

# 自噬与神经退行性疾病： 细胞稳态和疾病相关性

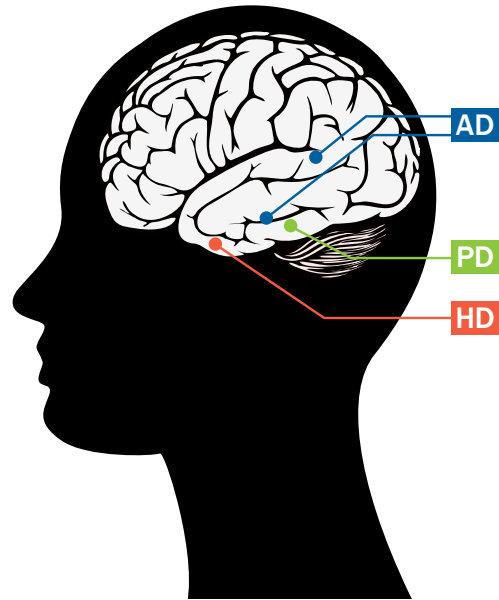
## 摘要

神经退行性疾病（NDDs）对不同神经元群和大脑区域的作用存在明显差异，然而，由于神经元突触受损导致的细胞内致病性蛋白质聚集体的累积，以及细胞功能进行性丧失似乎对所有的 NDDs 都是共同的。尽管 NDDs 中特定致病蛋白的分子性质不同，但是每种情况似乎与受累及的神经元内囊泡细胞器的慢性累积有关。因此部分学者认为自噬的功能障碍参与了 NDDs，如阿尔茨海默病（AD），亨廷顿病（HD）和帕金森病（PD）中蛋白质和受损细胞器的积累。在这篇综述中，我们重点关注 NDDs 中的功能失调性自噬以及自噬与神经退行性疾病相关的关键分子因素。

## 介绍

神经退行性疾病（NDDs）包括广泛的、蛋白质病类的疾病，其特点是在特定的神经元中出现聚集的蛋白质，在中枢神经系统（CNS）中出现胶质细胞。<sup>1,2</sup> 这些疾病在它们受累及大脑的特定细胞和区域，以及参与发病机制的关键分子因素或蛋白质都表现不一。通常，聚集体包含生物物理性质改变的异常蛋白质，这导致了神经元功能异常和最终细胞死亡。在大多数 NDDs 中，蛋白质聚集体位于细胞内特定区位，然而，细胞外聚集体也可能存在，例如阿尔茨海默病（AD）中淀粉样蛋白- $\beta$  ( $A\beta$ ) 斑块的沉积。

尽管异常蛋白质形成是由 NDDs 相关的典型功能障碍，但是其他导致整体病理变化的因素还包括线粒体功能障碍、氧化应激和其他环境压力因素<sup>2,3</sup>。相比于可能与特定基因突变更明确相关的早发性或家族性 NDDs，散发性 NDDs 的常见特征是多因素病因。<sup>4</sup>



神经退行性疾病累及大脑区域的各种神经功能。阿尔茨海默病累及数个大脑区域，但海马是第一个受累及的区域，会导致短期记忆丧失。在亨廷顿病中，参与机体运动协调的基底神经节是首先受到累及的大脑区域。最后，帕金森病主要累及脑黑质中的多巴胺能神经元，导致身体运动失控。

因此，为了更好地理解散发性 NDDs 发病机制，最近的研究越来越关注控制细胞存亡、细胞器和蛋白质稳态信号通路功能障碍的致病作用。

1. 细胞凋亡
2. 自噬
3. 线粒体质量控制
4. 泛素 - 蛋白酶体系统

在这些通路中，自噬代表了参与去除聚集蛋白质的主要细胞机制，因此自噬被认为在 NDDs 中有显著作用。

诱导

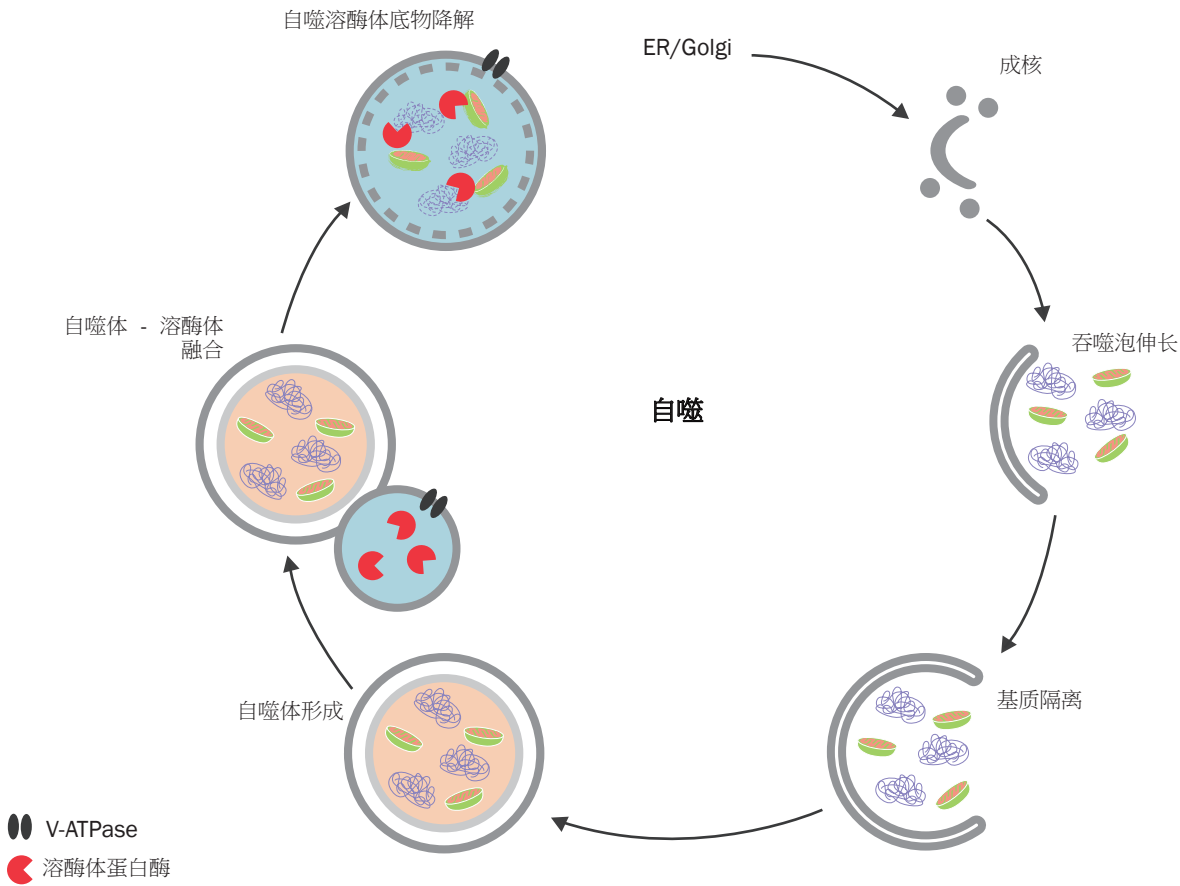


图 1. 自噬取决于自噬体的形成，以便隔离胞质内容物，包括受损或不需要的蛋白质和细胞器。诱导和成核分别由 ATG / ULK1 和 III 类 PI3-K 复合物介导。在吞噬泡伸长过程中增加吞噬泡膜依赖于两种泛素样共轭系统，包括 (1) ATG7 / ATG10 和 (2) ATG7 / ATG3。ATG4 和 ATG7 / ATG3 对于脂化 LC3-I 成 LC3-II 至关重要。将 LC3-II 与自噬体形成相关联，可导致细胞质内容物的隔离。成熟自噬体与溶酶体的融合（一种由 SNARE 蛋白介导的过程）可形成自噬溶酶体，以便胞质物在其中水解。

自噬是一个细胞通过形成双膜囊泡吞噬细胞器（称为自噬体）以消除受损细胞器和蛋白质的过程（图 1）。有关信号分子参与以及调节自噬机制的全面综述，请参考：[www.novusbio.com/support/autophagy-handbook](http://www.novusbio.com/support/autophagy-handbook)。简而言之，自噬体整合过量的、长期存在的、或受损的细胞质内容物之后，其与溶酶体融合形成自噬溶酶体，即一种可降解细胞质内容物的蛋白分解和水解的细胞器。自噬溶酶体内的降解作用可允许基本细胞成分循环返回到细胞质中，作为能量来源或用于合成新的蛋白质和细胞器。

自噬过程可能是大量发生，然而，使用自噬受体来结合和隔离特定胞质蛋白质的选择性自噬通路也已确定，并被认为是蛋白质稳态中起重要作用。作为一种蛋白质的质控机制，自噬被认为可以防止神经元积累有毒的蛋白质聚集物，否则这种积累会导致神经元变性和最终的细胞死亡。

## 神经元中的自噬

自噬在细胞稳态中起关键作用，并在每个细胞保持基础水平的活性。对于神经元而言，由于其独特的生理和形态属性，高效的基础自噬活性是必需的。<sup>5,6,7</sup>

1. 神经元是终末分化（非分裂）细胞：通过细胞分裂的细胞质重构不会在这些细胞中发生，因此神经元完全依赖于自噬来消除大的蛋白质聚集体和有缺陷的细胞器。<sup>8</sup>

2. 神经元具有复杂的形态：它们具有包括胞体，轴突和树突在内的多个房室，并且需要对特定的蛋白质路径进行精确调节，以维持轴突蛋白质运输以及高能量的突触传递过程。

早期研究表明自噬调节在神经元和非神经元细胞中有所不同。例如，在健康大脑中很少发现自噬体，表明在神经元中基础自噬较少或自噬体高效代谢。<sup>7,9,10</sup>

而且，非神经元细胞中观察到的由饥饿引起的自噬体增加在神经元中却是不存在的，这表明自噬体对营养物缺乏是没有应答的。<sup>9,11</sup> 最近，研究证明雷帕霉素和依维莫司，这两种细胞生长和代谢调节激酶（mTOR）的抑制剂，可以在非神经元细胞而不是在初级神经元中诱导自噬，增加自噬体数量。<sup>12</sup> 此外，氯化锂，一种已知的、在非神经元细胞中诱导自噬的药物，不能在初级神经元中诱导自噬体的增加。这些发现表明在依赖和非依赖 mTOR 的自噬诱导通路中，神经元与非神经元细胞是不同的。<sup>12</sup> 但是，自噬在神经元中是可诱导的，因为用尼古地平、三氟拉嗪和洛哌丁胺治疗可以有效增加自噬体数量。

对初级皮质神经元的研究表明，神经元基础自噬既有效又相对稳健<sup>7</sup>。在正常情况下，皮层神经元的自噬体数量可以忽略不计，这个发现与早期的研究结果一致。<sup>9,11</sup> 抑制溶酶体降解后，在初级皮层神经元中发生自噬体积累，说明在这些神经元中存在着相对较高的基础自噬活性。然而，已有研究说明在所有神经元中，基础自噬不是维持一成不变的高水平，基础自噬水平在整个 CNS 是有变化的，高自噬水平似乎是在神经元遭受高压下才能发生。<sup>12</sup>

## 自噬缺陷和神经退行性病变的早期关联

自噬与 NDDs 相关的最初发现之一是来自对 AD 患者和非 AD 对照组脑组织活检的新皮质组织电子显微镜分析<sup>10</sup>。自噬体积累合并出现营养不良性神经轴突可导致 AD 患者大脑中发生自噬功能障碍。<sup>10</sup> 自噬性细胞器的积聚是由于自噬诱导异常引起，还是由于溶酶体降解受到抑制而引发自噬抑制，这个问题目前仍然没有定论。

初级皮层神经元的研究发现，自噬工作流的中断会导致一些变化，这些变化与 AD 相关的自噬吞噬细胞器积累和轴突营养不良引起的变化非常相似。这与之前从体内小鼠模型观察到的是一致的，即小鼠自噬体形成所需要的 Atg5 或 Atg7 在 Purkinje 神经元中不表达<sup>11,14</sup>。在这些研究中，ATG5 或 ATG7 蛋白的缺失导致异常膜状结构的积聚，引发以肿胀和营养不良为特征的轴突形态变化，并最终导致 Purkinje 细胞的消亡<sup>11,14</sup>。总体而言，这些研究表明，基础自噬在神经元轴突稳态中起关键作用。

这种典型的自噬体积聚是与包括亨廷顿（HD），帕金森病（PD）和阿尔茨海默病（AD）在内的各种 NDDs 相关<sup>5,7,10</sup>。突出问题是 NDDs 中自噬体数量增加的作用是旨在缓解疾病发展还是更有助于神经变性。<sup>5,8,11,13</sup>

## 选择性自噬和神经退行性病变

选择性自噬通路通过自噬溶酶体靶向降解特定的细胞质组分。细胞质内物质（如线粒体，内质网和聚集蛋白）的特异性部分取决于选择性自噬受体，这些受体直接或通过泛素与胞质成分结合。<sup>15</sup> 这些受体也与微管相关轻链 3（LC3）结合，纳入自噬体膜，从而将胞质物隔离在自噬体腔中。此外，选择性自噬受体可以与调节受体-胞质物交互<sup>7</sup>的接头蛋白，以及在自噬体内受体与脂质化 LC3 的结合产物产生相互作用<sup>16</sup>。受体和 LC3 的翻译后修饰进一步调节胞质物的整体选择性并影响降解效率。<sup>16</sup>

自噬受体可以在聚集体以及其他与 NDDs 相关的蛋白质质中发现。近来发现，选择性自噬受体的各种突变与 NDDs 有关<sup>16</sup>。在这里，我们回顾了一些发现，这些发现帮助我们建立了包括 AD、HD 和 PD 在内的各种神经退行性疾病与自噬关键步骤功能障碍之间的联系。

## 阿尔茨海默症（AD）

迟发型 AD 是老年人最常见的 NDD，会因大量神经元丢失和突触损伤而导致痴呆发生<sup>16,17</sup>。作为一种蛋白质病，AD 的病理被认为是由细胞外和细胞内蛋白质产物的积累所引发的。淀粉状蛋白斑在细胞外形成，位于受累及的神经元附近，是由淀粉样前体蛋白（APP）裂解产生的淀粉样蛋白- $\beta$ （A $\beta$ ）片段沉积形成<sup>1,16,17</sup>。在细胞内，神经原纤维缠结积聚形成过磷酸化 Tau 蛋白聚集物。<sup>1,16,18</sup>

动物模型和患者研究的发现支持功能失调蛋白的形成参与了 AD 的进展<sup>10</sup>。参与 AD 病理的各种蛋白质具有与自噬通路相关的功能。例如，早老素（PS）是  $\gamma$ -分泌酶复合物的一部分，参与了 APP 的切除，但也是溶酶体酸化和发挥功能所必需的，因此会影响自噬（图 2）。1 早老素突变，特别是 PS1 突变，与早发型 AD 相关。<sup>1,2</sup> PS1 和 PS2 两种基因突变与家族性常染色体显性 AD 相关。<sup>1,20</sup>

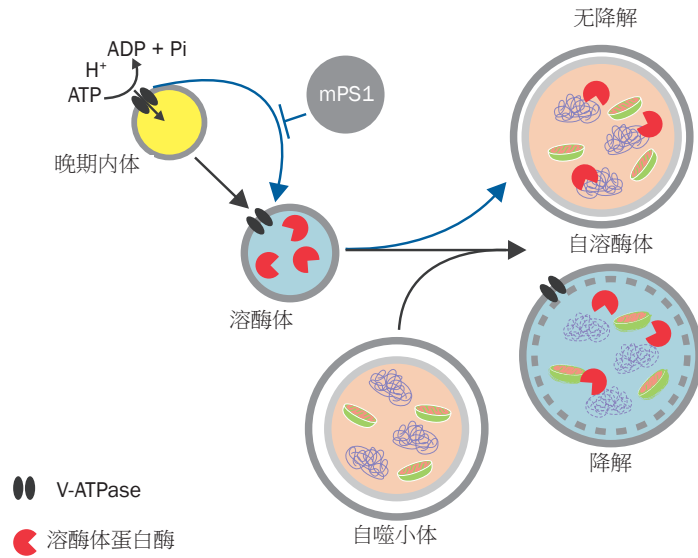


图 2. 早老素 1 和 2 (PS1 和 PS2) 突变参与了 AD 发病机制。PS1 参与溶酶体 H<sup>+</sup>-ATPase (v-ATPase) 的糖基化和运输。PS1 突变体 (mPS1) 会影响这些功能, 导致溶酶体酸化受损和自噬降解减少。

最近, 全基因组关联研究 (GWAS) 显示, 与胞吞作用有关的磷脂酰肌醇结合网格蛋白聚集蛋白 (PICALM) 与 AD 风险增加相关。<sup>21</sup> PICALM 在自噬和清除已知的自噬靶点 Tau 中发挥作用。在 AD 大脑中发现 PICALM 被去除或降低, 表明 PICALM 功能的丧失可能与 AD 风险增加有关。<sup>22</sup> 与这些发现一致的是, 体外和体内研究表明 PICALM 在自噬中发挥各种作用, 包括吞噬细胞伸长、自噬体形成和自噬体-溶酶体的融合。<sup>21</sup>

雷帕霉素的哺乳动物靶点 (mTOR) 通过其作为营养传感器的作用来调节自噬<sup>23</sup>。使用雷帕霉素或饥饿可抑制 mTOR 活性, 从而增加自噬活性<sup>23</sup>。既往报道显示, 改变 mTOR 活性, AD 会增加。

在 AD 的体外和体内动物模型中的 mTOR 活性与 A $\beta$  的积累相关联。既往人类 AD 大脑研究确立了 mTOR 高活性与 Tau 过度磷酸化之间有相关性<sup>25,26,27</sup>。此外, 在 AD 动物模型中, mTOR 活性的药理抑制可减弱因 A $\beta$  引起的认知衰退。<sup>24,25</sup>

最后, 自噬受体 p62 / SQSTM1 通过线粒体, 过氧化物酶体和蛋白质聚集自噬作用靶向降解多种细胞溶质成分。<sup>15</sup> 在 AD 大脑中, 磷酸化的 p62 / SQSTM1 被发现处于异常水平, 并与神经原纤维缠结相关。<sup>19,28</sup> p62 / SQSTM1 被认为在清除过度磷酸化的 Tau 和 A $\beta$  中起作用。

## 亨廷顿病 (HD)

HD 是一种引发神经变性的聚谷氨酰胺障碍疾病, 与亨廷顿蛋白质 (Htt) 突变形式相关。聚谷氨酰胺障碍导致的神经变性特征是出现具有异常扩增的聚谷氨酰胺片段 (polyQ) 及其相关的细胞内聚集体。尽管 Htt 有广泛表达, 但 Htt 的突变形式 (mHtt), 即超过 35 个谷氨酰胺残基 (> Q35) 的出现会首先影响神经元群的纹状体和皮质。<sup>16,29</sup> HD 的病理与含有 polyQ 扩增的、有毒的氨基末端片段累积有关, polyQ 扩增片段是通过半胱氨酸蛋白酶和钙蛋白酶切 mHtt 产生。<sup>30-33</sup>

功能失调的自噬与 HD 发病有关, 已被死亡脑标本神经元中出现自噬囊泡积累所证实。<sup>5,29,34</sup> Htt 是自噬的底物, 其作用是作为自噬信号传导的支架, 与 p62 / SQSTM1 及自噬-启动激酶 ULK1 产生直接相互作用。<sup>35,36</sup> mHtt 的聚集体被自噬降解为一种已知的、关键的自噬启动子, 即隔离体 Beclin1 以及 mTOR (图 3)。<sup>29,37,38</sup> 在一些 HD 模型中, mHtt 累积与自噬体-溶酶体融合的缺陷有关。<sup>39,41</sup> 然而, 雷帕霉素治疗减少了 HD 动物模型中 mHtt 聚集体数量, 并降低神经元死亡<sup>5,37,40</sup>, 这表明自噬可以被诱导, 并且自噬溶酶体在形成和成熟过程中出现的下游功能障碍不是 HD 病理学的基础。<sup>29</sup> 另外, 在 HD 动物模型中, 自噬体可适当形成, 但缺乏可噬物, 提示胞质成分对自噬体的低效靶向可能导致蛋白质聚集体清除有障碍。<sup>29,39</sup>

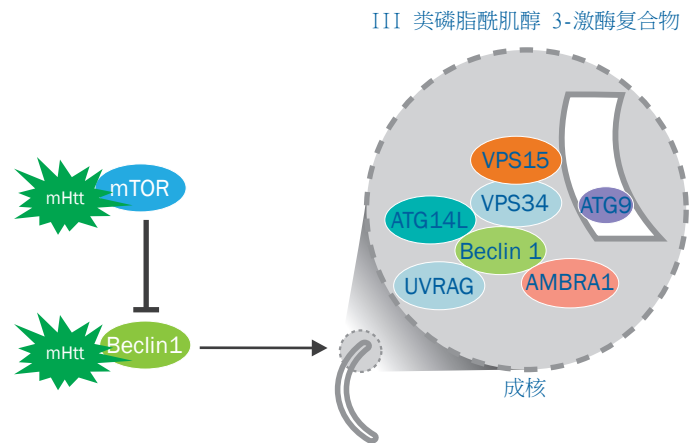


图 3. 诱导自噬后, 在 Bcl-2 抑制释放 Beclin1 并形成 III 类磷脂酰肌醇 3-激酶 (III 类 PI3-K) 复合物后生成核。该复合物参与磷脂酰肌醇 3-激酶的产生, 并通过靶向 ATG 蛋白生成膜, 形成吞噬细胞。具有扩展 polyQ 重复序列的 Htt (mHtt) 的突变形式形成有毒的神经元内聚集体, 其整合并灭活 mTOR (自噬的调节剂), 导致自噬引发。相反, mHtt 聚集体会整合 Beclin1, 导致成核障碍。

选择性自噬受体 p62 / SQSTM1 和衔接子，即自噬相关 FYVE 蛋白 (ALFY)，在 mHtt 聚集体降解过程中发挥重要作用。<sup>39,42</sup> HD 患者大脑 ALFY mRNA 表达水平降低。<sup>43</sup> 此外，mHtt 的表达增加了 p62 / SQSTM1 和 ULK1 之间的相互作用，并导致丝氨酸残基端 (S409) 的泛素结合结构域 (UBD) 内 p62 / SQSTM1 的磷酸化增加。<sup>44,45</sup> 位于 S409 端的 p62 / SQSTM1 的磷酸化增强了 p62 / SQSTM1 对泛素的结合亲和力，并提高了蛋白质聚集体 (包括具有扩展的 polyQ 重复序列的蛋白质聚集体) 的降解，这表明自噬是在对 mHtt 表达应答后诱导发生的。<sup>16,44</sup>

最近，包含 Htt 和 ataxin3 在内的 polyQ 的蛋白显示与 Beclin1 (促进自噬的 III 类磷脂酰肌醇 3-激酶复合物的主要调节物) 有相互作用。<sup>46</sup> Htt 中的 polyQ 伸长是其与 Beclin1 相互作用所必需的，且较长的 polyQ 伸长可增加 Beclin1 的亲和力。<sup>46</sup> 纹状体细胞中的 mHtt 的表达 (Q111) 导致 Beclin1 表达降低，而且，表达 mHtt 的转基因小鼠显示在饥饿诱导的自噬过程中，Beclin1 的表达出现下降和受损。<sup>46</sup> 在年轻小鼠中，这些缺陷甚至在 mHtt 聚集体大量积累之前就已经出现，暗示自噬障碍是 HD 病理的潜在机制。

## 帕金森病 (PD)

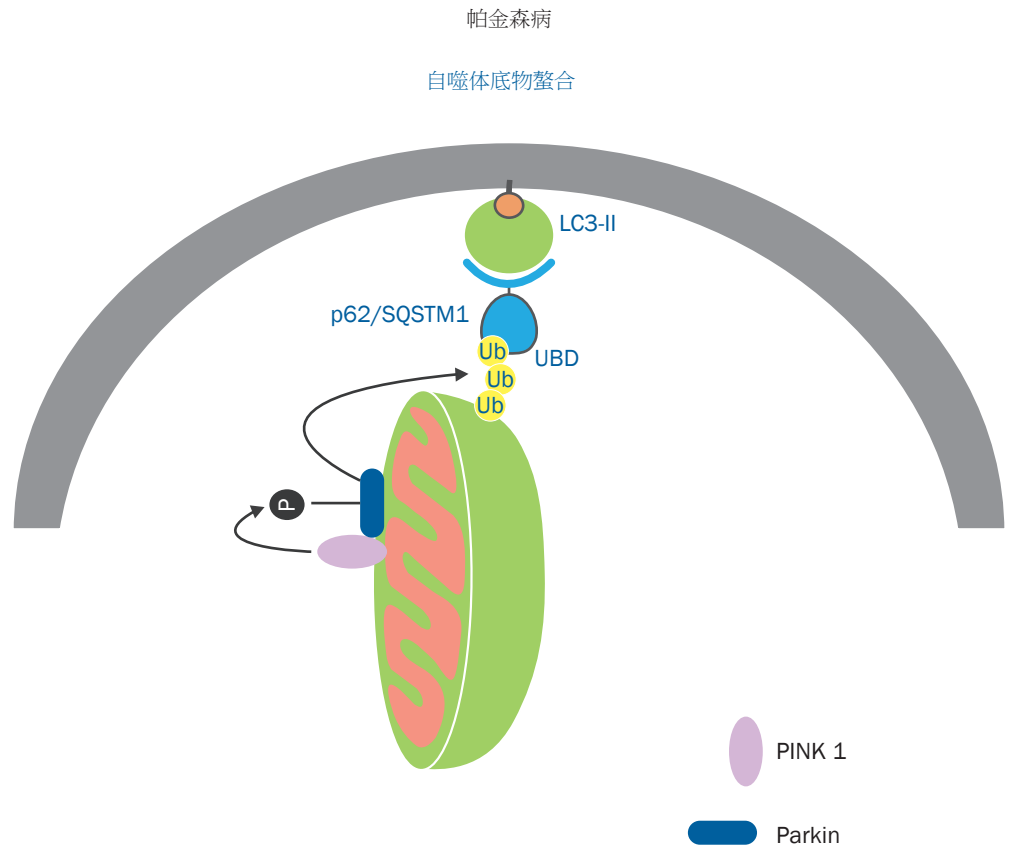
PD 的特征在于中脑多巴胺能神经元的丢失，特别是在脑黑质中。<sup>5,16,29</sup> 与其他 NDDs 一样，在受累及的神经元中出现大量累积的胞质内蛋白质聚集体。在 PD 中，蛋白  $\alpha$ -突触核蛋白在形成包涵体或路易体的多巴胺能神经元内累积<sup>16,29</sup>。PD 的另一个病理学特征是损伤线粒体的积累，这被认为会引发神经元死亡。<sup>5</sup> PD 中的神经元死亡是通过凋亡和坏死机制发生的。<sup>29,47</sup>

作为与 PD 发病机制相关的主要蛋白， $\alpha$ -突触核蛋白是通过伴侣介导的自噬 (CMA) 和巨自噬途径降解的靶标。<sup>5,48,50</sup> CMA 是  $\alpha$ -突触核蛋白去除的主要机制，然而  $\alpha$ -突触核蛋白的突变形式 (例如 A53T 和 A30P) 通过击败野生型  $\alpha$ -突触核蛋白来抑制 CMA 与伴侣蛋白质分子结合功能，从而导致路易体的形成。<sup>5,17,49,51</sup> CMA 的阻断被认为是引发巨自噬以去除突变的  $\alpha$ -突触核蛋白，从而导致在多巴胺能神经元内自噬细胞器的积累。<sup>5,17,52</sup>

一些家族性 PD 病例与  $\alpha$ -突触核蛋白基因重复相关，体内和体外实验已经证实， $\alpha$ -突触核蛋白的表达增加导致巨自噬减少。<sup>5,53</sup> 该机制强调了这种作用与参与吞噬细胞最初膜前体形成的 ATG9 跨膜蛋白错位有关。<sup>5</sup>

图 4 PINK1 和 Parkin 参与线粒体自噬的过程，这是一种选择性自噬，以线粒体损伤为目标。

在导致线粒体膜去极化的应激物之后，PINK1 积累在线粒体外膜上，在那里它招募和磷酸化 Parkin。Parkin 线粒体蛋白质的泛素化有助于靶向受损的线粒体进行降解。PINK1 和 Parkin 突变导致线粒体自噬失调，并已在帕金森病中体现。



另两个PD 相关蛋白PINK1 和Parkin 通过参与线粒体自噬过程，在线粒体稳态中发挥重要作用。<sup>15</sup> 在对线粒体损伤和膜电位丧失的应答中，丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶PINK1 与线粒体外膜和磷酸化E3 连接酶Parkin 以及线粒体泛素有关。<sup>15,54-57</sup> 位于线粒体外膜磷酸化的Parkin 在线粒体外被激活，

并启动多种线粒体蛋白的泛素化。<sup>15,58,59</sup> 选择性自噬受体（如 p62 /SQSTM1）识别这些泛素化蛋白，并通过自噬降解受损的线粒体。<sup>15</sup> 由于 PINK1 和 Parkin 突变在 PD 常染色体隐性病例中占优势，因此，推测有缺陷的线粒体参与了 PD 的发病机制（图 4）。<sup>5,29,60</sup>

**表 1. 关联神经退行性疾病与自噬功能障碍的分子机制**

神经退行性疾病	NDDs 与自噬交汇的靶标	人脑、体内动物模型或体外研究的机制	对自噬活动的影响
	PS1 和PS2 突变	糖基化和质子泵靶向受损 H+ ATPase (v-ATPase) 到溶酶体 受损的溶酶体酸化 <sup>19</sup>	蛋白质聚集体降解降低 自噬囊的积累
	PICALM 截短 表达减少	内吞作用调节受损SNARE 蛋白VAMP2,3 和8 胞吞减弱 <sup>21</sup>	吞噬细胞伸长受损、自噬体形成和自噬体- 溶酶体融合蛋白质聚集体降解降低
	淀粉状蛋白前体蛋白 (APP) 突变 高水平的A $\beta$	PI3K/AKT 信号传导和富含脯氨酸AKT 底物40 (PRAS40) 的磷酸化增加mTOR 信号增加 <sup>24</sup>	自噬抑制 A $\beta$ 和Tau 积累
	P62/ SQSTM1 异常表达 磷酸化改变	与神经原纤维缠结相关 <sup>28</sup>	特定胞质物的自噬减少
亨廷顿病	Htt	Htt 聚合物隔离mTOR37 和Beclin1 <sup>38</sup>	分别诱导和抑制自噬
	Beclin1	Beclin1 水平降低 <sup>46</sup>	受饥饿诱导的自噬受损
	ALFY	表达减少 <sup>43</sup>	蛋白质聚集体清除减少
	p62/SQSTM1 在UBD 位点的磷酸化	泛素的亲和力增加 <sup>44,45</sup>	蛋白质聚集体清除增加
帕金森病	$\alpha$ -突触核蛋白过度表达	ATG9 错位 <sup>5</sup>	自噬诱导抑制
	$\alpha$ -突触核蛋白突变 (A53T 和A30P)	伴侣蛋白质介导的自噬抑制 <sup>49,51,52</sup>	触发补偿性巨自噬
	ATPase 13A2 型的突变	溶酶体酸化缺陷 <sup>61,62</sup>	自噬减少
	PINK1 / Parkin 突变	线粒体蛋白泛素标记减少 <sup>5,29,60</sup>	线粒体自噬减少

Novus Biologicals 提供广泛的工具来研究自噬在不同 NDDs 中的作用，[novusbio.com](http://novusbio.com)。

## 结论

最近的研究已经确定了几个参与神经退行性疾病自噬关键步骤功能的蛋白质靶点（表1）。尽管这些靶标的分子特征在NDDs 表达不一，但它们影响自噬的机制往往是一致的。自噬作为NDDs 中的一个稳态过程有效利用该通路恢复神经元健康，其作用仍有许多问题待解决。

## 鸣谢：

作者：Rosa L. Moreno，博士。产品市场专家，NovusBio。

评论和编辑：Kerry Purtell 博士。研究助理，神经学与神经科学，运动障碍的基础与转化研究，西奈山伊坎医学院。

## References

1. Frake, R. A., Ricketts, T., Menzies, F. M., Rubinsztein, D. C. (2015). Autophagy and neurodegeneration. *J. Clin. Invest.* 125:65–74. <http://dx.doi.org/10.1172/JCI73944>
2. Sheikh, S., Safia, H. E., & Mir, S. S. (2013). Neurodegenerative diseases: Multifactorial conformational diseases and their therapeutic interventions. *Journal of Neurodegenerative Diseases*, 2013, ID 563481, <http://dx.doi.org/10.1155/2013/563481>
3. Kovacs, G. G. (2014). Current concepts of neurodegenerative diseases. *EMJ Neurol.* 1, 78–86
4. Ramanan, V. K., & Saykin, A. J. (2013). Pathways to neurodegeneration: Mechanistic insights from GWAS in Alzheimer's disease, Parkinson's disease, and related disorders. *Am. J. Neurodegener. Dis.* 2: 145-175. ISSN:2165-591X/AJND1307002
5. Son, J.H., Shim, J. H., Kim, K.H., Ha, J.-Y. & Han, J. Y. (2012). Neuronal autophagy and neurodegenerative diseases. *Exp Mol Med.* 44, 89–98. <http://dx.doi.org/10.3858/emm.2012.44.2.031>
6. Zare-shahabadi, A., Masliah, E., Johnson, G. V. W., & Rezaei, N. (2015). Autophagy in Alzheimer's disease. *Reviews in the Neurosciences*, 26(4), 385–395. <http://doi.org/10.1515/revneuro-2014-0076>
7. Boland, B., Kumar, A., Lee, S., Platt, F. M., Wegiel, J., Yu, W. H., & Nixon, R. A. (2008). Autophagy induction and autophagosome clearance in neurons: Relationship to autophagic pathology in Alzheimer's disease. *The Journal of Neuroscience*, 28(27), 6926–6937. <http://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0800-08.2008>
8. Rami, A. (2009) Review: Autophagy in neurodegeneration: Firefighter and/or incendiary? *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* 35(5):449–61. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2990.2009.01034.x>.
9. Mizushima, N., Yamamoto, A., Matsui, M., Yoshimori T., & Ohsumi, Y. (2004). In vivo analysis of autophagy in response to nutrient starvation using transgenic mice expressing a fluorescent autophagosome marker. *Molecular Biology of the Cell*, 15(3), 1101–1111. <http://doi.org/10.1091/mbc.E03-09-0704>
10. Nixon, R. A., Wegiel, J., Kumar, A., Yu, W. H., Peterhoff, C., Cataldo, A., & Cuervo, A.M. (2005). Extensive involvement of autophagy in Alzheimer disease: an immuno-electron microscopy study. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 64:113–122. <https://doi.org/10.1093/jnen/64.2.113>
11. Komatsu, M., Wang, Q. J., Holstein, G. R., Friedrich, VL Jr., Iwata, J., Kominami, E., ... Yue, Z (2007). Essential role for autophagy protein Atg7 in the maintenance of axonal homeostasis and the prevention of axonal degeneration. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 104:14489–14494. <http://doi.org/10.1073/pnas.0701311104>
12. Tsvetkov, A. S., Mitra, S., & Finkbeiner, S. (2009). Protein turnover differences between neurons and other cells. *Autophagy*, 5(7), 1037–1038. PMID: PMC2892253, NIHMSID: NIHMS183234
13. Yue, Z., Friedman, L., Komatsu, M., & Tanaka, K. (2009). The cellular pathways of neuronal autophagy and their implication in neurodegenerative diseases. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Cell Research*, 1793(9), 496-1507. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2009.01.016>
14. Nishiyama, J., Miura, E., Mizushima, N., Watanabe, M., & Yuzaki, M. (2007). Aberrant membranes and double-membrane structures accumulate in the axons of Atg5-null Purkinje cells before neuronal death. *Autophagy*, 3, 591–596. <http://dx.doi.org/10.4161/auto.4964>
15. Mancias, J. D., & Kimmelman, A. C. (2016). Mechanisms of selective autophagy in normal physiology and cancer. *Journal of Molecular Biology*, 428(9 Pt A), 1659–1680. <http://doi.org/10.1016/j.jmb.2016.02.027>
16. Deng, Z., Purtell, K., Lachance, V., Wold, M.S., Chen, S., & Yue, Z. (2017). Autophagy receptors and neurodegenerative diseases. *Trends Cell Biol.* 27:491–504. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2010.04.007>
17. Elkhider, M. A. & Chaudhuri, B. (2015). Autophagy as a neuronal housekeeper – a review. *Hygeia. J. D. Med.* 7 (1), 57-64. Available from <http://www.hygeiajournal.com / Article ID-Hygeia.J.D.Med/144/15>. <https://doi.org/10.15254/H.J.D.Med.7.2015.144>

18. Benito-Cuesta, I., Diez, H., Ordoñez, L., & Wandosell, F. (2017). Assessment of Autophagy in Neurons and Brain Tissue. *Cells*, 6, 25. <https://doi.org/10.3390/cells6030025>
19. Lee, J. H., Yu, W. H., Kumar, A., Lee, S., Mohan, P. S., Peterhoff, C. M., ... Sovak, G. (2010). Lysosomal proteolysis and autophagy require presenilin 1 and are disrupted by Alzheimer-related PS1 mutations. *Cell*, 141(7), 1146-1158. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.05.008>
20. Bekris, L. M., Yu, C.-E., Bird, T. D., & Tsuang, D. W. (2010). Genetics of Alzheimer disease. *Journal of Geriatric Psychiatry and Neurology*, 23(4), 213–227. <http://doi.org/10.1177/0891988710383571>
21. Moreau, K., Fleming, A., Imarisio, S., Lopez Ramirez, A., Mercer, J. L., Jimenez-Sanchez, M., .... Rubinsztein, D.C. (2014). PICALM modulates autophagy activity and tau accumulation. *Nature Communications*, 5, 4998. <http://doi.org/10.1038/ncomms5998>
22. Ando, K., Brion, J. P., Stygelbout, V., Suain, V., Authélet, M., Dedecker, R., .... Duyckaerts C. (2013). Clathrin adaptor CALM/PICALM is associated with neurofibrillary tangles and is cleaved in Alzheimer's brains. *Acta Neuropathol.* 125, 861–878. <https://doi.org/10.1007/s00401-013-1111-z>
23. Mizushima, N. (2007). Autophagy: process and function. *Genes Dev.* 21, 2861–2873. <https://doi.org/10.1101/gad.1599207>
24. Caccamo, A., Maldonado, M. A., Majumder, S., Medina, D. X., Holbein, W., Magrí, A., & Oddo, S. (2011). Naturally secreted amyloid-beta increases mammalian target of rapamycin (mTOR) activity via a PRAS40-mediated mechanism. *J. Biol. Chem.* 286:8924–8932. <https://doi.org/10.1074/jbc.M110.180638>
25. Caccamo, A., Majumder, S., Richardson, A., Strong, R., & Oddo, S. (2010). Molecular interplay between mammalian target of rapamycin (mTOR), amyloid- $\beta$ , and Tau: Effects on cognitive impairments. *Journal of Biological Chemistry*, 285(17), 13107-13120. <https://doi.org/10.1074/jbc.M110.100420>
26. An, W. L., Cowburn, R. F., Li, L., Braak, H., Alafuzoff, I., Iqbal, K., .... Pei, J. J. (2003). Up-Regulation of Phosphorylated/Activated p70 S6 Kinase and Its Relationship to Neurofibrillary Pathology in Alzheimer's Disease. *The American Journal of Pathology*, 163(2), 591 – 607. [https://doi.org/10.1016/S0002-9440\(10\)63687-5](https://doi.org/10.1016/S0002-9440(10)63687-5)
27. Tang, Z., Bereczki, E., Zhang, H., Wang, S., Li, C., Ji, X., .... Pei, J. J. (2013). Mammalian target of rapamycin (mTor) mediates tau protein dyshomeostasis: implication for Alzheimer disease. *J. Biol. Chem.*, 288, 15556-15570. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2015.03.003>
28. Tanji, K., Miki, Y, Ozaki, T, Maruyama, A, Yoshida, H, Mimura, J, .... Wakabayashi, K. (2014). Phosphorylation of serine 349 of p62 in Alzheimer's disease brain. *Acta neuropathologica communications*, 2:50; <http://dx.doi.org/10.1186/2051-5960-2-50>
29. Nixon, R. A., & Yang, D. S. (2012). Autophagy and neuronal cell death in neurological disorders. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 4(10). <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a008839>
30. Ona, V. O., Li, M., Vonsattel, J. P., Andrews, L. J., Khan, S. Q., Chung, W. M., ... Friedlander, R. M. (1999) Inhibition of caspase-1 slows disease progression in a mouse model of Huntington's disease. *Nature*, 399, 263-267. <http://doi.org/10.1038/20446>
31. Sanchez, I., Xu, C. J., Juo, P., Kakizaka, A., Blenis, J., & Yuan, J. (1999). Caspase-8 is required for cell death induced by expanded polyglutamine repeats. *Neuron*, 22, 623–633. [http://doi.org/10.1016/S0896-6273\(00\)80716-3](http://doi.org/10.1016/S0896-6273(00)80716-3)
32. Gafni, J., Hermel, E., Young, J. E., Wellington, C. L., Hayden, M. R., & Ellerby, L. M. (2004). Inhibition of calpain cleavage of huntingtin reduces toxicity: accumulation of calpain/caspase fragments in the nucleus. *J. Biol. Chem.* 279, 20211–20220. <http://doi.org/10.1074/jbc.M401267200>
33. Graham, R. K., Deng, Y., Slow, E. J., Haigh, B., Bissada, N., Lu, G., .... Warby, S. C. (2006). Cleavage at the caspase-6 site is required for neuronal dysfunction and degeneration due to mutant huntingtin. *Cell*, 125, 1179–1191. <http://doi.org/10.1016/j.cell.2006.04.026>
34. Tellez-Nagel, I., Johnson, A.B., & Terry, R.D. (1974). Studies on brain biopsies of patients with Huntington's chorea. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 33, 308–332. PMID: 4150800
35. Rui, Y.-N., Xu, Z., Patel, B., Chen, Z., Chen, D., Tito, A., ... Zhang, S. (2015). Huntingtin Functions as a Scaffold for Selective



36. Ochaba, J., Lukacsovich, T., Csikos, G., Zheng, S., Margulis, J., Salazar, L., ... Steffan, J. S. (2014). Potential function for the Huntingtin protein as a scaffold for selective autophagy. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 111(47), 16889–16894. <http://doi.org/10.1073/pnas.1420103111>
37. Ravikumar, B., Vacher, C., Berger, Z., Davies, J.E., Luo, S., Oroz, L.G., ...Rubinsztein, D. C. (2004) Inhibition of mTOR induces autophagy and reduces toxicity of polyglutamine expansions in fly and mouse models of Huntington disease. *Nat. Genet.* 36, 585–595. <http://doi.org/10.1038/ng1362>
38. Jeong, H., Then, F., Melia, T. J., Mazzulli, J. R., Cui, L., Savas, J. N., .... Krainc, D. (2009). Acetylation targets mutant Huntingtin to autophagosomes for degradation. *Cell*, 137(1), 60–72. <http://doi.org/10.1016/j.cell.2009.03.018>
39. Martinez-Vicente, M., Tallozy, Z., Wong, E., Tang, G., Koga, H., Kaushik, S., .... Cuervo, A. M. (2010). Cargo recognition failure is responsible for inefficient autophagy in HUNTINGTON'S DISEASE. *Nature Neuroscience*, 13(5), 567–576. <http://doi.org/10.1038/nn.2528>
40. Shibata, M., Lu, T., Furuya, T., Degterev, A., Mizushima, N., Yoshimori, T., .... Yuan, J. (2006). Regulation of intracellular accumulation of mutant Huntingtin by Beclin 1. *J. Biol. Chem.* 281, 14474–14485. <http://doi.org/10.1074/jbc.M600364200>
41. Wong, Y. C., & Holzbaur, E. L. F. (2014). The regulation of autophagosome dynamics by huntingtin and HAP1 is disrupted by expression of mutant huntingtin, leading to defective cargo degradation. *The Journal of Neuroscience*, 34(4), 1293–1305. <http://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1870-13.2014>
42. Filimonenko, M., Isakson, P., Finley, K.D., Anderson, M., Jeong, H., Melia, T.J. ... Krainc, D. (2010). The Selective Macroautophagic Degradation of Aggregated Proteins Requires the PI3P-Binding Protein Alf. *Mol. Cell.* 38(2):265-279. <http://doi.org/10.1016/j.molcel.2010.04.007>
43. Isakson, P., Holland, P., & Simonsen, A. (2013). The role of ALFY in selective autophagy. *Cell Death and Differentiation*, 20(1), 12–20. <http://doi.org/10.1038/cdd.2012.66>
44. Lim, J., Lachenmayer, M. L., Wu, S., Liu, W., Kundu, M., Wang, R., ... Yue, Z. (2015). Proteotoxic stress induces phosphorylation of p62/SQSTM1 by ULK1 to regulate selective autophagic clearance of protein aggregates. *PLoS Genetics*, 11(2), e1004987. <http://doi.org/10.1371/journal.pgen.1004987>
45. Matsumoto, G., Wada, K., Okuno, M., Kurosawa, M., & Nukina, N. (2011). Serine 403 phosphorylation of p62/SQSTM1 regulates selective autophagic clearance of ubiquitinated proteins. *Mol. Cell.* 44:279-89, <http://dx.doi.org/10.1016/j.molcel.2011.07.039>
46. Ashkenazi, A., Bento, C.F, Ricketts, T., Vicinanza, M., Siddiqi, F., Pavel, M., ... Rubinsztein, D. C. (2017) Polyglutamine tracts regulate beclin 1-dependent autophagy. *Nature*, 545, 108–111. <http://dx.doi.org/10.1080/15548627.2017.1336278>
47. Stefanis, L. (2005). Caspase-dependent and -independent neuronal death: Two distinct pathways to neuronal injury. *Neuroscientist*, 11: 50–62.
48. Webb, J. L., Ravikumar, B., Atkins, J., Skepper, J. N., & Rubinsztein, D. C. (2003).  $\alpha$ -Synuclein is degraded by both autophagy and the proteasome. *J. Biol. Chem.* 278: 25009– 25013. <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.M300227200>
49. Cuervo, A. M., Stefanis, L., Fredenburg, R., Lansbury, P. T., & Sulzer, D. (2004). Impaired degradation of mutant alpha-synuclein by chaperone-mediated autophagy. *Science*, 305:1292-5. <http://dx.doi.org/10.1126/science.1101738>
50. Vogiatzi, T., Xilouri, M., Vekrellis, K., & Stefanis, L. (2008). Wild type alpha-synuclein is degraded by chaperone-mediated autophagy and macroautophagy in neuronal cells. *J. Biol. Chem.* 283:23542-56. <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.M801992200>
51. Xilour, M., Vogiatzi, T., & Stefanis, L. (2008). Alpha-synuclein degradation by autophagic pathways: A potential key to Parkinson's disease pathogenesis. *Autophagy*, 4(7), 917-919. <http://dx.doi.org/10.4161/auto.6685>

52. Xilouri, M., Vogiatzi, T., Vekrellis, K., Park, D., & Stefanis, L. (2009). Aberrant alpha-synuclein confers toxicity to neurons in part through inhibition of chaperone-mediated autophagy. *PLoS One*, [http://dx.doi.org/ 10.1371/journal.pone.0005515](http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0005515)
53. Winslow, A. R., Chen, C. W., Corrochano, S., Acevedo-Arozena, A., Gordon, D. E., Peden, A. A., ... Rubinsztein, D. C. (2010). alpha-Synuclein impairs macroautophagy: implications for Parkinson's disease. *J. Cell Biol.* 190:1023-37. <http://dx.doi.org/10.1083/jcb.201003122>
54. Kane, L. A., Lazarou, M., Fogel, A. I., Li, Y., Yamano, K., Sarraf, S. A., .... Youle, R. J. (2014). PINK1 phosphorylates ubiquitin to activate Parkin E3 ubiquitin ligase activity. *The Journal of Cell Biology*. 205:143–153. [http://dx.doi.org/ 10.1083/jcb.201402104](http://dx.doi.org/10.1083/jcb.201402104)
55. Kazlauskaitė, A., Kondapalli, C., Gourlay, R., Campbell, D. G., Ritorito, M. S., Hofmann, K., ... Muqit, M. M. K. (2014). Parkin is activated by PINK1-dependent phosphorylation of ubiquitin at Ser65. *Biochem. J.* 460:127–139. [http://dx.doi.org/ 10.1042/BJ20140334](http://dx.doi.org/10.1042/BJ20140334)
56. Kondapalli, C., Kazlauskaitė, A., Zhang, N., Woodroof, H. I., Campbell D. G., Gourlay R., ... Muqit, M. M. K. (2012). PINK1 is activated by mitochondrial membrane potential depolarization and stimulates Parkin E3 ligase activity by phosphorylating serine. *Open Biol.* 2:120080–120080. <http://dx.doi.org/10.1098/rsob.120080>
57. Koyano, F., Okatsu, K., Kosako, H., Tamura, Y., Go, E., Kimura, M., .... Matsuda, N. (2014). Ubiquitin is phosphorylated by PINK1 to activate parkin. *Nature*, 510:162–166. <http://dx.doi.org/10.1038/nature13392>
58. Sarraf, S. A., Raman, M., Guarani-Pereira, V., Sowa, M. E., Huttlin, E. L., Gygi, S. P., ... Harper, J. W. (2013). Landscape of the PARKIN-dependent ubiquitylome in response to mitochondrial depolarization. *Nature*, 496:372–376. <http://dx.doi.org/10.1038/nature12043>
59. Cunningham, C. N., Baughman, J. M., Phu L., Tea, J. S., Yu, C., Coons, M., ... Corn, J. E. (2015). USP30 and parkin homeostatically regulate atypical ubiquitin chains on mitochondria. *Nature Cell Biology*, 17:160–169. <http://dx.doi.org/10.1038/ncb3097>
60. Gasser, T. (2009). Molecular pathogenesis of Parkinson disease: Insights from genetic studies. *Expert Rev. Mol. Med.* 11: e22. <http://dx.doi.org/10.1017/S1462399409001148>
61. Ramirez, A., Heimbach, A., Grundemann, J., Stiller, B., Hampshire, D., Cid, L.P., ... Kubisch, C. (2006). Hereditary parkinsonism with dementia is caused by mutations in ATP13A2, encoding a lysosomal type 5 P-type ATPase. *Nat. Genet.* 38: 1184– 1191. <http://dx.doi.org/10.1038/ng1884>
62. Di Fonzo, A., Chien, H.F., Socal, M., Giraudo, S., Tassorelli, C., Iliceto, G., ... Bonifati, V. (2007). ATP13A2 missense mutations in juvenile parkinsonism and young onset Parkinson disease. *Neurology*, 68: 1557–1562. <http://dx.doi.org/10.1212/01.wnl.0000260963.08711.08>