

β 淀粉样肽在阿尔茨海默症发病中的分子机制

孙丽文^{1)*} 唐孝威²⁾ 胡应和³⁾

¹⁾浙江省医学科学院药物研究所, 杭州 310013; ²⁾浙江大学生命科学院脑功能交叉实验室, 杭州 310027;

³⁾华东师范大学脑功能基因组学研究所, 上海 200062)

摘要 作为老年性痴呆的主要类型, 阿尔茨海默症 (AD) 的病理特征包括大脑局部, 尤其是海马和皮层神经元退行性变化, 细胞内神经原纤维缠结和细胞外老年斑沉淀, 其中老年斑的主要毒性成分为 β -淀粉样肽 ($A\beta$). 随着对 AD 研究的深入, 关于疾病发生的 $A\beta$ 假说得到了深入的发展, 越来越多的证据显示 $A\beta$ 可能是 AD 发生的原发性病理因子. $A\beta$ 假说认为, AD 是一种由于基因缺陷直接或间接改变淀粉样前蛋白 (APP) 表达或蛋白酶解过程, 从而影响 $A\beta$ 聚集稳定性的病理综合征, $A\beta$ 产生和清除之间的平衡逐渐改变, 聚集态的 $A\beta$ 累积引发连串的复杂反应, 包括突触 / 突起的变化, Tau 蛋白磷酸化, 递质丢失, 神经胶质增生和炎症反应等, 最终出现神经元功能失调, 死亡, 斑块形成, 神经原纤维缠结等病理现象. 但 $A\beta$ 究竟是通过什么样的分子途径引发 AD 的, $A\beta$ 作用的部位在哪里, $A\beta$ 毒性与其聚集状态的关系等等问题都还未能完全揭示. 结合近年来实验室的研究结果和体会, 综述了 $A\beta$ 最新的研究进展.

关键词 阿尔茨海默症, β -淀粉样肽, 可溶性寡聚体, 突触改变, 胞内运输

学科分类号 Q42

作为老年性痴呆的主要类型, 阿尔茨海默症 (AD) 的病理特征包括大脑局部尤其是海马和皮层神经元退行性病变化, 细胞内神经原纤维缠结和细胞外老年斑沉淀^[1,2]. 研究 AD 疾病过程中神经元死亡和功能失调的机制, 对揭示疾病病理生理过程及提供进一步的治疗机会很重要. 但到目前为止, 虽然经过了很多的努力, AD 机制依然不清楚. 从而也限制了精确的动物和细胞模型的发展, 延缓了治疗方法的产生. 关于 AD 的病理损伤过程提出了很多假说. 轴浆运输障碍导致的神经退行性疾病假说认为, 相关基因突变导致 Tau 蛋白聚集态结构变化及功能改变是 AD 的诱因^[3]. 胆固醇变化学说则认为胆固醇稳态改变是引起突触可塑性损害, 神经元退化等 AD 病理变化的关键原因, 淀粉样斑块、Tau 磷酸化及细胞骨架、氧化压力等变化都是针对脑内胆固醇动力学变化的代偿反应^[4]. 此外, 还有 $A\beta$ 假说, 自由基损伤学说, 钙离子通道受损学说, 炎症反应学说以及胆碱能损害学说等等. 但没有一个理论足以解释 AD 病理生化改变的复杂性, 转基因动物或其他模型也不能完全模拟 AD 的病理特征. 但随着对 AD 研究的深入, 关于疾病发生的

$A\beta$ 假说得到了深入的发展, 越来越多的证据显示 $A\beta$ 可能是 AD 发生的原发性病理因子. $A\beta$ 假说认为, AD 是一种由于基因缺陷直接或间接改变淀粉样前蛋白 (APP) 表达或蛋白酶解过程从而影响 $A\beta$ 聚集稳定性的病理综合征, $A\beta$ 产生和清除之间的平衡逐渐改变, 聚集态的 $A\beta$ 累积引发连串的复杂反应, 包括突触 / 突起的变化, Tau 蛋白磷酸化, 递质丢失, 神经胶质增生和炎症反应等, 最终出现神经元功能失调, 死亡, 斑块形成, 神经原纤维缠结等病理现象.

1 支持 $A\beta$ 假说的证据

在研究 AD 的漫长岁月中至今尚未发现其他可替代 $A\beta$ 的病理因子, 很多证据表明 $A\beta$ 是诱导 AD 发生的主要病理环节. 首先几乎在所有 AD 病人的脑中都发现了大量的淀粉样斑块沉积和神经末

* 通讯联系人.

Tel: 0571-88215476, Fax: 0571-88974384

E-mail: Liwencloud@yahoo.com.cn

收稿日期: 2006-07-06, 接受日期: 2006-10-19

稍退化等改变,而在与学习记忆相关的关键区域斑块的数量直接与脑力损害程度成正比^[6]。

在已发现的 4 个 AD 基因中, APP, PS1, PS2 的变异都导致 $A\beta$ 生成增多^[6,7], ApoE4 则影响 $A\beta$ 的沉积. Weidemann 等^[8]报道,在内质网内 PS1 与 APP 以非共价键形式相互作用, PS2 的过度表达导致 APP 分泌片段减少,说明 PS2 对 APP 的运输及蛋白质水解有作用. 绝大多数的 PS1 和 PS2 存在于内质网内,还有一部分存在于高尔基体内, APP 主要集中在高尔基体内,这使早老素(PS)与 APP 可能相互作用,并使 PS 在细胞器内调节 APP 的加工过程. 某些 PS 本身即是 γ -分泌酶活性的必要组成成分. 而作为 AD 的风险基因之一, ApoE4 诱导 $A\beta$ 过量积聚,而且这种 $A\beta$ 的聚集作用早于 AD 临床症状的发生.

Down 综合征是第 21 对染色体上的三倍体遗传疾病,据观察 Down 综合征患者早年就有较多 $A\beta$ 分泌,十几岁时有斑块沉积,纤维缠结和其他生化病理变化出现较晚,而 Down 综合征患者最终都会出现早老性痴呆症状^[9]。

还有 APP 变异的转基因鼠发育过程中先形成弥散性 $A\beta$, 然后才出现 $A\beta$ 斑块,伴随神经元和胶质细胞损伤,这种小鼠模型可部分模拟 AD 的主要病理特征. $A\beta$ 寡聚体对体外培养的神经元有毒性作用,能引起胶质细胞炎症反应,阻止 $A\beta$ 聚集则这种毒性消失^[10]。

早期的 $A\beta$ 弥散性斑块类似于胆固醇脂肪纹,而成熟的老年斑与动脉粥样硬化斑块相似. 人类的其他淀粉样变性疾病,往往只要抑制病源性淀粉蛋白的产生就能够成功地治疗这类疾病,也给研究人员带来希望,一旦阐明 $A\beta$ 的发生发展机制就有可能找到治疗 AD 的方法,甚至解开人类学习记忆的谜底.

最近法国科学家报道了在 5 例早发性 AD 病人中发现了新的常染色体显性遗传特征^[11],即增加 APP 基因的拷贝数而没有 APP 基因变异导致 AD 早期发病,虽然不同的家族病例重复的区域有差异,但在第 21 对染色体上都存在 APP 基因位点的重复,疾病的表型相似,进行性的 AD 发病过程伴随大量的致密核心、弥散的淀粉样沉着物和神经纤维缠结. 这个新的发现给 AD 发病的 $A\beta$ 假说提供了新的证据. 提示可能只要单纯性 $A\beta$ 生成增加就会导致 AD 疾病发生. 这种观点与其他神经退行性疾病研究结果相一致,最近马里兰老年研究所的

Andrew 和 Hardy 在遗传性帕金森病人身上发现了一种 α -synuclein 三倍体基因. 这可能也暗示 APP 表达的遗传变异增加风险性或直接导致迟发性 AD. 因为尽管至今尚未发现迟发性 AD 病人有 APP 基因或 PS 基因突变,但遗传学研究发现, APP 基因位点确实对疾病发生有潜在的风险性影响,由于遗传变异而少量地增加 APP 表达都有可能导致迟发性 AD 疾病.

2 细胞内可溶性的 $A\beta$ 可能是 AD 发病的早期诱因

$A\beta$ 与 AD 的病理发生密切相关,但究竟 $A\beta$ 是如何引起毒性反应的,其最初的作用位点在哪里,是在细胞外,细胞膜上,或在细胞内呢,至今尚未明白. 早期有研究人员认为, $A\beta$ 插在膜上就像非离子选择性的孔道,这种孔道具有不连续的完整的电导率,且其打开或闭合有一定的方向性. 最近耶鲁大学的 Marchesi^[12]甚至提出 $A\beta$ 在其产生和作用过程中并未离开脂质双层膜.

$A\beta$ 存在于 AD 斑块中,但我们不清楚这种斑块究竟是否是诱发疾病的早期原因. 现在很多研究人员认为,斑块的形成在疾病进程之后,小分子的可溶性 $A\beta$ 寡聚体才是原发性的病理因子,但究竟其作用原理如何仍然未知. 而除了 $A\beta$ 会在细胞外产生纠结物,另一种细胞内的神经纠结——神经原纤维缠结(NFT)也与 AD 相关, NFT 由 Tau 蛋白高度磷酸化后聚集而成, Tau 蛋白磷酸化后丧失其原本稳定微管的能力,影响细胞存活,但在部分 AD 病人中, NFT 现象并不明显. 而且 NFT 在许多疾病中存在,可能是一种非特异的针对神经损伤的病理过程.

虽然很多研究人员认为 $A\beta$ 产生后立刻被分泌到胞外起作用,但近来通过对越来越多转基因鼠的研究发现,细胞内 $A\beta$ 聚集早于细胞外,而且细胞内外的 $A\beta$ 性质上有一定的差异,提示在细胞膜两侧可溶性 $A\beta$ 可能由于内外环境不同形成不同结构的聚合态. 细胞内 $A\beta$ 可能是起始神经元退行性病变和斑块形成的决定因素. 加州大学的 LaFerla 实验室用三联转基因鼠(APP, TAU 及 PS1)观察了神经元内 $A\beta$ 聚合的过程^[13], 4 月龄小鼠神经元内出现明显可检测到的可溶性、非聚合态的 $A\beta$, 6 个月时在海马等区域可见寡聚体形成. 1 年后, $A\beta$ 寡聚物存在从细胞内转移到胞外,斑块附近多见. 细胞内的寡聚物分布在近胞体和近突触位置的轴突部

位,进一步的实验显示在神经元内它们与 Tau 蛋白共存,老年鼠当 Tau 高度磷酸化时却没有这种现象. APP/PS1 转基因鼠中细胞内 A β 的积累也早于神经元死亡,这些研究似乎都暗示了细胞内 A β 可能是 AD 发病的早期标志.

3 A β 在神经元内作用的研究进展

如果细胞内可溶性的 A β 是 AD 发病的早期诱因,那么 A β 在神经元内究竟如何作用呢?目前研究人员正聚焦 A β 对突触功能的影响,细胞内 A β 在细胞信号通路及蛋白酶降解,与 Tau 蛋白关系等领域的研究.

在培养的 Tg2576 转基因鼠神经元,激活突触活动使细胞内 A β 水平下降, A β 释放增多^[14]. 在 AD 发病过程中,正离子断层扫描(PET)技术和其他的检查方法都表明神经元输出逐渐降低,但究竟是 AD 疾病过程中 A β 释放降低,使神经元内 A β 累积上升,导致神经元的退行性病变加剧,还是 AD 病理过程中 A β 生成减少了,使 A β 释放相应降低,都是有待解决的关键问题.

冷泉港实验室的 Hsieh 等^[15]提出 A β 水平提高会影响受体蛋白的运输. 她们的研究显示,增加 A β 的释放能抑制 AMPA 及 NMDA 受体介导的海马突触神经传导,可能与改变谷氨酸 II 型受体的运输有关. A β 增加网格蛋白小窝介导的谷氨酸 II 型受体的内吞作用,抑制突触传递. 而且谷氨酸 II 型受体并非 A β 的唯一受害者, Tg2576 转基因小鼠谷氨酸 I 型受体下调^[16], LaFerla 实验室也报道三联转基因鼠中神经元内 A β 寡聚体累积的脑区 α 7- 烟碱型乙酰胆碱受体消失^[17]. 但目前对 A β 是如何影响受体运输的还不清楚, Gouras 实验室的 Almeida 等^[16]在发现 Tg2576 转基因小鼠神经元表面谷氨酸 I 型受体表达下调的同时,注意到一种能使 GluR1 锚定在突触的蛋白 PSD-95 表达下调, PSD-95 是一种膜性的鸟苷酸激酶,与谷氨酸受体回收及锚定在突触后密度 PSD 有关. NMDA 受体的 NR2B 亚基 Tyr1472 位点磷酸化及脱磷酸化与受体结合 PSD-95 或转接蛋白 AP-2 有关, NR2B 的脱磷酸化引起转接蛋白介导的细胞内吞作用. 本实验室在研究 A β 对离体培养的大鼠皮层神经元毒性作用时也发现, PSD-95 基因表达下调与转接蛋白 AP-3 及 AP-1 上调,以及大量与细胞内运输相关的基因表达改变.

A β 很可能通过调节内涵体输送通路影响细胞

表面受体的分布和作用^[18]. 晚期的内涵体递送膜蛋白至溶酶体降解,早期回收的内涵体则将膜蛋白运输回细胞膜, A β 42 与晚期的内涵体共存,对早期的内涵体则影响不大^[19]. 由于轴突部位的许多神经递质受体的活性受到蛋白酶体的调控,研究人员认为 A β 影响内涵体的回收可能通过调控泛素蛋白酶体系统 (UPS) 起作用. APP 转基因动物也显示了蛋白酶功能受损,使受体及其他突触元件回收循环过程阻滞. 在我们的研究中也发现, A β 能诱导神经元内溶酶体氨基酰转运蛋白表达上调,而突触融合蛋白、内质网膜蛋白、多种囊泡膜蛋白与某些衣被蛋白 (与内质网高尔基体之间的囊泡运输有关) 表达下调.

另一个基础问题是 A β 与突触活动是如何相互作用的呢? 华盛顿大学的 Cirrito 等^[20]用无损伤的微量渗析技术记录了电刺激过程中海马间质液 A β (ISF A β) 数量的变化,电刺激清醒的自由活动小鼠, ISF A β 水平明显上升,而河豚毒素阻断正常的神经活动, ISF A β 下降. 以破伤风毒素阻断神经递质小囊泡的释放, 8 h 内 ISF A β 水平下降 80%. 在离体脑片中用 α -latrotoxin 促进突触囊泡的释放,同时施以突触后抑制剂,细胞外的 A β 水平仍然上升了. 虽然 A β 的转运并不通过突触囊泡,即在突触囊泡并不含有 A β ,突触囊泡的回收过程可能影响了 A β 在突触的活动. 总而言之,突触的活动能影响 A β 在细胞内外的传递,而细胞内外 A β 寡聚体的数量也影响着突触相关受体的运输,这是否暗示在很多迟发性 AD 患者基因组中未发现相关基因的变异,其发病可能与突触活动紊乱有关呢?

除了胞内运输及突触活动,细胞内 A β 似乎还有其他毒性通路. Querfurth 实验室的数据表明,细胞内 A β 干扰神经元保护性的信号通路和细胞的应激反应^[21]. 丝氨酸苏氨酸蛋白激酶 B (Akt) 在大脑中起着重要作用,在包括 ALS, 亨廷顿病,精神分裂症等大脑疾病中都发现有 Akt 异常,细胞内 A β 损害磷脂酰肌醇-3 (PI3K)-Akt 通路可能与 AD 的病理有关.

在原代培养的皮层神经元 A β 降低 Akt 的磷酸化活化,由于活化的 Akt 能抑制 tau 激酶 GSK3 β , Akt 受损导致 GSK3 β 激活^[22]. 在 Tg2576 转基因鼠,当皮层细胞内 A β 上升时也显示磷酸化的 Akt 降低. 过表达的 Akt 保护原代培养的神经元抵抗细胞内累积的 A β 的毒性^[23]. 另外活化的 Akt 能诱导 HSP70 结合蛋白, HSP70 可能是 Akt 保护细胞的

下游环节. 我们实验中也发现 $A\beta$ 诱导多种热休克蛋白表达下调. 总之在 AD 早期, 细胞内 $A\beta$ 的毒性作用可能部分通过阻止 Akt 激活, 从而削弱细胞的应激反应, 偏离正常的细胞信号通路. 以 Akt 为靶点的神经保护剂如 VEGF, BDNF 和 IGF-1 等也陆续进入实验研究.

现在有很多证据显示细胞内 $A\beta$ 是毒性的主要来源和可行的治疗靶点. 那么细胞外的免疫疗法又是如何起作用的呢^[24]? Gouras 实验室用氨基端抗 $A\beta$ 抗体处理 APP- 转染的神经母细胞瘤细胞株和培养的 Tg2576 神经元, 细胞内 $A\beta$ 水平下降, 而且与细胞的内吞作用有关. 抗体结合于细胞外的 APP 氨基端 $A\beta$ 区域, 可能随 APP 一起内吞入细胞内. 在三联转基因小鼠海马注射抗 $A\beta$ 抗体不仅可以消除沉积在薄壁组织的 $A\beta$, 同时神经元内的 $A\beta$ 也可被去除. 细胞外的 $A\beta$ 消除较细胞内快. 而一旦抗体消散, 细胞内 $A\beta$ 补充则要比细胞外快^[25]. 在细胞膜的两侧 $A\beta$ 显然存在着动态平衡. 当培养细胞直接暴露于外在的 $A\beta$ 寡聚体中时, $A\beta$ 可能通过细胞的自噬作用进入细胞.

AD 的发生与 $A\beta$ 代谢的关系已有很多证据, 但是否细胞外的 $A\beta$ 就能够诱导细胞的病理生化改变呢? Luehmann 等用神经组织移植实验证实了细胞外可溶性的 $A\beta$ 扩散能够在正常的神经组织上形成斑块, 并表现出一定的病理变化. 将正常小鼠脑组织移植至 APP233 转基因小鼠脑内, 3 个月后再移植及其他脑区有明显斑块形成, 而且在移植区斑块形成更快更多, $A\beta$ 斑块附近神经元有轻微的病理损害变化, 但将 APP233 小鼠脑细胞移植至正常小鼠脑内, 则不论在移植区及正常小鼠脑内都不能形成斑块^[26]. 说明细胞外弥散的 $A\beta$ 可以形成斑块, 但依赖于周围的环境.

细胞内和细胞外的 $A\beta$ 似乎都影响突触功能, 两者在突触部位是如何相互作用的还不清楚. Tg2576 神经元 $A\beta$ 生成增多与突触改变明显相关, 而全长 APP 水平并未升高. 另外 BACE 抑制剂阻断 $A\beta$ 生成, 能逆转 Tg2576 小鼠认知功能损害症状, 这些证据表明是 $A\beta$ 的积聚而非 APP 过多引起 AD. 在过表达变异的 APP 基因的 Tg2576 神经元细胞内和细胞外 $A\beta$ 水平都升高, 用合成的 $A\beta_{1\sim 42}$ 诱导体外培养的皮层神经元, PSD-95 和 GluR1 的改变与在 Tg2576 神经元中观察到的一致, 提示细胞外 $A\beta$ 也能影响突触改变. 还有抑制 γ 分泌酶使 $A\beta$ 生成降低, 能抑制 Tg2576 神经元中 PSD-95 和

GluR1 的改变, 说明 $A\beta$ 引起的突触改变是可逆的. 虽然弥散性 $A\beta$ 寡聚体或较大的 $A\beta$ 聚合物可能在体内都能引起神经毒性, 但由于 $A\beta$ 寡聚体是早期的病理改变, 同时其毒性作用是可逆的, 所以是较好的治疗靶点.

4 $A\beta$ 毒性与其聚集状态的关系

虽然 $A\beta$ 假说有很多证据, 但也有一些现象似乎有悖于此. 首先 AD 的发病进程与斑块沉积的数量不存在简单的相关性. 淀粉样斑块分布很广, 除了分布在皮层和海马的灰质部分, 在基底神经节、丘脑和小脑等处也有发现, 在神经元, 则不论胞体、轴突和树突上都有分布. 身体中许多器官会产生 APP, 在中枢神经中, 不管神经元, 胶质细胞都会产生 APP. 为什么这么一个很多器官可以制造, 分布广泛的物质沉积在大脑中有人演变成 AD 疾病, 而有人斑块很多却没有发病? 在过去的几年中, 研究者们逐渐认识到不是淀粉样斑块而是一类小分子的寡聚体 $A\beta$ 在损害神经元的功能. 但要获得一定纯度、大小一致的 $A\beta$ 寡聚体到目前为止还有困难, 实验室之间至今还没有统一的标准, 各大生物技术公司或药厂或实验室免疫的 $A\beta$ 抗体往往针对他们自己的 $A\beta$ 抗原决定簇.

德国的 Abbott GmbH 实验室最近发表了一种方法, 利用全合成的 $A\beta$ 和脂肪酸形成稳定的 $A\beta_{42}$ 寡聚体^[27], 有别于混合的 ADDLs, 这种他们称作 globulomer 的 $A\beta_{42}$ 寡聚体是由 12 个 $A\beta$ 分子聚合而成的, 分子质量为 60 ku 的聚合物, 其单克隆和多克隆抗体与 APP, $A\beta$ 单体及原纤维等没有免疫结合能力. 科学家们已经在 AD 病人和 Tg2576 转基因鼠的大脑皮层检测到可溶性的 $A\beta$ globulomer, 但在正常人的脑脊液中没有. 体外 globulomer 抗体与培养的海马神经元结合但与胶质细胞不能结合. 在离体脑片中, $A\beta$ globulomer 能完全阻滞长时程增强效应(LTP). 研究者进一步指出, $A\beta$ globulomer 可能并非是体内毒性聚集的必经形态, 但这种稳定的 $A\beta$ 寡聚体给体外研究提供了一种可行的方法, 同时为免疫治疗提供了稳定有效的抗原决定簇. 在体外研究 $A\beta$ 神经毒性经常采用一种弥散性 $A\beta$ 寡聚体 ADDLs^[28], 这是由合成的 $A\beta$ 体外孵育产生的大小为 4, 8, 16, 18 ku 的可溶性聚合物. 但最近的定量研究表明 ADDLs 可能在更大范围的分子质量水平. ADDLs 体外能诱导细胞凋亡, 抑制神经细胞还原 MTT, 阻滞脑片诱导的

LTP, 这可能与实验过程中形成了更大的聚合体(如 48~56 ku)有关, 但电生理实验是在 1~2 h 内完成的, 检测到 LTP 的抑制表明 ADDLs 本身也是有突触毒性的. ADDL 作用于原代培养的海马神经元, 在数小时后能提高磷酸化的 Tau 蛋白水平, 激活磷酸化激酶 GSK3 β . 以针对 A β 1~15 抗原决定簇的抗体免疫 Tg2576 小鼠, A β 寡聚体水平降低的同时, 磷酸化的 Tau 蛋白水平也下降, 并抑制了 GSK3 β 激活^[29]. 脑室注射 A β 寡聚体能激活 GSK3 β , 动物出现认知障碍. 这些结果都提示 A β 寡聚体很可能是 Tau 蛋白磷酸化的上游环节, 而且 GSK3 β 起到一定的作用, 抑制了 A β 寡聚体的作用可能间接阻止了 Tau 引起的病理损害.

A β 不同聚集态的毒性可解释为什么在老年人脑内发现的弥散性斑块有时并不会引起痴呆症状. 来自加州大学的 Cheng 等展示了一种 Arctic Mutation 的转基因老鼠, 这种突变导致斑块快速形成, 这种转基因鼠虽然满头斑块却没有痴呆症状^[30]. 研究人员却认为这与 A β 假说并不矛盾, 由于这种变异的 A β 原纤维加速了斑块形成的过程, 以至具神经毒性的 A β 寡聚体相对很少, 使这种转基因鼠突触功能相对完好.

A β 在体内是如何聚集的呢? 找到抑制 A β 寡聚体, 原纤维或纤维斑块形成的方法也许就能延缓甚至阻止 AD 的发病进程. A β 的聚集在体内可能依赖一定的内环境, 在体外模拟致密脑组织的自然环境无疑很难. 所以许多研究人员转向电脑模拟斑块的构建. 最近波士顿大学的 Stanley 和同事就运用这种技术解释了 A β 的 Dutch 变异由于在 22 位的谷氨酸被谷氨酰胺取代导致其更容易形成聚集态^[31]. 浙江大学脑功能交叉实验室也开展了这方面的工作.

越来越多的证据表明, A β 寡聚体作为淀粉样肽原发毒性可能在 AD 发病中起到关键作用, 但也许并非所有的寡聚体都会聚集成纤维, 最近研究者们注意到其他神经退行性疾病蛋白沉积如 α -synuclein, 亨廷顿蛋白的聚集过程中有某些结合蛋白或伴侣分子在起重要的作用. 我们实验室在细胞水平研究 A β 的作用时也发现衰老标志钙结合蛋白 Regucalcin 与亨廷顿结合蛋白 Optineurin 表达下调, 以及 HSP70-3、HSP40、HSPA5D 及泛素连接酶 Nedd4 蛋白表达下调^[32]. 在神经元内 HSP70 高表达能够抑制 A β 毒性, 无论细胞内还是细胞外伴侣蛋白与 A β 的直接作用都能调节毒性 A β 聚合体

的形成, 这些伴侣蛋白是早期识别和清除蛋白异常折叠的重要分子, 同时伴侣蛋白与泛素蛋白酶体系之间的相互联系在调节 Tau 蛋白的沉积和毒性方面也是至关重要的^[33].

但现在就下断论只有 A β 寡聚体才能引发 AD 认知障碍还为时过早. Stern 等^[34]记录活动的 Tg2576 小鼠细胞内电信号, 发现斑块严重阻碍了突触对来自对侧胼胝体刺激的反应, 即使皮层神经元保持反应性, 斑块仍能改变输入的信号, 使神经元不能正确地整合输入信号. 这可能是由于斑块扭曲了神经元突起的形态, 从而使那些整合处理多区域信号的神经元严重受到影响. 所以也不能排除 A β 斑块在 AD 病理中的作用.

5 结 语

AD 发生的 A β 假说提供了许多有希望治疗 AD 的靶点, 现在研究人员正从各方面研究 AD 发生的机制和治疗手段. 如试图在 AD 动物脑中通过观察早期神经损害或胶质细胞激活标志, 分离出相关的具有神经毒性的 A β 单体, 弄清 β 淀粉样变的过程, 研究炎症反应在 A β 毒性通路中的作用, 以转基因老鼠或 Down's 综合征模型确定聚集的 A β 是否在体内能直接引发神经毒性, 其进一步的生化通路如何, 筛选在相关靶点上的抑制剂等等.

但在研究人员致力于筛选 β - 和 γ - 分泌酶抑制剂使 A β 生成减少, 或试图阐明 apoE4 促进 A β 聚集和沉淀, 延缓清除的机制寻找清除 A β 的方法时, 却发现 A β 本身具有一定的生理功能^[35], 淀粉样原纤维 Pmel17 蛋白能够包裹黑色素小体保护细胞免受活性黑色素前体的毒害, 提示淀粉样蛋白作为进化过程中保守片段具有一定的生理功能, 并非单纯是病理情况下产生的恶性物质. 所以在尝试用非选择性淀粉样蛋白抑制剂治疗相关疾病时可能会有严重的毒副作用. 为什么对神经细胞具有高度毒性的淀粉样组成对黑色素上皮细胞却没有毒害呢? 这可能与淀粉样蛋白从产生到形成毒性聚合物的过程有关, 在膜限制性的细胞器内快速形成淀粉样 M α 肽可能保护了细胞不受淀粉样肽前体的损害. 对其中通路的正确解释可能有助于揭开淀粉样蛋白形成的病理机制.

用转基因动物研究 AD 也同样需要注意到这一点. 因为这些基因本身表达的蛋白质是有相应功能的, 如 PS1、PS2 作为 7 次跨膜蛋白其胞浆内的 PS 很可能起细胞骨架作用^[36], 它可以影响细胞内的各

种加工过程, 包括物质的运输及内质网钙的调节, 同时 PS 在细胞器内调节 APP 的加工过程, APP 的功能包括促进生长和神经营养活性, 调节细胞黏附, 丝氨酸蛋白酶抑制活性以及细胞表面受体样作用等. 基因的突变首先会影响其正常的生理功能, $A\beta$ 生成增多可能是其重要的病理变化, 进一步影响细胞功能而导致 AD 的发生, 这给正确解读发病机制带来一些干扰.

参 考 文 献

- Mattson M P. Pathways towards and away from Alzheimer's disease. *Nature*, 2004, **430**: 631~639
- Hardy J, Selkoe D J. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: progress and problems on the road to therapeutics. *Science*, 2002, **297**: 353~356
- Ingram V M. Alzheimer tangles and abnormal phosphorylation. *Science*, 1995, **267**: 1889~1890
- Koudinov A R, Koudinova N V. Cholesterol homeostasis failure as a unifying cause of synaptic degeneration. *J Neurol Sci*, 2005, **229-230**: 233~240
- Cummings B J, Cotman C W. Image analysis of beta-amyloid load in Alzheimer's disease and relation to dementia severity. *Lancet*, 1995, **346**: 1524~1528
- Citron M, Westaway D, Xia W, *et al.* Mutant presenilins of Alzheimer's disease increase production of 42-residue amyloid beta-protein in both transfected cells and transgenic mice. *Nat Med*, 1997, **3**: 67~72
- Scheuner D, Eckman C, Jensen M, *et al.* Secreted amyloid beta-protein similar to that in the senile plaques of Alzheimer's disease is increased *in vivo* by the presenilin 1 and 2 and APP mutations linked to familial Alzheimer's disease. *Nat Med*, 1996, **2**: 864~870
- Weidemann A, Paliga K, Durrwang U, *et al.* Proteolytic processing of the Alzheimer's disease amyloid precursor protein within its cytoplasmic domain by caspase-like proteases. *J Biol Chem*, 1999, **274**: 5823~5829
- Menendez M. Down syndrome, Alzheimer's disease and seizures. *Brain Dev*, 2005, **27**: 246~252
- Dickstein D L, Biron K E, Ujii M, *et al.* Abeta peptide immunization restores blood-brain barrier integrity in Alzheimer disease. *Faseb J*, 2006, **20**: 426~433
- Rovelet-Lecrux A, Hannequin D, Le Meur R G, *et al.* APP locus duplication causes autosomal dominant early-onset Alzheimer disease with cerebral amyloid angiopathy. *Nat Genet*, 2006, **38**: 24~26
- Marchesi V T. An alternative interpretation of the amyloid Abeta hypothesis with regard to the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, **102**: 9093~9098
- Oddo S, Caccamo A, Shepherd J D, *et al.* Triple-transgenic model of Alzheimer's disease with plaques and tangles: intracellular Abeta and synaptic dysfunction. *Neuron*, 2003, **39**: 409~421
- Takahashi R H, Almeida C G, Kearney P F, *et al.* Oligomerization of Alzheimer's beta-amyloid within processes and synapses of cultured neurons and brain. *J Neurosci*, 2004, **24**: 3592~3599
- Kamenetz F, Tomita T, Hsieh H, *et al.* APP processing and synaptic function. *Neuron*, 2003, **37**: 925~937
- Almeida C G, Tampellini D, Takahashi R H, *et al.* Beta-amyloid accumulation in APP mutant neurons reduces PSD-95 and GluR1 in synapses. *Neurobiol Dis*, 2005, **20**: 187~198
- Caccamo A, Oddo S, Billings L M, *et al.* M1 receptors play a central role in modulating AD-like pathology in transgenic mice. *Neuron* 2006, **49**: 671~682
- Cataldo A M, Barnett J L, Pieroni C, *et al.* Increased neuronal endocytosis and protease delivery to early endosomes in sporadic Alzheimer's disease: neuropathologic evidence for a mechanism of increased beta-amyloidogenesis. *J Neurosci*, 1997, **17**: 6142~6151
- Park M, Penick E C, Edwards J G, *et al.* Recycling endosomes supply AMPA receptors for LTP. *Science*, 2004, **305**: 1972~1975
- Cirrito J R, May P C, O'Dell M A, *et al.* *In vivo* assessment of brain interstitial fluid with microdialysis reveals plaque-associated changes in amyloid-beta metabolism and half-life. *J Neurosci*, 2003, **23**: 8844~8853
- Magrane J, Christensen R A, Rosen K M, *et al.* Dissociation of ERK and Akt signaling in endothelial cell angiogenic responses to beta-amyloid. *Exp Cell Res*, 2006, **312**: 996~1010
- Salkovic-Petrisic M, Tribl F, Schmidt M, *et al.* Alzheimer-like changes in protein kinase B and glycogen synthase kinase-3 in rat frontal cortex and hippocampus after damage to the insulin signalling pathway. *J Neurochem*, 2006, **96**: 1005~1015
- Magrane J, Rosen K M, Smith R C, *et al.* Intraneuronal beta-amyloid expression downregulates the Akt survival pathway and blunts the stress response. *J Neurosci*, 2005, **25**: 10960~10969
- Lemere C A, Maier M, Jiang L, *et al.* Amyloid-beta immunotherapy for the prevention and treatment of Alzheimer disease: lessons from mice, monkeys, and humans. *Rejuvenation Res*, 2006, **9**: 77~84
- Van Dooren T, Muyliaert D, Borghgraef P, *et al.* Neuronal or glial expression of human apolipoprotein e4 affects parenchymal and vascular amyloid pathology differentially in different brain regions of double- and triple-transgenic mice. *Am J Pathol*, 2006, **168**: 245~260
- Carlson G A. A welcoming environment for amyloid plaques. *Nat Neurosci*, 2003, **6**: 328~330
- Barghorn S, Nimmrich V, Striebinger A, *et al.* Globular amyloid beta-peptide oligomer - a homogenous and stable neuropathological protein in Alzheimer's disease. *J Neurochem* 2005, **95**: 834~847
- Lambert M P, Barlow A K, Chromy B A, *et al.* Diffusible, nonfibrillar ligands derived from Abeta1-42 are potent central nervous system neurotoxins. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, **95**: 6448~6453
- Ma Q L, Lim G P, Harris W, *et al.* Antibodies against beta-amyloid reduce Abeta oligomers, glycogen synthase kinase-3beta activation and tau phosphorylation *in vivo* and *in vitro*. *J Neurosci Res*, 2006, **83**: 374~384

- 30 Lord A, Kalimo H, Eckman C, *et al.* The Arctic Alzheimer mutation facilitates early intraneuronal A β aggregation and senile plaque formation in transgenic mice. *Neurobiol Aging*, 2006, **27**: 67~77
- 31 Cruz L, Urbanc B, Borreguero J M, *et al.* Solvent and mutation effects on the nucleation of amyloid beta-protein folding. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, **102**: 18258~18263
- 32 Sun L; Wang L, Sun Y, *et al.* Protective effects of EUK4010 on β -amyloid(1-42) induced degeneration of neuronal cells. *European Journal of Neuroscience*, 2006, **24** (4): 1011~1019
- 33 Ehlers M D. Eppendorf 2003 prize-winning essay. Ubiquitin and the deconstruction of synapses. *Science*, 2003, **302**: 800~801
- 34 Stern E A, Bacskai B J, Hickey G A, *et al.* Cortical synaptic integration *in vivo* is disrupted by amyloid-beta plaques. *J Neurosci*, 2004, **24**: 4535~4540
- 35 Huff M E, Balch W E, Kelly J W. Pathological and functional amyloid formation orchestrated by the secretory pathway. *Curr Opin Struct Biol*, 2003, **13**: 674~682
- 36 Wang R, Tang P, Wang P, *et al.* Regulation of tyrosinase trafficking and processing by presenilins: partial loss of function by familial Alzheimer's disease mutation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, **103**: 353~358

Progress in Molecular Mechanisms of β -amyloid Peptides in Alzheimer's Disease

SUN Li-Wen^{1)*}, TANG Syao-Wei²⁾, HU Ying-He³⁾

¹⁾*Institute of Materia Medica, Zhejiang Academy of Medical Science, Hangzhou 310013, China;*

²⁾*Biophysics Laboratory of Brain Function, College of Life Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310027, China;*

³⁾*Key Laboratory of Brain Functional Genomics, Shanghai Institute of Brain Functional Genomics,*

East China Normal University, Shanghai 200062, China)

Abstract The pathological presentation of Alzheimer disease (AD), the leading cause of senile dementia, involves regionalized neuronal death and an accumulation of intraneuronal and extracellular filaments termed neurofibrillary tangles and senile plaques, respectively. One of the β -amyloid peptides (A β), the A β 1-42 form, is primarily responsible for neuronal damage and cell death that is the main component in the senile plaques. Over the past twenty years, the amyloid hypothesis has been strongly supported by a wealth of evidence, including data from genetic studies of Alzheimer disease. Amyloid cascade hypothesis states that the accumulation and deposition of fibrillar A β is the primary driver of neurodegeneration and cognitive decline leading to dementia. AD is a clinicopathological syndrome in which different gene defects can lead—directly or indirectly—to alter APP expression or proteolytic processing as such to change A β stability or aggregation. These result in a chronic imbalance between A β production and clearance. Gradual accumulation of aggregated A β initiates a complex, multistep cascade that includes gliosis, inflammatory changes, neuritic/synaptic change, tangles and transmitter loss. The evidence that links A β to the pathogenesis of AD is substantial, but the means by which these peptides exert their toxic effects, and where in neuronal cells they act, is far from clear. The up-to-date proceeding in the molecular mechanism of β -amyloid peptides is overviewed.

Key words Alzheimer disease, β -amyloid peptides, oligomers, synaptic change, transmitter loss

*Corresponding author . Tel: 0571-88215476, Fax: 0571-88974384, E-mail: Liwencloud@yahoo.com.cn

Received: July 6, 2006 Accepted: October 19, 2006