

P62 蛋白在常见神经变性病中的表达观察

王圆圆 朱明伟 王鲁宁 张红红 胡亚卓 韩志涛 张莹晗

【摘要】 目的 评价 P62 蛋白在临床常见神经变性病特征性病理改变中的表达变化, 探讨其病理诊断意义。方法 收集 1994 年 6 月至 2017 年 10 月经临床和病理明确诊断的神经变性病脑组织标本共 11 例, 包括阿尔茨海默病 5 例(其中 2 例合并嗜银颗粒病)、帕金森病 3 例、进行性核上性麻痹 2 例、多系统萎缩 1 例; 另以 3 例无神经变性病的脑组织标本为对照。分别进行 HE、卢卡斯快蓝及 Gallyas-Braak 银染, 以及 β -淀粉样蛋白、AT8、 α -突触核蛋白和 P62 抗体免疫组织化学染色, 显微镜下观察不同神经变性病的特征性病理改变和 P62 蛋白表达变化。结果 阿尔茨海默病神经原纤维缠结、帕金森病路易小体和路易轴索、进行性核上性麻痹丛状星形细胞、嗜银颗粒病的嗜银颗粒, 以及多系统萎缩少突胶质细胞内包涵体均表达 P62 蛋白, 且形态特征与其特异性抗体染色结果相一致; 另外, 阿尔茨海默病神经炎症斑仅少量表达 P62 蛋白, 而弥散斑表达阴性; 淀粉样小体 P62 蛋白表达亦呈阳性; 正常对照脑组织不表达 P62 蛋白。结论 P62 蛋白在阿尔茨海默病、帕金森病、进行性核上性麻痹、多系统萎缩等疾病特征性病理改变和淀粉样小体中均表达阳性, 且形态与各种神经变性病组织学及相应特异性蛋白表达结果一致, 推荐 P62 抗体作为神经变性病的辅助病理诊断。

【关键词】 神经变性疾病; 衔接蛋白质类, 信号转导; 自噬; 免疫组织化学; 病理学

Observation on the expression of P62 protein in common neurodegenerative diseases

WANG Yuan-yuan¹, ZHU Ming-wei¹, WANG Lu-ning¹, ZHANG Hong-hong², HU Ya-zhuo², HAN Zhi-tao², ZHANG Ying-han³

¹Department of Neurology, ²Institute of Geriatrics, the Second Medical Center, Chinese PLA General Hospital; National Clinical Research Center for Geriatric Diseases, Beijing 100853, China

³Institute of Psychiatry and Neuroscience, Xinxiang Medical University, Xinxiang 453003, He'nan, China

Corresponding author: WANG Lu-ning (Email: lnw_301@163.com)

【Abstract】 Objective To evaluate the expression of P62 protein in the characteristic pathological changes of common neurodegenerative diseases and to explore its significance in pathological diagnosis. **Methods** Eleven cases of neurodegenerative diseases and 3 normal controls which were clinically and pathologically diagnosed from June 1994 to October 2017 were included. The neurodegenerative diseases consisted of 5 cases of Alzheimer's disease (AD) and 2 of which were diagnosed as AD combined with argyrophilic grain disease (AGD), 3 cases of Parkinson's disease (PD), 2 cases of progressive supranuclear palsy (PSP) and 1 case of multiple system atrophy (MSA). Three cases without neurological symptoms, signs and brain pathological changes were used as the normal control. Brain tissues were stained with HE, luxol fast blue (LFB) and Gallyas-Braak silver staining, as well as antibodies to amyloid β -protein (A β), AT8, α -synuclein and P62. The staining results were compared under microscope. **Results** P62 protein was present in the neurofibrillary tangles of AD, in the Lewy body and Lewy neurites of PD, in the tufted astrocyte of PSP, in the argyrophilic grain of AGD and in the glial cytoplasmic inclusion of MSA. The morphological characteristics were consistent with the results of staining with specific antibodies. P62 protein was only expressed in a small amount in the neuritic plaque of AD, and the diffuse plaques were negative. In addition, P62 protein was also deposited in corpora amylacea. No positive pathological structure of P62 immunohistochemical staining was found in normal control brain tissues. **Conclusions**

doi:10.3969/j.issn.1672-6731.2019.08.007

基金项目: 全军保健专项科研课题(项目编号: 15BJZ38)

作者单位: 100853 北京, 解放军总医院第二医学中心神经内科 国家老年疾病临床医学研究中心(王圆圆、朱明伟、王鲁宁), 老年医学研究所(张红红、胡亚卓、韩志涛); 453003 新乡医学院神经精神医学研究院(张莹晗)

通讯作者: 王鲁宁, Email: lnw_301@163.com

The P62 protein is expressed in the characteristic pathological changes and corpora amylacea of AD, PD, PSP, MSA and other diseases. Morphological staining results are consistent with histology of various neurodegenerative diseases and corresponding specific protein expression staining results. So the P62 antibody is recommended as the aiding pathological diagnosis of neurodegenerative diseases.

【Key words】 Neurodegenerative diseases; Adaptor proteins, signal transducing; Autophagy; Immunohistochemistry; Pathology

This study was supported by Special Scientific Research on Health Care of Chinese PLA (No. 15BJZ38).

Conflicts of interest: none declared

细胞中的蛋白质稳态主要由泛素-蛋白酶体系统(UPS)和自噬-溶酶体系统维持,而两个系统的降解过程均离不开泛素对底物的修饰^[1]。二者既相互独立又存在一定关联性,在泛素化蛋白降解过程中P62蛋白将二者联系起来^[2]。P62/SQSTM1蛋白是一种选择性自噬接头蛋白,该蛋白结构复杂且具有多种功能^[2-3]。P62蛋白功能异常与包括神经变性病在内的多种疾病有关^[3-4],而且P62蛋白免疫组织化学染色对诊断中枢神经系统变性疾病较泛素免疫组织化学染色更为敏感,因此近年在神经变性病中被广泛应用^[5-7]。神经变性病的特点是病理蛋白沉积,可以形成有病理诊断价值的特征性组织学形态改变,例如阿尔茨海默病(AD)中的老年斑和神经原纤维缠结(NFTs),帕金森病(PD)中的路易小体(LB)等。既往研究结果证实,这些病理改变分别与 β -淀粉样蛋白(A β)、tau蛋白以及 α -突触核蛋白(α -synuclein)有关,而近年研究发现P62蛋白亦参与其中^[6,8],但P62蛋白在不同神经变性病包涵体中的表达存在一定差异^[6],提示不同神经变性病的路理性蛋白沉积的病理学机制可能有所不同。目前在中文文献数据库中仅能检索到有关肌萎缩侧索硬化症(ALS)p62/SQSTM1基因突变和神经元核内包涵体病(NIID)的报道^[9-10],未曾见针对P62蛋白在神经变性病中的组织病理学研究。本研究选择解放军总医院神经内科近20年临床与病理资料完整,且为临床常见的神经变性病患者的脑组织标本进行P62蛋白免疫组织化学染色,旨在评价P62蛋白在常见神经变性病中的表达变化,以探讨其病理诊断意义。

对象与方法

一、研究对象

1. 诊断标准 (1)病理诊断标准:阿尔茨海默病、帕金森病、进行性核上性麻痹(PSP)和多系统萎

缩(MSA)的病理诊断,分别依据2011年美国国家老龄化研究所-阿尔茨海默病协会(NIA-AA)病理评价指南^[11]、1992年英国帕金森病脑库公布的标准^[12]、1996年美国国立神经病学与卒中研究所(NINDS)进行性核上性麻痹的病理诊断指南^[13],及2007年公布的多系统萎缩尸检神经病理诊断标准^[14]。(2)临床诊断标准:阿尔茨海默病依据1984年美国国立神经病学、语言障碍和卒中研究所-阿尔茨海默病及相关疾病协会(NINCDS-ADRDA)工作组提出的诊断标准,以及2011年NIA-AA修订版^[15-16];帕金森病依据我国2006和2016年版帕金森病诊断标准^[17-18];进行性核上性麻痹依据1996年美国国立神经病学与卒中研究所-进行性核上性麻痹学会(NINDS-SPSP)推荐的临床研究标准^[19];多系统萎缩依据1999年Gilman等^[20]制定的共识。

2. 纳入标准 (1)隐匿起病、缓慢进展。(2)阿尔茨海默病发病年龄>50岁,并符合以下条件:A β PET滞留增加;和(或)脑脊液A β ₁₋₄₂水平降低伴总tau蛋白或磷酸化tau蛋白水平升高。(3)帕金森病发病年龄>40岁,分子显像提示多巴胺转运体(DAT)水平降低、D2受体表达上调。(4)进行性核上性麻痹发病年龄>30岁,头部MRI正中矢状位扫描中脑萎缩呈“蜂鸟征”。(5)多系统萎缩发病年龄>30岁,头部MRI正中矢状位扫描显示脑桥、小脑萎缩,横断面T₂WI脑桥呈“十字征”。(6)本研究经解放军总医院道德伦理委员会审核批准,所有患者家属均签署尸检知情同意书。

3. 排除标准 (1)临床和病理符合其他神经变性病。(2)脑实质出血或大面积脑梗死。(3)颅内肿瘤、脑炎或颅脑创伤。(4)病理诊断不明确。

4. 一般资料 根据上述纳入与排除标准,收集1994年6月至2017年10月在我院神经内科住院治疗且临床资料完整,死亡后经尸头解剖病理诊断明确的神经变性病患者的脑组织标本共11例,其中阿

表 1 11 例神经变性病患者和 3 例正常脑老化受试者临床与病理诊断结果

Table 1. Clinical diagnosis and pathological diagnosis of 11 patients with neurodegenerative diseases and 3 controls

序号	性别	年龄 (岁)	病程 (月)	临床诊断	病理诊断
1	男性	93	72	VaD,CAA	AD,CAA
2	男性	83	84	VaD	AD
3	男性	91	84	VaD	AD+AGD,CAA
4	男性	89	36	认知功能障碍	AD
5	男性	84	96	AD	AD+AGD,CAA
6	男性	90	276	PD	PD
7	男性	72	96	PD	PD
8	男性	84	96	PD	PD
9	男性	79	60	帕金森综合征	PSP
10	男性	83	132	PSP可能	PSP
11	女性	57	60	MSA	MSA
12	男性	81	0	肺癌	正常脑老化
13	女性	92	0	肺癌术后,呼吸心跳骤停	正常脑老化
14	男性	76	0	猝死	正常脑老化

VaD, vascular dementia; 血管性痴呆; CAA, cerebral amyloid angiopathy, 脑淀粉样血管病; AD, Alzheimer's disease, 阿尔茨海默病; AGD, argyrophilic grain disease, 嗜银颗粒病; PD, Parkinson's disease, 帕金森病; PSP, progressive supranuclear palsy, 进行性核上性麻痹; MSA, multiple system atrophy, 多系统萎缩

尔茨海默病 5 例[2 例合并嗜银颗粒病(AGD)]、帕金森病 3 例、进行性核上性麻痹 2 例、多系统萎缩 1 例;另选择无神经系统症状与体征,以及无神经病理改变的正常脑老化组织标本 3 例。本组患者性别、年龄、病程,以及临床与病理诊断结果参见表 1。

二、研究方法

1. 标本制备 脑组织标本经体积分数为 4% 的中性甲醛溶液固定 2 周,常规冠状切脑,然后根据不同病种选择其主要病变脑区,经常规脱水、透明、石蜡包埋后,连续切取 8 张层厚为 6 μm 脑片。不同病种所选择的脑区分别为:阿尔茨海默病选择杏仁核、海马和额叶;帕金森病为中脑、脑桥及杏仁核;进行性核上性麻痹为中脑、基底节及杏仁核;多系统萎缩为脑桥和延髓;正常脑老化为海马、杏仁核、中脑和脑桥。

2. 试剂与仪器 (1)主要试剂:免疫组织化学试剂 I 抗工作液为小鼠抗人 Aβ 单克隆抗体(克隆号:6F/3D, 1:100, 浓度:127 μg/ml, 批号:M0872)购自丹麦 Dako 公司,小鼠抗人 PHF-tau 单克隆抗体(克隆号:AT8, 1:400, 浓度:200 μg/ml, 批号:SJ2448082)

购自美国 Thermo 公司,兔抗人 α-synuclein 多克隆抗体(1:1000, 浓度:8.30 mg/ml, 批号:075M4764V)为美国 Sigma 公司产品,小鼠抗人 SQSTM1(P62)单克隆抗体(克隆号:2C11, 1:1000, 浓度:1 mg/ml, 批号:I2271-2C11)购自中国台湾亚诺法生技股份有限公司;抗原修复液无水甲酸(分析纯 98%)和 pH 值 6.0 柠檬酸缓冲液分别购自上海麦克林生化科技有限公司和北京中杉金桥生物技术有限公司,PV-6000 和 SP-9000 通用试剂盒均来自北京中杉金桥生物技术有限公司。(2)主要检测仪器:Olympus BX-60 型显微镜购自奥林巴斯(深圳)工业有限公司。

3. 免疫组织化学染色 脑组织切片分别行 Aβ、AT8、α-synuclein 和 P62 抗体染色,二氨基联苯胺(DAB)显色,Olympus BX-60 型显微镜观察其组织病理变化;同时常规行 HE、卢卡斯快蓝(LFB)和 Gallyas-Braak 银染,观察组织学形态变化、髓鞘缺失,以及嗜银性变(如老年斑、神经原纤维缠结、嗜银颗粒、丛状星形细胞)。(1)Aβ 抗体:以无水甲酸进行抗原修复,SP 法(SP-9000 通用试剂盒)染色,观察神经毡内弥散斑和神经炎性斑,以及淀粉样血管变性。(2)AT8 抗体:无需抗原修复,采用 EnVision 二步法染色,分别观察神经原纤维缠结、线丝、胶质细胞病理,以及嗜银颗粒。(3)α-synuclein 抗体:采用 pH 值 6.0 柠檬酸缓冲液和无水甲酸进行抗原修复,SP 三步法(SP-9000 通用试剂盒)染色,观察神经元内路易小体和路易轴索,以及少突胶质细胞包涵体。(4)P62/SQSTM1 抗体:以 pH 值 6.0 柠檬酸缓冲液进行抗原修复,SP 三步法(SP-9000 通用试剂盒)染色,观察 P62 蛋白在不同神经变性病特征性病理改变中的表达变化。以上 4 种抗体染色呈棕色者为相应蛋白表达阳性。

结 果

本组 5 例阿尔茨海默病患者额叶、海马、杏仁核均可见 Aβ 抗体免疫组织化学染色和 Gallyas-Braak 银染阳性的细胞外结构即老年斑,包括弥散斑和神经炎性斑;而 P62 抗体染色仅对神经炎性斑内的营养不良突起呈阳性,而弥散斑染色呈阴性(图 1)。经 AT8 抗体染色和 Gallyas-Braak 银染显示,额叶、海马和杏仁核神经元胞质内呈“三角”形或“火焰”状的神经原纤维缠结染色阳性,这些神经原纤维缠结均可被 P62 抗体所标记且形态与 AT8 抗体染色十分相似,提示 P62 蛋白参与了阿尔茨海默病神经原纤

维缠结的形成(图2)。其中,2例合并嗜银颗粒病(例3和例5)的阿尔茨海默病患者,杏仁核可见AT8抗体染色和Gallyas-Braak银染阳性的嗜银颗粒,是由神经突起及其分支变性形成的呈“逗号”样或短棒状结构,经P62抗体染色呈广泛阳性,形态与Gallyas-Braak银染相似,表明P62蛋白参与了嗜银颗粒病嗜银颗粒的形成(图3)。

2例进行性核上性麻痹患者,基底节、中脑和杏仁核均可见AT8抗体染色和Gallyas-Braak银染阳性的丛状星形细胞(tufted astrocytes),后者为星形细胞胞质及其近端突起变性形成。丛状星形细胞在P62抗体染色中也呈阳性,其形态与Gallyas-Braak银染相似,表明P62蛋白参与了丛状星形细胞的形成(图4)。

本组3例帕金森病患者,中脑、脑桥以及杏仁核 α -synuclein抗体染色显示,阳性神经元胞质内存在路易小体和轴索变性形成的路易轴索;而且P62抗体染色也呈阳性,其形态与 α -synuclein抗体染色一致,提示P62蛋白参与了路易小体和路易轴索的形成(图5)。

1例多系统萎缩病例中脑和脑桥 α -synuclein抗体染色显示,呈阳性反应的少突胶质细胞包涵体如“半月”状或“火焰”状,这些包涵体P62抗体染色也呈阳性,其形态与 α -synuclein抗体染色相一致,表明少突胶质细胞包涵体表达P62蛋白(图6)。

3例正常对照脑组织标本Gallyas-Braak、 $A\beta$ 、AT8和 α -synuclein染色均呈阴性,未见P62染色阳性相关神经变性病的病理结构。正常对照组与神经变性病(阿尔茨海默病、帕金森病、进行性核上性麻痹、多系统萎缩)组受试者皮质软脑膜下、室管膜下,以及血管周围组织均显示有P62抗体染色阳性的淀粉样小体存在,其形态与HE染色相一致,但是Gallyas-Braak、 $A\beta$ 、AT8以及 α -synuclein染色则均呈阴性(图7),说明P62蛋白可能参与了淀粉样小体的形成。

讨 论

P62/SQSTM1蛋白作为一种具有泛素结合功能的蛋白,由人 $p62/SQSTM1$ 基因编码,主要由6个功能域构成,从氨基末端(N端)到羧基末端(C端)依次为PB1结构域、ZZ型锌指结构域、TB结构域、LIR结构域、KIR结构域、UBA结构域^[2-3]。P62/SQSTM1蛋白参与信号转导、自噬与蛋白降解、线粒体自噬

和抗氧化反应等,其功能异常与多种疾病有关,包括神经变性病、肿瘤、代谢性疾病等^[3-4]。

目前研究认为,P62蛋白参与了异常蛋白如tau、 α -synuclein、TAR-DNA结合蛋白43(TDP-43)等的病理生理学过程^[8,21-22]。其中,阿尔茨海默病的神经原纤维缠结、嗜银颗粒病和进行性核上性麻痹等均属于tau蛋白病;帕金森病、路易体痴呆和多系统萎缩属于突触核蛋白病;而部分肌萎缩侧索硬化症和额颞叶变性则属于TDP-43蛋白病。

本研究分别选择组织病理学特点为老年斑和神经原纤维缠结、丛状星形细胞、嗜银颗粒、路易小体和路易轴索,以及少突胶质细胞包涵体的阿尔茨海默病、进行性核上性麻痹、嗜银颗粒病、帕金森病和多系统萎缩患者的脑组织标本进行P62抗体免疫组织化学染色,结果显示,神经原纤维缠结、丛状星形细胞、嗜银颗粒、路易小体和路易轴索,以及少突胶质细胞包涵体P62抗体染色均呈阳性,而且表现形态与其特异性抗体染色基本一致,而老年斑中的弥散斑染色阴性、神经炎性斑呈模糊阳性,证实P62蛋白参与了tau蛋白病和突触核蛋白病的病理性聚集,形成特征性的神经元包涵体及胶质细胞包涵体。根据Du等^[23-24]的研究,在阿尔茨海默病等神经变性病患者脑组织中,由于氧化损伤对 $p62$ 基因启动子区域的损害,可使P62蛋白表达水平显著下降。Ramesh Babu等^[25]的动物实验结果证实, $p62$ 基因敲除小鼠的海马和皮质可出现神经原纤维缠结形成并突触缺失等病理现象。Piras等^[8]的研究亦证实,P62蛋白参与的异常蛋白清除障碍是诱发tau蛋白病的原因。因此越来越多的证据显示,P62蛋白在阿尔茨海默病的病理性tau蛋白降解过程中发挥重要作用^[26]。尽管我们观察到老年斑中的神经炎性斑仅有少量的P62蛋白表达,而且弥散斑该蛋白表达阴性,这一点也得到Kuusisto等^[27]的证实,但这并不意味着P62蛋白与老年斑之间无关联性。Caccamo等^[28]对阿尔茨海默病双转基因APP/PS1模型小鼠的研究发现,通过提高P62蛋白表达水平可以增强由P62蛋白介导的自噬途径,从而加速对老年斑的清除、减轻老年斑负荷,最终改善痴呆模型小鼠的认知功能。

P62蛋白不仅参与阿尔茨海默病等tau蛋白病的病理生理学过程,同时在帕金森病等突触核蛋白病的病理生理学过程中也扮演着重要角色。本研究观察到,帕金森病患者中脑、脑桥及杏仁核中的

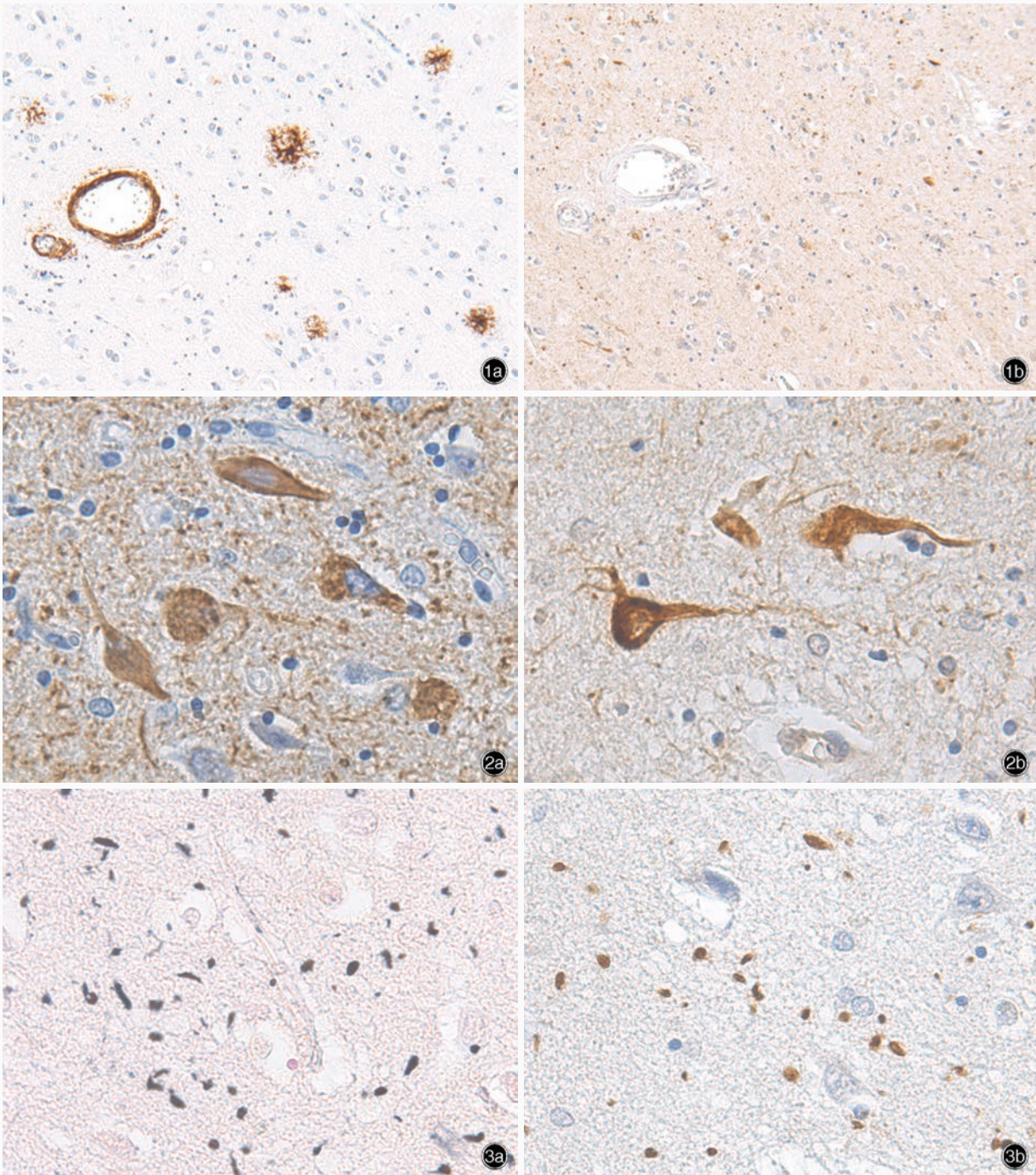


图1 阿尔茨海默病患者内嗅皮质光学显微镜观察所见(例1) 免疫组织化学染色(SP三步法) ×100 1a 细胞外老年斑及淀粉样血管变性组织均表达Aβ 1b 淀粉样血管变性组织P62表达阴性,神经炎性斑内的营养不良突起部分P62蛋白表达阳性
图2 阿尔茨海默病患者额叶光学显微镜观察所见(例5) ×400 2a 神经元胞质内神经原纤维缠结AT8表达阳性 免疫组织化学染色(EnVision二步法) 2b 神经原纤维缠结P62表达阳性 免疫组织化学染色(SP三步法) **图3** 阿尔茨海默病合并嗜银颗粒病患者杏仁核光学显微镜观察所见(例3) ×400 3a 可见呈银染的嗜银颗粒 Gallyas-Braak银染 3b 嗜银颗粒P62表达阳性 免疫组织化学染色(SP三步法)

Figure 1 In the entorhinal cortex of AD (Case 1) Optical microscopy findings Immunohistochemical staining (SP) ×100 The extracellular senile plaques and amyloid angiopathy were positive for Aβ (Panel 1a). The neuritic plaques showed blurring expression of P62, while amyloid angiopathy degeneration was negative (Panel 1b). **Figure 2** In the frontal lobe of AD (Case 5) Optical microscopy findings ×400 The intracellular NFTs of neurons showed expression of AT8 (Panel 2a). Immunohistochemical staining (EnVision) The NFTs were positive for P62 (Panel 2b). **Figure 3** In amygdala of AD combined with AGD (Case 3) Optical microscopy findings ×400 Many argyrophilic grains were seen (Panel 3a). Gallyas-Braak silver staining Argyrophilic grains were positive for P62 (Panel 3b). Immunohistochemical staining (SP)

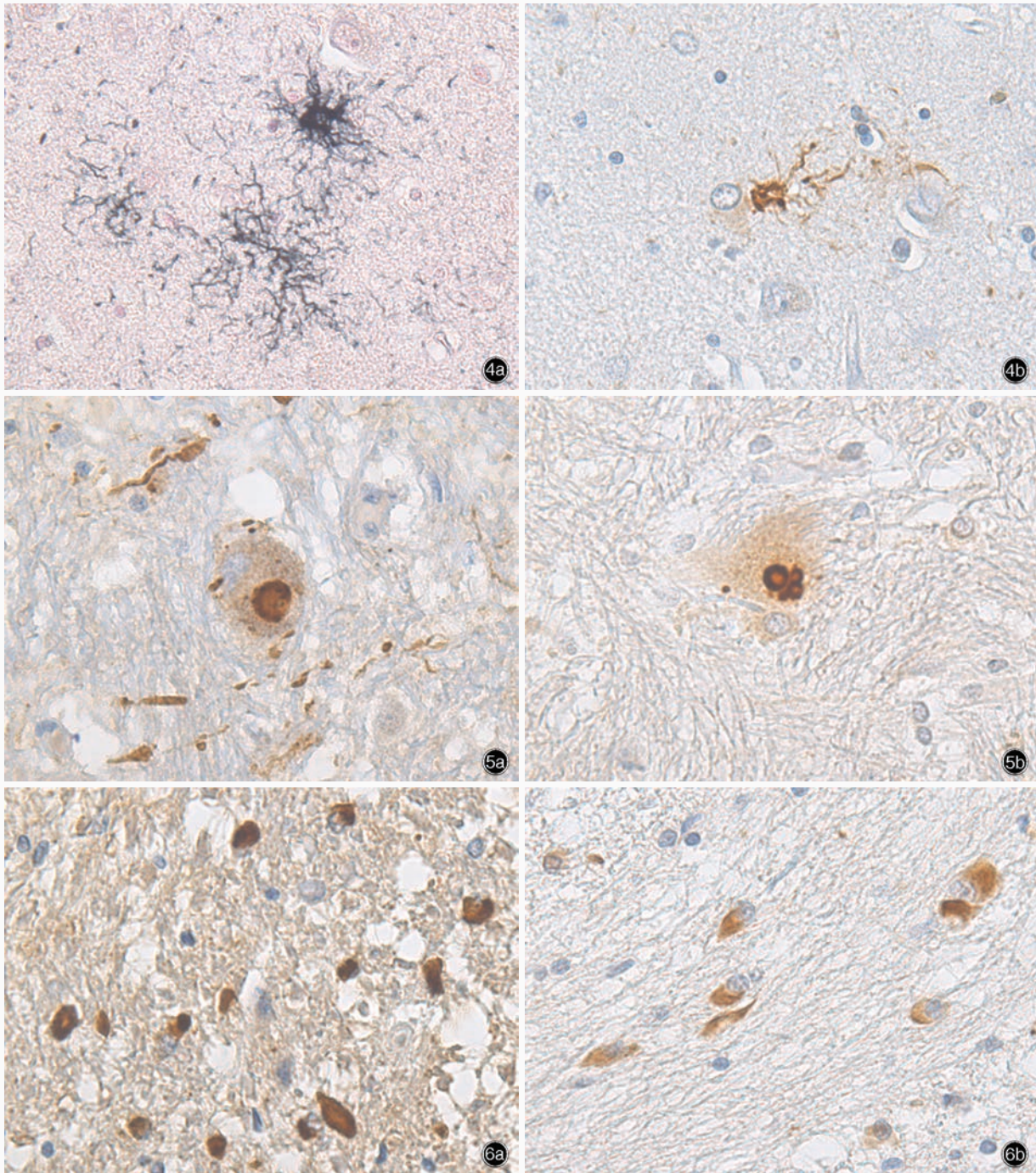


图4 进行性核上性麻痹患者杏仁核光学显微镜观察所见(例10) ×400 4a 丛状星形细胞染色阳性 Gallys-Braak 银染 4b 丛状星形细胞胞质及突起均表达P62 免疫组织化学染色(SP三步法) 图5 帕金森病患者延髓光学显微镜观察所见(例6) 免疫组织化学染色(SP三步法) ×400 5a 神经元胞质内路易小体α-synuclein表达阳性 5b 路易小体P62表达阳性 图6 多系统萎缩患者延髓光学显微镜观察所见(例11) 免疫组织化学染色(SP三步法) ×400 6a 少突胶质细胞胞质内包涵体α-synuclein表达阳性 6b 少突胶质细胞胞质内包涵体P62表达阳性

Figure 4 In amygdala of PSP (Case 10) Optical microscopy findings ×400 Tufted astrocytes were positive (Panel 4a). Gallys-Braak silver staining P62 was expressed in cytoplasm and processes of the tufted astrocytes (Panel 4b). Immunohistochemical staining (SP) **Figure 5** In medulla oblongata of PD (Case 6) Optical microscopy findings Immunohistochemical staining (SP) ×400 Lewy bodies in the cytoplasm of neurons showed expression of α-synuclein (Panel 5a). Lewy bodies in the cytoplasm of neurons were positive for P62 (Panel 5b). **Figure 6** In medulla oblongata of MSA (Case 11) Optical microscopy findings Immunohistochemical staining (SP) ×400 Inclusion bodies in cytoplasm of oligodendrocytes showed expression of α-synuclein (Panel 6a). Inclusion bodies in cytoplasm of oligodendrocytes were positive for P62 (Panel 6b).

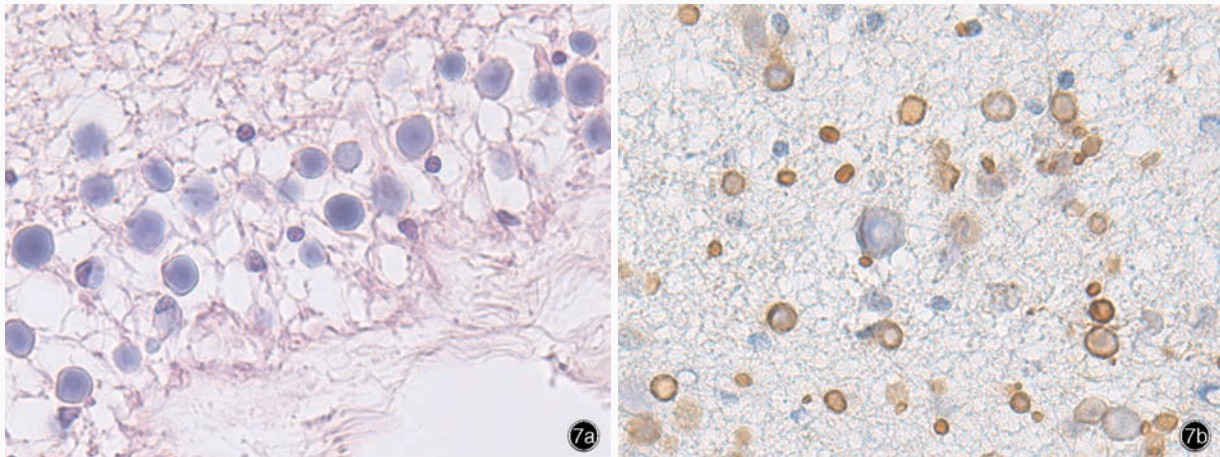


图 7 进行性核上性麻痹患者杏仁核光学显微镜观察所见(例 10) ×400 7a 可见大量呈阳性反应的淀粉样小体 HE 染色 7b 淀粉样小体 P62 表达阳性 免疫组织化学染色(SP 三步法)

Figure 7 In amygdala of PSP (Case 10) Optical microscopy findings ×400 Many positive corpora amylaceas were showed (Panel 7a). HE staining Corpora amylaceas were positive for P62 (Panel 7b). Immunohistochemical staining (SP)

路易小体和路易轴索,以及多系统萎缩患者脑桥和延髓中的少突胶质细胞包涵体均表达 P62 蛋白,此与文献报道相一致^[6,29]。Braak 等^[22]的尸头研究发现,在散发性帕金森病病例中所有与脑干迷走神经背核和脊髓中间外侧柱有纤维联系的神经核团均在病程进展过程中相继受累,唯有下丘脑室旁核“幸免”,该作者推测此现象可能与下丘脑室旁核均匀表达 P62 蛋白有关,后者可通过加速异常蛋白代谢或阻止异常蛋白聚集而使下丘脑室旁核损害。此外,Tanji 等^[30]对过表达 α -synuclein 蛋白的转基因小鼠模型观察发现,p62 基因缺陷小鼠 α -synuclein 阳性路易小体样包涵体数目和密度均明显高于 p62 基因正常小鼠。

本研究还发现,淀粉样小体 P62 蛋白表达阳性,Augé 等^[31]对人类脑淀粉样小体成分的分析结果与本研究基本一致。淀粉样小体是一种直径为 10~50 μm 的圆形小体,主要由多糖体和少量蛋白质组成^[32-33],可见于正常老年人脑组织,亦可见于神经变性病如阿尔茨海默病、帕金森病等患者的脑组织中,主要分布于血管周围、软脑膜下、室管膜下^[33]。虽然,目前关于淀粉样小体的来源和功能仍存在争议^[31],但推测其很可能参与细胞保护或有害物质清除^[31,33],因此 P62 蛋白存在于淀粉样小体的病理现象也值得关注。

由于病理资料有限,本研究未对进行性肌萎缩侧索硬化症、Pick 病、皮质基底节变性(CBD)等神经变性病患者脑组织 P62 蛋白的表达变化进行分析,

但以往研究表明,这些神经变性病患者的脑包涵体中均表达 P62 抗体^[5-6,21,27]。由于 P62 蛋白在神经变性病患者的脑组织中普遍存在,而且调控其表达对改变病理性蛋白质的含量有一定作用,因此加强关于 P62 蛋白在神经变性病中作用机制的研究,或许是未来开展靶向治疗的希望之所在。此外,可将 P62 抗体作为神经变性病病理改变的初筛抗体,用于辅助诊断。

利益冲突 无

参 考 文 献

- [1] Cohen - Kaplan V, Livneh I, Avni N, Cohen - Rosenzweig C, Ciechanover A. The ubiquitin - proteasome system and autophagy: coordinated and independent activities [J]. Int J Biochem Cell Biol, 2016, 79:403-418.
- [2] Liu WJ, Ye L, Huang WF, Guo LJ, Xu ZG, Wu HL, Yang C, Liu HF. P62 links the autophagy pathway and the ubiquitin-proteasome system upon ubiquitinated protein degradation [J]. Cell Mol Biol Lett, 2016, 21:29.
- [3] Bitto A, Lerner CA, Nacarelli T, Crowe E, Torres C, Sell C. P62/SQSTM1 at the interface of aging, autophagy, and disease [J]. Age (Dordr), 2014, 36:9626.
- [4] Geetha T, Vishwaprakash N, Sycheva M, Babu JR. Sequestosome 1/p62: across diseases [J]. Biomarkers, 2012, 17: 99-103.
- [5] Mizuno Y, Amari M, Takatama M, Aizawa H, Mihara B, Okamoto K. Immunoreactivities of p62, an ubiquitin - binding protein, in the spinal anterior horn cells of patients with amyotrophic lateral sclerosis [J]. J Neurol Sci, 2006, 249:13-18.
- [6] Kuusisto E, Kauppinen T, Alafuzoff I. Use of p62/SQSTM1 antibodies for neuropathological diagnosis [J]. Neuropathol Appl Neurobiol, 2008, 34:169-180.
- [7] Scott IS, Lowe JS. The ubiquitin-binding protein p62 identifies argyrophilic grain pathology with greater sensitivity than conventional silver stains [J]. Acta Neuropathol, 2007, 113:417-

- 420.
- [8] Piras A, Collin L, Grüninger F, Graff C, Rönnebeck A. Autophagic and lysosomal defects in human tauopathies: analysis of post-mortem brain from patients with familial Alzheimer disease, corticobasal degeneration and progressive supranuclear palsy[J]. *Acta Neuropathol Commun*, 2016, 4:22.
- [9] Yang Y, Fan DS. To screen for SQSTM1/p62 gene in Chinese patients with familial amyotrophic lateral sclerosis carrying superoxide dismutase 1 mutation[J]. *Zhonghua Nei Ke Za Zhi*, 2014, 53:957-960. [杨毅, 樊东升. 携带超氧化物歧化酶 1 突变基因的家系性肌萎缩侧索硬化患者 SQSTM1/p62 基因筛查研究[J]. *中华内科杂志*, 2014, 53:957-960.]
- [10] Chen WA, Li X, Zhu WQ, Zhang Y, Zhang ZQ. Adult-onset neuronal intranuclear inclusion disease: a case report and review of literature[J]. *Zhonghua Shen Jing Ke Za Zhi*, 2018, 51:905-908. [陈为安, 厉向, 朱维谦, 张扬, 张在强. 成人型神经元核内包涵体病一例并文献复习[J]. *中华神经科杂志*, 2018, 51:905-908.]
- [11] Montine TJ, Phelps CH, Beach TG, Bigio EH, Cairns NJ, Dickson DW, Duyckaerts C, Frosch MP, Masliah E, Mirra SS, Nelson PT, Schneider JA, Thal DR, Trojanowski JQ, Vinters HV, Hyman BT; National Institute on Aging, Alzheimer's Association. National Institute on Aging - Alzheimer's Association guidelines for the neuropathologic assessment of Alzheimer's disease: a practical approach [J]. *Acta Neuropathol*, 2012, 123:1-11.
- [12] Hughes AJ, Daniel SE, Kilford L, Lees AJ. Accuracy of clinical diagnosis of idiopathic Parkinson's disease: a clinico-pathological study of 100 cases [J]. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 1992, 55:181-184.
- [13] Litvan I, Hauw JJ, Bartko JJ, Lantos PL, Daniel SE, Horoupian DS, McKee A, Dickson D, Banerjee C, Tabaton M, Jellinger KA, Anderson DW. Validity and reliability of the preliminary NINDS neuropathologic criteria for progressive supranuclear palsy and related disorders [J]. *J Neuropathol Exp Neurol*, 1996, 55:97-105.
- [14] Trojanowski JQ, Revesz T; Neuropathology Working Group on MSA. Proposed neuropathological criteria for the post mortem diagnosis of multiple system atrophy [J]. *Neuropathol Appl Neurobiol*, 2007, 33:615-620.
- [15] McKhann G, Drachman D, Folstein M, Katzman R, Price D, Stadlan EM. Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: report of the NINCDS - ADRDA Work Group under the auspices of Department of Health and Human Services Task Force on Alzheimer's Disease[J]. *Neurology*, 1984, 34:939-944.
- [16] McKhann GM, Knopman DS, Chertkow H, Hyman BT, Jack CR, Jr, Kawas CH, Klunk WE, Koroshetz WJ, Manly JJ, Mayeux R, Mohs RC, Morris JC, Rossor MN, Scheltens P, Carrillo MC, Thies B, Weintraub S, Phelps CH. The diagnosis of dementia due to Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging - Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease[J]. *Alzheimers Dement*, 2011, 7:263-269.
- [17] Parkinson's Disease and Movement Disorders Group, Neurology Branch, Chinese Medical Association. Diagnosis of Parkinson's disease[J]. *Zhonghua Shen Jing Ke Za Zhi*, 2006, 39:408-409. [中华医学会神经病学分会运动障碍及帕金森病学组. 帕金森病的诊断[J]. *中华神经科杂志*, 2006, 39:408-409.]
- [18] Parkinson's Disease and Movement Disorders Group, Neurology Branch, Chinese Medical Association. Diagnostic criteria of Parkinson's disease in China (2016 edition)[J]. *Zhonghua Shen Jing Ke Za Zhi*, 2016, 49:268-271. [中华医学会神经病学分会帕金森病及运动障碍学组. 中国帕金森病的诊断标准(2016版)[J]. *中华神经科杂志*, 2016, 49:268-271.]
- [19] Litvan I, Agid Y, Calne D, Campbell G, Dubois B, Duvoisin RC, Goetz CG, Golbe LI, Grafman J, Growdon JH, Hallett M, Jankovic J, Quinn NP, Tolosa E, Zee DS. Clinical research criteria for the diagnosis of progressive supranuclear palsy (Steele-Richardson-Olszewski syndrome): report of the NINDS-SPSP international workshop[J]. *Neurology*, 1996, 47:1-9.
- [20] Gilman S, Low PA, Quinn N, Albanese A, Ben-Shlomo Y, Fowler CJ, Kaufmann H, Klockgether T, Lang AE, Lantos PL, Litvan I, Mathias CJ, Oliver E, Robertson D, Schatz I, Wenning GK. Consensus statement on the diagnosis of multiple system atrophy[J]. *J Neurol Sci*, 1999, 163:94-98.
- [21] Tanji K, Zhang HX, Mori F, Kakita A, Takahashi H, Wakabayashi K. P62/sequestosome 1 binds to TDP-43 in brains with frontotemporal lobar degeneration with TDP-43 inclusions [J]. *J Neurosci Res*, 2012, 90:2034-2042.
- [22] Braak H, Thal DR, Del Tredici K. Nerve cells immunoreactive for p62 in select hypothalamic and brainstem nuclei of controls and Parkinson's disease cases [J]. *J Neural Transm (Vienna)*, 2011, 118:809-819.
- [23] Du Y, Wooten MC, Gearing M, Wooten MW. Age-associated oxidative damage to the p62 promoter: implications for Alzheimer disease[J]. *Free Radic Biol Med*, 2009, 46:492-501.
- [24] Du Y, Wooten MC, Wooten MW. Oxidative damage to the promoter region of SQSTM1/p62 is common to neurodegenerative disease[J]. *Neurobiol Dis*, 2009, 35:302-310.
- [25] Ramesh Babu J, Lamar Seibenhener M, Peng J, Strom AL, Kempainen R, Cox N, Zhu H, Wooten MC, Diaz-Meco MT, Moscat J, Wooten MW. Genetic inactivation of p62 leads to accumulation of hyperphosphorylated tau and neurodegeneration [J]. *J Neurochem*, 2008, 106:107-120.
- [26] Salminen A, Kaarniranta K, Haapasalo A, Hiltunen M, Soininen H, Alafuzoff I. Emerging role of p62/sequestosome-1 in the pathogenesis of Alzheimer's disease[J]. *Prog Neurobiol*, 2012, 96:87-95.
- [27] Kuusisto E, Salminen A, Alafuzoff I. Ubiquitin-binding protein p62 is present in neuronal and glial inclusions in human tauopathies and synucleinopathies [J]. *Neuroreport*, 2001, 12:2085-2090.
- [28] Caccamo A, Ferreira E, Branca C, Oddo S. P62 improves AD-like pathology by increasing autophagy [J]. *Mol Psychiatry*, 2017, 22:865-873.
- [29] Terni B, Rey MJ, Boluda S, Torrejon-Escribano B, Sabate MP, Calopa M, van Leeuwen FW, Ferrer I. Mutant ubiquitin and p62 immunoreactivity in cases of combined multiple system atrophy and Alzheimer's disease [J]. *Acta Neuropathol*, 2007, 113:403-416.
- [30] Tanji K, Odagiri S, Miki Y, Maruyama A, Nikaido Y, Mimura J, Mori F, Warabi E, Yanagawa T, Ueno S, Itoh K, Wakabayashi K. P62 deficiency enhances alpha-synuclein pathology in mice [J]. *Brain Pathol*, 2015, 25:552-564.
- [31] Augé E, Duran J, Guinovart JJ, Pelegrí C, Vilaplana J. Exploring the elusive composition of corpora amylacea of human brain[J]. *Sci Rep*, 2018, 8:13525.
- [32] Pisa D, Alonso R, Marina AI, Rábano A, Carrasco L. Human and microbial proteins from corpora amylacea of Alzheimer's disease[J]. *Sci Rep*, 2018, 8:9880.
- [33] Rohn TT. Corpora amylacea in neurodegenerative diseases: cause or effect[J]? *Int J Neurol Neurother*, 2015, 2:31.

(收稿日期: 2019-07-12)