

胆碱转运体与阿尔茨海默病*

邓莉¹⁾ 王今朝¹⁾ 杨莉²⁾ 龙程^{1)**}

(¹⁾ 华南师范大学生命科学学院, 广州 510631; ²⁾ 华南师范大学心理学院, 广州 510631)

摘要 阿尔茨海默病主要病理学特征是在脑中形成大量的老年斑和神经元纤维缠结以及出现弥漫性脑萎缩。胆碱能系统的失调与阿尔茨海默病的发生机制关系密切。具体表现为基底前脑的胆碱能系统紊乱, 胆碱乙酰化酶、乙酰胆碱含量显著减少, 以及大量胆碱能神经元退化。胆碱转运体是胆碱能系统中用于转运胆碱进入细胞的关键蛋白, 有三种类型: 高亲和力胆碱转运体、胆碱转运体类蛋白及非特异性有机阳离子转运体。近年, 很多研究表明胆碱转运体的异常与一系列神经退行性紊乱有关。本文简要综述胆碱能系统中胆碱转运体的生理作用及其在阿尔茨海默病中异常代谢和可能机制的研究进展, 以期防治阿尔茨海默病提供进一步的理论和实验依据。

关键词 阿尔茨海默病, 胆碱转运体, 乙酰胆碱, β -淀粉样多肽

学科分类号 Q4

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2013.00453

阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)是一种常见的神经退行性疾病, 又称老年痴呆症。AD患者主要表现为渐进性记忆认知功能障碍, 人格改变及语言障碍等神经精神症状, 对患者的社交、职业及生活造成极大影响。据中国阿尔茨海默病协会2011年的公布调查结果显示, 全球约有3 650万人患有老年痴呆症。继肿瘤、脑中风及心血管等恶性疾病之后, AD已成为现代社会危害老年人健康的“第四大杀手”。中国现有超过1000万的老年痴呆患者, 患病人数已居世界各国之首。据国际老年痴呆协会中国委员会的数据, 中国老年痴呆患病率在65岁以上人群中平均为6.6%, 而且患病率每5年约增长1倍, 80岁以上超过22%。因此, 找到有效治疗AD的药物靶点十分重要。

AD的病理特征包括神经纤维缠结、淀粉样斑块形成、神经突触丢失以及胶质细胞的激活。由于老年斑的主要成分是 β -淀粉样多肽(β -amyloid peptide, A β), 因此大部分研究者认为AD是A β 过度沉积所致。A β 聚集可形成神经毒性的原纤维, 并进而形成老年斑(senile plaques, SP), 促进AD的病情发展。此外, 脑内A β 作为一种炎症刺激因子, 可以活化补体蛋白、激活胶质细胞, 释放

大量的神经毒性产物如氧自由基、过量谷氨酸盐、细胞因子、趋化因子及黏附分子等炎性蛋白, 进而引起一系列级联反应。对AD患者的研究显示, 突触的损伤和丢失是影响痴呆的主要因素, 比淀粉样斑块形成和神经元丢失的关联更明显^[1]。越来越多的研究也表明, 突触结构和功能紊乱先于A β 沉积, 可能是导致AD其他病症的始因。在AD病患中, 负责认知功能的大脑区域(如海马、皮质联合区以及乙酰胆碱能基底前脑)受到选择性的损伤, 由于海马和皮质均为基底前脑的投射区, 因此基底前脑的胆碱能神经元失调和紊乱会引起与之相关的突触功能障碍, 与AD的痴呆程度直接相关。随着科技和实验手段的发展, Mufson等^[2]证实, AD病人中胆碱能系统的一系列标志蛋白发生了改变, 乙酰胆碱转移酶(choline acetyltransferase, ChAT)、乙

* 国家自然科学基金(31171018, 31171355), 广东省教育厅高等学校人才引进专项资金(C10207)和广东省自然科学基金(2013KJX0054)资助项目。

** 通讯联系人。

Tel: 013539402617, E-mail: longcheng@senu.edu.cn

收稿日期: 2014-02-23, 接受日期: 2014-04-16

酰胆碱酯酶(acetylcholine esterase, AChE)活力下降, 乙酰胆碱(acetylcholine, ACh)释放减少以及受体表达水平降低等. 在胆碱能系统中, 胆碱转运体扮演着一个重要角色, 它将胞外的胆碱运输到胞内以合成胆碱类物质, 它的存在对于胆碱能神经元突触结构的构建和乙酰胆碱的合成起重要作用. 神经元前体细胞中胆碱的缺乏会影响上千个基因的表达, 其中 1/3 的基因参与细胞增殖、分化以及甲基代谢^[3], 由于胆碱转运体表达于血脑屏障, 它可能成为治疗一些神经系统疾病的药物靶点, 尤其是它与 AD 密切相关^[4-6], 有望成为改善和治疗 AD 的一个新靶点.

1 胆碱转运体系统

早在 1998 年, 美国科学院就将胆碱(choline)定义为人类必需营养因子^[7]. 胆碱本身是一个带正电荷的亲水性季胺基, 需要一个有效的转运机制才能通过双层质膜. 胆碱能神经元中 ACh 释放到突触间隙后, 与相应受体结合发挥作用. ACh 又被突触间隙中的 AChE 水解重新产生胆碱, 随后胆碱再被摄取到突触前神经元重新合成 ACh(图 1). 磷脂酰胆碱(phosphatidylcholine, PC)是细胞膜的主要成分, 由胆碱经过一系列磷酸化产生. 所以, 胆碱的摄取对于质膜的构建以及胆碱能神经递质的产生有着举足轻重的作用, 而将细胞外的胆碱摄取进入胞内再利用便是胆碱转运体的使命.

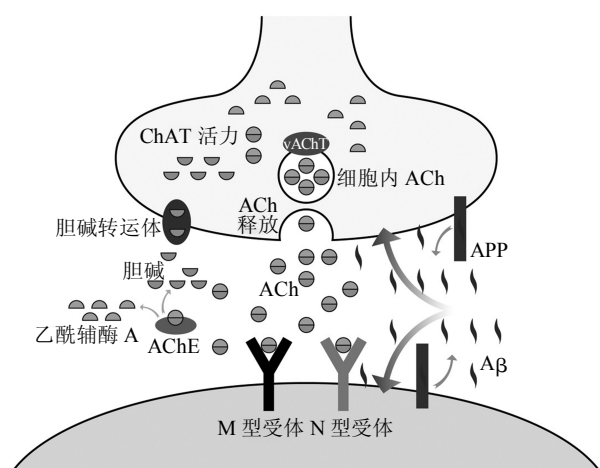


Fig. 1 Major steps in cholinergic neurotransmission on which low concentrations (picomolar to nanomolar) of solubilized β -amyloid peptide ($A\beta$) have been indicated to induce hypofunction without apparent neurotoxicity

图 1 $A\beta$ 对胆碱能突触传递功能影响(根据 Auld 等^[8]修改)
 $A\beta$: 淀粉样蛋白; ACh: 乙酰胆碱; AChE: 乙酰胆碱酯酶; APP: 淀粉样前体蛋白; ChAT: 胆碱乙酰转移酶; vAChT: 囊泡乙酰胆碱转运体; M 型受体: 毒蕈碱乙酰胆碱受体; N 型受体: 烟碱乙酰胆碱受体.

20 世纪 70 年代初期, Simon 等^[9-10]就开始研究胆碱转运体的动力学特点和生理生化功能, 但早期的研究都局限于高亲和力胆碱转运体. 随着基因组学技术和分子生物学技术的运用, 不断有其他类型的转运体被发现, 从而丰富了胆碱转运体系统. 根据对胆碱的亲和力差异目前将胆碱转运体系统分为三种类型^[11], 分别是: 高亲和力胆碱转运体家族(high-affinity choline transporters, CHTs)、胆碱转运体类蛋白家族(choline transporter-like proteins, CTLs)和非特异性有机阳离子转运体家族(polyspecific organic cation transporters, OCTs). 尽管它们都遵循 Michaelis-Menten 动力学方程, 但对于胆碱的亲和力差异却很大, CHTs 的胆碱亲和系数 K_m 为 $0.5 \sim 2 \mu\text{mol/L}$, CTLs 的亲和系数 K_m 则在 $10^0 \sim 10^1 \mu\text{mol/L}$ 水平, 而 OCTs 的亲和系数 K_m 可以达到 $200 \mu\text{mol/L}$ 甚至更高^[12]. 各个家族本身在不同的组织中对于胆碱的亲和力也不同, 这在一定程度上反映了胆碱转运体适应不同组织需求的灵活机制, 同时也使得它们能够在不同组织中完成特定的功能. 多种临床病症, 尤其是在肌肉、免疫疾病、动脉硬化以及多种组织的肿瘤中, 胆碱转运体都呈现出功能异常^[13-15]. 事实上, 胆碱转运体在神经退行性疾病, 尤其是 AD 中扮演重要角色^[16-17]. 研究显示, 胆碱能神经元的主要胆碱转运体是高亲和力蛋白家族, 其摄取胆碱合成 ACh, 是 ACh 合成的限速步骤. 除此之外, 在 AD 患者的红血球细胞中也常常发现低亲和力胆碱转运体失调^[18-19]. 低亲和力转运体主要提供胆碱用于合成磷脂酰胆碱, 而磷脂含量的降低会直接导致膜的损伤, 并间接干扰神经递质的产生. 所以, 对胆碱转运体的深入研究不仅对神经元功能紊乱而且对其他疾病也有重要意义.

2 高亲和力胆碱转运体与 AD

CHTs(也被称作 Uptake₁)是高亲和力胆碱转运体家族, 又称为 Na^+ 依赖性且对半胆碱基 3(hemicholinium-3, HC-3)高敏感性的胆碱转运体. 第一个被命名并广泛研究的是其中的代表性成员 CHT1、Okuda 等^[20-22]首次在线虫中克隆了大鼠 CHT1 的 cDNA, 随后相继克隆出人、小鼠等的 cDNA. CHT1 的研究大都局限于神经系统中, 推测主要是其分布和独特的生理功能所致. CHT1 主要位于基底前脑和皮层等神经组织中, 被功能特异性地用于转运胆碱合成 ACh. 虽然 Pfeil 等^[23]在上

皮细胞中也发现 CHT1, 但它在此处的具体功能仍然不明确. 早期对于胆碱系统和 AD 之间的机理研究都集中于胆碱系统的一些标志蛋白复合体(如 ChAT 和 AChE 等). 后来发现, AD 中 CHT1 会呈现异常的状态, 揭示 CHT1 可能是 AD 致病机理中一条重要线索, 于是研究者开始将注意力从一些代表性酶系统转移到胆碱转运体上, 从而奠定了 CHT1 作为胆碱系统的标志物基础^[24], 也为研究 AD 的机理和治疗提供了一个新的方向. 研究表明, 当 ChAT 表达不足时, CHT1 的活性增加, 进而保证胆碱能系统正常工作, 将 ACh 的释放水平调整到正常范围^[25]. 这也在一定程度上暗示了 CHT1 的活动对 ACh 的合成以及相应的突触传递起重要调节作用. 为进一步验证 CHT1 是胆碱能系统必需成分以及其对胆碱能突触传递的影响, Ferguson 等^[26]敲除小鼠 CHT1 基因, 建立了一种 CHT1 缺失的动物模型, 他们发现, 尽管 CHT1^{-/-}小鼠刚出生时形态上与野生型小鼠没有差异, 但它们机体状态很不稳定、呼吸异常, 并在出生后 1 h 内死亡, 而且敲除 CHT1 小鼠的脑中 HC-3 敏感性胆碱摄取和 ACh 合成都消失了. 最新证据也显示, CHT1 紊乱会引起乙酰胆碱释放障碍, 与认知缺陷密切相关^[27]. CHT1 本身受到很多方式的调控, 例如: 神经元去极化、蛋白激酶 C(protein kinase C, PKC) 和蛋白磷酸酶 (protein phosphatase 1/2A, PP1/PP2A) 联合的磷酸化、泛素连接酶 NEDD4-2 介导的泛素化等^[28-30]. 此外, Rassadi 等^[31]报道了 $\alpha 3$ 胆碱能受体对突触前 CHT1 有一个逆向的调节作用, 推测胆碱能受体依赖于钙信号系统影响胞内神经生长因子(nerve growth factor, NGF)释放并作用于突触前受体, 进而引发一个逆向信号激活, 调节突触前 CHT 的运输和定位. 值得注意的是, 体内试验证实 CHT1 与其他神经递质转运体有着明显的不同, CHT1 大都定位在突触小泡中或培养细胞的胞体中而非细胞表面, 然而其发挥作用的部位却在细胞膜上^[18-19]. 这暗示 CHT1 的一系列调控可能是通过改变其运输和定位而完成的, 后者已成为 CHT1 研究的关注点.

早在 20 世纪 70 年代晚期, 报道显示早发型 AD 患者大脑皮层的胆碱能突触存在缺陷. 后来研究发现, A β 多肽异常积累可能是 AD 一系列病症的重要机制. 作为这种沉积的主要因素, A β 多肽也成为众多 AD 相关研究的明星分子. 在体外培养和体内实验中, 合成的 A β_{42} 多肽对海马和皮层的

胆碱能神经元都有毒性. 此后的研究也证实, A β 短肽会影响大鼠坐骨神经元囊泡乙酰胆碱转运体 (vesicular acetylcholine transporter, vAChT) 的快速轴突的转运, 并影响 AChE 活性、ACh 释放、M 型和 N 型受体的表达及相关活动^[32-33]. 因此, A β 可能通过损害 ACh 合成、转运和释放, 最终致使胆碱系统崩溃(图 1). 近年在 A β 对胆碱能系统的调控研究中, CHT1 的介导作用越发变得不容忽视. 早老素 1(presenilin-1, PS-1) 突变是引起早发型 AD 的主要原因, 它参与调控神经元凋亡并促进异常 A β_{42} 的产生. 研究证实, 在 PS-1 M146V 突变的神经元中, 经过一个配体结合亲和力下降的机制, CHT1 介导的高亲和力摄取显著降低, 这极有可能是中间产物 A β_{42} 所导致^[34]. 体内体外实验发现, AD 中皮层和海马胆碱能神经元前列腺凋亡反应蛋白(prostate apoptosis response-4, Par-4)表达水平增加. 在 PS-1 突变体中, Par-4 会导致神经元细胞凋亡和产生异常的 A β_{42} . 而 Par-4 对 CHT1 起着负向调控的作用, 降低了 CHT1 与细胞表面的融合^[35], 这在某种程度上暗示着 A β_{42} 和 CHT1 之间有着极为密切的关系. Bales 等^[36]的研究更为直观地验证了这一点, 他们利用一个与 AD 相关的突变体过表达模型小鼠——PDAPP 小鼠, 研究了 A β 与 CHT1 的关系, 这种 PDAPP 小鼠会呈现与 AD 模型动物相似的 A β 沉积. 研究显示, 在 PDAPP 小鼠中 A β_{42} 显著影响海马突触中高亲和胆碱的摄取, 减少 ACh 的释放, 并且在蛋白质水平上证明 A β_{42} 与 CHT1 有直接作用关系. 淀粉样蛋白前体蛋白(amyloid-precursor protein, APP)是 A β 产生的前体蛋白, APP 基因突变、异常修饰和异常酶切都是导致 A β 过度产生的主要因素, 因此 APP 的生理作用和代谢过程与 AD 的发生、发展密不可分. 近年研究还表明, APP 在突触发生及功能中占据重要地位, 对胆碱能突触的影响也十分显著^[37-38]. 最新研究显示, APP 的缺失会导致神经肌肉接头突触传递异常、突触前 CHT1 定位异常和活性降低, 并且 APP 通过 C 端结构域直接和 CHT1 作用影响 CHT1 内吞^[39-40]. 引起 AD 中神经纤维缠结的关键蛋白 tau 蛋白亦会以一种完全不同于 A β 的方式调控 CHT1, 并进而影响 AD 病症^[41]. 可见, CHT1 是 AD 相关蛋白发挥作用的重要调控靶点. CHT1 关联着 ACh 合成, 其功能紊乱会引起递质释放及突触障碍, 是 AD 病症中胆碱能系统紊乱机制的一个重要介导因子. 多项研究都显示, CHT1 定位和功能的异常可

能是 AD 发生的机制之一, 因而有必要进一步探讨其作为靶点来治疗 AD 的可行性.

3 胆碱转运体类蛋白与 AD

胆碱转运体类蛋白家族(CTLs), 也称 Uptake2, 包括 5 个基因, 其中以 CTL1 为这个家族的代表性成员. 2000 年, O'Regan 等^[42]首次克隆了石纹电鳗中 CTL1, 因其序列中有 2 个胆碱转运体类似基序且其表达能增加高亲和胆碱的摄取, 故命名之. 此后, 在不同物种中相继克隆出 CTL1, 进一步证实 CTL1 的胆碱转运功能. 不同物种中 CTL1 的分布也有所不同, 检测 mRNA 水平发现其主要分布于电鳗的脊髓和脑^[43]. Machova 等^[44]用自制的抗体验证了人和大鼠 CTL1 在神经元、神经胶质细胞以及内皮细胞中的分布, 并推测 CTL1 与神经系统发育、损伤修复及一系列神经退行性疾病密切相关. 然而, CTL1 在小鼠中分布却比较局限. Yuan 等^[45]对小鼠中 CTL1 检测后发现, 虽然脑、肌肉等组织都表达其 mRNA, 但其蛋白表达只呈现在肌肉细胞中. 与此相左, Fujita 等^[46]却发现, 小鼠皮质神经元表达一种 Na⁺ 非依赖性高亲和胆碱转运体, 并能被 HC-3 所抑制, 间接推测这种转运体即 CTL1.

关于 CTL1 的功能, 现在普遍认为它是一种 Na⁺ 非依赖性的中间亲和力胆碱专一性转运体, 转运胆碱主要用于合成磷脂酰胆碱, 构建膜脂结构以进一步参与神经元生长和修复过程^[12, 17]. 缺乏 CHT1 基因的小鼠总 ACh 水平与野生型并无明显差异, 意味着在中枢神经系统中存在与 ACh 合成有关的其他胆碱转运体^[26]. Yamada 等^[47]在体外人成神经细胞瘤胆碱能细胞系中, 检测到 CTL1 的存在并且发现它与 ACh 合成有关. 在胆碱神经系统中, CTL1 可能还有很多未知的功能有待进一步探究. Jana 等发现用低浓度的 A β 长期处理 NG108-15 细胞系会降低由 CTL1 协调的胆碱摄取, 此过程通过激活 PKC 调控^[48]. 这项研究工作在某种程度上也暗示了 CTL1 可能是另一引起胆碱系统紊乱和 AD 病症的相关因子. 然而, 定位于 CTL1 的研究工作很少, 其在 AD 中所扮演的角色仍然是一个谜.

4 非特异性有机阳离子转运体与 AD

OCTs 是非特异性有机阳离子转运体家族, 又称低亲和力转运体家族, 生理状态下带正电荷, 可作为载体有效地透过细胞膜, 运输多种有机阳离

子, 包括单胺、多巴胺、5-羟色胺、胆碱、组胺、肌酸酐、去甲肾上腺素及肾上腺素等. OCTs 在肝脏和肾脏大量表达, 与内在代谢产物的外排和药物代谢相关. 膜拓扑学检测表明 OCTs 具有 12 个 α 螺旋跨膜区域、1 个糖基化外环和 1 个具磷酸化位点的内环. OCTs 分为 OCT1、OCT2 和 OCT3 三类, OCT1 是 1994 年在大鼠肾脏中发现的 OCTs 第一个亚型; OCT2 在肾脏、脑、脉络丛等均表达, 底物专一性较广, 运输能力较强, 还能通过肾小管上皮细胞的基底外侧膜调控血液中药物的吸收^[49]; 而 OCT3 分布最广, 是大脑内最具有代表性的 OCTs 亚型, 对调节胺能神经递质(aminergic neurotransmitter)在脑内的平衡中起重要作用^[50].

OCTs 本身不是胆碱专一性转运体, 过去的研究多集中于一些阳离子药物的靶点. 近期数据显示 OCTs 参与非神经元中乙酰胆碱释放的调控并影响组胺的释放, 与血脑屏障中胆碱转运密切相关^[51-53]. 其中 OCT2 参与突触前末梢 ACh 再循环过程, 可能作为一个低亲和、高容量的胆碱转运体在突触功能中发挥作用^[54], 因而有望成为增强 AD 患者胆碱能突触传递的靶点.

5 寄语与展望

AD 患者胆碱能神经元的数量和功能障碍暗示该系统在 AD 发病机理中的作用不容忽视. 尽管胆碱转运体已被发现 50 多年, 但在 AD 中的研究才刚刚起步, 并且关注焦点大多在高亲和力转运体 CHT1, 对其他类型转运体在神经系统以及一系列神经退行性疾病作用的报道十分有限. 如前所述, AD 中的主要相关蛋白对 CHT1 皆有调控作用, 基于 CHT1 在胆碱能神经系统中的作用(ACh 合成的主要限制因素), 推测 CHT1 可能是胆碱能系统紊乱以及 AD 其他病症的重要影响因素. 虽然研究显示 A β 、APP 和 tau 蛋白等会对 CHT1 产生影响, 但其机理、分子通路及相互关联仍然未知. 胆碱专一性转运体类蛋白家族 CTLs 在神经元和神经胶质细胞中都有分布, 并参与神经系统发育、损伤修复. CTL1 可以被低剂量 A β 调控这一发现, 暗示 CTL1 与神经退行性疾病密切相关. OCTs 如何在突触功能中发挥作用值得详细探讨. AD 病症十分复杂, 呈现“多因异质性”, 涉及多条信号通路和生理过程, 而各种因子之间的相互作用已成为研究热点. 当今国际临床试验的多种治疗 AD 药物收效都甚微, 期待更全面而深入地研究胆碱转运体对神

经系统的调节及其在神经退行性疾病尤其是 AD 中的作用, 以增加对 AD 发病机理的认识, 并为研发有效防治 AD 的药物提供新思路.

参 考 文 献

- [1] Reddy P H, Mani G, Park B S, *et al.* Differential loss of synaptic proteins in Alzheimer's disease: implications for synaptic dysfunction. *J Alzheimers Dis*, 2005, **7** (2): 103-117; discussion 173-180
- [2] Mufson E J, Ginsberg S D, Ikonomic M D, *et al.* Human cholinergic basal forebrain: chemoanatomy and neurologic dysfunction. *J Chem Neuroanat*, 2003, **26**(4): 233-242
- [3] Niculescu M D, Craciunescu C N, Zeisel S H. Gene expression profiling of choline-deprived neural precursor cells isolated from mouse brain. *Brain Res Mol Brain Res*, 2005, **134**(2): 309-322
- [4] Wang Z, Wang B, Yang L, *et al.* Presynaptic and postsynaptic interaction of the amyloid precursor protein promotes peripheral and central synaptogenesis. *J Neurosci*, 2009, **29**(35): 10788-10801
- [5] Barwick K E, Wright J, Al-Turki S, *et al.* Defective presynaptic choline transport underlies hereditary motor neuropathy. *Am J Hum Genet*, 2012, **91**(6): 1103-1107
- [6] Ray B, Bailey J A, Simon J R, *et al.* High-affinity choline uptake (HACU) and choline acetyltransferase (ChAT) activity in neuronal cultures for mechanistic and drug discovery studies. *Curr Protoc Neurosci*, 2012. Chapter 7: Unit 7 23
- [7] Blusztajn J K. Choline, a vital amine. *Science*, 1998, **281**(5378): 794-795
- [8] Auld D S, Kar S, Quirion R. β -Amyloid peptides as direct cholinergic neuromodulators: a missing link?. *Trends in Neurosciences*, 1998, **21**: 43-49
- [9] Simon J R, Atweh S, Kuhar M J. Sodium-dependent high affinity choline uptake: a regulatory step in the synthesis of acetylcholine. *J Neurochem*, 1976, **26**(5): 909-922
- [10] Atweh S, Simon J R, Kuhar M J. Utilization of sodium-dependent high affinity choline uptake *in vitro* as a measure of the activity of cholinergic neurons *in vivo*. *Life Sci*, 1975, **17**(10): 1535-1544
- [11] Michel V, Yuan Z, Ramsbair S, *et al.* Choline transport for phospholipid synthesis. *Exp Biol Med (Maywood)*, 2006, **231**(5): 490-504
- [12] Traiffort E, O'Regan S, Ruat M. The choline transporter-like family SLC44: Properties and roles in human diseases. *Mol Aspects Med*, 2013, **34**(2-3): 646-654
- [13] Riley S P, Talbot N J, Ahmed M J, *et al.* Characterization of human erythrocyte choline transport in chronic renal failure. *Nephrol Dial Transplant*, 1997, **12**(9): 1921-1927
- [14] Villa A M, Caporizzo E, Papagni A, *et al.* Choline and phosphatidylcholine fluorescent derivatives localization in carcinoma cells studied by laser scanning confocal fluorescence microscopy. *Eur J Cancer*, 2005, **41**(10): 1453-1459
- [15] Neumann S A, Linder K J, Muldoon M F, *et al.* Polymorphic variation in choline transporter gene (CHT1) is associated with early, subclinical measures of carotid atherosclerosis in humans. *Int J Cardiovasc Imaging*, 2012, **28**(2): 243-250
- [16] Black S A, Rylett R J. Choline transporter CHT regulation and function in cholinergic neurons. *Cent Nerv Syst Agents Med Chem*, 2012, **12**(2): 114-121
- [17] Michel V, Bakovic M. The ubiquitous choline transporter SLC44A1. *Cent Nerv Syst Agents Med Chem*, 2012, **12**(2): 70-81
- [18] Schliebs R, Arendt T. The cholinergic system in aging and neuronal degeneration. *Behav Brain Res*, 2011, **221**(2): 555-563
- [19] Nyakas C, Granic I, Halmy L G, *et al.* The basal forebrain cholinergic system in aging and dementia. Rescuing cholinergic neurons from neurotoxic amyloid-beta42 with memantine. *Behav Brain Res*, 2011, **221**(2): 594-603
- [20] Okuda T, Haga T, Kanai Y, *et al.* Identification and characterization of the high-affinity choline transporter. *Nat Neurosci*, 2000, **3**(2): 120-125
- [21] Apparsundaram S, Ferguson S M, George A L, *et al.* Molecular cloning of a human, hemicholinium-3-sensitive choline transporter. *Biochem Biophys Res Commun*, 2000, **276**(3): 862-867
- [22] Okuda T, Haga T. Functional characterization of the human high-affinity choline transporter. *FEBS Lett*, 2000, **484**(2): 92-97
- [23] Pfeil U, Haberberger R V, Lips K S, *et al.* Expression of the high-affinity choline transporter CHT1 in epithelia. *Life Sci*, 2003, **72**(18-19): 2087-2090
- [24] Harrington A M, Lee M, Ong S Y, *et al.* Immunoreactivity for high-affinity choline transporter colocalises with VACHT in human enteric nervous system. *Cell Tissue Res*, 2010, **341**(1): 33-48
- [25] Brandon E P, Mellott T, Pizzo D P, *et al.* Choline transporter 1 maintains cholinergic function in choline acetyltransferase haploinsufficiency. *J Neurosci*, 2004, **24**(24): 5459-5466
- [26] Ferguson S M, Bazalakova M, Savchenko V, *et al.* Lethal impairment of cholinergic neurotransmission in hemicholinium-3-sensitive choline transporter knockout mice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, **101**(23): 8762-8767
- [27] Parikh V, St Peters M, Blakely R D, *et al.* The presynaptic choline transporter imposes limits on sustained cortical acetylcholine release and attention. *J Neurosci*, 2013, **33**(6): 2326-2337
- [28] O'Regan S, Collier B. Factors affecting choline transport by the cat superior cervical ganglion during and following stimulation, and the relationship between choline uptake and acetylcholine synthesis. *Neuroscience*, 1981, **6**(3): 511-520
- [29] Wang Y, Cao Z, Newkirk R F, *et al.* Molecular cloning of a cDNA for a putative choline co-transporter from *Limulus* CNS. *Gene*, 2001, **268**(1-2): 123-131
- [30] Yamada H, Imajoh-Ohmi S, Haga T. The high-affinity choline transporter CHT1 is regulated by the ubiquitin ligase Nedd4-2. *Biomed Res*, 2012, **33**(1): 1-8
- [31] Rassadi S, Krishnaswamy A, Pie B, *et al.* A null mutation for the $\alpha 3$ nicotinic acetylcholine (ACh) receptor gene abolishes fast synaptic activity in sympathetic ganglia and reveals that ACh output from developing preganglionic terminals is regulated in an activity-dependent retrograde manner. *J Neurosci*, 2005, **25** (37): 8555-8566

- [32] Oddo S, Caccamo A, Green K N, *et al.* Chronic nicotine administration exacerbates tau pathology in a transgenic model of Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, **102** (8): 3046–3051
- [33] Pakaski M, Kalman J. Interactions between the amyloid and cholinergic mechanisms in Alzheimer's disease. *Neurochem Int*, 2008, **53**(5): 103–111
- [34] Payette D J, Xie J, Guo Q. Reduction in CHT1-mediated choline uptake in primary neurons from presenilin-1 M146V mutant knock-in mice. *Brain Res*, 2007, **1135**(1): 12–21
- [35] Xie J, Guo Q. Par-4 inhibits choline uptake by interacting with CHT1 and reducing its incorporation on the plasma membrane. *J Biol Chem*, 2004, **279**(27): 28266–28275
- [36] Bales K R, Tzavara E T, Wu S, *et al.* Cholinergic dysfunction in a mouse model of Alzheimer disease is reversed by an anti-A beta antibody. *J Clin Invest*, 2006, **116**(3): 825–832
- [37] Wang Z, Yang L, Zheng H. Role of APP and A beta in synaptic physiology. *Curr Alzheimer Res*, 2012, **9**(2): 217–226
- [38] Matrone C, Luvisetto S, La Rosa L R, *et al.* Tyr682 in the A beta-precursor protein intracellular domain regulates synaptic connectivity, cholinergic function, and cognitive performance. *Aging Cell*, 2012, **11**(6): 1084–1093
- [39] Wang B, Yang L, Wang Z, *et al.* Amyloid precursor protein mediates presynaptic localization and activity of the high-affinity choline transporter. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, **104** (35): 14140–14145
- [40] Yang L, Wang B, Long C, *et al.* Increased asynchronous release and aberrant calcium channel activation in amyloid precursor protein deficient neuromuscular synapses. *Neuroscience*, 2007, **149** (4): 768–778
- [41] Kristofikova Z, Ripova D, Hegnerova K, *et al.* Protein tau-Mediated Effects on Rat Hippocampal Choline Transporters CHT1 and tau-Amyloid beta Interactions. *Neurochem Res*, 2013
- [42] O'Regan S, Traiffort E, Ruat M, *et al.* An electric lobe suppressor for a yeast choline transport mutation belongs to a new family of transporter-like proteins. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, **97** (4): 1835–1840
- [43] O'Regan S, Meunier F M. Selection and characterization of the choline transport mutation suppressor from Torpedo electric lobe, CTL1. *Neurochem Res*, 2003, **28**(3–4): 551–555
- [44] Machova E, O'Regan S, Newcombe J, *et al.* Detection of choline transporter-like 1 protein CTL1 in neuroblastoma x glioma cells and in the CNS, and its role in choline uptake. *J Neurochem*, 2009, **110**(4): 1297–1309
- [45] Yuan Z, Wagner L, Poloumienko A, *et al.* Identification and expression of a mouse muscle-specific CTL1 gene. *Gene*, 2004, **341**: 305–312
- [46] Fujita T, Shimada A, Okada N, *et al.* Functional characterization of Na⁺-independent choline transport in primary cultures of neurons from mouse cerebral cortex. *Neurosci Lett*, 2006, **393** (2–3): 216–221
- [47] Yamada T, Inazu M, Tajima H, *et al.* Functional expression of choline transporter-like protein 1 (CTL1) in human neuroblastoma cells and its link to acetylcholine synthesis. *Neurochem Int*, 2011, **58**(3): 354–365
- [48] Novakova J, Mikasova L, Machova E, *et al.* Chronic treatment with amyloid beta (1–42) inhibits non-cholinergic high-affinity choline transport in NG108-15 cells through protein kinase C signaling. *Brain Res*, 2005, **1062**(1–2): 101–110
- [49] Motohashi H, Inui K. Organic cation transporter OCTs (SLC22) and MATEs (SLC47) in the human kidney. *AAPS J*, 2013, **15** (2): 581–588
- [50] Vialou V, Balasse L, Callebort J, *et al.* Altered aminergic neurotransmission in the brain of organic cation transporter 3-deficient mice. *J Neurochem*, 2008, **106**(3): 1471–1482
- [51] Koepsell H, Lips K, Volk C. Polyspecific organic cation transporters: structure, function, physiological roles, and biopharmaceutical implications. *Pharm Res*, 2007, **24** (7): 1227–1251
- [52] Koepsell H. Substrate recognition and translocation by polyspecific organic cation transporters. *Biol Chem*, 2011, **392**(1–2): 95–101
- [53] Geldenhuys W J, Allen D D. The blood-brain barrier choline transporter. *Cent Nerv Syst Agents Med Chem*, 2012, **12**(2): 95–99
- [54] Nakata T, Matsui T, Kobayashi K, *et al.* Organic cation transporter 2 (SLC22A2), a low-affinity and high-capacity choline transporter, is preferentially enriched on synaptic vesicles in cholinergic neurons. *Neuroscience*, 2013, **252**: 212–221

Choline Transporters and The Pathogenesis of Alzheimer's Disease*

DENG Li¹⁾, WANG Jin-Zhao¹⁾, YANG Li²⁾, LONG Cheng^{1)**}

¹⁾ School of Life Sciences, South China Normal University, Guangzhou 510631, China;

²⁾ School of Psychology, South China Normal University, Guangzhou 510631, China)

Abstract The deposition of senile plaques and neurofibrillary tangles in the brain are the prominent pathophysiology symptom of Alzheimer's disease (AD), in addition to diffuse brain atrophy. Several lines of evidence suggested a strong relationship between the degeneration of forebrain cholinergic neurons and pathogenesis of AD. AD is characterized by the disturbance of forebrain cholinergic system and by the dramatic decrease of acetylcholine (ACh), choline acetyltransferase, and a severe loss of cholinergic neurons. ACh is the only neurotransmitter released in the cholinergic synapses. Choline uptake *via* choline transporters is essential for ACh re-synthesis. Three types of transporters have been implicated in choline transporter family: high-affinity, Na⁺-dependent choline transporters (CHTs); intermediate-affinity, Na⁺-independent choline transporter-like proteins (CTLs) and polyspecific organic cation transporters (OCTs) with low affinity for choline. It has been shown that abnormal choline transporters are involved in a number of neurodegenerative disorders, including AD. The article aims to summarize the physiological role of choline transporter in the cholinergic system and pathological alterations in AD, providing new insight into the therapeutic treatment of AD.

Key words Alzheimer's disease, choline transporters, acetylcholine, β -amyloid peptide

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2013.00453

* This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (31171018, 31171355), Guangdong Province Higher School Talent Introduction Special Funds (C10207) and Natural Science Foundation of Guangdong Province (2013KJ CX0054).

**Corresponding author.

Tel: 86-13539402617, E-mail: longcheng@scnu.edu.cn

Received: February 23, 2014 Accepted: April 16, 2014