

α 分泌酶在阿尔茨海默病治疗中的作用*

杨红旗 陈生弟**

(上海交通大学医学院附属瑞金医院神经科, 上海交通大学医学院神经病学研究所, 上海 200025)

摘要 阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 是老年人常见的一种神经系统变性疾病, 其特征性病理变化是患者脑内的神经炎症斑, 神经炎症斑的主要成分是细胞外 β 淀粉样蛋白 (β amyloid, $A\beta$) 的沉积. $A\beta$ 由其前体物质——淀粉样前体蛋白 (amyloid precursor protein, APP) 经 β 分泌酶和 γ 分泌酶系列水解而来. APP 也可在 α 分泌酶和 γ 分泌酶的序列作用下水解, 既避免了完整 $A\beta$ 分子的产生, 又产生了对细胞有益的胞外片段(sAPP α), 因此这条代谢途径已成为研究 AD 治疗的靶点. 较多的实验结果显示, 一类解聚素和金属蛋白酶 (a disintegrin and metalloproteinase, ADAM) 分子具有 α 分泌酶的功能, α 分泌酶有可能成为 AD 治疗的潜在药物靶点.

关键词 阿尔茨海默病, α 分泌酶, 治疗, 淀粉样前体蛋白, β 淀粉样蛋白, 解聚素和金属蛋白酶

学科分类号 R749.1

阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 是以记忆和认知功能障碍为主要表现的一种神经变性疾病, 是老年人痴呆中最常见的病因. 神经炎症斑 (neuritic plaque), 又称老年斑 (senile plaque), 是 AD 的主要病理特征之一, 其主要成分是一种称为 β 淀粉样蛋白 (β amyloid, $A\beta$) 的肽类物质在细胞外沉积, 从而对细胞造成毒性, 导致患者脑功能障碍. 海马和皮层等处胆碱能神经元功能受损被认为是患者记忆和认知障碍的主要原因, 因此减少 $A\beta$ 的沉积 / 生成或者促进其清除已成为 AD 治疗的重要策略之一.

脑内 $A\beta$ 来源于其前体物质——淀粉样前体蛋白 (amyloid precursor protein, APP). APP 是一跨膜蛋白质, 在体内各种组织广泛存在, 而在脑组织的表达最高. APP 基因, 早老素 -1 (presenilin 1, PS-1) 基因和早老素 -2 (presenilin 2, PS-2) 基因突变被认为与某些家族性 AD (familial Alzheimer's disease, FAD) 的发生有直接的关系. APP 在机体的正常表达具有重要的作用, 上述 FAD 即因为基因突变而在体内产生过量的 $A\beta$ 而致发病. 根据 APP 在体内是否产生 $A\beta$, APP 在体内有两条代谢途径^[1]. a. 产生 $A\beta$ 的代谢途径: APP 先在 $A\beta$ 序列的第一位氨基酸部位经 β 分泌酶 (β -secretase, 又称 β -site amyloid cleavage enzyme 1, BACE1) 水解, 产生一

大的 N 端片段(sAPP β) 和小的跨膜片段(C99), 后者再经 γ 分泌酶 (γ -secretase) 在 $A\beta$ 序列的第 40/42 位氨基酸部位作用, 产生 39~42 个氨基酸的肽段—— $A\beta$ 和另一胞内片段 AICD (APP intracellular domain, AICD), 已有较多的实验结果提示, $A\beta$ 可对细胞产生毒性作用. b. 不产生 $A\beta$ 的代谢途径: APP 先由 α 分泌酶 (α -secretase) 在 $A\beta$ 序列的 16~17 位氨基酸之间水解, 产生较大的 N 端片段 (sAPP α) 和一跨膜片段(C83), 后者同样经 γ 分泌酶作用产生较小的片段 p3 和 AICD (图 1). 非分泌途径由于 α 分泌酶从 $A\beta$ 分子内部进行分解, 避免了完整 $A\beta$ 分子序列的产生, 且 sAPP α 可对神经细胞产生神经营养和神经保护作用^[2], 因此如何增加 sAPP α 的分泌或者如何提高 α 分泌酶的表达已成为 AD 研究的重要内容. 以往对 AD 的研究大多是集中在如何抑制 β 分泌酶和 γ 分泌酶的活性, 近年来 α 分泌酶的研究取得了显著进展.

*国家重点基础研究发展计划(973)资助项目(2006CB500706).

** 通讯联系人.

Tel/Fax: 021-64457249, E-mail: chen_sd@medmail.com.cn

收稿日期: 2005-09-26, 接受日期: 2005-10-28

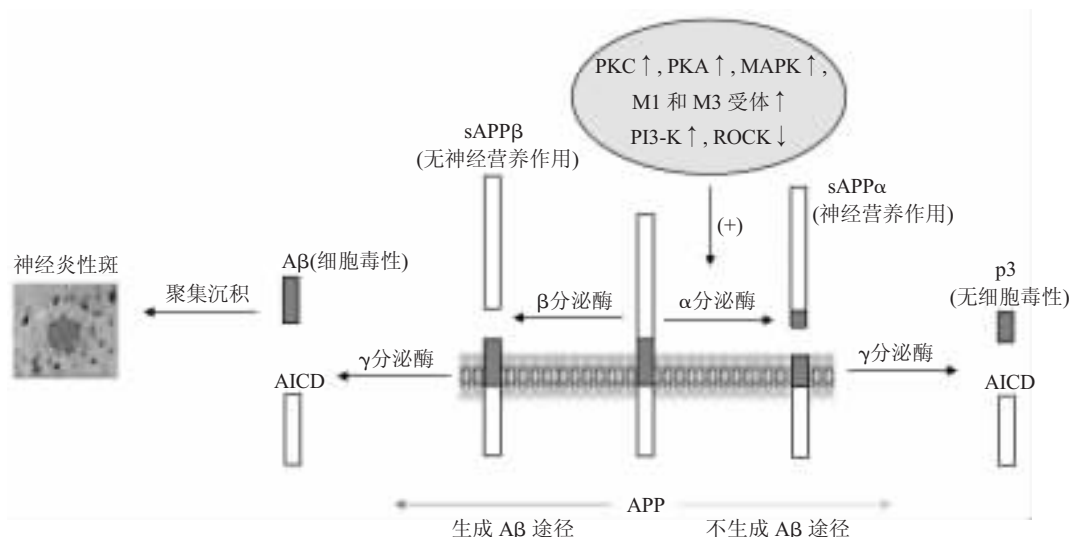


Fig. 1 APP processing pathways and therapeutic potential of α secretase in Alzheimer's disease

图1 APP的代谢途径及 α 分泌酶在治疗AD的潜在作用

↑: 活性增强; ↓: 活性降低; (+): 激活作用。

1 α 分泌酶的分子组成和作用特点

α 分泌酶不是单一的蛋白酶, 而是一类膜结合蛋白. 具有下列一些特征的蛋白质才能定义为 α 分泌酶: 与 APP 共存于细胞内; 能够在 APP 分子内部 A β 序列的 Lys16~Leu17 部位进行水解; 能分解细胞膜全长 APP, 其活性能被羟肟酸 (hydroxamic acid) 为基础的金属蛋白酶所抑制; 将其导入细胞能使 sAPP α 分泌增加, 在 α 分泌酶缺陷的细胞使 sAPP α 分泌减少; 参与细胞 APP 经 α 分泌酶分解的组成性 (constitutive) 和调节性 (regulated) 调节. 一类属于解聚素和金属蛋白酶 (a disintegrin and metalloproteinase, ADAM) 家族成员的蛋白质 (主要指 ADAM10, ADAM17, 和 ADAM9), 被认为具有 α 分泌酶的生物学功能. ADAM 分子是具有多个结构域的跨膜蛋白质分子, 主要的结构域有: 信号肽序列 (signal sequence), 前序列 (prodomain), 金属蛋白酶结构域 (metalloproteinase domain), 解聚素结构域 (disintegrin domain), 富含半胱氨酸结构域 (cysteine-rich domain), 表皮生长因子重复序列 (epidermal growth factor-like domain), 跨膜区 (transmembrane domain) 和胞内段 (cytoplasmic domain). 其中金属蛋白酶结构域是 α 分泌酶发挥其活性的关键部位, 抑制这一部位的药物如 BB94、SB223820、BB3130 等即能显著抑制 α 分泌酶的生

物学活性. 一般认为, ADAM 分子是以无活性的酶原形式存在, 当 prodomain 被切除后, ADAM 分子才具有活性^[3].

1.1 ADAM10

ADAM10 分子最初是作为水解髓鞘碱性蛋白 (myelin basic protein, MBP) 的酶从牛脑中分离出来, 随后发现其属于 ADAM 家族, 原位杂交显示 ADAM10 和 APP 在小鼠和人的皮层神经元内存在共表达. ADAM10 分子在 A β 序列的 Lys16~Leu17 之间水解, 除了 APP 外, 对细胞生长发育至关重要的 Notch 分子也是其底物. ADAM10 分子在 HEK 293 细胞的过表达使 sAPP α 基础分泌和蛋白激酶 C (PKC) 刺激后引起的 sAPP α 分泌增加数倍^[4], 也能使 LoVo 细胞 sAPP α 的基础分泌增加^[5]. 如果在 ADAM10 HEK 细胞共表达 PC7 和 furin, 则能使已升高的 sAPP α 再度增加^[3]. 因此 ADAM10 分子可能主要参与 sAPP α 的组成性和调节性分泌. 如果 A β 的 21 Ala 突变为 21 Gly, 则 ADAM10 代谢突变型 APP 的速度比野生型 APP 要慢, 这种情况常见于 FAD 患者, 患者常由于脑淀粉样血管病 (cerebral amyloid angiopathy, CAA) 而易于发生脑出血.

ADAM10 分子活性的维持需要 2 个条件: 基因正确表达和分子成熟. 前者因为如果其 384 位氨基酸序列发生点突变 (Glu384Ala) 则活性受抑制^[4]; 后者指在 PC 7 和 furin 分子作用下切除 prodomain

后活性显著增加^[9].

除了上述证据支持 ADAM10 分子作为 α 分泌酶外, 在 AD 患者的血小板和脑脊液内 β 分泌酶活性增高而 ADAM10 分子表达降低, 且随疾病的进展, ADAM10 分子表达下降程度增加^[6]. 而在重症 AD 患者的海马和皮层 ADAM10 mRNA 的表达增高 2 倍以上, 可能属于在疾病后期的代偿机制所引起. 在 ADAM10 基因敲除的小鼠, ADAM17 和 ADAM9 不受影响, α 分泌酶功能基本保持^[7], 提示 ADAM10 可能是并非唯一的 α 分泌酶.

1.2 ADAM17/TACE

ADAM17 又称肿瘤坏死因子 α 转换酶 (tumor necrosis factor- α converting enzyme, TACE), 也属于 ADAM 家族, 除了肿瘤坏死因子 α 以外, L- 选择素, 转化生长因子 α , 血管紧张素转换酶和 APP 等其他膜蛋白都是它的底物. 在 ADAM17 基因敲除后佛波醇酯 (phorbol esters) 处理细胞的 sAPP α 分泌不再增加, 但其组成性分泌未受影响^[8]. TACE 的抑制剂对 sAPP α 的分泌具有同样的作用, 因此其主要参与 sAPP α 的调节性分泌.

也有与上述研究不一致的结果: 当 TACE 转染 HEK 293 细胞后, 组成性的 sAPP α 分泌增加, 而刺激胆碱能 M 受体并不能使 sAPP α 分泌增加, 在 LoVo 细胞的过表达则并不能使 sAPP α 的组成性分泌增加^[9]. 在 AD 患者的皮层和海马, TACE 与老年斑和神经原纤维缠结共同存在, AD 患者脑内也未发现 TACE 表达的改变. 由于在脑内 ADAM17 和 APP 只有部分共表达, 因此推测它可是 α 分泌酶的一种成分, 转基因和 RNA 干扰 (RNA interference, RNAi) 的研究结果^[7] 也支持这一观点.

1.3 ADAM9/ MDC9

ADAM9 又称 meltrin γ 或者 metalloproteinase/disintegrin/cysteine-rich protein 9 (MDC9), 最初从小鼠的肺 cDNA 文库中分离到. ADAM9 和 APP 在 COS 细胞的共表达可使 sAPP α 的调节性分泌与未转染 ADAM9 的细胞相比明显增高, 在过表达 ADAM9 的细胞, sAPP α 的组成性分泌也增加. 最近发现一种缺少胞内段的分泌型 ADAM9, 也具有 α 分泌酶样的活性^[9]. 与 ADAM10 不同, ADAM9 主要是在 A β 序列的 His14~Gln15 而不是在 Lys16~Leu17 氨基酸部位起水解作用.

ADAM9 基因敲除小鼠在从幼鼠发育至成年的过程并无特殊异常^[10]. 利用 RNA 干扰抑制 ADAM9 的活性亦不显著影响 α 分泌酶的活性^[7], 进一步说

明 α 分泌酶并非单一的任何上述 ADAM 分子, 尽管三者都具 α 分泌酶的部分功能. 综合考虑, 一个比较合理的解释是三者共同作用来保证 α 分泌酶功能的完成.

除了上述 ADAM 分子以外, 另外两种物质也与 α 分泌酶密切相关, 或者认为具有 α 分泌酶的功能, 尽管尚未得到公认. 一种是前蛋白转换酶 7 (proprotein convertase 7, PC7), 另一种是 BACE 2.

PC7 是一种丝氨酸蛋白酶, 和 furin 一样都可以切除 ADAM10 分子的 prodomain 使其从酶原形式而成为活性形式. 由于在 LoVo 细胞 (furin 缺陷) ADAM 10 分子照样可以成熟, 因此推测 furin 不是 ADAM 10 分子成熟所必需的, 而 PC7 才是必需的^[9]. 将 PC7 转入 LoVo 细胞后, sAPP α 的组成性和调节性分泌均增加, sAPP α 在 LoVo 细胞的分泌受 α 分泌酶抑制剂 TAPI 和 BB3103 的抑制, 因此 PC7 和 ADAM 10 一样, 具有 α 分泌酶的功能^[9]. 但是 APP 分子不存在直接与 PC7 或 furin 作用的区域, PC7 只与 ADAM 分子的 PC 结合序列 (RKRR) 相互作用^[9]. PC7 在 HEK 293 细胞的过表达可使 sAPP α 的分泌增加, 由于 sAPP α 组成性和调节性分泌都对锌金属蛋白酶抑制剂敏感, PC7 对 APP 的作用可能是间接的. 由于 ADAM 分子最初都是以酶原形式合成的, 因此 PC 7 可能在前 α 分泌酶的上游起作用. Endres 等^[11] 发现 ADAM10 和 ADAM17 在被 PC7 或 furin 切除 prodomain 而分子成熟后, 其稳定性不同. ADAM17 的活性分子在 PKC 激动剂 PMA 刺激后很快降解, 而 ADAM10 分子的活性形式则不受 PMA 的影响.

PC7 的作用不止于此. β 分泌酶的活化需要 furin, α 分泌酶 ADAM10 的活化需要 furin 和 PC7, 而 furin 非 α 分泌酶活化所必需. 考虑到 α 分泌酶和 β 分泌酶对同一底物 APP 的不同作用, 下调 furin 或者 / 和同时上调 PC7 都是对 AD 有利的选择, 但抑制 furin 活性较难于实现 (furin 对细胞的生存是必需的), 而提高 PC 7 的表达倒是一个可能的选择, 由于 furin 的底物太多, 其能否作为治疗 AD 的一个潜在药物靶点还需进一步的研究.

BACE2 是和 BACE1 有 51% 的氨基酸序列同源的蛋白质, 本不属于 α 分泌酶的范畴, 它们有相同的结构. BACE2 在中枢神经系统和外周组织都有表达, 在神经元的表达要比 BACE1 要低, 但在 T 细胞、肺癌细胞和腺病毒转染的 HEK 293 细胞的表达较 BACE1 明显要高^[12]. BACE2 和 BACE1 具

有相同的底物, 包括野生型和突变型的 APP. 但它主要在 A β 序列的 19Phe~20Phe 和 20Phe~21Ala 部位进行降解, 从而破坏了完整 A β 分子的形成而类似 α 分泌酶的作用. 已有实验结果提示, BACE2 与 BACE1 竞争同一作用底物 APP, 用 RNA 干扰的方法显示 BACE2 和 BACE1 具有相互拮抗的作用^[12].

α 分泌酶在何处发挥作用, 即其作用部位是在细胞膜表面或细胞内, 现在还存有争议, 较公认的看法是可以两者都有. 生物素标记显示, ADAM10 的活性形式主要分布在细胞表面, 而大部分以无活性的酶原形式分布于细胞内部, 很可能是高尔基体内^[4]. ADAM17 的活性形式在细胞表面和细胞内都存在, 而大部分位于细胞内的细胞核附近^[8]. sAPP α 分泌方式主要有组成性分泌和调节性分泌, 前者指基础条件下的分泌, 后者指在一些物质作用下, 如蛋白激酶 C 激动剂佛波醇酯或 M 受体激动剂的作用下, 可使 sAPP α 分泌显著增加. sAPP α 的组成性分泌主要在细胞表面, 而调节性分泌发生在细胞内, 这与上述 α 分泌酶活性分子的分布基本一致.

α 分泌酶另外一个特点就是底物分子的序列特异性要求较低: 决定 α 分泌酶对底物切割位点的不是底物的氨基酸序列, 而是从细胞膜表面到作用部位的距离, 大约 12~13 个氨基酸残基, 并且要求一定的空间螺旋结构.

2 α 分泌酶的活性调节及其与 APP 代谢的关系

APP 可以经两条途径代谢, 两个酶系统对同一底物 APP 进行竞争. 如果 α 分泌酶活性增强, 既生成了对细胞具有营养作用的 sAPP α , 同时由于 α 分泌酶从 A β 分子内部水解, 又减少了 A β 的产生. 因此提高 α 分泌酶的活性或表达, 使得 APP 的代谢向 α 分泌酶方向倾斜, 是对 AD 治疗比较有利的. 许多信号转导通路如 PKC、PKA、MAPK、胆碱能受体、Ca 离子以及 PI3-K 等都参与了 α 分泌酶的活性调节和 APP 的代谢过程.

2.1 PKC

PKC 是 α 分泌酶活性的重要调节通路. PKC 的激活能够提高 α 分泌酶的活性, 使 APP 的代谢向不产生 A β 的代谢途径倾斜. 必须指出, PKC 的底物不是 APP, 很可能是 α 分泌酶或者其他与囊泡运送有关的细胞分子. 佛波醇酯是一种 PKC 激活剂, 能够使 sAPP α 显著增加而 A β 减少, 但其是

一种致癌物而限制其应用, 只能作为工具药来进行研究. 其他具有激活 PKC 的物质由于调节 α 分泌酶的活性而有治疗价值, 在转基因动物模型得到证实^[13]. 在 AD 患者来源的 AG06848 和 AG07377 细胞系, Bryostatin (一种 PKC 激活剂) 能使 sAPP α 显著增加而 A β 减少, 降低转基因动物 (APP[V717I]/PS1[A246E]) 的死亡率, 在 5 月龄时降低其 A β_{40} 和 A β_{42} , 且使动物的行为缺陷得到改善^[13]. 但在豚鼠, 应用另一种 PKC 激动剂 methylazoxymethanol acetate(MEM), 增加了 sAPP α , 但其对 A β 无明显作用.

PKC 是多基因家族的蛋白酶, 目前共有 3 类 12 个单体: 常规的 PKC (包括单体 α 、 β I、 β II 和 γ)、新型的 PKC (包括单体 δ 、 ϵ 、 η 、 θ 和 μ) 和非经典 PKC (包括单体 λ 、 ξ 和 τ), 第一类是钙依赖性的, 而后两类是非钙依赖性的. 在 AD 患者的成纤维细胞发现 PKC α 单体缺陷, 一系列的研究利用转基因、基因敲除和 RNA 干扰已证实 PKC α 在 APP 代谢中起着重要的调节作用, 最近发现了 PKC ϵ 单体在调节 α 分泌酶活性中的作用. 抑制 PKC α 的活性, 则使 sAPP α 的组成性和调节性分泌均减少. 降低 PKC α 的表达, 使 sAPP α 降低, 但对 M 受体激动剂引起的 sAPP α 分泌并无影响. 降低 PKC ϵ 的表达, 则使 M 胆碱能拟似剂引起的 sAPP α 分泌消失, 提示 PKC ϵ 单体主要参与 M 受体介导的 sAPP α 分泌, 但是降低 PKC α 和 PKC ϵ 的表达并不影响 PMA 刺激条件下 PKC 的转位 (translocation). PKC α 还介导磷脂酶 C 信号转导通路^[14,15]. 但总的来说 PKC 是对 APP 代谢和 α 分泌酶的调节起重要作用的蛋白质, 由于并不是每一个单体起同样作用, 剩下的问题是哪个单体的参与, 以及与其他信号转导通路的相互关系. 现在认为 PKC α 和 PKC ϵ 参与 α 分泌酶活性调节的意义较大. PKC 的功能复杂, 除了直接激活 α 分泌酶之外, 还介导 M 受体、谷氨酸受体、以及缓激肽受体对 α 分泌酶的活性调节.

2.2 胆碱能受体

用 carbachol (胆碱能 M 受体拟似剂) 处理转染了胆碱能 M1 和 M3 受体的 HEK293 细胞时, sAPP α 分泌增加. 随后发现其能使 A β 降低, 胆碱能拟似剂引起的 sAPP α 分泌增加是由 PKC、MAPK 和 Tyr-K 等信号转导途径所介导. 研究提示, 临床最常用的胆碱酯酶抑制剂 (cholinesterase inhibitors, ChEIs) 可对 APP 的代谢 (主要指对 APP

的表达、sAPP α 和 A β 的分泌) 产生一定的影响, 且其作用是通过不同的信号转导途径所介导. 如 Tacrine 和 Phenserine 在不同的细胞能使 sAPP α 、A β 分泌减少, 使 APP 表达降低. Donepezil、Rivastigmine、Galantamine、Ganstigmine、Metrifonate、Ambenonium、Heptylphysostigmine 等能够使 sAPP α 分泌增加, 但对 A β 分泌和 APP 表达则有不同的影响, 甚至得出相反的结果^[16,17]. 最近的研究显示, Donepezil 处理 SH-SY5Y 细胞后使 sAPP α 增加、A β 分泌减少, 对 APP 表达无影响, 且其作用是通过 M 受体介导^[18]. Donepezil 还能够促进 α 分泌酶 ADAM10 活性增加和 APP 分子输送到膜表面, 而 Galantamine 则通过胆碱能 N 受体发挥对细胞的抗凋亡作用^[19]. 总之, AChEIs 对 α 分泌酶的活性调节是非常复杂的, 且与其他信号调节通路如 PKC, MAPK 相互交叉.

2.3 蛋白激酶 A

用 forskolin 处理 PC12 细胞, 能够使 sAPP α 分泌增加, 用 forskolin 和 8-溴 -cAMP 也能使 sAPP α 分泌增加. Forskolin 是腺苷酸环化酶激活剂, 提示了 cAMP 依赖性的蛋白激酶 A (protein kinase A, PKA) 介导了 forskolin 诱导使 α 分泌酶的活性增强. 这方面的研究结果也不尽一致, 可能与所采用的细胞系和实验条件有关.

2.4 钙离子

利用 thapsigargin 抑制内质网对钙的回收使细胞内的钙离子浓度升高, 可使 sAPP α 分泌增加. 用 PdBu 长时间处理细胞使 PKC 失活后其效应仍然存在, 说明作为细胞信号转导的第二信使, 其作用不依赖于 PKC. 但其对 A β 的作用与剂量有关: 10 nmol/L 使 A β 增加而在 20 nmol/L 时使 A β 减少.

2.5 丝裂原激活的蛋白激酶

促分裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 包括三个层次的序列级联反应: raf、MAPK kinase (MEK) 和 ERKs. 利用特异的抑制剂 PD 98059 和蛋白质印迹方法, 提示 MAPK 参与了 M 受体、AChEIs、PKC、NMDA 受体及一些细胞因子所介导的 sAPP α 分泌增加. MAPK 级联反应位于信号通路的下游, 为调节 APP 的代谢提供了一个共同的靶点^[20]. MAPK 通路参与 APP 代谢及 α 分泌酶的活性调节也常被其他物质的作用如雌激素、M 受体拟似剂所反映出来.

本实验室的研究显示, PKC、MAPK 和 JNK 信号转导通路参与了 IL-1 β 诱导的 α 分泌酶活性的

增加^[21]. 国内姚泰教授最近的一项研究提示 PKC 可能介导了雌激素促进鼠皮层神经元 sAPP α 分泌的作用^[22].

2.6 PI 3-K 和酪氨酸激酶

胰岛素受体激活后使 sAPP α 分泌增加, 后来发现 PI3-K (phosphatidylinositol 3 kinase) 途径在其下游参与 α 分泌酶的活性调节, 且此作用不依赖于 PKC 和 MAPK 而存在. 神经生长因子、成纤维细胞生长因子、表皮生长因子、凝血素等作用于细胞后使 sAPP α 分泌增加, PKC 抑制剂 GF-109203X 能部分抑制其作用, 而受体酪氨酸激酶抑制剂 tyrphostin AG1478 能完全消除这种作用, 说明这种作用至少部分是由酪氨酸激酶 (tyrosine kinase, tyr-K) 所介导, PKC 可能也部分参与这条通路.

2.7 谷氨酸、激肽、血清素及其他神经递质和 G 蛋白偶联受体配体

除了上述调节途径以外, 谷氨酸激活亲代谢型受体后通过 PKC 依赖性途径使 sAPP α 分泌增加, 血清素受体 5-HT₄ 激活后通过 PKA 途径也能使 sAPP α 分泌增加, 激肽受体激活后使 sAPP α 分泌增加, 且这种作用是非 PKC 依赖性的. 还有其他神经递质和 G 蛋白偶联受体激活后都能使 APP 的代谢向不产生 A β 的方向倾斜, 但其所涉及的信号转导通路也各不相同. 应当指出, 在完整机体内部, 上述各条通路共同作用构成了一个非常复杂的调控网络, 各通路之间是不能截然分开的, 人为地分开只是为了叙述的方便.

3 α 分泌酶应用展望

流行病学研究显示, 因高脂血症服用他汀类药物、绝经后服用雌激素的妇女人群及因关节炎或类风湿性关节炎服用非甾体类抗炎药 (non-steroidal anti-inflammatory drugs, NSAIDs) 可使 AD 在这些人群中发生的危险性降低, 随后的研究显示这些药物都能通过不同的途径最终使 α 分泌酶的活性发生改变. 如雌激素可通过 MAPK/PKC 途径使 sAPP α 分泌增加, 降胆固醇药物可在多种细胞系使 sAPP α 增加, 使 sAPP β 和 A β 减少, 同时使 α 分泌酶 ADAM10 的活性增强^[23]; 对于胆固醇酯化和转运的研究也证实了胆固醇确实参与了 APP 代谢的调节作用^[24]. 尽管这些药物作用具体的分子机制尚不清楚, 但 α 分泌酶作为各种物质影响 APP 分解代谢调节的最后通路, 提示其有可能作为 AD 治疗的新的药物靶点.

将 ADAMs 基因转染细胞增加其表达, 可使 sAPP α 的组成性和调节性分泌增加, A β 减少, 而用 RNAi 下调其表达则有相反的结果. ADAM 10 $\times$ APP^{SW} 双重转基因动物脑内检测显示, α 分泌酶的代谢产物 sAPP α 与单一 APP^{SW} 转基因动物相比明显增加, 相应地, A β 的产生明显减少, 两者呈负相关关系, 动物的缺陷行为也得到改善, 电生理研究也与上述结果相一致. 而如果使 ADAM10 基因失活所建立的转基因动物模型则出现相反的结果^[25], 在一定程度上提示了 ADAM10 的潜在治疗作用. 通过 PKC 激动剂使 sAPP α 分泌增加同样具有治疗作用, 已在体外细胞和转基因动物得到证实^[26]. 最近的两项研究提示 Rho 和其效应分子 ROCK 可能在 α 分泌酶的上游发挥作用, ROCK 活性降低参与了他汀类药物和非甾体类抗炎药提高 α 分泌酶和降低 A β 的作用, 因此抑制 ROCK 的活性也可能成为 AD 的治疗靶点之一^[27~30] (图 1).

上述 α 分泌酶在 AD 治疗中的意义以及对 α 分泌酶分子活性起调节作用的各种分子可以作为药物开发靶点的设想, 也是基于 AD 发病机制的 A β 细胞毒性学说. AD 发病机制中其他的学说究竟在 AD 的发病中起什么作用, 与 A β 细胞毒性学说之间有什么必然联系还需要研究. 能否利用 ADAM 分子作为基因治疗的靶基因尚未知, 只有对这些问题有了满意的回答才能使 α 分泌酶分子及其活性调节剂作为治疗 AD 的靶点. 但是 α 分泌酶的研究为我们提供了一条新的思路. 相信随着对 α 分泌酶研究的深入及 AD 发病机制的进一步明了, 一定会给 AD 的治疗带来新的希望.

参 考 文 献

- Selkoe D J. Alzheimer's disease: genes, proteins, and therapy. *Physiol Rev*, 2001, **81** (2): 741~766
- Stein T D, Anders N J, DeCarli C, *et al.* Neutralization of transthyretin reverses the neuroprotective effects of secreted amyloid precursor protein (APP) in APP^{sw} mice resulting in tau phosphorylation and loss of hippocampal neurons: support for the amyloid hypothesis. *J Neurosci*, 2004, **24** (35): 7707~7717
- Anders A, Gilber S, Garten W, *et al.* Regulation of the α -secretase ADAM 10 by its prodomain and proprotein. *FASEB J*, 2001, **15** (10): 1837~1839
- Lammich S, Kojro E, Postina R, *et al.* Constitutive and regulated α -secretase cleavage of Alzheimer's amyloid precursor protein by a disintegrin metalloprotease. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, **96** (7): 3922~3927
- Lopez-Perez E, Zhang Y, Frank S J, *et al.* Constitutive α -secretase cleavage of the β -amyloid precursorprotein in the furin-deficient LoVo cell line: involvement of the pro-hormone convertase 7 and the disintegrin metalloprotease ADAM 10. *J Neurochem*, 2001, **76** (5): 1532~1539
- Colciaghi F, Marcello E, Borroni B, *et al.* Platelet APP, ADAM 10 and BACE alternations in early stages of Alzheimer disease. *Neurology*, 2004, **62** (3): 498~501
- Asai M, Hattori C, Szab B, *et al.* Putative function of ADAM 9, ADAM 10, and ADAM 17 as APP α -secretase. *Biochem Biophys Res Commu*, 2003, **301** (1): 231~235
- Buxbaum J D, Liu K, Luo Y, *et al.* Evidence that tumor necrosis factor α converting enzyme is involved in regulated α -secretase cleavage of the Alzheimer's amyloid protein precursor. *J Biol Chem*, 1998, **273** (43): 27765~27768
- Hotoda N, Koike H, Sasagawa N, *et al.* A secreted form of human ADAM 9 has an α -secretase activity for APP. *Biochem Biophys Res Commu*, 2002, **293** (2): 800~805
- Weskamp G, Cai H, Brodie T A, *et al.* Mice lacking the metalloprotease-disintegrin MDC 9 (ADAM 9) have no evident major abnormalities during development or adult life. *Mol Cell Biol*, 2002, **22** (5): 1537~1544
- Endres K, Anders A, Kojro E, *et al.* Tumor necrosis factor- α converting enzyme is processed by proprotein-convertase to its mature form which is degraded upon phobol ester stimulation. *Eur J Biochem*, 2003, **270** (11): 2386~2393
- Basi G, Frigon N, Barbour R, *et al.* Antagonistic effects of β -site amyloid precursor protein-cleaving enzymes 1 and 2 on β -amyloid peptide production in cells. *J Biol Chem*, 2003, **278** (34): 31512~31520
- Ercheberrigaray R, Tan M, Dewachter I, *et al.* Therapeutic effects of PKC activators in Alzheimer's disease transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, **101**(30): 11141~11146
- Racchi M, Mazzucchelli M, Pascale A, *et al.* Role of protein kinase C α in the regulated secretion of the amyloid precursor protein. *Mol Psychiatry*, 2003, **8** (2): 209~216
- Lanni C, Mazzucchelli M, Porrello E, *et al.* Differential involvement of protein kinase C alpha and epsilon in the regulated secretion of soluble amyloid precursor protein. *Eur J Biochem*, 2004, **271** (14): 3068~3075
- Mazzucchelli M, Porrello E, Villetti E, *et al.* Characterization of the effect of ganstigmine (CHF2819) on amyloid precursor protein metabolism in SH-SY5Y neuroblastoma cells. *J Neural Transm*, 2003, **110** (8): 935~947
- Racchi M, Mazzucchelli M, Porrello E, *et al.* Acetylcholinesterase inhibitors: novel activities of old molecules. *Pharmacol Res*, 2004, **50** (4): 441~451
- Zimmermann M, Gardoni F, Marcello E, *et al.* Acetylcholinesterase inhibitors increase ADAM10 activity by promoting its trafficking in neuroblastoma cell lines. *J Neurochem*, 2004, **90** (6): 1489~1499
- Arias E, Ales, Egabilan N H, *et al.* Galantamine prevents apoptosis induced by β -amyloid and thapsigargin: involvement of nicotinic acetylcholine receptors. *Neuropharmacol*, 2004, **46** (1): 103~114
- Yogev-Falach M, Amit T, Bar-Am O, *et al.* The involvement of

- mitogen-activated protein (MAP) kinase in the regulation of amyloid precursor protein processing by novel cholinesterase inhibitors derived from rasagiline. *FASEB J*, 2002, **16** (12): 1674~1676
- 21 Ma G Z, Chen S D, Wang X J, *et al.* Short-term interleukin-1 β increases the release of secreted APP α via MEK1/2-dependent and JNK-dependent α secretase cleavage in neuroglioma U251 cells. *J Neurosci Res*, 2005, **80** (5): 683~692
 - 22 Zhang S, Huang Y, Zhu Y C, *et al.* Estrogen stimulates release of secreted amyloid precursor protein from primary rat cortical neurons via protein kinase C pathway. *Acta Pharmacol Sin*, 2005, **26** (2): 171~176
 - 23 George A J, Holsinger R M, McLean C A, *et al.* APP intracellular domain is increased and soluble A β is reduced with diet-induced hypercholesterolemia in a transgenic mouse model of Alzheimer disease. *Neurobiol Dis*, 2004, **16** (1): 124~132
 - 24 Hutter-Paier B, Huttunen H J, Pugielli L, *et al.* The ACAT inhibitor CP-113, 818 markedly reduces amyloid pathology in a mouse model of Alzheimer's disease. *Neuron*, 2004, **44** (2): 227~238
 - 25 Postina R, Schroeder A, Dewachter I, *et al.* A disintegrin-metalloproteinase prevents amyloid plaque formation and hippocampal defects in an Alzheimer's disease mouse model. *J Clin Invest*, 2004, **113** (10): 1456~1464
 - 26 Bigl V, Robner S. Amyloid precursor protein processing *in vivo* - insights from a chemically-induced constitutive overactivation of protein kinase C in guinea pig brain. *Curr Med Chem*, 2003, **10** (10): 871~882
 - 27 Pedrini S, Carter T L, Prendergast G, *et al.* Modulation of statin-activated shedding of Alzheimer APP ectodomain by ROCK. *PLoS Med*, 2005, **2** (1): 69~78
 - 28 Zhou Y, Su Y, Li B, *et al.* Nonsteroidal anti-inflammatory drugs can lower amyloidogenic A β 42 by inhibiting Rho. *Science*, 2003, **302** (5648): 1215~1217
 - 29 Mueller B K, Mack H, Teusch N. Rho kinase, a promising drug target for neurological disorders. *Nat Rev Drug Discov*, 2005, **4** (5): 387~398
 - 30 Tang B L. Alzheimer's disease: channeling APP to non-amyloidogenic processing. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, **331** (2): 375~378

Therapeutic Potential of α -Secretase in Alzheimer's Disease*

YANG Hong-Qi, CHEN Sheng-Di**

(Department of Neurology and Institute of Neurology, Medical College of Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200025, China)

Abstract Alzheimer's disease (AD) is one of the commonest neurodegenerative diseases affected mainly the elderly. AD is characterized by the formation of neuritic plaque in brain, which is composed mainly of extracellular β amyloid deposition, the A β . A β is derived from serial hydrolysis of amyloid precursor protein (APP) by two secretases, the β and γ -secretase respectively. Alternatively, APP can also be sequentially processed by α -secretase and γ -secretase, which not only preclude the formation of A β , but also generate a large ectodomain (sAPP α) who has several neuroprotective properties. Thus the secondary processing pathway has become the focus of AD research. Many results have indicated that members of the adamalysin family of proteins, mainly the ADAM 10, ADAM 17 and ADAM 9, fulfill some of the criteria required of α -secretase. Here the biological characteristics of α -secretase, its activity regulation and its potential function as targets for the treatment of AD were summarized.

Key words Alzheimer's disease (AD), α -secretase, therapy, amyloid precursor protein (APP), β amyloid (A β), a disintegrin and metalloproteinase (ADAM)

*This work was supported by a grant from National Basic Research Program of China.

**Corresponding author. Tel/Fax: 86-21-64457249, E-mail: chen_sd@medmail.com.cn

Received: September 26, 2005 Accepted: October 28, 2005