

组织蛋白酶在神经系统变性疾病中的研究进展

姚思彤, 徐薇淇, 丛树艳

(中国医科大学附属盛京医院神经内科, 沈阳 110004)

摘要 组织蛋白酶是溶酶体中最为丰富的水解酶, 负责降解各种底物。目前, 越来越多的证据表明, 组织蛋白酶在神经系统变性疾病中发挥重要作用。组织蛋白酶通过调节异常蛋白的聚集(α -突触核蛋白、 β -淀粉样蛋白、亨廷顿蛋白等)影响疾病的进展, 尤其是神经系统中组织蛋白酶B、D、L等的表达及活性异常、基因突变可以导致神经系统变性疾病的发生发展。本文总结了近年来组织蛋白酶在神经系统变性疾病中的研究进展, 以期对神经系统变性疾病的早期诊断及治疗提供依据。

关键词 组织蛋白酶; 神经系统变性疾病; 研究进展

中图分类号 R741.02 文献标志码 A 文章编号 0258-4646(2024)11-1036-07

网络出版地址 <https://link.cnki.net/urlid/21.1227.R.20241120.1420.006>

DOI: 10.12007/j.issn.0258-4646.2024.11.014

Research progress of cathepsins in neurodegenerative diseases

YAO Sitong, XU Weiqi, CONG Shuyan

(Department of Neurology, Shengjing Hospital of China Medical University, Shenyang 110004, China)

Abstract Cathepsins, the most abundant hydrolases in lysosomes, are responsible for the degradation of various substrates. Increasing evidence suggests that cathepsins play important roles in neurodegenerative diseases. Cathepsins affect the progression of diseases by regulating the aggregation of abnormal proteins (e.g. α -synuclein, amyloid β -protein, huntington). Abnormal expression levels and activity and gene mutations of cathepsin B, D, and L in the nervous system can lead to the occurrence and development of neurodegenerative diseases. This review summarizes the research progress on cathepsins in neurodegenerative diseases in recent years, with a view to providing a basis for the early diagnosis and treatment of these diseases.

Keywords cathepsin; neurodegenerative disease; research progress

溶酶体通过整合多种代谢途径来维持细胞的稳态和调节细胞基本功能。溶酶体内的物质水解依赖多种水解酶, 溶酶体肽酶[组织蛋白酶(cathepsin, CTS)等]是水解酶之一。大量研究^[1-3]表明, CTS的异常表达和活性改变, 在多种神经系统变性疾病的发病机制中起重要作用。本文就近年来CTS在神经系统变性疾病领域的研究进展进行综述, 旨在明确CTS在神经系统变性疾病发生发展中的作用, 为疾病的早期诊断及治疗提供依据。

1 CTS概述

溶酶体是真核细胞的初级降解室, 其内含有脂

肪酶、蛋白水解酶和糖苷酶等各种类型的水解酶, 它们可以将蛋白质、多糖和复杂脂质等物质分解成各自的小分子。在广泛的溶酶体水解酶中, CTS最为丰富。根据CTS活性位点氨基酸残基不同, 分为丝氨酸蛋白酶(CTSA和CTSG)、天冬氨酸蛋白酶(CTSD和CTSE)以及半胱氨酸蛋白酶[CTSB、CTSC、CTSF、CTSH、CTSK、CTSL、CTSO、CTSS、CTSV、CTSX(Z)、CTSW]3类。CTS参与机体各种生理、病理过程, 机体内半胱氨酸蛋白酶(CTSB和CTSL)以及天冬氨酸蛋白酶(CTSD)含量最丰富, 主要存在于中枢神经系统中, 与神经元功能有关^[2]。已有大量研究^[3-6]表明, CTSD、CTSB、CTSL在神经系统变性疾病的发生和发展中起重要作用。

1.1 天冬氨酸蛋白酶

CTSD是人体内最丰富的溶酶体蛋白酶, 是机体维持细胞内稳态的重要蛋白酶。CTSD异常表达与神经系统变性疾病的发生有关^[3-5]。早期研究^[7]发

基金项目: 国家自然科学基金(81371271)

作者简介: 姚思彤(1999-), 女, 硕士研究生。

通信作者: 丛树艳, E-mail: congshuyan@hotmail.com

收稿日期: 2023-12-13

网络出版时间: 2024-11-21 10:33:30

现,CTSD活性随着大鼠机体衰老在大脑、海马、脑桥和小脑中显著升高。BELLINI等^[8]发现,老年大鼠脑组织中CTSD水平均高于年轻大鼠。因此,CTSD可能在年龄相关的死亡中起着重要作用。

CTSE是A1肽酶家族的成员。研究^[9]发现,CTSE在成年年轻大鼠脑组织中几乎检测不到,而在老年大鼠大脑皮层和新纹状体中CTSE显著升高。这提示神经系统中CTSE水平升高可能也伴随着神经细胞的衰老。

1.2 半胱氨酸蛋白酶

CTSB在中枢神经系统正常发育中以及认知功能中起着不可替代的重要作用。研究^[10]显示,在原代培养的神经元中CTSB缺失显著抑制了神经突的生长。而在神经系统变性疾病中观察到,CTSB参与线粒体活性氧(reactive oxygen species, ROS)的产生和核因子- κ B(nuclear factor kappa-B, NF- κ B)的激活^[11-12];也发现在老龄神经元死亡过程中CTSB水平异常升高^[6]。

除CTSB外,其他半胱氨酸蛋白酶也参与神经系统变性疾病的发生、发展等病理过程^[13]。研究^[14]表明,CTSB在小鼠中枢神经系统和炎症中表达上调。WENDT等^[15]发现CTSB在小胶质细胞和大脑其他部位表达,在衰老过程以及与神经炎症相关的一些神经系统变性疾病模型中CTSB水平也升高。可见,半胱氨酸蛋白酶在多种病理生理过程中发挥重要作用,尤其在中枢神经系统中高表达;其活性和水平发生改变时可能伴随着神经系统变性疾病的发生。

1.3 丝氨酸蛋白酶

目前,关于CTSA的研究有限。但已有研究^[16]证实,CTSA在中枢神经系统中也发挥一定作用,如调节溶酶体活性、溶酶体糖苷酶稳定性及神经氨酸酶向成熟溶酶体转运。

CTSG被认为是中性粒细胞的主要颗粒相关蛋白水解酶。研究^[17]发现,CTSG与自身免疫性疾病具有很大的相关性,而在普通猕猴的实验性自身免疫性脑脊髓炎模型中也观察到了CTSG在中枢神经系统中的保护性作用^[18]。

2 CTS在神经系统变性疾病中的作用

神经系统变性疾病[帕金森病(Parkinson disease, PD)、阿尔茨海默病(Alzheimer disease, AD)、多

系统萎缩(multiple system atrophy, MSA)、肌萎缩侧索硬化(amyotrophic lateral sclerosis, ALS)、亨廷顿病(Huntington's disease, HD)、神经元蜡样质脂褐质沉积症(neuronal ceroid lipofuscinosis, NCL)等]是神经系统发生退行性变,神经元结构或功能逐渐丧失,并可能导致严重的神经系统疾病。内切酶/溶酶体系统受损与细胞稳态破坏有关,可导致神经系统变性疾病发生^[19]。中枢神经系统退行性变中,可以观察到多种异常聚集的蛋白,如 α 突触核蛋白(α -synuclein, α -Syn)、 β 淀粉样蛋白(amyloid β -protein, A β)、亨廷顿蛋白(huntingtin, Htt)等,这些蛋白异常积累会导致神经系统变性疾病的发生,CTS可以介导这些蛋白的降解或异常聚集。另有研究^[20]发现,脑衰老过程中CTS水平和活性改变激活小胶质细胞;小胶质细胞广泛分布于中枢神经系统中,激活的小胶质细胞参与神经系统变性疾病的发病。因此,CTS在神经系统变性疾病的发病中发挥着重要作用。

2.1 CTS在AD中的作用

AD是最常见的神经系统变性疾病,以进行性认知功能障碍和行为损害为特征。AD组织病理学上典型改变为A β 在神经细胞外沉积形成的神经炎性斑、tau蛋白在神经细胞内聚集形成的神经纤维缠结、神经元缺失和胶质细胞增生。

MULLER-STEINER等^[20]发现,CTSB通过清除、降解A β 在AD中发挥神经保护作用。CTSB活性丧失或受到抑制,可能会促进AD发病;另外还发现将CTSB表达载体注射到老年野生型APP小鼠海马中,可以有效减少预先存在的斑块负荷。另有研究^[21]发现,CTSB和CTSL都可抑制A β 产生,CTSB和CTSL基因缺失和(或)蛋白抑制会导致有毒的A β 肽积累。

此外,大量研究发现,CTS能够促进AD发病。A β 由淀粉样前体蛋白(amyloid precursor protein, APP)裂解而成,A β 裂解是由 β 分泌酶和 γ 分泌酶依次作用共同完成的,CTSB被发现具有 β 分泌酶活性,因此促进了A β 的产生^[14]。AD患者大脑中,膜结合器、退行性神经核周围、反应性星形胶质细胞和神经斑块附近细胞外均检测到CTSB水平升高^[22]。除神经系统外,AD患者血浆中CTSB也升高^[23]。有研究^[24]指出,体内CTSB抑制可以改善记忆并降低A β 水平。另外,在表达APP野生型 β 分泌酶位点的AD小鼠模型也发现,CTSB基因敲除后小鼠的记忆得到改善^[25]。

除CTSB外,CTSS也被认为具有 β 分泌酶活性^[26]。研究^[27]显示,AD脑的神经元纤维缠结、星形胶质细胞和老年斑中均可见到CTSS的免疫反应。较早研究^[28]发现,AD患者海马中大部分星形胶质细胞和小胶质细胞中CTSL升高,这可能提示CTSL在老年神经退行性病变中的致病作用。CTSD与AD的发病也密切相关;研究^[29]发现AD患者皮质、海马神经元、淀粉样斑块和脑脊液中CTSD水平升高;CTSD可以通过APP和tau蛋白降解及加工而影响AD的发生、发展。此外, $A\beta$ ^[30]和tau蛋白^[10]的异常加工也与CTSD基因突变有关。研究^[31]发现,在转基因AD模型小鼠的退行性脑区和AD患者老年斑周围CTSX蛋白水解活性较高。

近年来,越来越多的研究发现小胶质细胞介导的神经炎症在AD发病中起重要作用。早期研究^[32]发现,CTS在脑衰老过程中的小胶质细胞启动时发挥作用, $A\beta$ 首先被溶酶体吞噬,刺激溶酶体产生并分泌CTSB,CTSB作为成熟白细胞介素(interleukin, IL)-1的关键酶,在细胞质中促进caspase-1激活,通过吞噬溶酶体中含有pyrin结构域的蛋白3炎性小体(即NLRP3炎性小体)对procaspase-1进行非依赖性处理,促进IL-1 β 产生和分泌,导致小胶质细胞炎症发生^[33]。CTSB由激活的小胶质细胞产生,这是AD神经炎症的原因^[32]。由此可以解释CTSB抑制剂对模型小鼠的有益作用可能是通过抑制小胶质细胞的炎症实现的。

由此可见,不同CTS在AD的发病机制中起着不同的作用。CTSB通过清除 $A\beta$,在AD中发挥神经保护作用,抑制AD发病,CTSL对防止 $A\beta$ 的产生也有积极影响;但也有研究^[26]认为CTSB因具有 β 分泌酶活性而促进AD发病,并且在AD患者脑组织和血浆中均检测到CTSB水平升高。CTSS、CTSL、CTSD、CTSX水平及活性在AD模型小鼠或患者脑组织中亦有所增高。此外,CTSD基因突变还与 $A\beta$ 和tau蛋白异常加工有关。另外,CTSB还通过促进小胶质细胞介导的神经炎症促进AD发病。已有研究^[15]发现CA-074和E64c可抑制CTSB,未来还需以CTS为靶点进行更多研究。

2.2 CTS在PD中的作用

PD是常见的神经系统变性疾病,其特征为黑质致密部多巴胺能神经元丧失,由此导致基底神经节

多巴胺缺乏,继而出现PD的运动症状(静止性震颤、肌强直、运动弛缓和姿势平衡障碍)。研究^[34]显示,PD患者中枢神经系统的路易小体和路易神经突的包涵体中有异常折叠的、不溶的 α -Syn。 α -Syn除了通过蛋白酶体途径降解外,也可以被溶酶体清除;溶酶体功能紊乱与 α -Syn低聚物积累和非同步介导的细胞死亡有关。

CTSD是第1个在模型小鼠中发现的可以阻止 α -Syn聚集和毒性的溶酶体蛋白酶^[35]。既往体内外研究^[36]均发现,CTSD能有效降解 α -Syn,是 α -Syn水解的关键调节因子;CTSD敲除导致小鼠大脑神经元中聚集不溶性的 α -Syn,增强 α -Syn毒性。因此,CTSD不足会导致溶酶体CTSD活性降低和 α -Syn聚集。研究^[35]显示,在CTSD基因敲除的小鼠模型中,将人重组CTSD前体(rHsCTSD)注射至右半球壳核尾和左半球来增加脑内溶酶体CTSD水平, α -Syn的降解增加。还有研究发现类似的结果。QIAO等^[37]在CTSD缺乏的小鼠模型中发现内源性 α -Syn在神经元中广泛聚集,CTSD过表达则会减少 α -Syn聚集,且CTSD对 α -Syn过表达诱导的细胞死亡具有神经保护作用。SEVLEVER等^[38]在1项体外实验中也得出了相似结论,即CTSD活性受到抑制会导致 α -Syn水平升高,从而导致 α -Syn聚集。除此之外,研究^[39]显示,CTSD只能从 α -Syn暴露的羧基端进行水解;而CTSB和CTSL可能对 α -Syn的中心淀粉区进行蛋白水解,这能避免 α -Syn原纤维形成^[40];CTSL则可以有效降解 α -Syn原纤维^[41]。可见,CTSD、CTSB和CTSL均能降解 α -Syn,减少 α -Syn异常聚集,从而发挥神经保护作用。

最近研究^[42]发现,CTS基因突变是PD发病的危险因素。约10%PD患者是家族性的,PD相关的基因突变通常见于早发性PD患者或家族史阳性患者。MILANOWSKI等^[43]在对家族性PD队列的CTSB基因分析时发现,CTSB p.Gly284Val基因突变增加了家族性PD的发病风险。BLAUWENDRAAT等^[44]在1项大型病例对照研究中发现,CTSB变体rs123298增加了GBA(编码葡萄糖脑苷酶的基因)变异相关PD的发病风险,并使此类PD患者的发病年龄提前。BAE等^[45]在细胞模型中证实,由于杂合突变导致CTSD活性部分丧失,溶酶体功能降低, α -Syn聚集增加。1项对PD患者大规模筛查研究^[46]发现,CTSD基因变异与溶酶体功能障碍、PD病理改变具有相关性。

但BUNK等^[29]发现,PD相关CTSD变体(A239V)表现出酶活性升高,同时,降解 α -Syn水平也随之增强了2.0~2.5倍。

PD最常见的神经毒素模型是6-羟基多巴胺(6-hydroxydopamine, 6-OHDA)诱导的模型。研究^[16]发现,CTSB和CTSD在6-OHDA诱导的PD模型中表达水平增加。除此之外,在大鼠PD模型和PD患者同侧黑质致密神经元中CTSL表达增加^[47];且CTSL介导的6-OHDA诱导的凋亡事件在PD的神经毒素模型中会导致PD相关神经变性的发生^[48]。1项体外研究^[49]发现,CTSX也会促进6-OHDA诱导的细胞凋亡和随后的神经元毒性。PIŠLA等^[50]也在研究中发现,大鼠单侧内侧面前脑束中注射6-OHDA后,同侧黑质致密部CTSX表达和活性迅速增加,与上述研究结果一致。除此之外,CTSX抑制剂对多巴胺能神经元的保护性作用也进一步证实了CTSX会导致多巴胺能神经元进行性丧失^[51],进而导致PD发病。

α -Syn异常聚集是PD的病理特征。CTSD、CTSB和CTSL通过水解 α -Syn的不同氨基酸位点有效降解 α -Syn,进而发挥神经保护作用。虽然现有研究证实CTSD、CTSB和CTSL水平及活性升高在PD发病中发挥保护性作用,CTSB、CTSD基因突变使PD发病风险显著提升,但PD相关变体(A239V)降解 α -Syn的能力反而增强。因此,CTS基因突变与PD发病机制的关系仍需进一步明确。此外,在6-OHDA诱导的PD模型中发现,CTSB、CTSD、CTSL、CTSX表达和(或)活性增加,促进了6-OHDA诱导的细胞凋亡及神经元毒性的产生,参与了PD的发病。

2.3 CTS在MSA中的作用

MSA是罕见的、成人发病且进展迅速的神经系统变性疾病。根据临床表现有2种亚型:MSA-P型(以帕金森综合征为突出表现、与纹状体变性有关)和MSA-C型(以四肢小脑性共济失调为突出表现)。研究^[52]显示,MSA患者神经元中存在含有 α -Syn的少突胶质细胞包涵体;但少突胶质细胞不直接表达 α -Syn,可能是少突胶质细胞接受了周围神经元释放的 α -Syn所致。有研究^[53]认为,MSA患者自噬-溶酶体途径可能失调。溶酶体自噬途径需要CTS参与,目前,仅在MSA脑样本中发现CTSD mRNA表达以及CTSD活性升高^[54]。其他CTS与MSA的关系尚未明确,未来仍需进一步研究。

2.4 CTS在ALS中的作用

ALS亦称运动神经元病(motor neuron disease, MND),是进行性神经元丧失的神经系统变性疾病。ALS病因不明,为散发性,约1/5患者是超氧化物歧化酶I(superoxide dismutase I, SOD I)基因突变所致。ALS病理特征为运动神经元选择性变性和死亡,与错误折叠蛋白和不溶性内含物的积累有关^[55]。

早期研究^[15]仅发现CTSB参与ALS运动神经元的退行性变。随后研究^[18]发现ALS小鼠脊髓中CTSB、CTSL、CTSD表达均增加,尤其是CTSD表达水平明显上调。研究^[56]显示,SOD I基因突变的ALS模型小鼠脊髓中CTSB、CTSD、CTSL、CTSS、CTSX表达及蛋白水平均升高。OFFEN等^[57]对4例散发ALS患者死后的脊髓标本cDNA微阵列分析发现,CTSB和CTSD mRNA表达增加。已有研究发现CTSB基因敲除的ALS小鼠运动神经元死亡率降低^[58],抑制CTSB可能有助于ALS患者运动神经元存活^[16]。可见,CTSB、CTSD、CTSL等参与了ALS的发病。未来仍需进一步探讨ALS患者神经组织中CTS水平,或许可以通过CTSB等基因敲除为ALS的治疗提供新的策略。

2.5 CTS在HD中的作用

HD是一种常染色体显性遗传性疾病,主要病因是患者第4号染色体上Htt基因发生了变异,与Htt基因中CAG重复扩增有关,导致蛋白N端多聚谷氨酰胺束拉长,进而在神经系统中出现异常聚集的蛋白。生理条件下,Htt在中枢神经系统中普遍表达,并在胚胎发生中起关键作用,但突变的Htt具有毒性,并且极容易聚集。目前,已有研究^[59]在HD患者大脑样本中发现了含有突变体Htt的氨基端片段的胞质和包涵体。

既往研究^[60]发现,Htt异常聚集于核周围的区域和许多类似溶酶体细胞器的点状细胞质结构中,通过调节溶酶体CTSB和CTSD导致细胞死亡。KEGEL等^[61]发现在表达Htt阳性的液泡内CTSD的标记更加明显。1项对纹状体细胞和小鼠脑裂解物的研究^[36]发现,突变体Htt受到CTSD的有限水解,产生易于聚集的氨基端片段,而这些易于聚集的片段不能被酶降解。因此,CTSD水平升高可能促进了HD发生。与上述研究结果不一致的是,溶酶体蛋白酶活性对突变体Htt水平和毒性影响的研究^[62]发现,CTSD和CTSB降低了突变蛋白的总体水平、减少了相关的细

胞死亡,二者在突变体Htt发挥神经保护作用。目前,已有研究^[63]证实CTSL能够完全降解突变体Htt而不产生氨基端片段。因此,CTSL水平及活性升高可能在HD病程中发挥着保护作用。可见,CTS在HD中主要通过影响突变体Htt降解来发挥作用。现有研究中CTSD和CTSB对突变体Htt的保护性作用仍存在争议,未来还需进一步明确CTSB和CTSD水平和活性与突变体Htt之间的确切关系。

2.6 CTS在NCL中的作用

NCL是遗传性溶酶体贮积症中的一类特殊性疾病,是儿童常见的遗传性进行性神经系统变性疾病,大多数人类NCL表现为常染色体隐性遗传模式,其相关基因编码可溶性和跨膜蛋白,直接或间接调节溶酶体功能。

最早发现CTSD与致命的先天性NCL相关的研究是KOIKE等^[64]发现CTSD缺乏小鼠在出生后早期(出生后26 d左右)死亡,在第23天后发现多数神经元中存在大量自身荧光溶酶体样结构(NCL特征之一)。另有研究^[65]发现在缺乏CTSD小鼠大脑中存在大量自身荧光脂褐素积累;这些色素不可降解,沉积在溶酶体中,导致NCL。NCL-10中除了有脂褐素积累,还有鞘脂激活蛋白(皂苷)积累。研究^[66]发现,缺乏CTSD会导致皂苷C(SapC)和皂苷D(SapD)异常聚集,进而导致NCL-10。除此之外,CTSD基因突变也会导致NCL-10。SIINTOLA等^[67]在NCL-10患者脑组织中发现CTSD基因突变(c.764dupA突变)。研究^[68]发现,CTSB/CTSL双缺陷小鼠表型与CTSD缺陷小鼠表型非常相似,CTSB和CTSL缺乏的小鼠中表现出了明显的溶酶体贮积病,导致中枢神经系统广泛神经元死亡以及明显的脑萎缩。SEVENICH等^[69]将人CTSL引入到CTSB/CTSL双缺陷小鼠模型后,致命表型得以挽救,证明了CTSB和CTSL双缺陷是NCL发生的必需条件。可见,CTSD在NCL-10患者神经系统中发挥不可或缺的保护作用,CTSD缺乏或基因突变都参与了NCL-10的发病;而CTSB和CTSL双缺陷亦会导致NCL发生。

CTSF则参与了NCL-13发病。最早发现CTSF参与NCL-13的证据是来自对CTSF缺陷小鼠的研究^[70],这些小鼠在出生12~16个月时发病并过早死亡,并且在这些小鼠的中枢神经系统中发现积累了自身荧光物质。研究已经证实CTSF基因突变可导致成人

发病的NCL(库夫斯病)的发生。SMITH等^[71]在对2个隐形库夫斯病家族进行基因检测的研究中证实了CTSF基因突变是致病性突变,并且其错义突变和无义突变都可能具有破坏性的功能效应。因此,CTSF缺陷和基因突变可能在NCL-13的发病机制中起关键作用。

CTS缺乏和基因突变均会参与NCL的发病。未来还需进一步研究更多CTS及其基因突变与NCL不同表型发病机制的关系,从而通过诱导CTS生成或抑制CTS基因突变为NCL治疗提供新的方向。

3 总结与展望

CTS是溶酶体中的主要水解酶,在神经系统中主要通过加工、清除蛋白或激活小胶质细胞参与炎症反应,从而在神经系统变性疾病中发挥作用。然而,一些CTS与神经系统变性疾病的明确关系至今仍无定论。有研究认为神经系统变性疾病中某些CTS水平和活性升高是发挥保护作用,因为其可以水解神经系统中异常聚集的蛋白质;与之相反,另有一些研究则认为CTS表达反而促进神经系统变性疾病的发生。因此未来还需进一步明确CTS水平及活性与神经系统变性疾病的明确关系。此外,CTS基因突变会导致神经系统变性疾病。CTS在神经系统变性疾病的发生发展中有重要的作用,将来需深入研究来明确其具体的作用机制,为神经系统变性疾病的治疗提供新的靶点。

参考文献:

- [1] TSUNEMI T, PEREZ-ROSELLO T, ISHIGURO Y, et al. Increased lysosomal exocytosis induced by lysosomal Ca^{2+} channel agonists protects human dopaminergic neurons from α -synuclein toxicity [J]. *J Neurosci*, 2019, 39 (29): 5760-5772. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.3085-18.2019.
- [2] KIM HS, KONG H, KIM T, et al. Structural congeners of izenamides responsible for cathepsin D inhibition: insights from synthesis-derived elucidation [J]. *Mar Drugs*, 2023, 21 (5): 281. DOI: 10.3390/md21050281.
- [3] LIU XM, LIAO XY, RAO XY, et al. The lysosomal membrane protein LAMP-2 is dispensable for PINK1/Parkin-mediated mitophagy [J]. *FEBS Lett*, 2020, 594 (5): 823-840. DOI: 10.1002/1873-3468.13663.
- [4] GAETA AL, WILLICOTT K, WILLICOTT CW, et al. Mechanistic impacts of bacterial diet on dopaminergic neurodegeneration in a *Caenorhabditis elegans* α -synuclein model of Parkinson's disease [J]. *iScience*, 2023, 26 (6): 106859. DOI: 10.1016/j.isci.2023.106859.
- [5] YADATI T, HOUBEN T, BITORINA A, et al. The ins and outs of cathepsins: physiological function and role in disease management [J].

- Cells, 2020, 9 (7) : 1679. DOI: 10.3390/cells9071679.
- [6] ZHANG ZX, NAKATA E, SHIBANO Y, et al. FRET-based cathepsin probes for simultaneous detection of cathepsin B and D activities [J]. *Chembiochem*, 2022, 23 (19) : e202200319. DOI: 10.1002/cbic.202200319.
- [7] LOEFFLER DA. Influence of normal aging on brain autophagy: a complex scenario [J]. *Front Aging Neurosci*, 2019, 11 : 49. DOI: 10.3389/fnagi.2019.00049.
- [8] BELLINI S, SARACENO C, BENUSSI L, et al. Plasma small extracellular vesicle cathepsin D dysregulation in GRN/C9orf72 and sporadic frontotemporal lobar degeneration [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23 (18) : 10693. DOI: 10.3390/ijms231810693.
- [9] XIE Z, MENG J, KONG W, et al. Microglial cathepsin E plays a role in neuroinflammation and amyloid β production in Alzheimer's disease [J]. *Aging Cell*, 2022, 21 (3) : e13565. DOI: 10.1111/ace1.13565.
- [10] JIANG MZ, MENG J, ZENG F, et al. Cathepsin B inhibition blocks neurite outgrowth in cultured neurons by regulating lysosomal trafficking and remodeling [J]. *J Neurochem*, 2020, 155 (3) : 300-312. DOI: 10.1111/jnc.15032.
- [11] NAKANISHI H. Cathepsin regulation on microglial function [J]. *Biochim Biophys Acta Proteins Proteom*, 2020, 1868 (9) : 140465. DOI: 10.1016/j.bbapap.2020.140465.
- [12] LLORENTE P, MARTINS S, SASTRE I, et al. Matrix metalloproteinase 14 mediates APP proteolysis and lysosomal alterations induced by oxidative stress in human neuronal cells [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2020, 2020 : 5917187. DOI: 10.1155/2020/5917187.
- [13] BIASIZZO M, JAVORŠEK U, VIDAK E, et al. Cysteine cathepsins: a long and winding road towards clinics [J]. *Mol Aspects Med*, 2022, 88 : 101150. DOI: 10.1016/j.mam.2022.101150.
- [14] EUGENÍN J, EUGENÍN-VON BERNHARDI L, VON BERNHARDI R. Age-dependent changes on fractalkine forms and their contribution to neurodegenerative diseases [J]. *Front Mol Neurosci*, 2023, 16 : 1249320. DOI: 10.3389/fnmol.2023.1249320.
- [15] STOKA V, VASILJEVA O, NAKANISHI H, et al. The role of cysteine protease cathepsins B, H, C, and X/Z in neurodegenerative diseases and cancer [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24 (21) : 15613. DOI: 10.3390/ijms242115613.
- [16] KOS J, MITROVIĆ A, PERIŠIĆ NANUT M, et al. Lysosomal peptidases-intriguing roles in cancer progression and neurodegeneration [J]. *FEBS Open Bio*, 2022, 12 (4) : 708-738. DOI: 10.1002/2211-5463.13372.
- [17] GUO J, TU J, HU YY, et al. Cathepsin G cleaves and activates IL-36 γ and promotes the inflammation of psoriasis [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2019, 13 : 581-588. DOI: 10.2147/DDDT.S194765.
- [18] T HART BA. A tolerogenic role of cathepsin G in a primate model of multiple sclerosis: abrogation by Epstein-Barr virus infection [J]. *Arch Immunol Ther Exp*, 2020, 68 (4) : 21. DOI: 10.1007/s00005-020-00587-1.
- [19] LIE PPY, NIXON RA. Lysosome trafficking and signaling in health and neurodegenerative diseases [J]. *Neurobiol Dis*, 2019, 122 : 94-105. DOI: 10.1016/j.nbd.2018.05.015.
- [20] MUELLER-STEINER S, ZHOU YG, ARAI H, et al. Anti-amyloidogenic and neuroprotective functions of cathepsin B: implications for Alzheimer's disease [J]. *Neuron*, 2006, 51 (6) : 703-714. DOI: 10.1016/j.neuron.2006.07.027.
- [21] HUANG Z. A function of amyloid- β in mediating activity-dependent axon/synapse competition may unify its roles in brain physiology and pathology [J]. *J Alzheimers Dis*, 2023, 92 (1) : 29-57. DOI: 10.3233/JAD-221042.
- [22] HOOK G, REINHECKEL T, NI JJ, et al. Cathepsin B gene knockout improves behavioral deficits and reduces pathology in models of neurologic disorders [J]. *Pharmacol Rev*, 2022, 74 (3) : 600-629. DOI: 10.1124/pharmrev.121.000527.
- [23] NI JJ, LAN F, XU Y, et al. Extralysosomal cathepsin B in central nervous system: mechanisms and therapeutic implications [J]. *Brain Pathol*, 2022, 32 (5) : e13071. DOI: 10.1111/bpa.13071.
- [24] HOOK V, YOON M, MOSIER C, et al. Cathepsin B in neurodegeneration of Alzheimer's disease, traumatic brain injury, and related brain disorders [J]. *Biochim Biophys Acta Proteins Proteom*, 2020, 1868 (8) : 140428. DOI: 10.1016/j.bbapap.2020.140428.
- [25] ZHANG ZQ, YUE PF, LU TQ, et al. Role of lysosomes in physiological activities, diseases, and therapy [J]. *J Hematol Oncol*, 2021, 14 (1) : 79. DOI: 10.1186/s13045-021-01087-1.
- [26] PERIŠIĆ NANUT M, PEČAR FONOVIĆ U, JAKOŠ T, et al. The role of cysteine peptidases in hematopoietic stem cell differentiation and modulation of immune system function [J]. *Front Immunol*, 2021, 12 : 680279. DOI: 10.3389/fimmu.2021.680279.
- [27] TUŠAR L, LOBODA J, IMPENS F, et al. Proteomic data and structure analysis combined reveal interplay of structural rigidity and flexibility on selectivity of cysteine cathepsins [J]. *Commun Biol*, 2023, 6 (1) : 450. DOI: 10.1038/s42003-023-04772-8.
- [28] RUDZIŃSKA M, PARODI A, SOOND SM, et al. The role of cysteine cathepsins in cancer progression and drug resistance [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20 (14) : 3602. DOI: 10.3390/ijms20143602.
- [29] BUNK J, PRIETO HUARCAYA S, DROBNY A, et al. Cathepsin D variants associated with neurodegenerative diseases show dysregulated functionality and modified α -synuclein degradation properties [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9 : 581805. DOI: 10.3389/fcell.2021.581805.
- [30] HAN H, ZHAO YW, DU JD, et al. Exercise improves cognitive dysfunction and neuroinflammation in mice through Histone H3 lactylation in microglia [J]. *Immun Ageing*, 2023, 20 (1) : 63. DOI: 10.1186/s12979-023-00390-4.
- [31] AUFSCHNAITER A, KOHLER V, BÜTTNER S. Taking out the garbage: cathepsin D and calcineurin in neurodegeneration [J]. *Neural Regen Res*, 2017, 12 (11) : 1776-1779. DOI: 10.4103/1673-5374.219031.
- [32] LLORENTE P, KRISTEN H, SASTRE I, et al. A free radical-generating system regulates amyloid oligomers: involvement of cathepsin B [J]. *J Alzheimers Dis*, 2018, 66 (4) : 1397-1408. DOI: 10.3233/JAD-170159.
- [33] TRAN AP, SUNDAR S, YU MG, et al. Modulation of receptor protein tyrosine phosphatase Sigma increases chondroitin sulfate proteoglycan degradation through cathepsin B secretion to enhance axon outgrowth [J]. *J Neurosci*, 2018, 38 (23) : 5399-5414. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.3214-17.2018.
- [34] YU MG, YE H, DE-PAULA RB, et al. Functional screening of lysosomal storage disorder genes identifies modifiers of alpha-synuclein neurotoxicity [J]. *PLoS Genet*, 2023, 19 (5) : e1010760. DOI: 10.1371/journal.pgen.1010760.
- [35] HUARCAYA SP, DROBNY A, MARQUES ARA, et al. Recombinant pro-CTSD (cathepsin D) enhances SNCA/ α -synuclein degradation in α -synucleinopathy models [J]. *Autophagy*, 2022, 18 (5) : 1127-1151. DOI: 10.1080/15548627.2022.2045534.
- [36] DROBNY A, BOROS FA, BALTA D, et al. Reciprocal effects of alpha-synuclein aggregation and lysosomal homeostasis in synucleinopathy models [J]. *Transl Neurodegener*, 2023, 12 (1) : 31. DOI: 10.1186/s40035-023-00363-z.

- [37] QIAO LY, HAMAMICHI S, CALDWELL KA, et al. Lysosomal enzyme cathepsin D protects against alpha-synuclein aggregation and toxicity [J]. *Mol Brain*, 2008, 1: 17. DOI: 10.1186/1756-6606-1-17.
- [38] SEVLEVER D, JIANG PZ, YEN SH C. Cathepsin D is the main lysosomal enzyme involved in the degradation of alpha-synuclein and generation of its carboxy-terminally truncated species [J]. *Biochemistry*, 2008, 47 (36): 9678-9687. DOI: 10.1021/bi800699v.
- [39] HUH YE, USNICH T, SCHERZER CR, et al. GBA1 variants and Parkinson's disease: paving the way for targeted therapy [J]. *J Mov Disord*, 2023, 16 (3): 261-278. DOI: 10.14802/jmd.23023.
- [40] SMITH JK, MELLICK GD, SYKES AM. The role of the endolysosomal pathway in alpha-synuclein pathogenesis in Parkinson's disease [J]. *Front Cell Neurosci*, 2023, 16: 1081426. DOI: 10.3389/fn-cel.2022.1081426.
- [41] JIANG TF, XU CY, GAO SE, et al. Cathepsin L-containing exosomes from alpha-synuclein-activated microglia induce neurotoxicity through the P2X7 receptor [J]. *NPJ Parkinsons Dis*, 2022, 8 (1): 127. DOI: 10.1038/s41531-022-00394-9.
- [42] PIOVESANA E, MAGRIN C, CICCALDO M, et al. Tau accumulation in degradative organelles is associated to lysosomal stress [J]. *Sci Rep*, 2023, 13 (1): 18024. DOI: 10.1038/s41598-023-44979-7.
- [43] MILANOWSKI LM, HOU X, BREDEBERG JM, et al. Cathepsin B p.Gly284Val variant in Parkinson's disease pathogenesis [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23 (13): 7086. DOI: 10.3390/ijms23137086.
- [44] BLAUWENDRAAT C, REED X, KROHN L, et al. Genetic modifiers of risk and age at onset in GBA associated Parkinson's disease and Lewy body dementia [J]. *Brain*, 2020, 143 (1): 234-248. DOI: 10.1093/brain/awz350.
- [45] BAE EJ, YANG NY, LEE C, et al. Haploinsufficiency of cathepsin D leads to lysosomal dysfunction and promotes cell-to-cell transmission of alpha-synuclein aggregates [J]. *Cell Death Dis*, 2015, 6 (10): e1901. DOI: 10.1038/cddis.2015.283.
- [46] ROBAK LA, JANSEN IE, VAN ROOIJ J, et al. Excessive burden of lysosomal storage disorder gene variants in Parkinson's disease [J]. *Brain*, 2017, 140 (12): 3191-3203. DOI: 10.1093/brain/awx285.
- [47] MCGLINCHEY RP, LACY SM, HUFFER KE, et al. C-terminal alpha-synuclein truncations are linked to cysteine cathepsin activity in Parkinson's disease [J]. *J Biol Chem*, 2019, 294 (25): 9973-9984. DOI: 10.1074/jbc.RA119.008930.
- [48] XIANG B, FEI XF, ZHUANG WZ, et al. Cathepsin L is involved in 6-hydroxydopamine induced apoptosis of SH-SY5Y neuroblastoma cells [J]. *Brain Res*, 2011, 1387: 29-38. DOI: 10.1016/j.brainres.2011.02.092.
- [49] PIŠLAR A, NEDELJKOVIĆ BB, PERIĆ M, et al. Cysteine peptidase cathepsin X as a therapeutic target for simultaneous TLR3/4-mediated microglia activation [J]. *Mol Neurobiol*, 2022, 59 (4): 2258-2276. DOI: 10.1007/s12035-021-02694-2.
- [50] PIŠLAR A, TRATNJEK L, GLAVAN G, et al. Upregulation of cysteine protease cathepsin X in the 6-hydroxydopamine model of Parkinson's disease [J]. *Front Mol Neurosci*, 2018, 11: 412. DOI: 10.3389/fnmol.2018.00412.
- [51] PIŠLAR AH, ZIDAR N, KIKELJ D, et al. Cathepsin X promotes 6-hydroxydopamine-induced apoptosis of PC12 and SH-SY5Y cells [J]. *Neuropharmacology*, 2014, 82: 121-131. DOI: 10.1016/j.neuropharm.2013.07.040.
- [52] DE NUCCIO F, KASHYRINA M, SERINELLI F, et al. Oligodendrocytes prune axons containing alpha-synuclein aggregates in vivo: lewy neurites as precursors of glial cytoplasmic inclusions in multiple system atrophy? [J]. *Biomolecules*, 2023, 13 (2): 269. DOI: 10.3390/biom13020269.
- [53] FELLNER L, GABASSI E, HAYBAECK J, et al. Autophagy in alpha-synucleinopathies-an overstrained system [J]. *Cells*, 2021, 10 (11): 3143. DOI: 10.3390/cells10113143.
- [54] KIELY AP, MINERS JS, COURTNEY R, et al. Exploring the putative role of kallikrein-6, calpain-1 and cathepsin-D in the proteolytic degradation of alpha-synuclein in multiple system atrophy [J]. *Neuropathol Appl Neurobiol*, 2019, 45 (4): 347-360. DOI: 10.1111/nan.12512.
- [55] STEFANOVA N, WENNING GK. Multiple system atrophy: at the crossroads of cellular, molecular and genetic mechanisms [J]. *Nat Rev Neurosci*, 2023, 24 (6): 334-346. DOI: 10.1038/s41583-023-00697-7.
- [56] STELLA R, BONADIO RS, CAGNIN S, et al. Perturbations of the proteome and of secreted metabolites in primary astrocytes from the hSOD1 (G93A) ALS mouse model [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22 (13): 7028. DOI: 10.3390/ijms22137028.
- [57] OFFEN D, BARHUM Y, MELAMED E, et al. Spinal cord mRNA profile in patients with ALS: comparison with transgenic mice expressing the human SOD-1 mutant [J]. *J Mol Neurosci*, 2009, 38 (2): 85-93. DOI: 10.1007/s12031-007-9004-z.
- [58] SUN L, WU Z, BABA M, et al. Cathepsin B-dependent motor neuron death after nerve injury in the adult mouse [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010, 399 (3): 391-395. DOI: 10.1016/j.bbrc.2010.07.084.
- [59] PARK H, KANG JH, LEE S. Autophagy in neurodegenerative diseases: a hunter for aggregates [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21 (9): 3369. DOI: 10.3390/ijms21093369.
- [60] MAGALHÃES JD, FÁO L, VILAÇA R, et al. Macroautophagy and mitophagy in neurodegenerative disorders: focus on therapeutic interventions [J]. *Biomedicines*, 2021, 9 (11): 1625. DOI: 10.3390/biomedicines9111625.
- [61] KEGEL KB, SAPP E, ALEXANDER J, et al. Huntingtin cleavage product A forms in neurons and is reduced by gamma-secretase inhibitors [J]. *Mol Neurodegener*, 2010, 5: 58. DOI: 10.1186/1750-1326-5-58.
- [62] XUE WL, ZHANG J, LI Y. Enhancement of lysosome biogenesis as a potential therapeutic approach for neurodegenerative diseases [J]. *Neural Regen Res*, 2023, 18 (11): 2370-2376. DOI: 10.4103/1673-5374.371346.
- [63] LOWE AJ, SJÖDIN S, RODRIGUES FB, et al. Cerebrospinal fluid endo-lysosomal proteins as potential biomarkers for Huntington's disease [J]. *PLoS One*, 2020, 15 (8): e0233820. DOI: 10.1371/journal.pone.0233820.
- [64] KOIKE M, NAKANISHI H, SAFTIG P, et al. Cathepsin D deficiency induces lysosomal storage with ceroid lipofuscin in mouse CNS neurons [J]. *J Neurosci*, 2000, 20 (18): 6898-6906. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.20-18-06898.2000.
- [65] BASSAL M, LIU JL, JANKOWIAK W, et al. Rapid and progressive loss of multiple retinal cell types in cathepsin D-deficient mice—an animal model of CLN10 disease [J]. *Cells*, 2021, 10 (3): 696. DOI: 10.3390/cells10030696.
- [66] MARQUES ARA, DI SPIEZIO A, THIEBEN N, et al. Enzyme replacement therapy with recombinant pro-CTSD (cathepsin D) corrects defective proteolysis and autophagy in neuronal ceroid lipofuscinosis [J]. *Autophagy*, 2020, 16 (5): 811-825. DOI: 10.1080/1548627.2019.1637200.