



诱导神经再生治疗阿尔茨海默病的机制研究进展*

高君妍^{1,2)} 林苏扬²⁾ 潘召韬²⁾ 马宇涛²⁾ 储超扬²⁾ 单江晖²⁾ 沈巍¹⁾ 谢凯¹⁾

王钦文²⁾ 徐淑君²⁾ 李丽萍^{1,2)**}

(¹⁾ 宁波大学医学院附属医院康复科, 宁波 315211; ²⁾ 宁波大学医学院, 浙江省病理生理学技术研究重点实验室, 宁波 315211)

摘要 阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 是一种以进行性认知障碍和记忆减退为主要特征的中枢神经退行性疾病, 已经成为老年医学中最棘手的、亟待解决的问题之一. AD 的病理机制仍不清楚, 尚无特效治疗药物. 目前, 探索 AD 神经再生逐渐成为研究的热点领域, 通过诱导神经再生可以有效地改善 AD 的症状. 研究表明, 运用药物、物理刺激或干细胞移植方法, 可以提高大脑成体神经再生, 是延缓 AD 的病理症状和认知障碍的有效治疗策略. 本文综述诱导神经再生的方法及其治疗 AD 的作用机制, 为神经再生治疗实施提供理论依据.

关键词 阿尔茨海默病, 神经再生, 认知功能, 神经元

中图分类号 R74

DOI: 10.16476/j.pibb.2021.0112

阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 是老年痴呆最常见的一种类型, 是以进行性认知障碍和记忆减退为主要特征的中枢神经退行性疾病, 主要病理特征包括脑细胞内神经纤维缠结 (neurofibrillary tangles, NFT) 及细胞外 β 淀粉样蛋白 (amyloid beta, A β) 聚集形成老年斑 (senile plaques, SP). 其主要的临床表现包括记忆障碍、抽象思维、计算损害、人格和行为改变等. 根据既往研究, AD 的发病机制主要有以下几种: A β 毒性、Tau 蛋白过度磷酸化、神经炎症、心脑级联学说、胆碱能缺乏及兴奋性氨基酸毒性等学说. 目前临床上尚无治愈或延缓疾病进程的药物. 随着患病人群不断扩大, AD 已成为当今社会的主要医疗卫生问题之一. 为了解决缺乏有效药物和持续的临床试验失败的问题, 目前 AD 研究热点转向诱导神经干细胞 (neural stem cells, NSC) 再生的治疗策略. 近年来, 有关促使靶向神经干细胞再生方面的研究逐渐被人们关注. 本文围绕诱导神经再生治疗 AD 的作用机制进行综述.

1 神经再生在修复 AD 认知障碍中的作用

神经再生是指产生新神经元或恢复神经元结构的过程, 主要指神经前体细胞增殖分化和神经元的突触可塑性^[1]. 1965 年, Altamirano 和 Das 首次证明成年哺乳动物大脑中可以产生新神经元^[2]. 此后, 通过不断研究发现, 成年哺乳动物大脑中的神经再生主要发生在两个部位, 即海马齿状回颗粒细胞下层 (subgranular zone, SGZ) 和脑室下区 (subventricular zone, SVZ)^[3]. 为了探究人类的神经发生是否会持续终生, Tobin 等^[4] 于 2019 年检测 18 位遗体捐献者的大脑, 在 AD 患者脑中不仅发现了增殖中或刚完成增殖的神经前体细胞

* 国家自然科学基金 (82001155), 浙江省自然科学基金 (LQ19H090005), 宁波市科技局/重大项目 (2019B10034), 宁波市科技局计划项目 (202002N3165), 宁波大学教研项目 (JYX-MXZD2021029), 宁波大学科研基金项目 (XYL20030), 宁波大学“大学生科技创新计划” (2021SRIP1917, 2021SRIP1912) 和宁波大学王宽诚幸福基金资助.

** 通讯联系人.

Tel: 0574-87609594, E-mail: liliping@nbu.edu.cn

收稿日期: 2021-04-25, 接受日期: 2021-06-15

(Nestin⁺PCNA⁺细胞)、未分化的神经干细胞(Nestin⁺Sox2⁺细胞)和增殖中的神经干细胞(Nestin⁺Sox2⁺Ki67⁺细胞),还发现了新生未成熟神经元(DCX⁺PCNA⁺细胞),这说明人类的神经会发生持续终生.此外,研究人员发现,新生未成熟神经元的数量与这些捐献者的认知评分有明显的相关性,DCX⁺PCNA⁺细胞越多,认知能力越高,提示神经元的数目与认知功能呈正相关^[4].认知功能的高低在一定程度上还取决于突触的完整性和传导效率.突触是神经元之间在功能上发生联系的部位,也是信息传递的关键部位.然而,突触结构不稳定,容易受营养水平、疾病等因素影响而呈现动态变化.越来越多的研究表明,海马和新皮质处的突触丢失是AD早期的症状,同时也是认知功能发生障碍的主要原因之一^[1].因此,神经元突触的损伤

是发生认知功能障碍的另一重要原因.

诱导神经再生,能够从本质上根治AD认知功能障碍的问题.近年来,关于神经再生的研究非常广泛,但是总体上是解决两个方面的问题:a.怎样补充缺失的神经元;b.怎样重新建立神经连接.研究发现,不同品系鼠诱导成AD模型后,通过给予过表达脑源性神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)的腺病毒、BDNF营养液、药物、人源神经干细胞(human neural stem cells, hNSCs)移植、电刺激等外在手段干预后,均可以提高神经再生能力,主要表现在提高小胶质细胞、星形胶质细胞、神经元和神经元前体细胞数量,并改善Tau磷酸化程度等AD相关的神经病理及记忆能力.本文汇总了近几年不同外在干预手段对AD模型小鼠或大鼠神经再生的作用效果(表1).

Table1 Effects of different interventions on nerve regeneration in mouse models of Alzheimer's disease

表1 不同干预手段对阿尔茨海默病模型小鼠神经再生的作用效果

品系	月龄	干预方式	神经再生评估	干预后效果	参考文献
P301L ¹⁾	4, 8, 12	脑室内注射AAV-BDNF	NeuN免疫荧光染色	神经元和胆碱能神经元的总数量显著增加	[5]
J20 ²⁾	2~3, 6~7	两侧内嗅皮层中部注射2 μ l过表达BDNF慢病毒	突触素的免疫反应性检测	皮层和齿状回中突触标记物的显著增多	[6]
APP/PS1	5	饲喂猴头菌菌丝 ⁹⁾ 和猴头菌乙醇提取物 ¹⁰⁾ , 24 h/次, 连续30 d	注射BrdU示踪 (24 h/次, 连续7 d)	新生细胞(BrdU ⁺)、未成熟神经元(DCX ⁺)、和新生未成熟神经元(BrdU ⁺ DCX ⁺)数量均显著增加	[7]
APP/PS1	8	注射水飞蓟宾 ¹¹⁾ , 24 h/次, 连续4周	注射BrdU示踪 (24 h/次, 连续5 d)	新生神经元前体细胞(BrdU ⁺ PCNA ⁺)、新生星形胶质细胞(BrdU ⁺ GFAP ⁺)、和新生神经元(BrdU ⁺ DCX ⁺)的数量均增加	[8]
3 $\times$ Tg-AD ³⁾	6	灌胃MPT0G211或美金刚 ¹²⁾ , 24 h/次, 连续3个月	免疫组化分析和行为学分析	显著改善记忆障碍和降低Tau磷酸化	[9]
ICR ⁴⁾	3	腹腔注射S-反式, 反式法尼乙基硫代水杨酸 ¹³⁾ , 剂量5 mg/kg	注射BrdU示踪 (6 h/次, 连续3 d)	新生细胞(BrdU ⁺)数量增加, 新生成熟神经元(BrdU ⁺ NeuN ⁺)数量降低	[10]
Tg2576 ⁵⁾	5~7	双侧海马移植hNSCs	DCX免疫组化分析	齿状回中未成熟神经元DCX ⁺ 细胞数量增加	[11]
BALB/c WT ⁶⁾	2	T细胞免疫缺陷处理	DCX免疫组化分析	未成熟神经元DCX ⁺ 细胞数量明显减少	[12]
SD Rats ⁷⁾	10	建立AD模型前灌胃染料木素 ¹⁴⁾ , 24h/次, 连续7 d	苏木精-伊红 ¹⁵⁾ 染色	受损神经细胞的数量减少	[13]
Wistar Rats ⁸⁾	4~5	2 Hz和50 Hz电刺激, 24 h/次, 7 d/疗程, 连续2个疗程, 两个疗程之间休息1 d	电生理实验检测	神经元峰电位振幅稳定增加	[14]

¹⁾ P301L: tauopathy小鼠模型; ²⁾ J20: 表达APP的转基因小鼠; ³⁾ 3 $\times$ Tg-AD: APP/PS1/Tau转基因小鼠; ⁴⁾ ICR: 注射A β_{1-42} 诱导ICR (Institute of Cancer Research, ICR) 大鼠为AD模型; ⁵⁾ Tg2576: APPswe转基因小鼠; ⁶⁾ BALB/c WT: 注射A β_{1-42} 诱导WT (wild type, WT) 大鼠为AD模型; ⁷⁾ SD Rats: D-半乳糖 (D-galactose) 和 A β_{25-35} 诱导SD (Sprague-Dawley, SD) 大鼠为AD模型; ⁸⁾ Wistar Rats: 注射A β_{1-42} 诱导Wistar大鼠为AD模型; ⁹⁾ 猴头菌菌丝: *Hericium erinaceus mycelia*; ¹⁰⁾ 猴头菌乙醇提取物: *Hericium erinaceus ethanol extracts*; ¹¹⁾ 水飞蓟宾: silibinin; ¹²⁾ 美金刚: memantine; ¹³⁾ S-反式, 反式法尼乙基硫代水杨酸: S-trans, trans-farnesylthiosalicylic acid; ¹⁴⁾ 染料木素: genistein; ¹⁵⁾ 苏木精-伊红: hematoxylin-eosin.

通过外在手段干预, 诱发特定区域已存在的神经干细胞发生转移或诱发产生新的神经干细胞, 新神经干细胞分化为成熟神经元, 或者诱发新的神经连接生成, 新成熟神经元整合到神经网络中, 形成新的突触连接, 从而诱导部分甚至全部的神经网络恢复信息传递功能。

综上, 人类的认知功能与突触完好程度和神经元数目密切相关。因此, 有望通过恢复损伤的神经元和增加神经元数量等诱导神经再生手段, 改善认知水平, 从而减缓或治疗 AD。

2 神经营养因子诱导神经再生治疗AD的作用机制

2.1 BDNF诱导神经再生治疗AD的作用机制

BDNF 是中枢神经系统中分布最广泛的神经营养因子, 是 BDNF 基因编码的神经营养因子家族成员之一, 主要存在于海马、皮层和基底前脑, 在突触可塑性和神经元存活、分化、生长发育中起着关键作用^[15]。BDNF 水平的降低与许多神经退行性疾病、发育迟缓和神经精神疾病有关。研究表明, BDNF 水平降低会造成神经元营养支持缺乏, 导致 AD 基底前脑胆碱能系统中特定神经元群的退化^[16]。

随着 BDNF 的作用不断被挖掘, 人们对于 BDNF 在抑制神经元凋亡和治疗认知障碍上的研究逐渐增多, 提示通过诱导 BDNF 途径有望治疗 AD 患者神经元凋亡和认知下降。从认知退化的老年 Fischer 大鼠内侧的内嗅皮层注入 BDNF 营养液 (1 次/d, 120 ng/侧) 后, 大鼠的空间学习和记忆能力明显提高^[6]。当把实验对象扩展到非人类灵长类动物时, 也获得了类似的结果。对内皮层神经元凋亡模型的非人类灵长类动物进行双侧穿通路径的射频病变处理, 并将表达 BDNF 的慢病毒载体立体定位注射到内嗅皮层, 定量计数发现相对于正常猴子, 没有 BDNF 治疗的穿孔路径病变导致外侧区内皮层 II 层 (45.9±8.5) % 的神经元丢失, 有 BDNF 治疗的猴子能够维持病变侧 (85.4±7.1) % 的神经元继续发挥正常功能, 提示 BDNF 在非人类灵长类动物也能显著预防病变引起的神经元死亡^[6]。在临床诊断为轻度认知障碍的患者中, BDNF 水平与认知下降相关性较小; 但在 AD 患者中, 给予 BDNF 高水平表达能有效地减缓 AD 认知功能下降的速度^[17]。

BDNF 通过诱导神经递质释放^[18]、增加囊泡

对接、增强谷氨酸诱发的突触后反应^[19]等途径影响神经元的可塑性。BDNF 与亲和力高的酪氨酸激酶 B (tropomyosin-related kinase B, TrkB) 受体结合, 诱导 Trk 二聚化和自磷酸化^[20], 从而激活细胞内信号转导通路下游磷脂酰肌醇 3-激酶/蛋白激酶 B (PI3K/Akt) 级联反应^[21]。Akt 与 PI3K 相互作用而发生磷酸化, 并附着在质膜的内表面, 磷酸化的 Akt 通过抑制抑癌基因 p53 的活性^[22], 或直接阻断细胞凋亡途径的活性, 终止细胞凋亡而诱导神经细胞存活。在正常情况下, 细胞色素 c (cytochrome c, cyt-c) 存在于线粒体内外膜之间的腔隙内, 细胞凋亡信号的刺激使 cyt-c 从线粒体腔隙内释放到细胞质^[23]。研究发现: 在 cyt-c 释放之前, 磷酸化的 Akt 参与调节 Bcl-2 家族成员的活性, 控制 cyt-c 从线粒体释放入细胞质中; 当 cyt-c 释放之后, 磷酸化的 Akt 还可以调节凋亡小体的成分, 抑制凋亡小体的形成, 从而阻断线粒体通路介导的细胞凋亡途径^[24]。BDNF 通过与膜受体 TrkB 结合介导 PI3K/Akt 通路活性, 从而调节细胞存活和突触功能, 使 BDNF/TrkB/PI3K/Akt 信号通路成为神经退行性疾病的潜在治疗靶点。已有研究表明, 7,8-二羟基黄酮 (7,8-dihydroxyflavone, 7,8-DHF) 是一种有效的 TrkB 激动剂, 且已被证实对 AD 有治疗作用^[25]。此外也有研究证实, TrkB 另一种激动剂 LMDS-1 通过上调 BDNF 的表达可以改善早期 AD 小鼠的病理表型, 并且 LMDS-1 在改善 AD 小鼠行为和病理特征方面的效果优于 7,8-DHF^[26]。

综上, 在大鼠、非人类灵长类动物以及人体中开展的关于 BDNF 作用的研究表明, BDNF 表达水平与认知水平呈正相关, 其主要通过触发 BDNF/TrkB/PI3K/Akt 信号通路, 调控神经细胞存活和突触的可塑性, 改善大脑的认知能力。

2.2 神经生长因子诱导神经再生治疗AD的作用机制

神经生长因子 (nerve growth factor, NGF) 是神经营养因子中最早被发现的、研究最为透彻的一种神经细胞生长调节因子, 具有营养神经元和诱导突起生长双重生物学功能, 对中枢及周围神经元的发育、分化、生长、再生和功能特性的表达均具有重要的作用。最近的研究表明, 缺乏 NGF 的小鼠会产生 A β 斑块、Tau 蛋白过度磷酸化和突触功能障碍等典型 AD 病理特征^[27]。NGF 治疗不仅可以改善 AD 动物模型中 AD 病理的变化, 而且可以抑制记忆功能的损害^[28]。敲除 NGF 基因可导致成年小鼠基底前脑胆碱能神经元 (basal forebrain cholinergic

neuron, BFCN) 减少 55% 和海马胆碱能神经元减少 62%, 这提示 NGF 缺乏可能是神经元丢失潜在的重要因素^[29]. 通过 NGF 治疗可能成为减轻 A β 沉积并改善 AD 临床认知障碍的有效策略之一.

在大脑中, NGF 以前体 NGF (proNGF) 形式存在, 经过蛋白酶裂解而转化为成熟的 NGF^[30]. 干扰 NGF 转运或降低 NGF 加工, 会导致 proNGF 过表达而异常积累及成熟 NGF 的缺乏. NGF 通过与质膜上高亲和力的酪氨酸激酶 A 受体 (tropomyosin-related kinase A, TrkA) 和低亲和力的肿瘤坏死因子受体 (p75^{NTR}) 结合而介导其生物活性^[31]. 海马和皮层神经元产生的 NGF 与 TrkA 和 p75^{NTR} 结合, 形成三聚体复合物, 维持神经元正常活性, 提示 NGF 通过受体 TrkA/p75^{NTR} 介导的信号通路维持神经元正常功能^[32]. 在缺乏 TrkA 情况下, NGF 和 p75^{NTR} 结合后, 通过 p53、神经酰胺和 c-Jun 氨基末端激酶 (c-Jun N-terminal kinase, JNK) 通路加速细胞凋亡^[33]. 研究发现, AD 患者顶叶皮质中 proNGF 水平高于正常人两倍, 提示 AD 患者大脑基底核 (nucleus basalis of Meynert, NBM) 胆碱能神经元退变可能与 NGF 缺乏相关^[34]. 当给予 NGF 治疗后, AD 患者脑脊液中乙酰胆碱转移酶 (choline acetyltransferase, ChAT) 活性明显增强, 而脑脊液 ChAT 活性与认知功能高度相关, 提示 NGF 可能通过介导 ChAT 活性而改善认知功能^[34]. 此外, 提高 NGF 可以调控突触前终末囊泡的胞吐作用, 进而诱导 BFCN 电化学信号传导, 提示高水平 NGF 可以改变 AD 相关的突触衰竭和神经传递缺陷^[35]. 目前, 已经研发出了 NGF 的靶向释放物. 研究发现, 将 NGF 包裹入成纤维细胞制成的细胞生物传递物 (encapsulated cell biodelivery of NGF, NGF-ECB) 中, 再定向植入基底前脑, 可以诱导 NGF 释放^[36]. 在轻度至中度 AD 患者中植入 NGF-ECB 治疗, 能明显修复患者 BFCN 退化, 并减少脑萎缩率和认知功能下降, 且具有安全性^[37]. 植入传递物长期靶向释放 NGF 的设计还需进一步优化, 以获得更好预测和稳定治疗 AD 的作用. 通过 NGF 基因治疗可以诱导出较为持续的营养反应, 诱导 AD 患者退化的神经元轴突发芽^[38]. 此外, 利用 TrkA 神经营养素受体的激动剂或模拟 NGF 的药物 (如 Doxycycline), 也可以产生类似 NGF 作用的效果^[39].

综上, NGF 与中枢及周围神经元的增殖、分化、再生和电生理功能特性密切相关, 干扰 NGF

转运或加工则损害神经元正常功能. 在 AD 大脑中通过药物靶向治疗或基因治疗, 诱导 NGF 的成熟或提高 NGF 表达水平, 进而激活神经元中 NGF-TrkA 信号通路, 可以改善突触衰竭和神经传递缺陷的问题, 进而提高 AD 患者的认知水平.

3 部分抑制剂诱导神经再生治疗 AD 的作用机制

3.1 乙酰胆碱酯酶抑制剂诱导神经再生治疗 AD 的作用机制

胆碱能缺失是学界较早公认的 AD 发病假说之一, 该学说认为 AD 患者大脑神经元突触中神经递质——乙酰胆碱 (acetylcholine, ACh) 缺失是诱发认知功能障碍的关键因素^[40]. ACh 和乙酰胆碱酯酶 (acetylcholine esterase, AChE) 构成胆碱能神经系统两个主要元素, ACh 是一种神经递质, AChE 是水解 ACh 的关键酶, AChE 还可以与 A β 结合而诱导 A β 斑块形成^[41]. ACh 和 AChE 广泛分布在中枢神经系统中, 是学习和记忆形成的必要条件^[42]. 依据胆碱能缺失学说开展乙酰胆碱酯酶抑制剂 (acetylcholinesterase inhibitor, AChEI) 的药物研发, 目前临床上使用最为广泛的治疗 AD 的 AChEI 药物有 4 种: 多奈哌齐 (donepezil)、他克林 (tacrine)、利斯的明 (rivastigmine)、加兰他敏 (galanthamine)^[43]. 轻、中度 AD 患者首选治疗药物是多奈哌齐, 其活性比他克林强, 副作用小且安全可靠^[44]. 加兰他敏的疗效要优于利斯的明, 仅次于多奈哌齐^[45]. 对于晚期 AD 患者, 利斯的明是最为有效的药物^[44]. 临床研究表明, 药物不仅可以延缓 AD 患者的痴呆程度, 还可以改善其日常生活的自理能力和精神行为.

AD 病变过程中, 脑内 AChE 活性显著提高, 引发 ACh 被大量水解, 导致胆碱能神经元丢失, 而且神经元突触间隙中谷氨酸含量过高, 激活 N-甲基-D-天冬氨酸受体 (N-methyl-D-aspartic acid receptor, NMDA) 使得 Ca²⁺ 通道处于开放状态, Ca²⁺ 内流增多引起神经元坏死^[46]. 大多数 AChEI 主要作用是抑制 AChE 活性, 减少 ACh 的分解, 从而有效保护神经元存活, 进而缓解 AD 症状. 多奈哌齐还可通过直接或间接激活烟碱型乙酰胆碱受体 (nicotinic acetylcholine receptors, nAChRs), 从而保护神经元免受谷氨酸诱导的神经毒性影响^[47-48]. 将 nAChRs 拮抗剂与多奈哌齐共用 24 h 后, 多奈哌齐的神经保护作用明显减弱, 表明多奈哌齐是通过

与nAChRs结合发挥的神经保护作用^[49].多奈哌齐还可以通过激活PI3K通路来阻断A β 诱导的神经细胞死亡^[49].nAChRs可以激活下游PI3K,进而使得PI3K下游Akt发生磷酸化而被激活^[50].此外,研究发现用多奈哌齐(10 mmol/L)处理星形胶质细胞6 h后,Akt磷酸化水平显著升高^[51].若将PI3K抑制剂(30 mmol/L)或Akt抑制剂(1 mmol/L)与多奈哌齐共同使用,则发现多奈哌齐的作用显著被抑制,提示多奈哌齐通过PI3K/Akt信号通路而发挥脑内神经保护作用^[51].综上所述,多奈哌齐通过抑制AChE和激活nAChRs,诱导PI3K/Akt通路,从而发挥神经保护作用.也有研究表明,所有AChEI药物的神经保护作用都与具有抗凋亡作用的Bcl-2上调有关,当与一种抑制Bcl-2的药物HA14-1联合使用时,AChEI药物的神经保护作用减弱,提示AChEI药物通过上调靶基因Bcl-2而发挥神经保护作用^[52].不同浓度AChEI对神经保护作用也存在差别,加兰他敏、多奈哌齐和利斯的明分别在0.3 mol/L、1 mol/L和3 mol/L的浓度下起到了最大的保护作用;随着浓度升高,加兰他敏和多奈哌齐表现出一条特征明显的以细胞死亡数量百分比为纵坐标的U形神经保护曲线,高浓度会阻断nAChRs而导致神经保护作用的失效^[52].

综上,AChEI药物已经广泛运用于AD临床治疗,这些药物主要通过抑制AChE而减少ACh的分解,少部分还可以激活nAChRs受体而提高谷氨酸转运,从而激活PI3K/Akt通路,上调下游靶蛋白Bcl-2,进而诱导神经细胞的存活和增强突触间的联系,最终缓解AD症状.

3.2 组蛋白去乙酰化酶抑制剂诱导神经再生治疗AD的作用机制

组蛋白乙酰化是在不改变DNA序列的情况下改变基因表达的表现遗传修饰.组蛋白去乙酰化酶(histone deacetylases, HDACs)不仅催化组蛋白去乙酰化修饰,而且可以催化多种非组蛋白的去乙酰化修饰,维持乙酰化与去乙酰化修饰的动态平衡,调控基因表达^[53].HDACs是一个由18个亚型组成的家族,根据其系统发育特征分为4类:I类(HDAC1、HDAC2、HDAC3和HDAC8)、II a类(HDAC4、HDAC5、HDAC7和HDAC9)、II b类(HDAC6和HDAC10)和IV类(HDAC11)^[54].组蛋白去乙酰化修饰程度高低与AD病理表型密切相关,在AD患者海马和皮层区域均可见高水平的HDACs表达^[55].

HDACs参与染色质重塑和基因表达,并已被证明参与调节突触形成和可塑性,被作为改善突触功能的药物靶点^[56].研究表明,利用组蛋白去乙酰化酶抑制剂(histone deacetylase inhibitor, HDACIs)可增加细胞质中组蛋白或非组蛋白的乙酰化修饰^[57],从而增强突触可塑性,提高学习和记忆能力.因此,利用HDACIs治疗AD成为一条有效的途径^[57].抑制HDACs可以增加与学习记忆相关基因的乙酰化修饰,诱导其转录水平,从而增强海马依赖的学习记忆能力^[58].研究表明,ApoE4能够调控包括突触后密度蛋白(postsynaptic density protein-95, PSD-95)和突触素(synapsin)在内的突触蛋白表达,抑制组蛋白H3K9和H3K14乙酰化,增加HDAC4和HDAC6的核导入,从而导致组蛋白去乙酰化修饰降低和BDNF转录水平的降低^[59].研究还发现,RGFP-966是一种脑渗透剂和选择性HDAC3抑制剂,可增加组蛋白H3和H4乙酰化和BDNF乙酰化,诱导BDNF表达,进而减少Tau蛋白和A β_{1-42} 的积累,改善3 $\times$ Tg-AD小鼠的空间学习和记忆^[60].此外,利用磷酸二酯酶5(phosphodiesterase type 5, PDE5)和组蛋白去乙酰化酶(HDACs, I类和HDAC6)两种酶抑制剂协同作用,可以更加有效地治疗AD,这被证实是一种潜在的新治疗方法.在APP/PS1小鼠中PDE5抑制剂显著激活环磷酸腺苷/环磷酸鸟苷(cyclic adenosine monophosphate/cyclic guanosine monophosphate, cAMP/cGMP)反应元件结合蛋白(cAMP/cGMP responsive element binding, CREB),通过CREB蛋白改善小鼠海马明显受损的长期增强机制.PDE5抑制剂与I类HDAC抑制剂联合使用,可以有效诱导组蛋白乙酰化修饰^[61].用PDE5和HDACs双重抑制剂CM-414治疗Tg2576小鼠,不仅降低脑内A β 和磷酸化Tau蛋白水平,还可以提高海马神经元树突棘密度,减轻认知缺陷^[61].此外,用另一种PDE5和HDACs双重化合物抑制剂44b处理神经元2 d后,发现显著降低神经元hAPP和pTau蛋白水平,其中hAPP蛋白水平降低了55%,pTau水平降低了30%,提示双重化合物抑制剂44b直接抑制hAPP和pTau蛋白,进而降低了A β 和Tau水平^[54].体内实验研究表明,出现严重记忆障碍的老年(16月龄)Tg2576小鼠使用双重化合物抑制剂44b(40 mg/kg)治疗两周后,可以恢复部分记忆功能^[54].

综上,HDACIs通过增加组蛋白乙酰化修饰或

与记忆相关基因(如BDNF)的乙酰化修饰,调节突触发生和突触可塑性,改善认知功能.利用PDE5和HDACs两者酶抑制剂协同作用,既能诱导组蛋白和突触相关基因的乙酰化修饰,又能抑制A β 和Tau水平,对治疗AD有更优异的效果.

4 脑刺激诱导神经再生治疗AD的作用机制

近年来,国内外研究逐渐开始探索物理干预方法治疗AD.利用物理干预诱导神经发生,有望成为治疗AD手段之一.目前,有两种主要且可靠的无创伤脑刺激,分别为:重复经颅磁刺激(repetitive transcranial magnetic stimulation, rTMS)和经颅直流电刺激(transcranial direct current stimulation, tDCS).

TMS是指借助磁场刺激皮层神经元,激活中枢神经系统中神经元回路的突触活动^[62],调节大脑皮层的功能,是一种无创无痛治疗技术^[63].rTMS是不断重复的磁场刺激,减少兴奋和抑制信号之间的不平衡,激活突触活性和介导神经可塑性^[64].迄今为止,许多临床和基础研究表明,rTMS能有效改善AD的临床表现^[65].研究显示,当AD患者接受rTMS治疗后,其认知水平、记忆力和语言能力均显著提高,尤其在轻度AD患者中治疗效果更明显.同时,通过神经心理量表进行评估,如世界卫生组织-加利福尼亚大学听觉词语学习测验(WHO-UCLA AVL T)、阿尔茨海默病评定量表-认知(Alzheimer's Disease Assessment Scale-Cognitive Section, ADAS-Cog)、简易智力状态检查量表(Mini-mental State Examination, MMSE)和蒙特利尔认知评估量表(Montreal Cognitive Assessment Scale, MoCA),均得出rTMS刺激对患者神经和心理有积极的治疗效果^[66],提示rTMS可显著提高轻度至中度AD患者的认知能力和精神行为.但刺激的强度和位置不同对治疗效果也会有所影响.一项随机对照研究显示,高频rTMS(20 Hz)显著改善了轻度至中度AD患者的认知障碍,而低频rTMS(1 Hz)没有明显的效果^[67];也有研究显示,在10 min的低频rTMS(1 Hz)刺激后,患者的认知功能立即发生选择性恶化^[68],提示仅高频rTMS对改善认知障碍起到积极作用.对不同的刺激位置的差异研究发现,在右侧或双侧前额叶背外侧皮层(dorsolateral prefrontal cortex, DLPFC)接受rTMS的AD患者认知和记忆有明显改善,在左侧DLPFC接受rTMS

的AD患者则无明显改善,提示轻度或中度AD患者的右侧或双侧DLPFC接受高频rTMS的治疗效果最为理想^[69].

tDCS是指直接利用微弱的电流(通常为1~2 mA)刺激大脑的特定区域,调节神经元静息膜电位,改变脑细胞的兴奋性.通过阳极电流刺激使神经元去极化而提高其兴奋性,通过阴极电流刺激使神经元超极化而降低其兴奋性^[70].在阳极电流刺激后,运动皮层中的 γ -氨基丁酸水平降低,而在阴极电流或假刺激中没有观察到 γ -氨基丁酸的变化,提示阳极电流刺激通过抑制 γ -氨基丁酸而引起神经元兴奋^[71].有实验结果显示,tDCS能够诱导增强BDNF mRNA的外显子I和IX,在刺激24 h后,外显子I的mRNA水平比对照组高9.5倍^[72],提示tDCS通过提高增强BDNF表达而改善脑部营养水平.研究显示,用30 min tDCS连续5 d刺激AD患者的颞叶皮层后,患者的视觉识别记忆分数增加了8.9%,但这种有益疗效在刺激结束后仅维持了1个月^[73].因此,增加刺激持续时间与tDCS疗效之间的联系是十分有限的^[74].虽然增加电流的强度能导致更大区域的皮质发生兴奋性变化,但是目前临床上保证安全情况下使用的最高强度是2 mA.也有研究指出,增加刺激强度不一定能提高疗效^[74],原因是tDCS不会从静息状态神经元中激发动作电位,而仅在已经存在的神经网络中增强电信号,因此tDCS治疗效果依赖于大脑当前的生理状态,即便增强电流强度也不能激活形成新的神经网络^[75],提示晚期的AD患者突触可塑性降低和长期增强机制的严重损害,可能限制了tDCS对这些患者的治疗效果.

尽管rTMS和tDCS均可在一定程度上提高AD患者的认知功能,但它们也存在局限性.电流只能到达大脑皮层,难以到达前额叶内侧、岛叶、扣带回等大脑深部区域.其次,重复使用rTMS也可能引发癫痫,对人体造成潜在的危害^[76].近年来,红外光治疗由于产生的副作用小且治疗区域深而逐渐被人们青睐.研究表明,1 072 nm近红外光能够对免疫细胞起到保护作用,抵制长波紫外线对免疫细胞造成的毒性,防止细胞凋亡^[77].1 072 nm的近红外光治疗后,热激蛋白表达显著提高,A β 和pTau蛋白表达明显下降^[78].除了1 072 nm的近红外光之外,从红光到红外光范围内的其他波长的光也被证明可以改善AD症状^[79-80].Li-Huei Tsai教授团队^[76]发现,用40 Hz频率的LED照射AD小鼠,

可增强脑电波, 减少大脑中 A β 沉积, 但其治疗效果也仅维持 1 周。

综上, rTMS 和 tDCS 作为两种新兴治疗 AD 的方法, 均可以通过激活中枢神经系统中神经元回路的突触活动来改善 AD 患者的认知功能, 但是这种无创方法的治疗效果短暂且副作用多。而红外光以及从红光到红外光范围内其他波长的光治疗 AD 已经被证明是有效的, 并且具有副作用小且疗效较好的优势。

5 神经干细胞移植诱导神经再生治疗 AD 的作用机制

AD 患者大脑中内源性神经再生损伤和神经再生不足导致神经元减少, 引起神经环路受损, 最终导致认知能力下降。虽然诱导神经再生被证实可以从根本上解决 AD 神经细胞丢失的问题, 但是成体大脑中内源性 NSCs 数量极其有限, 只能借助于外源性 NSCs 移植。近年来, NSCs 体外培养和移植的成功, 为脑损伤修复及 AD 治疗提供一个崭新的视野。NSCs 具有自我更新的特性和多向分化潜能, 因此将外源性 NSCs 植入脑内, 移植的 NSCs 存活、迁移、分化成神经元, 并整合到功能性神经环路中, 可以缓解学习记忆障碍^[81]。外源性 NSCs 主要来源于 3 个方面: 胚胎或胎儿神经组织中直接提取^[82]、诱导性多能干细胞 (induced multipotent stem cells, iPSCs) 转分化^[83] 和间充质干细胞 (mesenchymal stem cell, MSCs) 分化^[84]。从胚胎或胎儿神经组织中提取 NSCs, 移植后存在免疫排斥反应、致畸胎瘤和伦理道德等问题, 限制其在体内应用。iPSCs 是将患者自身体细胞 (如真皮成纤维细胞) 加入 4 种重编程因子 (Oct3/4、Sox2、Klf4 和 c-Myc) 诱导而来^[85], 此来源的 NSCs 解决了伦理和组织相容性问题, 但仍存在 iPSCs 诱导率低及触发肿瘤风险^[86]。MSCs 来源于骨髓、脐带、胎血、脂肪组织等, 具有很强的分化潜能, 能分化成不同组织类型的细胞, 如神经细胞、骨细胞、心肌细胞等。MSCs 具有来源广泛、易于分离培养、无伦理和免疫排斥反应等优势, 但也存在体内难以定向分化为功能性的神经元等问题^[87]。

虽然大量研究证实移植外源性 NSCs 可诱导神经再生, 但到目前为止, NSCs 诱导神经再生的机制尚不完全清楚。有研究发现, 外源性 NSCs 移植入脑内, 除了具有直接代替丢失或损伤神经元的主要作用, 还具有分泌神经营养因子调节神经再生和

免疫的辅助作用, 分泌的神经营养因子也有利于诱导内源性 NSCs 的激活、增殖、迁移和分化, 从而诱导组织修复^[88]。有研究指出, 移植的外源性间充质干细胞还可分泌外泌体 (exosomes, EXOs) 调节病理微环境, 通过外泌体诱导中枢神经系统神经可塑性和功能恢复, 从而实现治疗效果。中国同济大学和美国内布拉斯加大学医学中心联合研究发现, 神经前体细胞 (neural precursor cells, NPCs) 和诱导的神经前体细胞 (induced neural precursor cells, iNPCs), 通过分泌 EXOs 和诱导型外泌体 (induced exosomes, iEXOs), 调控神经元分化^[89]。此外, 单纯 NSCs 移植存在细胞存活率低, 定向分化为神经元数量少等问题^[90]。BDNF 和 NGF 具有神经保护和诱导内源性及外源性 NSCs 分化为神经元的作用, 据此, 探索出了一种 BDNF 联合 NSCs 或 NGF 联合 NSCs 治疗 AD 的方法。由于 BDNF 和 NGF 半衰期短, 不利于脑内注射给药。利用脂质体、聚合物胶束或纳米粒为载体材料包裹 BDNF 或 NGF, 构建纳米递释系统, 可建立一种长期持续的、缓释的、可控的给药方式, 但目前该研究仍处于动物实验探索阶段, 尚缺乏临床应用研究^[91-92]。以 NSCs 为载体的基因治疗, 将外源性基因 BDNF 或 NGF 转染进入 NSCs, 使 NSCs 过表达 BDNF 或 NGF, 一方面 NSCs 不断自我复制使转染外源基因不断增加, 并随着细胞迁移而获得广泛的表达, 另一方面可以诱导自身定向分化成神经元, 因此起到双重的治疗效果^[93-94]。研究发现, 在体内植入过表达 BDNF 的 NSCs, 诱导产生的神经元表现出 Ca²⁺ 反应波动和成熟神经元的电生理特性, 诱导的神经元整合到局部脑神经回路中, 可以修复认知缺陷^[95], 而且过表达 BDNF 改善了移植细胞活力、神经元存活和突触密度, 表明 BDNF 联合 NSCs 治疗方法能够提高单纯 NSCs 移植治疗的效果, 为诱导神经再生治疗 AD 创造了可行性^[95]。

综上, 外源性 NSCs 移植不仅可以直接增加神经元数量, 还可以通过分泌神经营养因子或外泌体间接调控病理微环境, 影响神经元存活、增殖分化及突触密度。通过 BDNF 联合 NSCs 新治疗方法被证实可以诱导神经再生, 比单纯 NSCs 移植的治疗效果更佳。外源性 NSCs 移植仍存在对脑部机械损伤、移植物容积占位、疗效和安全等潜在的问题。

6 展 望

目前, 临床上用于治疗 AD 的药物十分有限,

包括AChEI类药物(如多奈哌齐)、M胆碱受体激动剂(如占诺美林)、NMDA受体非竞争性阻断药(如美金刚)和神经生长因子增强药和神经保护药(如neurotrophin)等,其中大部分药物仅对轻至中度AD患者有效,并且会产生头痛、恶心、呕吐、腹泻甚至更为严重的副作用,这表明未来治疗AD的药物有待进一步改善.2018年发表的《阿尔茨海默病在中国以及世界范围内疾病负担的重新评估》显示,2015年中国AD患者的年人均花费为19 144.36美元(约合人民币13万元),预计到2030年,我国AD经济负担将达到2.54万亿美元(约合人民币17万亿元).现阶段,AD治疗的成本之高、疗效之有限给很多AD患者以及家庭造成了沉重的负担.因此,寻找一种有效的、低成本的治疗方法是十分必要的.

用神经再生途径治疗AD主要是通过增加神经元数量和提高突触可塑性来改善患者的认知功能.诱导神经再生的手段多种多样,这些外界干预手段

已被证实可以在一定程度上减轻AD病理症状和记忆障碍,但是仍然存在疗效长短、副作用大小、安全性等问题.虽然神经再生初次于20世纪60年代被证实哺乳动物中枢神经系统中存在,但是通过神经再生途径治疗AD是近几年才逐渐兴起,其改善AD病理机制也仍处于探索阶段,越来越多的研究表明通过诱导神经再生可以从根本上改善AD的认知障碍.但是,利用何种干预手段诱导神经再生,从而有效地提高AD患者生活自理能力及延缓病理进程仍然是当前临床研究的难点和重点.

在老龄化加剧的大背景下,通过神经再生治疗AD逐渐引起人们的注意,成为研究的热点领域.目前研究发现,可以通过增加BDNF和NGF表达水平、抑制AChE和激活nAChRs受体、增加组蛋白和记忆相关基因(如BDNF)乙酰化修饰、电刺激激活中枢神经系统中神经元回路的突触活动和外源性NSCs移植来提高AD内源性神经再生能力(图1).然而,由于缺乏对各种神经再生手段的比

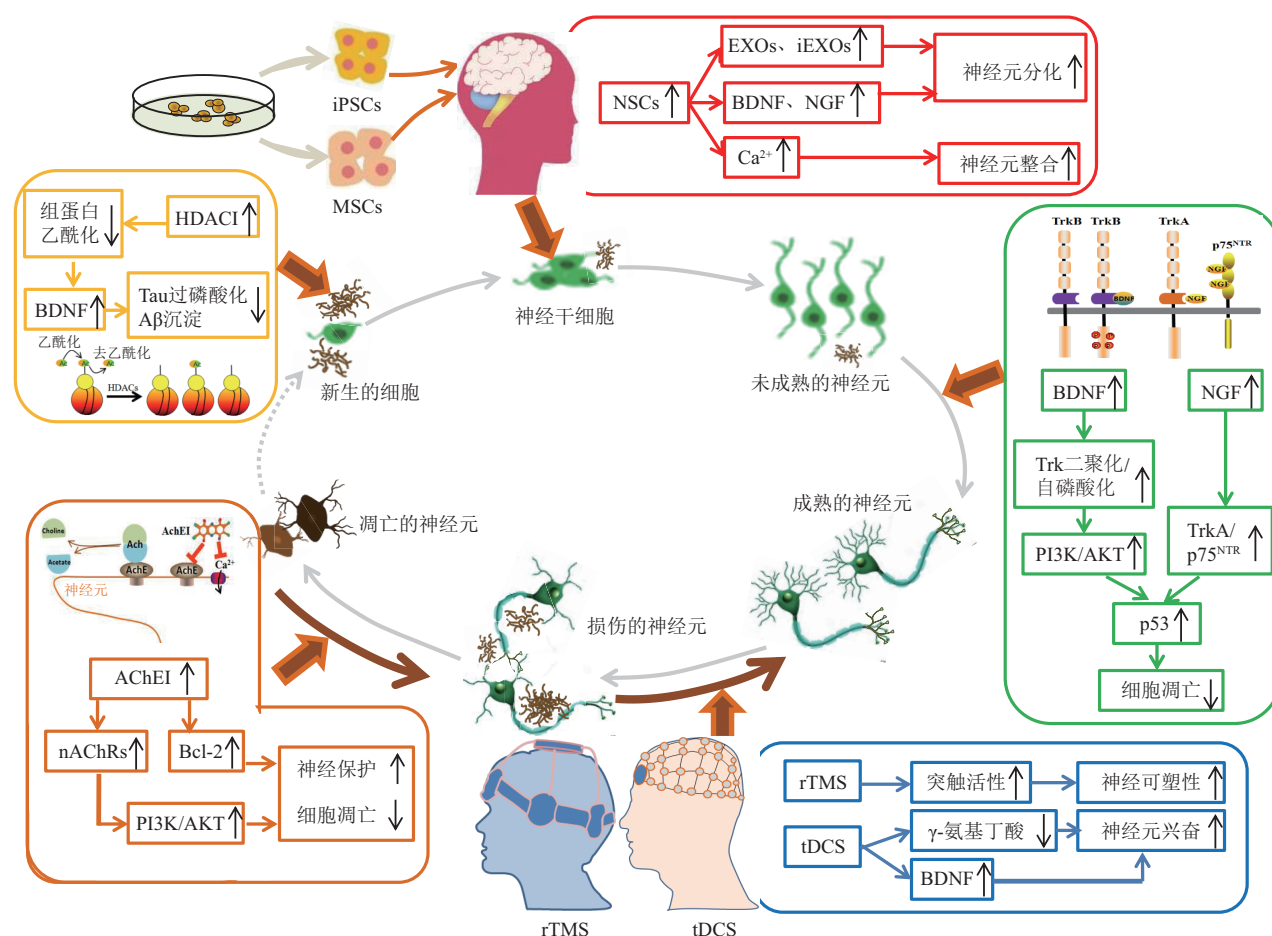


Fig. 1 The mechanisms of different interventions to induce nerve regeneration in the treatment of Alzheimer's disease

图1 不同干预手段诱导神经再生治疗阿尔茨海默病的作用机制

较和量表化的评定, 我们目前仍无法对各种神经再生的治疗效果做出非常明确的结论. 另外, 本文所涉及的神经营养因子、组蛋白去乙酰化酶抑制剂以及神经干细胞移植等干预手段诱导神经再生, 改善AD神经病理特征和认知能力的研究大多基于动物模型, 对AD患者的作用效果还有待进一步证实. 脑刺激作为一种新兴的物理治疗方法, 刺激方式较为单一, 具体副作用仍然不明, 最优刺激强度也需要进一步地研究. 因此, 在未来干预实验中, 我们建议可以设计多组不同神经再生干预手段或者同种干预手段的不同干预强度进行比较, 并且可以通过检测一次干预后的疗效维持时间来评定干预效果的优劣. 同时, 还可以考虑多模式干预手段相结合的方式, 例如将化学刺激手段和物理刺激手段相结合, 探索一种更为健全和有效的治疗方案.

参 考 文 献

- [1] Sun M K. Roles of neural regeneration in memory. *Neural Regeneration Research*, 2018, **13**(3): 406-407
- [2] Altman J, Das G D. Autoradiographic and histological evidence of postnatal hippocampal neurogenesis in rats. *J Comp Neurol*, 1965, **124**(3): 319-335
- [3] Shabani Z, Ghadiri T, Karimipour M, *et al.* Modulatory properties of extracellular matrix glycosaminoglycans and proteoglycans on neural stem cells behavior: highlights on regenerative potential and bioactivity. *Int J Biol Macromol*, 2021, **171**: 366-381
- [4] Tobin M K, Musaraca K, Disouky A, *et al.* Human hippocampal neurogenesis persists in aged adults and Alzheimer's disease Patients. *Cell Stem Cell*, 2019, **24**(6): 974-982
- [5] Jiao S S, Shen L L, Zhu C, *et al.* Brain-derived neurotrophic factor protects against tau-related neurodegeneration of Alzheimer's disease. *Translational Psychiatry*, 2016, **6**(10): e907
- [6] Nagahara A H, Merrill D A, Coppola G, *et al.* Neuroprotective effects of brain-derived neurotrophic factor in rodent and primate models of Alzheimer's disease. *Nature Medicine*, 2009, **15**(3): 331-337
- [7] Tsai-Teng T, Chin-Chu C, Li-Ya L, *et al.* Erinacine A-enriched *Herichium erinaceus* mycelium ameliorates Alzheimer's disease-related pathologies in APP^{swe}/PS1^{ΔE9} transgenic mice. *J Biomed Sci*, 2016, **23**(1): 49
- [8] Duan S, Guan X, Lin R, *et al.* Silibinin inhibits acetylcholinesterase activity and amyloid beta peptide aggregation: a dual-target drug for the treatment of Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging*, 2015, **36**(5): 1792-1807
- [9] Fan S J, Huang F I, Liou J P, *et al.* The novel histone de acetylase 6 inhibitor, MPT0G211, ameliorates tau phosphorylation and cognitive deficits in an Alzheimer's disease model. *Cell Death Dis*, 2018, **9**(6): 655
- [10] Wang X, Wang Y, Zhu Y, *et al.* Neuroprotective effect of S-trans, trans-farnesylthiosalicylic acid *via* inhibition of RAS/ERK pathway for the treatment of Alzheimer's disease. *Drug Des Dev Ther*, 2019, **13**: 4053-4063
- [11] Lilja A M, Malmsten L, Rojdnor J, *et al.* Neural stem cell transplant-induced effect on neurogenesis and cognition in Alzheimer Tg2576 mice is inhibited by concomitant treatment with amyloid-lowering or cholinergic alpha 7 nicotinic receptor drugs. *Neural Plasticity*, 2015, **2015**: 370432
- [12] Liu J, Ma Y, Tian S, *et al.* T cells promote the regeneration of neural precursor cells in the hippocampus of Alzheimer's disease mice. *Neural Regeneration Research*, 2014, **9**(16): 1541-1547
- [13] Ye S, Wang T-T, Cai B, *et al.* Genistein protects hippocampal neurons against injury by regulating calcium/calmodulin dependent protein kinase IV protein levels in Alzheimer's disease model rats. *Neural Regeneration Research*, 2017, **12**(9): 1479-1484
- [14] Li W, Kong L H, Wang H, *et al.* High-frequency electroacupuncture evidently reinforces hippocampal synaptic transmission in Alzheimer's disease rats. *Neural Regeneration Research*, 2016, **11**(5): 801-806
- [15] Sullivan B J, Kadam S D. Brain-derived neurotrophic factor in neonatal seizures. *Pediatr Neurol*, 2021, **118**: 35-39
- [16] Shekari A, Fahnestock M. Retrograde axonal transport of BDNF and proNGF diminishes with age in basal forebrain cholinergic neurons. *Neurobiol Aging*, 2019, **84**: 131-140
- [17] Beeri M S, Sonnen J. Brain BDNF expression as a biomarker for cognitive reserve against Alzheimer disease progression. *Neurology*, 2016, **86**(8): 702-703
- [18] Dong B E, Chen H, Sakata K. BDNF deficiency and enriched environment treatment affect neurotransmitter gene expression differently across ages. *J Neurochem*, 2020, **154**(1): 41-55
- [19] Paraskevopoulou F, Herman M A, Rosenmund C. Glutamatergic innervation onto striatal neurons potentiates GABAergic synaptic output. *J Neurosci*, 2019, **39**(23): 4448-4460
- [20] Miyazaki S, Oikawa H, Takekoshi H, *et al.* Anxiolytic effects of *acanthopanax senticosus* HARMS occur *via* regulation of autonomic function and activate hippocampal BDNF(-) TrkB signaling. *Molecules*, 2018, **24**(1): 132
- [21] Mohammadi A, Amooeian V G, Rashidi E. Dysfunction in brain-derived neurotrophic factor signaling pathway and susceptibility to Schizophrenia, Parkinson's and Alzheimer's diseases. *Current Gene Therapy*, 2018, **18**(1): 45-63
- [22] Yamaguchi A, Tamatani M, Matsuzaki H, *et al.* Akt activation protects hippocampal neurons from apoptosis by inhibiting transcriptional activity of p53. *Journal of Biological Chemistry*, 2001, **276**(7): 5256-5264
- [23] Chimenti M S, Sunzini F, Fiorucci L, *et al.* Potential role of cytochrome c and tryptase in Psoriasis and Psoriatic arthritis pathogenesis: focus on resistance to apoptosis and oxidative stress. *Front Immunol*, 2018, **9**: 2363
- [24] Zhou L J, Mo Y B, Bu X, *et al.* Erinacine facilitates the opening of the mitochondrial permeability transition pore through the

- inhibition of the PI3K/ Akt/GSK-3 β signaling pathway in human hepatocellular carcinoma. *Cell Physiol Biochem*, 2018, **50**(3): 851-867
- [25] Chen C, Wang Z, Zhang Z, *et al.* The prodrug of 7, 8-dihydroxyflavone development and therapeutic efficacy for treating Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2018, **115**(3): 578-583
- [26] Fan C-H, Lin C-W, Huang H-J, *et al.* LMDS-1, a potential TrkB receptor agonist provides a safe and neurotrophic effect for early-phase Alzheimer's disease. *Psychopharmacology*, 2020, **237**(10): 3173-3190
- [27] Ding X-W, Li R, Geetha T, *et al.* Nerve growth factor in metabolic complications and Alzheimer's disease: physiology and therapeutic potential. *Biochimica Et Biophysica Acta-Molecular Basis of Disease*, 2020, **1866**(10): 165858
- [28] Mitra S, Behbahani H, Eriksdotter M. Innovative therapy for Alzheimer's disease-with focus on biodelivery of NGF. *Front Neurosci*, 2019, **13**: 38
- [29] Ruberti F, Capsoni S, Comparini A, *et al.* Phenotypic knockout of nerve growth factor in adult transgenic mice reveals severe deficits in basal forebrain cholinergic neurons, cell death in the spleen, and skeletal muscle dystrophy. *J Neurosci*, 2000, **20**(7): 2589-2601
- [30] Soligo M, Albin M, Bertoli F L, *et al.* Different responses of PC12 cells to different pro-nerve growth factor protein variants. *Neurochem Int*, 2019, **129**: 104498
- [31] Delivanoglou N, Boziki M, Theotokis P, *et al.* Spatio-temporal expression profile of NGF and the two-receptor system, TrkA and p75NTR, in experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Neuroinflammation*, 2020, **17**(1): 41
- [32] Yan T, Zhang Z, Li D. NGF receptors and PI3K/AKT pathway involved in glucose fluctuation-induced damage to neurons and alpha-lipoic acid treatment. *BMC Neurosci*, 2020, **21**(1): 38
- [33] Mufson E J, Counts S E, Ginsberg S D, *et al.* Nerve growth factor pathobiology during the progression of Alzheimer's disease. *Front Neurosci*, 2019, **13**: 533
- [34] Karami A, Eyjolfssdottir H, Vijayaraghavan S, *et al.* Changes in CSF cholinergic biomarkers in response to cell therapy with NGF in patients with Alzheimer's disease. *Alzheimers & Dementia*, 2015, **11**(11): 1316-1328
- [35] Huh C Y L, Danik M, Manseau F, *et al.* Chronic exposure to nerve growth factor increases acetylcholine and glutamate release from cholinergic neurons of the rat medial septum and diagonal band of Broca via mechanisms mediated by p75(NTR). *J Neurosci*, 2008, **28**(6): 1404-1409
- [36] Eriksdotter M, Navarro-Oviedo M, Mitra S, *et al.* Cerebrospinal fluid from Alzheimer patients affects cell-mediated nerve growth factor production and cell survival *in vitro*. *Exp Cell Res*, 2018, **371**(1): 175-184
- [37] Eyjolfssdottir H, Eriksdotter M, Linderöth B, *et al.* Targeted delivery of nerve growth factor to the cholinergic basal forebrain of Alzheimer's disease patients: application of a second-generation encapsulated cell biodelivery device. *Alzheimers Research & Therapy*, 2016, **8**(1): 30
- [38] Tuszynski M H, Yang J H, Barba D, *et al.* Nerve growth factor gene therapy activation of neuronal responses in Alzheimer disease. *Jama Neurology*, 2015, **72**(10): 1139-1147
- [39] Amaral L D, Santos N, Sisti F M, *et al.* The antibiotic doxycycline mimics the NGF signaling in PC12 cells: a relevant mechanism for neuroprotection. *Chem Biol Interact*, 2021, **341**: 109454
- [40] Liu P P, Xie Y, Meng X Y, *et al.* History and progress of hypotheses and clinical trials for Alzheimer's disease. *Signal Transduct Target Ther*, 2019, **4**: 29
- [41] Atali S, Dorandish S, Devos J, *et al.* Interaction of amyloid beta with humanin and acetylcholinesterase is modulated by ATP. *Febs Open Bio*, 2020, **10**(12): 2805-2823
- [42] Moss D E. Improving anti-neurodegenerative benefits of acetylcholinesterase inhibitors in Alzheimer's disease: are irreversible inhibitors the future?. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, **21**(10): 3438
- [43] Korabecny J, Spilovska K, Mezeiova E, *et al.* A systematic review on donepezil-based derivatives as potential cholinesterase inhibitors for Alzheimer's disease. *Curr Med Chem*, 2019, **26**(30): 5625-5648
- [44] Liang J, Li J, Jia R, *et al.* Identification of the optimal cognitive drugs among Alzheimer's disease: a Bayesian meta-analytic review. *Clin Interv Aging*, 2018, **13**: 2061-2073
- [45] Aguglia E, Onor M L, Saina M, *et al.* An open-label, comparative study of rivastigmine, donepezil and galantamine in a real-world setting. *Current Medical Research and Opinion*, 2004, **20**(11): 1747-1752
- [46] Joshi S, Kapur J. N-Methyl-D-Aspartic acid receptor activation downregulates expression of delta subunit-containing GABA(A) receptors in cultured hippocampal neurons. *Molecular Pharmacology*, 2013, **84**(1): 1-11
- [47] Shih C C, Chen P Y, Chen M F, *et al.* Differential blockade by huperzine A and donepezil of sympathetic nicotinic acetylcholine receptor-mediated nitergic neurogenic dilations in porcine basilar arteries. *Eur J Pharmacol*, 2020, **868**: 172851
- [48] Ito T, Inden M, Ueda T, *et al.* The neuroprotective effects of activated alpha7 nicotinic acetylcholine receptor against mutant copper-zinc superoxide dismutase 1-mediated toxicity. *Sci Rep*, 2020, **10**(1): 22157
- [49] Noh M-Y, Koh S-H, Kim Y, *et al.* Neuroprotective effects of donepezil through inhibition of GSK-3 activity in amyloid-beta-induced neuronal cell death. *Journal of Neurochemistry*, 2009, **108**(5): 1116-1125
- [50] Kihara T, Shimohama S, Sawada H, *et al.* alpha 7 nicotinic receptor transduces signals to phosphatidylinositol 3-kinase to block a beta-amyloid-induced neurotoxicity. *Journal of Biological Chemistry*, 2001, **276**(17): 13541-13546
- [51] Makitani K, Nakagawa S, Izumi Y, *et al.* Inhibitory effect of donepezil on bradykinin-induced increase in the intracellular calcium concentration in cultured cortical astrocytes. *Journal of Pharmacological Sciences*, 2017, **134**(1): 37-44

- [52] Arias E, Gallego-Sandin S, Villarroya M, *et al.* Unequal neuroprotection afforded by the acetylcholinesterase inhibitors galantamine, donepezil, and rivastigmine in SH-SY5Y neuroblastoma cells: role of nicotinic receptors. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 2005, **315**(3): 1346-1353
- [53] Zhao S, Zhang X, Li H. Beyond histone acetylation-writing and erasing histone acylations. *Curr Opin Struct Biol*, 2018, **53**: 169-177
- [54] Rabal O, Sanchez-Arias J A, Cuadrado-Tejedor M, *et al.* Design, synthesis, biological evaluation and *in vivo* testing of dual phosphodiesterase 5 (PDE5) and histone deacetylase 6 (HDAC6)-selective inhibitors for the treatment of Alzheimer's disease. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2018, **150**: 506-524
- [55] Xu K, Dai X-L, Huang H-C, *et al.* Targeting HDACs: a promising therapy for Alzheimer's disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2011, **2011**: 143269
- [56] Fuller N O, Pirone A, Lynch B A, *et al.* CoREST complex-selective histone deacetylase inhibitors show prosynaptic effects and an improved safety profile to enable treatment of synaptopathies. *ACS Chem Neurosci*, 2019, **10**(3): 1729-1743
- [57] De Simone A, Milelli A. Histone Deacetylase inhibitors as multitarget ligands: new players in Alzheimer's disease drug discovery?. *Chem Med Chem*, 2019, **14**(11): 1067-1073
- [58] Amin S A, Adhikari N, Kotagiri S, *et al.* Histone deacetylase 3 inhibitors in learning and memory processes with special emphasis on benzamides. *Eur J Med Chem*, 2019, **166**: 369-380
- [59] Sen A, Nelson T J, Alkon D L. ApoE4 and a beta oligomers reduce BDNF expression *via* HDAC nuclear translocation. *J Neurosci*, 2015, **35**(19): 7538-7551
- [60] Janczura K J, Volmar C-H, Sartor G C, *et al.* Inhibition of HDAC3 reverses Alzheimer's disease-related pathologies *in vitro* and in the 3xTg-AD mouse model. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2018, **115**(47): E11148-E11157
- [61] Cuadrado-Tejedor M, Garcia-Barroso C, Sanchez-Arias J A, *et al.* A first-in-class small-molecule that acts as a dual inhibitor of HDAC and PDE5 and that rescues hippocampal synaptic impairment in Alzheimer's disease mice. *Neuropsychopharmacology*, 2017, **42**(2): 524-539
- [62] Koch G, Martorana A, Caltagirone C. Transcranial magnetic stimulation: emerging biomarkers and novel therapeutics in Alzheimer's disease. *Neurosci Lett*, 2020, **719**: 134355
- [63] Bursali C, Ozkan F U, Kaysin M Y, *et al.* Effectiveness of repetitive transcranial magnetic stimulation in patients with failed back surgery syndrome: a double-blind randomized placebo-controlled study. *Pain Physician*, 2021, **24**(1): E23-E30
- [64] Minzenberg M J, Leuchter A F. The effect of psychotropic drugs on cortical excitability and plasticity measured with transcranial magnetic stimulation: implications for psychiatric treatment. *J Affect Disord*, 2019, **253**: 126-140
- [65] Lin Y, Jiang W J, Shan P Y, *et al.* The role of repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS) in the treatment of cognitive impairment in patients with Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis. *J Neurol Sci*, 2019, **398**: 184-191
- [66] Zhao J, Li Z, Cong Y, *et al.* Repetitive transcranial magnetic stimulation improves cognitive function of Alzheimer's disease patients. *Oncotarget*, 2017, **8**(20): 33864-33871
- [67] Ahmed M A, Darwish E S, Khedr E M, *et al.* Effects of low versus high frequencies of repetitive transcranial magnetic stimulation on cognitive function and cortical excitability in Alzheimer's dementia. *Journal of Neurology*, 2012, **259**(1): 83-92
- [68] Trojano L, Conson M, Maffei R, *et al.* Categorical and coordinate spatial processing in the imagery domain investigated by rTMS. *Neuropsychologia*, 2006, **44**(9): 1569-1574
- [69] Turriziani P, Smirni D, Zappala G, *et al.* Enhancing memory performance with rTMS in healthy subjects and individuals with Mild Cognitive Impairment: the role of the right dorsolateral prefrontal cortex. *Frontiers in Human Neuroscience*, 2012, **6**: 62
- [70] Sanches C, Levy R, Benisty S, *et al.* Testing the therapeutic effects of transcranial direct current stimulation (tDCS) in semantic dementia: a double blind, sham controlled, randomized clinical trial. *Trials*, 2019, **20**(1): 632
- [71] Bunai T, Hirokawa T, Kikuchi M, *et al.* tDCS-induced modulation of GABA concentration and dopamine release in the human brain: a combination study of magnetic resonance spectroscopy and positron emission tomography. *Brain Stimul*, 2021, **14**(1): 154-160
- [72] Podda M V, Cocco S, Mastrodonato A, *et al.* Anodal transcranial direct current stimulation boosts synaptic plasticity and memory in mice *via* epigenetic regulation of Bdnf expression. *Sci Rep*, 2016, **6**: 22180
- [73] Boggio P S, Ferrucci R, Mameli F, *et al.* Prolonged visual memory enhancement after direct current stimulation in Alzheimer's disease. *Brain Stimulation*, 2012, **5**(3): 223-230
- [74] Batsikadze G, Moliadze V, Paulus W, *et al.* Partially non-linear stimulation intensity-dependent effects of direct current stimulation on motor cortex excitability in humans. *Journal of Physiology-London*, 2013, **591**(7): 1987-2000
- [75] Woods A J, Antal A, Bikson M, *et al.* A technical guide to tDCS, and related non-invasive brain stimulation tools. *Clinical Neurophysiology*, 2016, **127**(2): 1031-1048
- [76] Iaccarino H F, Singer A C, Martorell A J, *et al.* Gamma frequency entrainment attenuates amyloid load and modifies microglia. *Nature*, 2016, **540**(7632): 230-235
- [77] Bradford A, Barlow A, Chazot P L. Probing the differential effects of infrared light sources IR1072 and IR880 on human lymphocytes: evidence of selective cytoprotection by IR1072. *Journal of Photochemistry and Photobiology B-Biology*, 2005, **81**(1): 9-14
- [78] Grillo S L, Duggett N A, Ennaceur A, *et al.* Non-invasive infra-red therapy (1072 nm) reduces beta-amyloid protein levels in the brain of an Alzheimer's disease mouse model, TASTPM. *Journal of Photochemistry and Photobiology B-Biology*, 2013, **123**: 13-22
- [79] Wang M, Cao J, Amakye W K, *et al.* Mid infrared light treatment attenuates cognitive decline and alters the gut microbiota

- community in APP/PS1 mouse model. *Biochem Biophys Res Commun*, 2020, **523**(1): 60-65
- [80] Huang N, Yao D, Jiang W, *et al.* Safety and efficacy of 630-nm red light on cognitive function in older adults with mild to moderate Alzheimer's disease: protocol for a randomized controlled study. *Front Aging Neurosci*, 2020, **12**: 143
- [81] Shu H, Guo Z, Chen X, *et al.* Intracerebral transplantation of neural stem cells restores manganese-induced cognitive deficits in mice. *Aging Dis*, 2021, **12**(2): 371-385
- [82] Csobonyei M, Polak S, Zamborsky R, *et al.* Recent progress in the regeneration of spinal cord injuries by induced pluripotent stem cells. *Int J Mol Sci*, 2019, **20**(15): 3838
- [83] Banda E, Grabel L. Directed differentiation of human embryonic stem cells into neural progenitors. *Methods in Molecular Biology (Clifton, NJ)*, 2016, **1307**: 289-298
- [84] Shahbazi E, Mirakhori F, Ezzatizadeh V, *et al.* Reprogramming of somatic cells to induced neural stem cells. *Methods*, 2018, **133**: 21-28
- [85] Daadi M M. Generation of neural stem cells from induced pluripotent stem cells. *Methods in Molecular Biology (Clifton, NJ)*, 2019, **1919**: 1-7
- [86] Matsui T, Akamatsu W, Nakamura M, *et al.* Regeneration of the damaged central nervous system through reprogramming technology: basic concepts and potential application for cell replacement therapy. *Experimental Neurology*, 2014, **260**: 12-18
- [87] Zhang L, Dong Z-F, Zhang J-Y. Immunomodulatory role of mesenchymal stem cells in Alzheimer's disease. *Life Sciences*, 2020, **246**: 117405
- [88] De Feo D, Merlini A, Laterza C, *et al.* Neural stem cell transplantation in central nervous system disorders: from cell replacement to neuroprotection. *Current Opinion in Neurology*, 2012, **25**(3): 322-333
- [89] Ma Y, Li C, Huang Y, *et al.* Exosomes released from neural progenitor cells and induced neural progenitor cells regulate neurogenesis through miR-21a. *Cell Communication and Signaling*, 2019, **17**(1): 96
- [90] Wu K, Zhang R, Lu Y, *et al.* Lin28B regulates the fate of grafted mesenchymal stem cells and enhances their protective effects against Alzheimer's disease by upregulating IGF-2. *J Cell Physiol*, 2019, **234**(12): 21860-21876
- [91] Sun B, Taing A, Liu H, *et al.* Nerve growth factor-conjugated mesoporous silica nanoparticles promote neuron-like PC12 cell proliferation and neurite growth. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 2016, **16**(3): 2390-2393
- [92] Mili B, Das K, Kumar A, *et al.* Preparation of NGF encapsulated chitosan nanoparticles and its evaluation on neuronal differentiation potentiality of canine mesenchymal stem cells. *Journal of Materials Science-Materials in Medicine*, 2018, **29**(1): 4
- [93] Mortazavi Y, Sheikhsaran F, Khamisipour G, *et al.* The evaluation of nerve growth factor over expression on neural lineage specific genes in human mesenchymal stem cells. *Cell Journal*, 2016, **18**(2): 189-196
- [94] Lee H J, Lim I J, Park S W, *et al.* Human neural stem cells genetically modified to express human nerve growth factor (NGF) gene restore cognition in the mouse with ibotenic acid-induced cognitive dysfunction. *Cell Transplantation*, 2012, **21**(11): 2487-2496
- [95] Wu C C, Lien C C, Hou W H, *et al.* Gain of BDNF function in engrafted neural stem cells promotes the therapeutic potential for Alzheimer's disease. *Scientific Reports*, 2016, **6**: 27358

Research Progress on The Mechanisms of Inducing Nerve Regeneration in The Treatment of Alzheimer's Disease*

GAO Jun-Yan^{1,2)}, LIN Su-Yang²⁾, PAN Zhao-Tao²⁾, MA Yu-Tao²⁾, CHU Chao-Yang²⁾,
SHAN Jiang-Hui²⁾, SHEN Wei¹⁾, XIE Kai¹⁾, WANG Qin-Wen²⁾, XU Shu-Jun²⁾, LI Li-Ping^{1,2)**}

¹⁾The Affiliated Hospital of Medical School, Ningbo University, Ningbo 315211, China;

²⁾Ningbo University School of Medicine, Zhejiang Provincial Key Laboratory of Pathophysiology, Ningbo 315211, China)

Abstract Alzheimer's disease (AD) is a neurodegenerative disease characterized by progressive cognitive impairment and memory loss in the central nervous system, which has become one of the most difficult problems and urgent to solve in geriatrics. However, the pathological mechanism of AD is still unclear, and there is no specific medicine for AD. Currently, the exploration of nerve regeneration in AD has gradually attracted increasing attention. Increasing BDNF or NGF expression by neurotrophic solution or adeno-associated virus can regulate the survival of nerve cells and the plasticity of synapses. AChEI drugs can inhibit the decomposition of ACh and activate the nAChRs receptor, which enhance growth, communication and survival of neurons. Brain stimulation techniques such as repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS) and transcranial direct current stimulation (tDCS) can activate synaptic activity in neuronal circuits. Exogenous NSCs transplantation or BDNF combined with NSCs transplantation can not only directly increase the number of neurons, but also indirectly improve pathology surroundings by stimulating the secretion of neurotrophic factors and exosomes. Studies have demonstrated that the treatment of neurotrophic solution, physical stimulation or stem cell transplantation can enhance adult neurogenesis in the brain, which is considered to be effective strategy to alleviate pathological symptoms as well as cognitive impairment of AD. However, the optimal intervention strategy and the quality of treatment need to be further evaluated. Our paper reviews the methods of inducing nerve regeneration and elucidates its therapeutic mechanism of AD, which may provide a theoretical basis for the implementation of nerve regeneration therapy.

Key words Alzheimer's disease, nerve regeneration, cognitive function, neuron

DOI: 10.16476/j.pibb.2021.0112

* This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (82001155), the Natural Science Foundation of Zhejiang Province (LQ19H090005), the Ningbo Science and Technology Bureau (2019B10034), the Ningbo Science and Technology Plan Project (202002N3165), Ningbo University Teaching and Research Project (JYXMXZD2021029), the Scientific Research Fund Project of Ningbo University (XYL20030), the Student Research, Innovation Program (SRIP) of Ningbo University (2021SRIP1917, 2021SRIP1912), and the K. C. Wong Magna Fund in Ningbo University.

** Corresponding author.

Tel: 86-574-87609594, E-mail: liliping@nbu.edu.cn

Received: April 25, 2021 Accepted: June 15, 2021