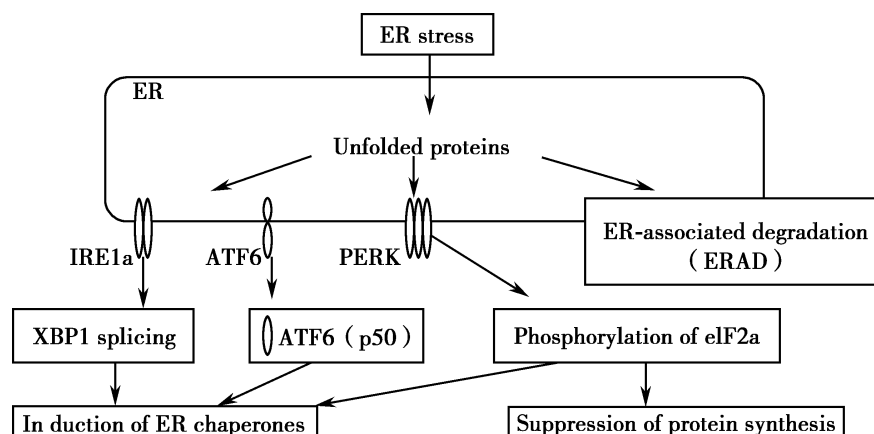
### 1.2 内质网应激介导的细胞生存途径

在正常情况下,葡萄糖调节蛋白与内质网跨膜蛋白(GRP78/BIP)结合,抑制了内质网跨膜蛋白的聚合,使其处于非活化状态。当ERS发生时,GRP78从内质网跨膜蛋白上释放出来,跨膜蛋白发生聚合,最终触发UPR<sup>[4]</sup>。内质网跨膜蛋白有:双链RNA依赖的蛋白激酶样内质网激酶(PKR-like ER kinase, PERK)、激活作用转录因子6(artificial transcription factor 6, ATF6)和1型跨膜蛋白激酶(inositol requirement 1, IRE1)。PERK, IRE-1, ATF6是ERS的三条信号通路的重要分子,通过这些信号通路的激活,促进了蛋白质的正确折叠,细胞正常生理功能得以维持(Fig.1)<sup>[6]</sup>。

IRE1 $\alpha$ 是内质网I型跨膜蛋白,具有丝/苏氨酸蛋白激酶和位点特异的核酸内切酶活性。当IRE1 $\alpha$ 解离后,发生自身二聚化和磷酸化而激活。激活的IRE1 $\alpha$ 能从X盒结合蛋白1(X box-binding protein-1, XBP-1)mRNA中特异性剪切26个碱基的内含子,剪切后的mRNA的开放阅读框因位移而发生改变,其编码产物XBP-1能促进GRP78/BIP的表达<sup>[5]</sup>。GRP78/BIP含有ERS反应元件(endoplasmic reticulum stress responsive element, ERSE),是UPR的靶分子,能激活UPR,以减轻或中止ERS反应,从而恢复细胞内环境稳态。

ATF6是内质网膜上的II型跨膜蛋白,是ATF/CREB转录因子家族中的一员。当发生ERS时,内质网腔内非折叠和错误折叠蛋白的堆积使ATF6与BIP分离,解除了BIP对高尔基定位信号的抑制作用,进而促使ATF6从内质网以囊泡转移的形式移至高尔基体,在高尔基体蛋白酶作用下被水解形成活性片段,通过调节相关基因的表达来缓解内质网压力。ATF6还能与IRE1 $\alpha$ 一起诱导XBP-1转录表达,进而使内质网中的蛋白质进行正确折叠。

PERK是一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,真核转录起始因子2 $\alpha$ (eIF2 $\alpha$ )家族的其他激酶底物与PERK的催化位点同源。PERK与GRP78解离后发生自身二聚化和磷酸化而激活,随后引起了eIF2 $\alpha$ 的磷酸化,使mRNA翻译的整体频率下降,减轻了内质网的负荷。活性转录因子4(ATF4)能够上调eIF2 $\alpha$ 磷酸化过程中的表达水平,促进细胞稳态的恢复。



**Fig.1 Cellular survival ways are mediated by ER stress, resulting from hypoxia and other factors, which leads to the accumulation of unfolded proteins that trigger the UPR**

There are three pathways in the UPR: the activation of IRE1α-XBP1, ATF6, and PERK-eIF2α induce the ER chaperones, the inhibition of protein synthesis by the phosphorylation of PERK-eIF2α, and ERAD.

### 1.3 内质网应激介导的凋亡信号通路

在适当的 ERS 发生时,内质网跨膜蛋白 PERK、ATF6 和 IRE1α 介导的信号通路能够启动细胞生存途径,从而恢复细胞稳态。然而严重或长时间的内质网应激损伤了内质网的功能时,PERK、ATF6 和 IRE1α 同样可以启动由 ERS 所介导的细胞凋亡信号通路,诱导细胞凋亡。但是这三个凋亡通路并不是直接引起细胞的凋亡,而是通过激活下游的凋亡信号分子如 GADD153/CHOP、JNK、caspase-12 及 GSK-3/β 来实现的。

GADD153/CHOP(growth arrest and DNA damage-inducible gene 153 /C/EBP homology protein)是一种细胞应激相关蛋白。作为 bZIP 蛋白样转录因子蛋白家族中的一员,CHOP 主要通过形成异源二聚体与靶基因结合发挥转录调控作用。在 ERS 过程中,CHOP 是一个重要的中间信号分子,可通过多种调节诱导细胞凋亡。PERK、ATF6 和 IRE1α 都能诱导 CHOP 的转录,而诱导 CHOP 蛋白表达的最主要途径为 PERK-eIF2α-ATF4 信号通路。此过程为:与 GRP78 解离的 PERK 因自身磷酸化和二聚化而激活,活化的 PERK 引起 eIF2α 发生磷酸化,最终诱导 ATF4 的转录翻译,ATF4 结合氨基酸反应元件(amino acid regulatory element, AARE)后转录激活 CHOP<sup>[2]</sup>。CHOP 的表达使 ERS 达到顶峰<sup>[7]</sup>。CHOP 通过上调凋亡相关基因:死亡因子 5(death factor, DR5)、Trb3、凋亡蛋白 Bim 和 Puma,促进细胞死亡。在一级皮层神经元中,ATF4-CHOP-Puma 信号通路在 ERS 诱导的神经元死亡中起到重要的作用。敲除 CHOP 能够削弱对 Puma 的诱导,减少神经元死亡<sup>[8]</sup>,进而说明 ERS 发生时 ATF4-CHOP-Puma 信号通路与 PD 中的神

经元死亡有关。

JNK 主要介导应激反应,所以又叫做应激激活蛋白激酶(stress-activated protein kinases, SAPK),属于丝裂原活化蛋白激酶家族。当发生 ERS 时,IRE1α 与 GRP78 解离后,IRE1α 发生自身磷酸化和二聚化而被激活,引起凋亡信号调节激酶(apoptosis signal regulating kinase, ASK1)及其下游底物 JNK 的活化。IRE1α-ASK1-JNK 信号通路既能激活凋亡蛋白 Bim 又能抑制抗凋亡蛋白 Bcl-2,最终引起细胞死亡。另外,混合谱系激酶复合物(mixed lineage kinases complex, MLK)是一种通过磷酸化作用激活 MAPK 通路的丝/苏氨酸蛋白激酶,其家族成员 MLK3 是 JNK 上游的一个重要的活化因子,能激活 MKK4/7 蛋白激酶,而启动 JNK 信号通路<sup>[9]</sup>,最终诱导了神经元的凋亡。

caspase-12 是半胱天冬氨酸家族中唯一一个存在于内质网而且仅在发生 ERS 时才能被激活的分子<sup>[10]</sup>,所以 caspase-12 是 ERS 过程中的标志性分子。caspase-12 的激活存在以下机制:①在 ERS 发生时,内质网腔内  $Ca^{2+}$  水平持续升高,诱导钙蛋白酶(calpain)活化,进而激活 caspase-12<sup>[11]</sup>;②激活的 IRE1 使 procaspase-12 与肿瘤坏死因子受体相关因子 2(tumor necrosis factor receptor-associated factor, TRAF2)解离形成二聚体,经寡聚化后自切割而形成有活化的 caspase-12;③caspase-7 在 ERS 时被激活,活化的 caspase-7 剪切 procaspase-12 使其变成有活性的 caspase-12,接着经过自切割而被激活<sup>[12]</sup>。活化的 caspase-12 贯序激活 caspase-9、caspase-3,进而启动 caspase 家族经典凋亡途径导致细胞凋亡的发生<sup>[13-14]</sup>。

## 2 帕金森病

### 2.1 帕金森病的特点

在中老年人当中,PD是一种常见的迟发性、程序性的运动障碍性疾病,也是常见的神经变质性疾病。发病特点包括运动迟缓、肌肉僵直、静止性震颤和姿势反射丧失等运动症状,也包括精神异常、睡眠障碍、自主神经功能障碍和感觉障碍等非运动症状。PD的病理特点是在中脑黑质致密部(substantia nigra pars compacta, SNC)中选择性的多巴胺能神经元的死亡,黑质色素变淡及神经元内路易小体(leywy body)的形成,最终引起纹状体中多巴胺(dopamine, DA)含量减少,当DA含量减少70%以上时,将产生PD临床表现。而黑质纹状体系统中与DA功能拮抗的乙酰胆碱(acetylcholine, ACh)作用相对亢进,即DA与ACh平衡失调,从而导致上述症状的出现。

PD主要是一类散在分布的疾病,据估计,有将近5~10%的病例为单基因遗传<sup>[15]</sup>。与常染色体隐性遗传的PD相关的基因有:Parkin(*PARK2*), PTEN诱导的蛋白激酶1(*PINK1*; *PARK6*), DJ-1(*PARK7*), 和ATP13A2(*PARK9*); 与常染色体显性遗传的PD相关的基因有: $\alpha$ -核突核蛋白( $\alpha$ -synuclein) (*PARK1/4*), 富含亮氨酸重复激酶2(*LRRK2*) (*PARK8*) 和泛素羧基末端水解酶L1(*UCHL-1*) (*PARK5*)<sup>[16]</sup>。此外,在对于日本和欧洲祖先的全基因组关联研究中发现*LRRK2*和 $\alpha$ -synuclein是散发型PD的常见危险因素<sup>[17-18]</sup>。

PD的发病原因多种多样,如:氧化应激、线粒体功能障碍、泛素蛋白酶系统损伤<sup>[19]</sup>,异常蛋白沉积等。除此之外,有动物实验和流行病学的结果认为PD的发病与遗传也有一定的关系。然而PD中多巴胺能神经元的选择性死亡的机制仍然不十分清楚,所以目前对于PD的治疗旨在恢复纹状体DA与ACh递质系统平衡,主要以抗胆碱能和改善多巴胺递质功能药物为主。但是这样的治疗手段只能改善症状,却不能阻止病情的自然进展<sup>[20]</sup>。

### 2.2 帕金森病与内质网应激的关系

在新西兰白兔的脑脊液中注入MPP<sup>+</sup>(1-甲基-4-苯基吡啶)后,可在兔脑的黑质中观察到DA神经元中酪氨酸羟化酶阳性的细胞减少,Grp78被激活,同时随着MPP<sup>+</sup>剂量的增加,内质网中的ATF6逐渐出现, JNK激酶通路以及CHOP和caspase-3也被激活。这表明了在新西兰白兔的PD模型中,可能出现ERS中的ATF6通路、PERK通路和IRE1通路<sup>[21]</sup>。利用百草枯(paraquat)建立的果蝇PD模型上,发现了XBP-1的过量表达,可以推论在PD动物模型中,存在ERS中的IRE1 $\alpha$ 通路<sup>[22]</sup>。在6-OHDA建立的PD模型上

可以观察到GRP78、CHOP、caspase-12表达的上调, eIF2 $\alpha$ 磷酸化的增多以及ATF4、CHOP等的mRNA发生了显著的上调<sup>[23-24]</sup>。在内源性毒素去甲猪毛菜碱(salsolinol)所造成的DA细胞系SK-N-SH的PD模型中, Salsolinol能引起蛋白质的错误折叠,同时细胞内BIP和CHOP表达升高并产生了磷酸化的PERK和eIF2 $\alpha$ 。说明发生了ERS和UPR<sup>[25]</sup>。在MN9D细胞系中,用MPP<sup>+</sup>处理所建造的PD模型中, PERK通路被明显激活,而用6-OHDA建造的模型中, IRE1、ATF6和PERK三条通路都有激活<sup>[26]</sup>。同样的,在PC12细胞系上,经MPP<sup>+</sup>和鱼藤酮处理所建造的PD模型主要通过PERK和IRE1两条通路,而6-OHDA建造的模型中则三条通路都激活<sup>[27]</sup>。在多巴胺能细胞SH-SY5Y上发现用DA所建造的PD模型中出现 $\alpha$ -synuclein升高,并观察到Bip和CHOP的表达以及磷酸化的eIF2 $\alpha$ 也出现了增高<sup>[28]</sup>。

PD的发病过程与ERS有着密不可分的关系,也就是说ERS是PD症状发病的一个潜在的分子机制<sup>[29]</sup>。这为PD的有效治疗提供了一个新思路。

## 3 GRP78在帕金森综合症发病过程中的作用及其治疗靶点

### 3.1 GRP78的功能

内质网功能的破坏被证实与神经毒物诱导的DA能神经元的死亡有关<sup>[30]</sup>。一旦发生ERS, UPR通过抑制蛋白质的翻译、提高ERAD以及增加内质网伴侣蛋白如GRP78来对抗ERS。

GRP78是一种钙结合蛋白,参与蛋白质的折叠和转运;也是一种内质网上的应激蛋白;是ERS和UPR的一个中心调节因子,参与蛋白质的折叠和转运。

在ERS发生时,UPR通过激活内质网相关的跨膜蛋白:PERK、IRE1 $\alpha$ 和ATF6及相关信号通路,使GRP78的表达明显增加<sup>[31]</sup>,维持内质网稳态,保护细胞。有研究证明GRP78与神经细胞存活有关,GRP78的活化阻止了神经元的凋亡<sup>[32-33]</sup>。因此,GRP78是控制PD疾病进程的一个治疗靶点。

### 3.2 以GRP78位靶点治疗帕金森病的药物研究

利福平是一种广泛用于结核病和麻风病的抗生素。在帕金森动物模型上的实验结果已经证实了利福平在体内体外的神经保护作用。Oida Y以及其他人发现:在鼠脑中,利福平能够减轻MPTP(1-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氢吡啶)诱导的神经毒性<sup>[34]</sup>。Ulkan, Kilic等人发现利福平能显著提高MPP<sup>+</sup>中毒的DA能神经元的成活<sup>[35]</sup>。Gorbatyuk, MS等人发现:在帕金森鼠模型中,GRP78减少 $\alpha$ -synuclein诱导的神经毒

性<sup>[36]</sup>。用利福平预处理后的大鼠,其鱼酮藤诱导的神经毒性作用有所降低<sup>[37]</sup>。

有实验证明:利福平能够上调 GRP78 的表达,且呈现时间和剂量依赖性,说明了利福平是 GRP78 的诱导剂。GRP78 基因的沉默减轻了利福平诱导的神经保护作用,即 GRP78 介导了利福平诱导的神经保护作用。下调 GRP78 导致细胞变得敏感,更易受到各种损伤。现已提出:利福平对 PD 症有治疗作用。

ERS 发生时,三个 UPR 通路:PERK-eIF2 $\alpha$ -ATF4, IRE $\alpha$ -XBP1 和 ATF6 控制着内质网伴侣蛋白的表达。在鱼酮藤作用的 PC12 细胞中,利福平引起 PERK 和 eIF2 $\alpha$  蛋白的早期磷酸化,随后激活 ATF4。ATF4 基因的敲除降低了利福平诱导的 GRP78 的活化。相反,在利福平作用 24 h 后,并没有检测出 IRE $\alpha$  磷酸化、XBP1mRNA 剪接或 ATF6 裂解。也就是说,利福平通过选择性的激活 PERK-eIF2 $\alpha$ -ATF4 信号通路来调节 GRP78,使 GRP78 活化<sup>[30]</sup>,从而保护 PC12 细胞在鱼酮藤诱导下的细胞毒作用。

如果有一种 GRP78 激活剂能激活 UPR 的多种通路,包括 ERS 诱导的凋亡通路,那么这种激活剂不能作为一种治疗策略。然而,利福平作为 GRP78 的激活剂能选择性的活化 PERK-eIF2 $\alpha$ -ATF4 通路,而不激活 IRE $\alpha$  和 ATF6 通路。这种选择性的激活非折叠蛋白反应的一条通路解释了利福平对发生 ERS 的神经细胞的保护作用。

另外,经过亚致死力预处理的细胞能够适应压力、增加防御能力,从而抵抗更严重的压力。因此推测,利福平可能是通过使 PC12 细胞处于温和的压力状态,提高细胞的防御系统<sup>[38]</sup>。

总而言之,利福平诱导的神经保护作用与 GRP78 有关,而且是通过激活 PERK-eIF2 $\alpha$ -ATF4 通路来实现的。这将是一个新的治疗 PD 的潜在靶点。在未来研究中需要进一步对 GRP78 的体内表达进行验证,对在内质网应激中 GRP78 蛋白的功能及其调节进行阐明。

#### 4 ATF4-CHOP-Puma 信号通路在神经元死亡过程中的作用及其治疗靶点

##### 4.1 ATF4-CHOP-Puma 信号通路的作用

ERS 是神经细胞死亡的一个始动因素。鱼酮藤能引起 ERS,增加 ERS 中一些重要指标的表达,如 GRP78, p-PERK, p-eIF2, ATF4 和 CHOP。虽然鱼酮藤也能够通过抑制线粒体复合物 1 促进活性氧(reactive oxygen species, ROS)的生产,但是在 SK-N-MC 细胞中,鱼酮藤诱导多巴胺神经细胞死亡先于氧化应激<sup>[39]</sup>。

所以抑制 ERS 对 PD 患者的治疗有利。

在 ERS 中,激活的 ATF4-CHOP-Puma 信号通路在神经元凋亡过程中扮演着重要的角色。ATF4 通过调节 CHOP 和 Puma 的转录,促进 ERS 诱导的细胞凋亡,当未发生 ERS 时,ATF4 的异位表达不足以诱导 CHOP 的表达。CHOP 绑定在 Puma 启动子上,敲除 CHOP 会减少 ERS 诱导的 Puma 和神经元凋亡<sup>[8]</sup>。Puma 的缺失能保护 ERS 中的神经元<sup>[40]</sup>,这说明了抑制 ATF4-CHOP-Puma 信号通路能够保护 PD 中的 DA 能神经元,延缓疾病进展。

##### 4.2 ATF4-CHOP-Puma 信号通路在帕金森疾病治疗中的作用

大脑多巴胺神经元中存在局部肾素-血管紧张素系统(renin-angiotensin system, RAS)和血管紧张素 II(angiotensin, Ang II)1 型(AT1)受体和 2 型(AT2)受体<sup>[41]</sup>。AngII 通过与 AT1 受体结合提高了 DA 神经毒素对 DA 神经元的损伤<sup>[42]</sup>。6-OHDA 和 MPP<sup>+</sup> 能增加 PERK、eIF2 $\alpha$  的磷酸化,上调 CHOP。AT1 受体阻滞剂能减少氧化应激、保护 6-OHDA 和 MPTP 诱导的 PD 模型体内的多巴胺能神经元<sup>[43]</sup>。

在 PD 动物模型的黑质纹状体系统中,大脑 Ang II 通过 AT1 受体,包括还原型辅酶 II 和 RhoA/Rho 通路的活化,提高氧化应激和神经毒性,引起 DA 能神经元死亡<sup>[30]</sup>。坎地沙坦酯作为一种选择性的和高亲和性的 AT1 受体拮抗剂曾被用来治疗高血压、慢性心力衰竭和左心室收缩功能衰竭。新的研究发现坎地沙坦酯能够抑制鱼酮藤诱导的黑质致密部 DA 能神经元的减少以及改善鱼酮藤诱导的帕金森症状(1 mg·kg<sup>-1</sup>·day<sup>-1</sup>)<sup>[44]</sup>。

在 PD 的大鼠模型中,可以检测到 GRP78、ATF4、CHOP 和 Puma 的表达被大幅度上调。而坎地沙坦酯能够抑制 GRP78、ATF4、CHOP 和 Puma 的活化。因此,高亲和力 AT1 受体拮抗剂坎地沙坦酯,保护鱼酮藤诱导的 PD 大鼠模型中的 DA 能神经元,改善 ERS,这些作用可能是通过抑制 ATF4-CHOP-Puma 信号通路的活化来实现的<sup>[44]</sup>。

虽然在 ERS 中,ATF4、CHOP 和 Puma 的诱导是 PERK 依赖的,但是这些转录因子也可以被氧化应激所激活。因此,坎地沙坦酯减少 ATF4-CHOP-Puma 信号通路也可能是因为通过抑制氧化应激。将来的研究应该着重于阐明 AngII 和 AT1 受体在 ERS 中的作用<sup>[44]</sup>。

总之,坎地沙坦酯是高亲和力 AT1 受体拮抗剂,保护鱼酮藤诱导的 PD 大鼠模型中的多巴胺能神经元,改善 ERS,这些作用可能是通过抑制 ATF4-CHOP-Puma

信号通路的活化来实现的,为临床上 PD 的治疗提供了新思路。

## 5 展望

综上所述,在 PD 的发病过程中,ERS 起了重要作用。如果能更加清楚的阐明 ERS 过程中的潜在靶点,通过激活细胞保护作用、抑制凋亡作用来实现对神经元的保护,减少神经元的死亡,这将为治疗 PD 提供新的思路。

## 参 考 文 献

- [1] Do Yeon Lee, Kyu-Sun Lee, Hyun Jung Lee, *et al.* Activation of PERK signaling attenuates beta-mediated ER stress [J]. PLoS One, 2010, 5 (5): 10489.
- [2] Xu Chun-yan, Beatrice Bailly-Maitre, John C Reed. Endoplasmic reticulum stress: cell life and death decisions [J]. J Clin Invest, 2005, 115 (10): 2656-2664.
- [3] Peter J Belmont, Archana Tadimalla, Chen Wen-qiong, *et al.* Coordination of growth and endoplasmic reticulum stress signaling by regulator of calcineurin 1 (RCAN1), a novel ATF6-inducible gene [J]. J Biol Chem, 2008, 283 (20): 14012-14021.
- [4] Peter Walter, David Ron. The unfolded protein response: from stress pathway to homeostatic regulation [J]. Science, 2011, 334 (6059): 1081-1086.
- [5] Rammohan V Rao, Dale E Bredesen. Misfolded proteins, endoplasmic reticulum stress and neurodegeneration [J]. Curr Opin Cell Biol, 2004, 16 (6): 653-662.
- [6] Tomohiro Omura, Masayuki Kaneko, Yasunobu Okuma, *et al.* Endoplasmic reticulum stress and Parkinson's disease: the role of HRD1 in averting apoptosis in neurodegenerative disease [J]. Oxid Med Cell Longev, 2013, 2013: 239854.
- [7] Claudio Hetz. The unfolded protein response: controlling cell fate decisions under ER stress and beyond [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2012, 13 (2): 89-102.
- [8] Zohreh Galehdar, Patrick Swan, Benjamin Fuerth, *et al.* Neuronal apoptosis induced by endoplasmic reticulum stress is regulated by ATF4-CHOP-mediated induction of the Bcl-2 homology 3-only member PUMA [J]. J Neurosci, 2010, 30 (50): 16938-16948.
- [9] Wang Xiao-tian, Pei Dong-sheng, Xu Jing, *et al.* Opposing effects of bad phosphorylation at two distinct sites by Akt1 and JNK1/2 on ischemic brain injury [J]. Cell Signalling, 2007, 19 (9): 1844-1856.
- [10] Weng Shao-xiang, Zhu Xiao-qing, Jin Yue, *et al.* Protective effect of erythropoietin on myocardial infarction in rats by inhibition of caspase-12 expression [J]. Exp Ther Med, 2011, 2 (5): 833-836.
- [11] Chen Yi-hong, Wu Xu-dong, Yao Shu-tong, *et al.* Calcineurin is involved in cardioprotection induced by ischemic postconditioning through attenuating endoplasmic reticulum stress [J]. Chin Med J, 2011, 124 (20): 3334-3340.
- [12] Rammohan V Rao, Ellerby H M, Dale E Bredesen. Coupling endoplasmic reticulum stress to the cell death program [J]. Cell Death Differ, 2004, 11 (4): 372-380.
- [13] Liu Di, Zhang Meng-ren, Yin Hong-chao. Signaling pathways involved in endoplasmic reticulum stress-induced neuronal apoptosis [J]. Int J Neurosci, 2013, 123 (3): 155-162.
- [14] Hyun-Jung Lee, Sung-Haeng Lee, Sung-Hee Park, *et al.* Purification of catalytically active caspase-12 and its biochemical characterization [J]. Arch Biochem Biophys, 2010, 502 (1): 68-73.
- [15] Lesage S, Brice A. Parkinson's disease: from monogenic forms to genetic susceptibility factors [J]. Hum Mol Genet, 2009, 18 (1): 48-59.
- [16] Christian Wider, Tatiana Foroud, Zbigniew K Wszolek, *et al.* Clinical implications of gene discovery in Parkinson's disease and parkinsonism [J]. Mov Disord, 2010, 25 (1): 15-20.
- [17] Wataru Satake, Yuko Nakabayashi, Ikuko Mizuta, *et al.* Genome-wide association study identifies common variants at four loci as genetic risk factors for Parkinson's disease [J]. Nature Genetics, 2009, 41 (12): 1303-1307.
- [18] Javier Simon-Sanchez, Claudia Schulte, Jose M Bras, *et al.* Genome-wide association study reveals genetic risk underlying Parkinson's disease [J]. Nat Genet, 2009, 41 (12): 1308-1312.
- [19] Karen M Doyle, Donna Kennedy, Adrienne M Gorman, *et al.* Unfolded proteins and endoplasmic reticulum stress in neurodegenerative disorders [J]. J Cell Mol Med, 2011, 15 (10): 2025-2039.
- [20] Joseph Jankovic, L Giselle Aguilar. Current approaches to the treatment of Parkinson's disease [J]. Neuropsychiatr Dis Treat, 2008, 4 (4): 743-757.
- [21] Ghribi Othman, Herman Mary M, Pramoonjago Patcharin, *et al.* MPP<sup>+</sup> induces the endoplasmic reticulum stress response in rabbit brain involving activation of the ATF-6

- and NF-kappaB signaling pathways [J]. *J Neuropathol Exp Neurol*, 2003, 2 (11): 1144-1153.
- [22] Girardot Fabrice, Monnier Veronique, Tricoire Herve. Genome wide analysis of common and specific stress responses in adult drosophila melanogaster [J]. *BMC Genomics*, 2004, 5 (1): 74.
- [23] Chen Gang, Kimberly A Bower, Cuiling Ma, *et al.* Glycogen synthase kinase 3beta (GSK3beta) mediates 6-hydroxydopamine-induced neuronal death [J]. *FASEB J*, 2004, 18 (10): 1162-1164.
- [24] William A Holtz, Jay M Turetzky, Karen L O Malley. Microarray expression profiling identifies early signaling transcripts associated with 6-OHDA-induced dopaminergic cell death [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2005, 7 (5-6): 639-648
- [25] Mohsen Kheradpezhoh, Shalk Shavali, Manuchair Ebadi. Salsolinol causing parkinsonism activates endoplasmic reticulum-stress signaling pathways in human dopaminergic SK-N-SH cells [J]. *Neurosignals*, 2003, 12 (6): 315-324.
- [26] William A Holtz, Karen Laurel O. Malley. Parkinsonian mimetics induce aspects of unfolded protein response in death of dopaminergic neurons [J]. *J Biol Chem*, 2000, 278 (21): 19367-19377.
- [27] Elizabeth J Ryu, Heather P Harding, James M Angelastro, *et al.* Endoplasmic reticulum stress and the unfolded protein response in cellular models of Parkinson's disease [J]. *J Neurosci*, 2002, 22 (24): 10690-10698.
- [28] Cristina Gomez-Santos, Marta Barrachina, Pol Gimenez-Xavier, *et al.* Induction of C /EBP beta and GADD153 expression by dopamine in human neuroblastoma cells relationship with alpha-synuclein increase and cell damage [J]. *Brain Res Bull*, 2005, 65 (1): 87-95.
- [29] Hoozemans J J M, van Haastert E S, Eikelenboom P, *et al.* Activation of the unfolded protein response in Parkinson's disease [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2007, 354 (3): 707-711.
- [30] Villar-Cheda B, Dominguez-Meijide A, Joglar B, *et al.* Involvement of microglial RhoA/Rho-kinase pathway activation in the dopaminergic neuron death role of angiotensin via angiotensin type 1 receptors [J]. *Neurobiology Disease*, 2012, 47 (2): 268-279.
- [31] D Thomas Rutkowski, Ramanujan S Hegde. Regulation of basal cellular physiology by the homeostatic unfolded protein response [J]. *J Cell Biol*, 2010, 189 (5): 783-794.
- [32] Nitza Goldenberg-Cohen, Annat Raiter, Vera Gaydar, *et al.* Peptide-binding GRP78 protects neurons from hypoxia-induced apoptosis [J]. *Apoptosis*, 2012, 17 (3): 278-288.
- [33] Jiang Yu-feng, Lv Hai-long, Liao Min, *et al.* GRP78 counteracts cell death and protein aggregation caused by mutant huntingtin proteins [J]. *Neuroscience Letters*, 2012, 516 (2): 182-187.
- [34] Oida Y, Kitaichi K, Nakayama H, *et al.* Rifampicin attenuates the MPTP-induced neurotoxicity in mouse brain [J]. *Brain Res*, 2006, 1082 (1): 196-204.
- [35] Ulkan Kilic, Ertugrul Kilic, Paul Lingor, *et al.* Rifampicin inhibits neurodegeneration in the optic nerve transection model *in vivo* and after 1-methyl-4-phenylpyridinium intoxication *in vitro* [J]. *Acta Neuropathol*, 2004, 108 (1): 65-68.
- [36] Marina S Gorbatyuk, Arseniy Shabashvili, Chen Wei-jun, *et al.* Glucose regulated protein 78 diminishes  $\alpha$ -synuclein neurotoxicity in a rat model of Parkinson disease [J]. *Mol Ther*, 2012, 20 (7): 1327-1337.
- [37] Sun Yuan-lin, Zhang Guo-hua, Xu Jie, *et al.* Effect of rifampicin pre- and post-treatment on rotenone-induced dopaminergic neuronal apoptosis and alpha-synuclein expression [J]. *Neural Regenera Res*, 2010, 5 (2): 85-91.
- [38] Jing Xiuna, Shi Qiao-yun, Bi Wei, *et al.* Rifampicin protects PC12 cells from rotenone-induced cytotoxicity by activating GRP78 via PERK-eIF2a-ATF4 pathway [J]. *PLoS One*, 2014, 9 (3): 92110.
- [39] Chen Yuan-yuan, Chen Gang, Fan Zhi-qin, *et al.* GSK3beta and endoplasmic reticulum-stress mediate rotenone-induced death of SK-N-MC neuroblastoma cells [J]. *Biochem Pharmacol*, 2008, 76 (1): 128-138.
- [40] Arindam P Ghosh, Barbara J Klocke, Mary E Ballestas, *et al.* CHOP potentially co-operates with FOXO3a in neuronal cells to regulate PUMA and BIM expression in response to ER stress [J]. *PLoS One*, 2012, 7 (6): 39586.
- [41] Jose L Labandeira-Garcia, Jannette Rodriguez-Pallares, B Villar-Cheda, *et al.* Guerra, aging, angiotensin system and dopaminergic degeneration in the substantia nigra [J]. *Aging Dis*, 2011, 2 (3): 257-274.
- [42] Rodriguez-Pallares J, Rey P, Parga J A, *et al.* Brain angiotensin enhances dopaminergic cell death via microglial activation and NADPH-derived ROS [J]. *Neurobiol Dis*, 2008, 31 (1): 58-73.
- [43] Tom N Grammatopoulos, Susan M Jones, Ferogh A Ahmadi, *et al.* Angiotensin type 1 receptor antagonist losartan, reduces MPTP-induced degeneration of dopaminergic neurons in

- 
- substantia nigra [J]. Mol Neurodegener, 2007, 2: 1.
- [44] Liang Wu, Tian You-yong, Shi Jing-ping, *et al.* Inhibition of endoplasmic reticulum stress is involved in the neuroprotective effects of candesartan cilexetil in the rotenone rat model of Parkinson's disease [J]. Neurosci Lett, 2013, 548: 50-55.