



载脂蛋白 E 与阿尔茨海默病： 风险、机制和治疗*

陈是燭¹⁾ 林志成¹⁾ 应佳芹¹⁾ 李婉怡³⁾ 刘志涛³⁾ 方甜园¹⁾ 周钰愉¹⁾ 张楚霞¹⁾

谢 凯²⁾ 徐淑君¹⁾ 李丽萍^{1)**}

(¹⁾ 宁波大学医学部生理与病理学科, 宁波 315211; (²⁾ 宁波大学附属第一医院康复科, 宁波 315211;

(³⁾ 宁波市康复医院科教科, 宁波 315040)

摘要 阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 是痴呆中最常见疾病类型, 随着人口老龄化的不断加剧, 其患病率正在迅速增加。在越来越多的遗传风险因素中, 载脂蛋白 E (apolipoprotein E, ApoE) 是最普遍和最强的风险因素, 在 AD 病例中约占 3/4。ApoE 是中枢神经系统脂质和胆固醇代谢的关键蛋白质, 有三种不同亚型: ApoE2、ApoE3 和 ApoE4, 其中 ApoE4 是 AD 发病的高风险因素。ApoE4 不仅影响神经胶质细胞中脂质的外排和分布, 同时还影响神经元的脂质代谢, 导致脂质稳态失衡。ApoE 参与淀粉样前体蛋白 (APP) 的加工, 促进早期 β 淀粉样蛋白 (A β) 的产生和斑块沉积。ApoE4 还降低 Tau 蛋白溶解度, 促使 Tau 异常磷酸化和聚集, 导致神经原纤维缠结 (NFTs), 且表达 ApoE4 的脑区更易受到 Tau 扩散的影响。ApoE4 通过激活 NF- κ B 炎症通路, 使小胶质细胞和星形胶质细胞转变为促炎表型, 分泌促炎因子和氧化介质, 诱发神经炎症。总而言之, ApoE 通过影响 A β 斑块、Tau 病理、神经炎症、神经可塑性及血脑屏障 (BBB) 等多途径参与 AD 神经病理, 共同助推疾病进展。抗 ApoE4 抗体可以降低 A β 斑块的形成和神经炎症; 二甲双胍、雷帕霉素、依诺肝素、二十二碳六烯酸 (DHA) 和他莫西芬等已批准使用的药物, 显示出具有降低 ApoE4 和改善 AD 病理的潜力; 使用反义寡核苷酸 (ASO) 和双链干扰小 RNA (siRNA) 技术的基因疗法, 通过降低 ApoE4 的表达, 可减缓 AD 病理。腺相关病毒 (AAV) 介导的 ApoE2 基因疗法通过在室管膜中表达 ApoE2, 以中和 ApoE4 的负面影响。中药白藜芦醇和水景甘通过 ApoE 修饰的脂质体纳米给药系统递送, 提高了药物的 BBB 穿透性, 为 AD 治疗提供了新手段。此外, 通过靶向 ApoE4 与低密度脂蛋白受体 (LDLR)、低密度脂蛋白受体相关蛋白 1 (LRP1) 受体的相互作用, 可以间接调节 ApoE4 的表达水平, 为 AD 治疗提供了新的视角。本文梳理近年来 ApoE 及其亚型在 AD 发病机制中的作用, 并综述了抗 ApoE 的潜在治疗策略, 以期未来基于 ApoE 疗法对抗 AD 提供新的思路。

关键词 阿尔茨海默病, 载脂蛋白 E, 脂质稳态, 小胶质细胞, 神经炎症, 神经胶质细胞

中图分类号 R3-74

DOI: 10.16476/j.pibb.2024.0384

CSTR: 32369.14.pibb.20240384

阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 是一种进行性神经系统退行性疾病, 表现特征为认知能力和记忆力逐渐减退, 其发病隐匿, 多发生于 65 岁以上人群, 是老年痴呆最常见的类型。随着人口老龄化的不断加剧, 全球患 AD 的人数预计在 2050 年突破 1.52 亿^[1]。AD 的发病机制尚未完全明确, 经典发病机制认为与 β 淀粉样蛋白 (amyloid β -protein, A β) 沉积形成老年斑、Tau 蛋白的过度磷酸化引起神经原纤维缠结 (neurofibrillary tangles, NFTs)、血脑屏障 (blood-brain barrier,

* 浙江省自然科学基金 (LY23H090004), 浙江省省属高校基本科研业务费专项 (SJLY2023008), 宁波市自然科学基金 (2023J068, 2022J035), 国家自然科学基金 (82001155), 宁波市重点研发计划 (2023Z173), 浙江省医药卫生科技计划 (2022KY1144), 浙江省中医药科技计划 (2023ZL162), 浙江省大学生科技创新活动计划 (新苗人才计划) (2024R405A069), 宁波市鄞州区农业与社会发展类项目 (2022AS025), 宁波大学大学生科技创新计划 (SRIP) (2024SRIP1904, 2024SRIP1905) 和高等学校学科创新引智基地 (111 计划) (D16013) 资助。

** 通讯联系人。

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

收稿日期: 2024-08-29, 接受日期: 2024-10-02

BBB) 的损伤、神经元变性和突触功能异常以及神经炎症等存在着紧密联系。

载脂蛋白E (apolipoprotein E, ApoE) 是中枢神经系统 (central nervous system, CNS) 中脂质和胆固醇的主要载体。APOE 基因主要有三种亚型: APOE2、APOE3 和 APOE4。大量研究证实, APOE4 亚型是晚发型 AD 的最强风险遗传因子, 其通过与 A β 斑块、NFTs 以及神经炎症等 AD 的主要病理相互作用, 直接影响 AD 的发生和进展^[2]。

近年来有关 APOE 基因在 AD 发病机制中的作用已成为研究热点。本文旨在综述 APOE 基因及其多态性在 AD 病理过程中的影响, 特别关注 ApoE 在神经炎症、神经胶质细胞活化、突触功能、神经胶质细胞脂质外排等细胞过程和信号转导级联反应中作用的最新进展, 以及当前在动物实验或临床试验中针对 APOE 基因治疗策略的最新信息, 探讨 ApoE 在 AD 发生发展中的作用, 以加深对 ApoE 介导的脂质代谢与 AD 发病机制之间关系的认识。

1 APOE 基因结构和功能

APOE 基因位于第 19 号染色体上, 具体位置在 19q13.3, 由 4 个外显子和 3 个内含子组成。APOE 基因的多态性主要体现在第 4 外显子上的两个单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphism, SNP) 位点, 即第 112 位和第 158 位氨基酸的差异, 从而产生三种主要的 APOE 等位基因: APOE2、APOE3 和 APOE4。这些等位基因的不同组合形成了 APOE2/2、APOE3/3、APOE4/4、APOE2/3、APOE2/4、APOE3/4 六种基因型, 其中 APOE4/4 与 AD 的风险增加显著相关^[3-4]。ApoE 蛋白由 299 个

氨基酸残基组成, 具有两个结构域, 通过 20~30 个氨基酸铰链进行连接。ApoE 蛋白 N 端有 2/3 区域是受体结合区域, 由 136~150 氨基酸区域中 6~8 个关键精氨酸和赖氨酸残基以及 1 个组氨酸残基组成, 该区域介导 ApoE 与低密度脂蛋白受体 (low-density lipoprotein receptor, LDLR) 相互作用。ApoE 的三维结构显示见图 1, ApoE 蛋白 N 端 2/3 (1~191 氨基酸残基) 是一个四螺旋束, 螺旋由紧密堆积的疏水核心稳定, 疏水核心包括亮氨酸拉链型相互作用和带电表面上的盐桥。螺旋 4 (130~164 氨基酸残基) 包含受体结合区域, 直接与受体相互作用^[5-6]。ApoE 作为配体与 LDLR 家族成员、硫酸乙酰肝素蛋白聚糖 (heparan sulfate proteoglycans, HSPG) 等特定细胞表面受体结合, 从而参与血浆中脂蛋白的清除作用^[7]。ApoE 是大脑中脂质和胆固醇的主要转运蛋白, 在脂蛋白代谢和胆固醇的再分布中起着关键作用。长期以来, ApoE 一直是动脉粥样硬化和心血管疾病领域研究的重点对象。在 CNS 中, ApoE 主要由神经胶质细胞产生, 而在外周系统中主要由肝脏产生。虽然 ApoE 的主要功能是转运脂质, 但 ApoE 也与脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS)、A β 、 β 葡聚糖和脂磷壁酸等炎症成分结合并相互作用, 这种结合作用被认为有助于清除炎症分子和致病分子, 使 ApoE 在免疫功能中发挥作用^[8]。脂质破坏常见于多种神经退行性疾病中, ApoE 参与细胞内和细胞间脂质代谢, 且不同 APOE 基因亚型对小胶质细胞、星形胶质细胞、脑微血管内皮细胞等不同细胞类型的脂质代谢作用不同, 因此 APOE 不同亚型对 AD 发病影响也不同^[9]。

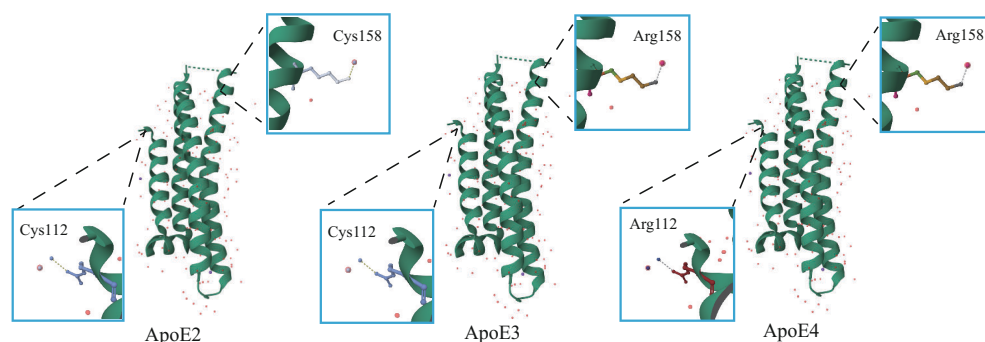


Fig. 1 Structural differences in proteins of different ApoE isoforms

图1 不同ApoE亚型的蛋白质结构差异

ApoE蛋白质3D模型数据, 改编自RCSB.org, PDB ID: 7FCR (Cherakara S, Kumar A, Garai K, Ghosh B. Crystal structure of the N-terminal domain of mutants of human Apolipoprotein-E (ApoE) (2022), PDB DOI: <https://doi.org/10.2210/pdb7FCR/pdb>).

1.1 ApoE不同亚型与纯合型对AD的影响

三种 *APOE* 等位基因 *APOE2*、*APOE3* 和 *APOE4* 具有不同的AD发病风险。尽管对AD患病风险有影响, 但ApoE亚型仅在两个位点的299个氨基酸上彼此不同: ApoE4以Arg112和Arg158为特征, ApoE3以Cys112和Arg158为特征, ApoE2以Cys112和Cys158为特征^[2, 10-11]。本文在RCSB蛋白质数据库(RCSB PDB)中生成ApoE三种主要亚型的三维结构, 并绘制其结构差异的示意图(图1)。*APOE4* 基因是AD的最强遗传风险因素, 最初发现约14%健康人群携带*APOE4*等位基因, 约60%~80%AD患者为*APOE4*基因携带者^[12-13]。本文总结了近年关于不同*APOE*基因型在不同种族中患AD风险的关联分析(表1)^[14]。携带一个*APOE4*等位基因会增加3~4倍患晚发型AD的风险, 携带两个等位基因会增加9~15倍患病风险^[15]。近期一项针对10 039名临床AD患者的研

究发现, 携带*APOE4*基因纯合子的个体症状发作年龄较早, 且从55岁开始出现明显的AD病理学表型, 到65岁时, 几乎所有携带*APOE4*基因纯合子个体的脑脊液(cerebrospinal fluid, CSF)中A β ₁₋₄₂水平均出现异常升高, 75%个体A β 扫描呈阳性, 73.6岁开始痴呆, 77.2岁开始死亡, 症状大约比*APOE3/3*纯合子早7~10年, 提示*APOE4/4*纯合子可能代表AD的一种独特遗传形式^[16]。*APOE3*基因在人群中最常见, 且纯合子*APOE3/3*基因型是主要长寿基因之一^[17]。*APOE2*基因对抵御AD风险具有保护作用, 可减少A β 和Tau积累, 使AD的患病风险降低40%以上, 但*APOE2*基因在人群中十分罕见^[18]。越来越多的证据表明, *APOE2*基因既可在A β 依赖性又可在A β 非依赖性机制中发挥作用来预防AD。然而, *APOE2*基因也并非全都是优点, *APOE2*基因携带者存在患脑血管疾病和神经系统疾病增高的风险^[19]。

Table 1 The risk of developing Alzheimer’s disease among carriers of different *APOE* genotypes in various ethnic groups^[14]
表1 不同种族群体中不同*APOE*基因型携带者发生AD的风险^[14]

种群	是否AD患者	样本量/ <i>n</i>	<i>APOE3</i> 基因携带率/%	<i>APOE4</i> 基因携带率/%	<i>APOE2</i> 基因携带率/%
全部人群	是	35 979	64.93	30.50	4.58
	否	41 423	57.28	26.05	16.67
黄种人	是	12 690	71.95	22.61	5.44
	否	14 752	82.67	7.90	9.43
白种人	是	19 988	60.26	35.77	3.97
	否	16 844	77.07	14.35	8.58
黑种人	是	1 179	55.77	38.30	5.94
	否	1 540	69.87	20.49	9.60

1.2 ApoE4与脂质稳态

大脑内脂质平衡破坏, 尤其是胆固醇失衡的持续恶化与AD病理之间存在着密切的关系。ApoE4破坏大脑中脂质稳态, 影响新的突触产生、突触损伤后的修复及神经元间信号的转导, 导致认知和记忆障碍的发生及进展^[9]。*APOE4*基因表达导致星形胶质细胞内质网中不饱和甘油三酯的脂滴形成增多, 从而使星形胶质细胞清除脂滴能力受损以及对脂质过氧化敏感性增加, 增加患AD风险, 表明ApoE4驱动星形胶质细胞脂质代谢失调增加诱发疾病的风险^[20]。在神经退行性变中, ApoE4的脂质化状态或ApoE4介导神经胶质脂质代谢是细胞内和细胞间效应的关键介质。ApoE4通过调节神经胶质细胞、神经元等多种细胞的分子途径影响脑内脂

质代谢的稳态。在人类诱导多能干细胞(human induced pluripotent stem cells, HiPSC)衍生出的大脑类器官中, 表达ApoE4可损伤其神经发生和胆固醇代谢。ApoE4驱动星形胶质细胞中的溶酶体胆固醇整合, 减少了胞质内游离的胆固醇, 从而增加胆固醇生物合成, 减少脂质分解代谢和胆固醇转运, 导致脂质代谢失调。星形胶质细胞的另一个重要功能是向神经元提供乳酸、脂质、氨基酸和神经递质等代谢底物, 有效地维持神经元和神经胶质细胞之间代谢偶联, 这些代谢活动对于维持正常的神经元功能是必不可少的。然而ApoE4可将正常的三羧酸循环活性转向糖酵解、磷酸戊糖或乳酸合成途径, 破坏神经胶质细胞正常能量代谢途径, 从而导致神经元细胞死亡, 甚至出现AD样神经病理学

特征。过表达 ApoE4 的星形胶质细胞表现出葡萄糖摄取受损、中枢碳代谢发生改变^[21-22]。单细胞转录组学分析揭示, 人类 ApoE4 特异性地驱动星形胶质细胞和小胶质细胞脂质代谢失调, 同时 ApoE4 也诱导小胶质细胞脂质积累, 破坏神经胶质细胞与神经元之间的协调活动。携带 *APOE4* 基因的 AD 患者脑内神经网络通讯紊乱部分原因可能是神经胶质细胞中脂质稳态受损引发的^[23]。ApoE4 引发神经胶质细胞与神经元之间通讯异常, 使神经元趋化性、脂质生物合成、促炎因子 γ 干扰素 (interferon- γ , IFN- γ) 表达上调, 脂质失调恶化, 并加剧促炎途径, 这可能是增加 AD 风险的主要原因, 提示恢复神经胶质脂质稳态或治疗炎症可能对携带 *APOE4* 基因的 AD 患者有益^[24]。超微结构和自噬通量分析表明, ApoE4 诱导的胆固醇积累会损害溶酶体清除受损线粒体, 进而损害星形胶质细胞的线粒体呼吸功能, 提示 ApoE 诱导的溶酶体功能损伤与星形胶质细胞异常的有氧呼吸之间也存在直接联系^[25]。无论是在认知正常的 *APOE4* 基因携带者还是认知障碍的 AD 患者中, ApoE 与脑部葡萄糖代谢、胰岛素抵抗、线粒体功能障碍等相关的代谢改变均存在关联。

ApoE4 已被证明具有显著降低神经元和胶质细胞胆固醇外流的能力^[26]。ApoE 的表达受过氧化物酶体增殖物激活受体 (peroxisome proliferators-activated receptors γ , PPAR γ) 和肝脏 X 受体 (liver X receptors, LXR) 的转录调控, 它们可与类视黄醇 X 受体 (retinoid X receptor, RXR) 形成异二聚体。LXR 是一种核受体, 可作为脂质稳态和炎症反应的重要调节剂。激活 LXR 通路可促进细胞胆固醇的外排, 通过 LXR 激动剂增加神经胶质细胞中的脂质外排, 可显著减缓 ApoE4 引起的脑部反应性神经胶质细胞增生及胆固醇代谢异常, 进而改善 P301S 突变 Tau 转基因模型小鼠的 Tau 病理和神经退行性变, 表明在 AD 病理中 LXR 通路可能是 ApoE 介导脂质稳态失调的关键途径^[27]。高胆固醇负荷已被证明可诱导啮齿类动物脑部 BBB 损伤和神经胶质细胞介导的慢性炎症^[28-29]。在人源小胶质细胞中, ApoE4 的表达导致胆固醇外排能力降低, 胆固醇的产生过量, 从而诱发更高水平的炎症^[30]。单细胞转录组学分析发现, *APOE4* 基因显著改变了细胞中胆固醇稳态和胆固醇转运相关的信号通路, 尸检研究揭示胆固醇异常沉积在负责绝缘和促进神经元电活动的髓鞘细胞中, 提示胆固醇沉

积与髓鞘功能、神经元电活动之间存在功能联系^[31]。ApoE 在不同组织和多种细胞类型的脂质代谢中发挥作用, 同时还被证明与动脉粥样硬化、心脏病等心血管疾病的高风险相关, 心脏病和动脉粥样硬化也是诱发 AD 和认知能力下降的危险因素。将 ApoE 介导脂质代谢作为治疗靶点, 是未来防治 AD 的潜在研究方向。

2 ApoE与AD病理

通过分析 1 671 名个体的尸检数据发现, ApoE4 对 AD 和非 AD 患者的认知都存在不利影响, 尤其对 AD 患者的影响更强。ApoE2 抵御 AD 的作用, 部分通过改善 AD 神经病理产生, 且在女性中比在男性中保护作用更强^[32]。在健康个体中, 血浆中 ApoE4/ApoE3 的比率增高与灰质体积损失、葡萄糖代谢异常相关。携带 *APOE4* 基因的水平越高, AD 患者的皮质萎缩程度越大、灰质体积越小^[33]。与非 *APOE4* 携带者相比, *APOE4* 携带者的 AD 临床前期持续时间缩短了 1.6 年, AD 前驱期持续时间缩短了 1.1 年, 轻度痴呆期持续时间延长了 1.0 年, 表明 ApoE4 在 AD 临床症状早期的进展中发挥很大的作用^[34]。学界普遍认为 *APOE4* 基因主要影响晚发型 AD, 但后来发现 *APOE4* 基因在 AD 的不同阶段也发挥着作用。在早发型阿尔茨海默病 (early onset Alzheimer's disease, EOAD) 的纵向研究中, 利用正电子发射断层成像术 (positron emission tomography, PET) 检测显示, EOAD 中女性的 A β 和 Tau 蛋白负荷比男性大, 且女性中 *APOE4* 基因携带者 A β 负荷和灰质萎缩比 *APOE4* 基因非携带者严重。ApoE 亚型、性别和年龄三个因素相互作用增加 AD 风险, 且女性比男性更易响应 ApoE4 对 AD 病理的影响^[35-36]。在 AD 患者大脑中, ApoE4 在 A β 、Tau、神经炎症、BBB、神经可塑性中的作用详见图 2。

2.1 ApoE与A β

ApoE 不仅存在于 A β 斑块中, 还参与 A β 种植、沉积和清除等 A β 病理过程^[37-38]。来自临床和病理学研究的证据表明, *APOE* 基因和 Tau、 α 突触核蛋白等多种蛋白质病变之间存在联系, 但目前研究最深入的是 ApoE 不同等位基因和 A β 之间关联。在 AD 患者的尸检中研究发现, ApoE4 加剧 A β 的沉积, 且 ApoE4 水平与脑实质中的炎性斑块沉积以及脑淀粉样血管病 (cerebral amyloid angiopathy, CAA) 的严重程度呈正相关^[39], 而 *APOE2* 基因与

清除途径影响 A β 病理, A β 清除率降低可能是 *APOE4* 基因携带者的脑中 A β 聚集的主要原因^[50, 59-60]。A β 主要通过血管系统进行清除。体内和体外实验证据均显示, 载体蛋白 ApoE 被细胞表面的 LDLR 和低密度脂蛋白受体相关蛋白 1 (low density lipoprotein receptor-related protein 1, LRP1) 识别后, 穿过 BBB, 将 A β 输入淋巴系统, A β 进入血液后被清除, 防止其在脑积聚。A β 与 ApoE4 结合可使清除 A β 途径从依赖于 LRP1 转换成依赖于极低密度脂蛋白受体 (very low density lipoprotein receptor, VLDLR)。由于 VLDLR 通过 BBB 内化 ApoE4-A β 复合体的速度比 LRP1 慢, 因而依赖于 VLDLR 清除 A β 的能力也有限^[61]。分选蛋白相关受体 1 (sortilin-related receptor 1, SORL1) 属于 LDLR 家族。SORL1 的缺失导致内体运输和自噬受损, 引起脑脂质稳态受损, 并最终导致 A β 水平升高^[62]。从淋巴系统途径清除 A β 的研究发现, 这种途径清除速率也受到 ApoE 亚型的影响, ApoE4 阻碍脑脊液和间质液之间的液体流动^[63], 且 ApoE 氨基酸序列上特定氨基酸负责 A β 清除, 如缺失 166~299 位氨基酸的 ApoE4 清除 A β 的能力显著降低^[64]。体外实验证明, 表达 ApoE4 的神经元产生 A β_{42} 水平高于表达 ApoE3 的神经元, 表达 ApoE4 的星形胶质细胞表现出 A β 摄取受损和胆固醇积累^[65]。ApoE 和补体调节因子 H (complement factor H, FH) 结合可降低 A β 与补体受体 3 (complement receptor 3, CR3) 的结合及小胶质细胞的吞噬能力, 并减轻 A β 和 CR3 介导的炎症反应和细胞毒性。此外, FH-ApoE 复合物可降低 A β 寡聚化和增加 A β 清除。且 ApoE2、ApoE3 对 FH 的亲合力高于 ApoE4, 提示 ApoE4 存在诱发炎症反应及抑制补体途径对 A β 清除的作用^[66]。Sortilin 是一种神经分选蛋白, 负责一部分脂质转运功能, 是神经元体内运输和再循环的调节因子。Sortilin 缺失是导致 AD 的病理之一^[67]。髓细胞触发受体 2 (triggering receptor expressed on myeloid cells 2, TREM2) 主要在小胶质细胞中表达, 是小胶质细胞功能的重要调节蛋白, ApoE 是 TREM2 的配体, 三者对 AD 病理的影响具有诸多关联。SORL1 和 TREM2 的突变, 将以 ApoE 依赖性方式损害小胶质细胞 A β 摄取和清除功能, 影响 AD 模型小鼠脑内 A β 沉积^[68]。ApoE 参与 A β 原纤维形成、种植和寡聚化的证据相对较少^[12]。体外实验发现, ApoE4、ApoE3 各自与 A β 相互作用形成单

原纤维结构, A β 与 ApoE4 形成 A β 原纤维的密集度高于与 ApoE3 形成^[69-70]。体内研究也支持这一发现, ApoE4 在播种阶段对 A β 的影响最大, 在 A β 的播种阶段降低 ApoE4 表达可显著减少 A β 病理启动, 而在 A β 原纤维形成后再降低 ApoE4 水平则可调节斑块的大小和毒性^[54]。

2.2 ApoE与Tau

在 AD 中, Tau 蛋白磷酸化已被证实可降低 Tau 的溶解度, 且高度磷酸化 Tau 容易形成神经元内不溶性 NFTs^[71]。在 Tau 蛋白病模型小鼠和体外类器官模型中, ApoE4 的存在增加了 Tau 病理进展和神经退行性变^[27, 72]。尸检研究也表明, *APOE4* 基因增加了总 Tau 蛋白、p-Tau 蛋白表达水平, 以及 Tau 病理对 AD 神经病理学进展的影响, *APOE4/4* 纯合子携带者比杂合子或非携带者出现更严重的 Tau 病理变化^[73-74]。ApoE4 对 Tau 的效应主要发生于内侧颞叶, ApoE4 与 Tau 蛋白相互作用可增大 Tau 沉积区域。与 *APOE4* 基因非携带者相比, *APOE4* 基因携带者的海马和杏仁核体积变小以及 ApoE 对 Tau 的摄取变多。ApoE2 对 Tau 的神经保护作用主要发生在内侧颞叶和早期新皮质区域, ApoE2 可缩小 Tau 沉积区域^[75-76]。纵向研究也发现, *APOE4* 基因携带者内嗅皮层、海马萎缩和 Tau 积累速度变快有关^[77]。在脑区中 Tau 扩散具有易感性, *APOE* 基因和谷氨酸能神经元突触基因 *SLC1A2* 在 Tau 的空间扩散中起着核心作用, 表达 ApoE 和 *SLC1A2* 的脑区更易发生 Tau 扩散^[78]。在早期 A β 水平较低情况下, *APOE4* 基因携带者相对于非携带者显示出 A β 驱使 Tau 蛋白在大脑区域中的加速扩散, 因而 *APOE4* 基因携带者需考虑抗 A β 治疗的窗口期, 以减弱 A β 介导的 Tau 扩散^[79]。在相同 A β 负荷的情况下, *APOE4* 基因携带者相对于非携带者表现出 Tau 聚集的增强, 表明大脑区域 ApoE 表达对 Tau 病理影响极大^[80]。基于阿尔茨海默神经影像计划 (Alzheimers Disease Neuroimaging Initiative, ADNI) 数据库分析老年 AD 患者, 发现性别因素参与 ApoE4 对特异性脑区 Tau 沉积的影响。女性 *APOE4* 基因携带者脑区 Tau 沉积高于男性 *APOE4* 基因携带者, 灰质体积低于男性 *APOE4* 基因携带者^[81]。基于 PET 数据发现, 女性 *APOE4* 基因携带者早期阶段在海马体、内嗅皮质和海马旁皮质等区域表现出高水平 Tau 负荷, 提示女性患者早期 Tau 沉积是 ApoE 和性别的相互作用的影响而不是独立作用的结果^[82]。此外, ApoE 也通过激活小胶质细

胞, 加剧 Tau 相关的神经退行性变^[12]。在 P301S Tau 蛋白病小鼠中发现, 敲除 ApoE 可增强小胶质细胞分解代谢, 抑制小胶质细胞活化反应, 并改善了 Tau 病理和神经退行性变^[83]。ApoE 和 TREM2 变异增加 AD 风险。敲除 TREM2 可减轻表达小鼠 ApoE 的 P301S 小鼠的神经变性和 Tau 病理。在 ApoE4 存在的情况下, Tau 病理依赖性小胶质瘤, 即 TREM2 非依赖性小胶质瘤, 促进了 Tau 介导的神经退行性变^[84]。SORL1 是 LDLR 家族一员, 也被发现可能是 ApoE 诱导 p-Tau 升高的关键蛋白质。iPSC 和尸检研究表明, 在神经元中 SORL1、ApoE 和簇蛋白 (clusterin, CLU) 水平之间存在特异性关联, SORL1 通过转化生长因子 β (transforming growth factor- β , TGF- β)/Smad 信号转导途径降低 ApoE 水平和 Tau 磷酸化病理。SORL1 表达缺失会破坏脂质稳态, 诱导神经元的脂质组成改变、脂滴蓄积以及星形胶质细胞的 ApoE 表达升高, 进而导致下游 p-Tau 升高。通过逆转录复合体上调 SORL1 水平可降低 P-Tau 水平, 表明 SORL1 的缺失通过神经元脂质失调和 ApoE 升高来促进 p-Tau 病理^[62]。

2.3 ApoE 与神经炎症

炎症是驱动神经退行性变的重要因素之一, 靶向治疗炎症可阻止神经退行性变。ApoE 主要在星形胶质细胞和小胶质细胞中产生, 神经胶质细胞的功能和状态影响神经炎症的发生。ApoE4 是 AD 早期易感炎症的关键因素, ApoE4 亚型可通过特异性下调转胶蛋白 3 (transgelin 3, TAGLN3), 而上调核因子 κ B (nuclear factor κ B, NF- κ B) 通路和抑制组蛋白去乙酰化酶 (histone deacetylases, HDACs) 活性, 促使神经胶质细胞进入促炎状态, 增加白介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、白介素-6 (interleukin-6, IL-6) 和肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 等促炎细胞因子的表达, 导致脑部炎症发生^[30, 85]。利用外源性促炎因子 LPS 或内源性促炎因子 TNF- α 刺激原代培养的神经胶质细胞, 可诱导神经胶质细胞产生 ApoE 增加, 表达 ApoE4 的神经胶质细胞出现免疫调节功能损伤的比例高于表达 ApoE2 或 ApoE3 的神经胶质细胞^[86]。C 反应蛋白 (C-reactive protein, CRP) 是一种急性时相反应蛋白, 在组织创伤或疾病事件发生后数小时内显著增加, 在急性炎症后期 CRP 被分解为 C 反应蛋白单体 (monomer C-reactive protein, mCRP), mCRP 是炎症反应的标志物。体内研究发现, 血液中 mCRP 的升高也会影响 ApoE

表达, 并以剂量和时间依赖性方式增加 A β 的产生, 同时以 ApoE4>ApoE3>ApoE2 的模式诱导神经元中的 p-Tau 病理和神经退行性变, 表明 mCRP 通过影响 ApoE 相关途径介导炎症影响 AD 神经病理^[87]。CNS 髓鞘细胞内 ApoE 表达导致硫酸盐损失, 并激活小胶质细胞和星形胶质细胞, 进而增加迟发性 AD 风险基因和免疫调节因子的表达, 而硫酸盐损失又进一步增加 ApoE 表达, 两者形成正反馈环路, 加速神经炎症的进展, 导致 MCI 和慢性 AD 样神经炎症^[88]。钙依赖性胞浆型磷脂酶 A2 (calcium-dependent cytosolic phospholipase A2, hcPLA2) 的激活参与炎症信号转导, 在 AD 脑部斑块内 cPLA2 激活升高。表达 ApoE4 的细胞、动物或 AD 患者脑中 cPLA2 磷酸化、cPLA2 活性和白三烯 B4 (leukotriene B4, LTB4) 水平显著高于表达 ApoE3。在表达 ApoE4 的星形胶质细胞中, 抑制 cPLA2 后 LTB4、活性氧类 (reactive oxygen species, ROS) 和诱导型一氧化氮合酶 (inducible nitricoxide synthase, iNOS) 的水平低于表达 ApoE3 的星形胶质细胞, 表明 ApoE4 比 ApoE3 对 cPLA2 信号系统有更大的激活能力^[89]。AD 患者大脑中的神经炎症程度与 APOE 基因直接相关, ApoE4 通过升高谷胱甘肽 (glutathione, GSH)、硫代巴比妥酸反应物 (thiobarbituric acid reactive substances, TBARS) 等氧化介质的含量, 降低抗氧化剂硫醇和线粒体 DNA 拷贝数, 诱发氧化损伤和神经炎症, 导致神经元衰竭^[90-91]。APOE4 基因对炎症系统多种因子都具有调节作用, 导致神经炎症的持续激活。

2.3.1 ApoE 介导小胶质细胞对 AD 病理的影响

AD 的突出特征是脑部出现先天免疫系统慢性激活, 小胶质细胞作为大脑先天免疫细胞, 富集在 AD 脑组织斑块周围, 已被证明可以介导炎症反应和吞噬作用。大脑中小胶质细胞稳态失衡破坏了细胞清除毒性蛋白质、细胞碎片的能力, 其中未被清除的 A β 沉积形成斑块, 并诱发神经炎症和神经变性^[23]。表达 ApoE4 的小胶质细胞可下调补体和溶酶体通路, 促进应激反应, 增加脑中脂滴积累, 并加剧 A β 病理^[92]。多项研究证明, 人类 AD 相关小胶质细胞 (human Alzheimer's disease-related microglia, HAM) 显著上调 ApoE 的表达^[93-96]。ApoE 主要通过诱导小胶质细胞活化来介导炎症损伤和 p-Tau 病理的进展^[97]。APOE 基因与小胶质细胞形态之间也存在关联, AD 患者的海马体以及

中、上颞回的小胶质细胞激活明显,且分枝数量减少^[98]。表达ApoE4的小鼠内侧颞叶皮层表现出小胶质细胞活化增加、A β 和Tau沉积增加。ApoE4通过小胶质细胞活化介导了A β 非依赖性的Tau积累作用。ApoE表达的区域与小胶质细胞激活的区域具有相关性,ApoE表达可激活小胶质细胞促炎状态,进而增加大脑局部区域对神经炎症的易感性^[99]。静息态的小胶质细胞可分为稳态(M0)和神经保护表型小胶质细胞(MGnD)两个类型。在神经退行性变的小鼠和人类中,表达ApoE4对MGnD型小胶质细胞表达呈现负调节作用。敲除*APOE4*基因的小胶质细胞可使P301S小鼠恢复表达MGnD型小胶质细胞,也可改善APP/PS1小鼠的神经病理。从机制上讲,ApoE4通过整合素 β 8(recombinant integrin beta 8, ITG- β 8)和TGF- β 信号转导途径影响小胶质细胞稳态检查点,进而破坏小胶质细胞稳态。通过阻断ITG β 8-TGF- β 信号转导可恢复小胶质细胞MGnD表型^[100]。*ApoE*敲除或LDLR过表达可上调小胶质细胞的离子通道和神经递质受体,下调小胶质细胞激活状态,减轻神经退行性变、突触丢失和Tau病理。在Tau蛋白病小鼠中,敲除ApoE或过表达LDLR会显示出更好的髓鞘完整性和较少的反应性星形胶质细胞活化^[83]。

TREM2是一种细胞表面受体,主要在小胶质细胞中表达,可以影响CNS和外周的脂质代谢,进而通过神经炎症、胰岛素抵抗等多种方式影响AD病理。TREM2已被认为是迟发型AD的另一危险因素^[101-102]。ApoE是TREM2的配体,可触发TREM2下游信号转导,从而调节小胶质细胞功能和神经炎症^[103]。TREM2通过与补体C1q高亲和力结合,特异性地抑制经典补体途径的激活,增加了补体介导的小胶质细胞对神经元突触的吞噬,并加速了突触丢失^[104]。TREM2和ApoE在先天免疫系统中表达丰富,ApoE与TREM2相互作用破坏小胶质细胞稳态,从而损害神经胶质细胞的趋化性、增殖、吞噬作用和存活^[105]。Toll样受体4(Toll like receptor 4, TLR4)是先天免疫系统的关键受体。在表达ApoE4的神经胶质细胞中,利用TLR4拮抗剂可减少LPS和A β 诱导的炎性因子分泌。在雌ApoE4与5 $\times$ FAD杂交小鼠中,TLR4拮抗剂处理可降低小胶质细胞标志物Iba-1覆盖率和减少反应性小胶质细胞数量,并改善小鼠记忆力^[105-106]。相对于表达ApoE3的小胶质细胞,表达ApoE4的小胶

质细胞表现出细胞形态改变,溶酶体体积增大,细胞因子/趋化因子产生增加,脂质和脂滴积累增加,并伴随着参与应激反应的eIF2 α 和eIF2 α -激酶的翻译减少和磷酸化增加,提示ApoE4导致小胶质细胞应激水平升高^[107]。转录组学和染色质分析发现,老年人普遍存在一群终末炎性小胶质细胞(terminally inflammatory microglia, TIM),在空间上聚集在皮层A β 斑块和炎性细胞周围,并随年龄、ApoE4等因素增加而富集增多,TIM表现出吞噬和清除功能缺陷。TIM可能代表体内炎性小胶质细胞的疲惫样状态,其增多可能增加ApoE4携带者和老年人的AD风险^[108]。ApoE4激活炎症通路并调节生物能量信号转导,研究发现,ApoE4携带者的血小板和淋巴细胞处于生物能量应激状态,导致外周血巨噬细胞也无法吞噬A β ^[109-110]。血管细胞黏附分子1(vascular cell adhesion molecule-1, VCAM1)也称为CD106,是一种重要的细胞黏附分子,广泛表达在活化的内皮细胞表面,可调节其与免疫细胞的结合^[111]。白介素-33(interleukin-33, IL-33)可诱导小胶质细胞产生VCAM1,VCAM1和ApoE相互作用感应A β 斑块位置,促进小胶质细胞对A β 的趋化性;IL-33也可通过转录因子PU.1重新编程小胶质细胞表观遗传和转录组图谱,诱导产生具有强吞噬活性的小胶质细胞亚群,介导A β 清除。破坏VCAM1-ApoE相互作用会消除小胶质细胞的A β 趋化性,导致小胶质细胞清除A β 效率降低,表明小胶质细胞能定位和清除A β 可能依赖于VCAM1-ApoE相互作用过程^[111-113]。综上,ApoE4通过ITG- β 8或TREM2等途径损害小胶质细胞稳态,引起促炎状态,并且ApoE4通过减弱VCAM1-ApoE清除途径影响小胶质细胞对A β 的趋化性和清除能力。

2.3.2 ApoE介导星形胶质细胞对AD病理的影响

星形胶质细胞对神经元存活起着支持和保护作用,星形胶质细胞生理功能的丧失也是神经退行性变的主要病理表现^[114]。与表达ApoE2或ApoE3相比,表达ApoE4的P301S小鼠的Tau水平显著升高、Tau分布程度变大,且脑萎缩和神经炎症变严重,敲除*APOE4*基因的P301S小鼠受到神经保护作用。ApoE4的表达引起脑萎缩、神经炎症和神经元活力的减退。敲除*APOE4*基因的星形胶质细胞显示出最大的吞噬活力和最低水平的炎症因子分泌,表明星形胶质细胞功能可能受到ApoE4表达

的影响^[114-115]。特异性敲除星形胶质细胞 *ApoE4* 可显著降低 *Tau* 病理、淀粉样斑块沉积、HAM 活化和神经炎症水平^[116]。表达 *ApoE4* 的星形胶质细胞比表达 *ApoE3* 的星形胶质细胞产生脂滴和不饱和脂肪酸增多, 并降低星形胶质细胞与神经元的代谢交流^[117]。表达 *ApoE4* 的星形胶质细胞在过量摄取细胞外未酯化的胆固醇后, 触发炎症趋化因子和细胞因子表达, 进一步诱发促炎因子的释放^[65]。神经元中胆固醇维持低水平状态, 有利于抑制了 $A\beta$ 产生。*ApoE* 可诱导星形胶质细胞产生胆固醇, 从而特异性地将神经元淀粉样蛋白前体蛋白 (amyloid precursor protein, APP) 转入和转出脂质筏, APP 在 β 分泌酶 (β -secretase) 和 γ 分泌酶 (γ -secretase) 剪切作用下产生 $A\beta$ 。在 AD 小鼠模型中, 阻断星形胶质细胞的胆固醇合成或敲除星形胶质细胞中 *ApoE* 表达, 可使 APP 从脂质簇中转出, 在 α 分泌酶 (α -secretase) 作用下生成一种神经保护产物可溶性 APP- α (the soluble amyloid precursor protein, sAPP- α), 从而显著降低了 $A\beta$ 负荷, 表明 *ApoE4* 通过调节星形胶质细胞胆固醇信号转导促进 $A\beta$ 积累^[118]。星形胶质细胞分泌的一种 *ApoE4* 结合蛋白 (glypican-4, GPC-4) 可驱动 *Tau* 过度磷酸化, *ApoE4* 可能通过 LRP1 介导的 GPC-4 运输模式参与过度磷酸化 *Tau* 的扩散。携带 *ApoE4* 的 AD 患者大脑中星形胶质细胞高度表达 GPC-4。与 *ApoE2* 相比, GPC-4 优先与 *ApoE4* 相互作用。细胞和动物实验也证明, 星形胶质细胞分泌的 GPC-4 参与诱导 *Tau* 的过度磷酸化和积累。在缺失 GPC-4 的情况下, *ApoE4* 诱导的 *Tau* 过度磷酸化显著减少, 提示 *ApoE4* 通过 GPC-4 诱导 *Tau* 过度磷酸化^[119]。AD 和 CAA 的病理特征都是 $A\beta$ 在大脑中积累, CAA 的存在会加剧 AD 病理。在 CAA 小鼠模型中, 降低星形胶质细胞 *ApoE4* 表达水平也使脑实质内 $A\beta$ 的沉积减少, 且减少了 $A\beta$ 介导的神经胶质细胞增生, 并提升脑血管完整性和功能, 表明星形胶质细胞的 *ApoE4* 表达可促进 $A\beta$ 介导的胶质增生和脑血管功能障碍^[120]。在 HiPSC 衍生的星形胶质细胞中, 表达 *ApoE4* 相比于表达 *ApoE3* 的星形胶质细胞表现出严重的内吞功能缺陷, 提示 *ApoE4* 破坏星形胶质细胞的内吞作用。进一步研究发现, 增加人类 AD 突变易感因子磷脂酰肌醇结合网格蛋白装配蛋白 (phosphatidylinositol binding clathrin assembly protein, PICALM) 的表达可挽救 *ApoE4* 诱导的内吞缺陷, 提示 PICALM 可能是星形胶质细胞内吞

作用的关键蛋白质^[121]。

综上, 炎症在神经退行性变中扮演着重要角色, 靶向炎症的治疗被认为是阻止这种退行性变的有效策略。*ApoE* 通过调节神经胶质细胞的功能影响炎症进程。*ApoE4* 能下调 TAGLN3, 从而上调 NF- κ B 通路和抑制 HDACs 的活性, 诱发神经胶质细胞进入促炎状态, 并释放促炎细胞因子, 进而引发脑部炎症。小胶质细胞和星形胶质细胞在 AD 的神经炎症中发挥了关键作用, 表达 *ApoE4* 星形胶质细胞和小胶质细胞缺乏免疫调节作用。在小胶质细胞中, *ApoE4* 通过 ITG- β 8/TGF- β 信号转导途径破坏小胶质细胞脂质稳态, 促使小胶质细胞转变为促炎表型。*ApoE*、TERM2 和 TLR4 相互作用, 增加促炎因子分泌, 损害小胶质细胞对 $A\beta$ 的趋化性, 以及对神经元突触的吞噬。在星形胶质细胞中, *ApoE4* 通过改变胆固醇代谢和促使 GPC-4 分泌, 导致 $A\beta$ 的积累和 *Tau* 蛋白的过度磷酸化, 从而加重 AD 病理, 而 PICALM 蛋白可有效缓解表达 *ApoE4* 星形胶质细胞内吞下降。总之, *ApoE4* 通过调节神经胶质细胞的功能和神经炎症, 促进了神经退行性变的进展, 了解这些机制有助于开发针对 AD 的新的治疗策略。*ApoE* 亚型调节神经胶质细胞类型和神经炎症状态详见图 3。

2.4 *ApoE* 与神经可塑性和血脑屏障损伤

ApoE4 还可降低突触可塑性和 BBB 功能障碍^[122]。在中度认知障碍的 AD 患者中, 携带 *APOE4* 基因患者的突触结构和功能相关的蛋白质表达显著低于非携带 *APOE4* 基因患者^[123]。使用 *APOE4* 基因型的 iPSCs 建立类脑器官模型, 携带 *APOE4* 基因的 AD 患者源性类脑器官出现细胞凋亡增多和突触完整性降低^[72]。去除星形胶质细胞 *ApoE4* 可显著减少磷酸化 *Tau* 病理和 *Tau* 诱导的突触丢失, 提示星形胶质细胞中的 *ApoE4* 在突触变性中起着关键作用^[114]。突触前蛋白突触小体相关蛋白 25 (synaptosome-associated protein, SNAP-25) 和突触后蛋白神经颗粒蛋白 (neurogranin, Ng) 是 CSF 突触生物标志物, SNAP-25 和 Ng 在 AD 患者表现出症状后显著升高。*APOE4* 基因携带者比非携带者 CSF SNAP-25 特异性升高, 且不随 $A\beta$ 负荷改变, CSF Ng 升高所反映的突触后破坏与 $A\beta$ 状态有关, 表明 *APOE4* 基因携带者具有 $A\beta$ 非依赖性突触前破坏和 $A\beta$ 依赖性的突触后破坏^[124]。脑脊液突触前蛋白生长相关蛋白 43 (growth-associated protein, GAP-43) 是一种主要在海马体

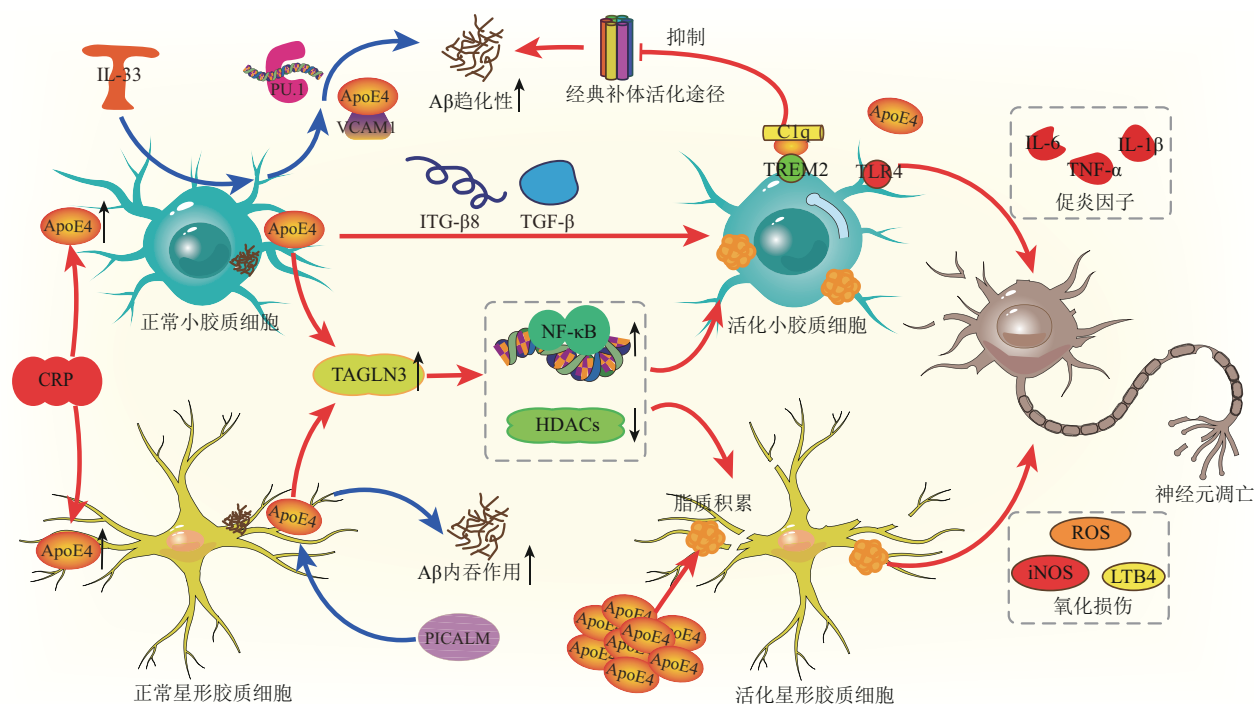


Fig. 3 ApoE4 exacerbates neuroinflammatory mechanisms of action by affecting astrocytes and microglia

图3 ApoE4通过调控星形胶质细胞和小胶质细胞活化加剧神经炎症的作用机制

ApoE由神经胶质细胞产生后,特异性下调TAGLN3,进而上调NF-κB通路和抑制HDACs活性,促使神经胶质细胞活化为促炎状态,通过TLR4增加IL-1β、IL-6和TNF-α等促炎细胞因子及ROS、iNOS和LTB4等氧化介质的表达,导致脑部炎症,促使突触损伤和神经元凋亡。体内高CRP水平也会增加ApoE4的分泌。PICALM是星形胶质细胞内吞Aβ的关键蛋白,表达PICALM可挽救ApoE4诱导的内吞缺陷。IL-33可诱导小胶质细胞产生VCAM1,VCAM1和ApoE相互作用感应Aβ斑块位置,促进小胶质细胞对Aβ的趋化性;IL-33也可通过转录因子PU.1增强小胶质细胞吞噬Aβ。TREM2通过与补体C1q高亲和力结合,特异性地抑制经典补体途径的激活,增加了补体介导的小胶质细胞吞噬作用。CRP: C反应蛋白; PU.1: 一种转录因子; PICALM: 磷脂酰肌醇结合网格蛋白装配蛋白; TAGLN3: 转胶蛋白3; HDACs: 组蛋白去乙酰化酶; TREM2: 髓细胞触发受体2; TLR4: Toll样受体4; C1q: 补体途径蛋白; VCAM1: 血管细胞黏附分子1; NF-κB: 核因子κB; TGF-β: 转化生长因子β; ITG-β8: 整合素β8; ROS: 活性氧类; LTB4: 白三烯B4; iNOS: 诱导型一氧化氮合酶。

和皮层中表达的突触前膜蛋白,在调节突触再生和功能中起重要作用。CSF GAP-43水平在AD患者中特异性增加,并随着原发性AD病理程度增加。随着携带APOE4基因的水平增加,APOE4基因携带者CSF GAP-43随之升高,此外原发性AD病理进一步加剧ApoE4对GAP-43相关突触前功能障碍的影响,且ApoE4介导的CSF突触前损伤与后期海马萎缩和认知能力下降独立相关^[125]。络丝蛋白(Reelin)是神经元迁移和突触功能的调节因子,参与神经发育、神经发生和神经元可塑性。在成人脑中Reelin可增强突触兴奋性,并防止Aβ毒性。Reelin通过调节酪氨酸磷酸酶(striatal enriched tyrosine phosphatases, STEP)和离子型谷氨酸受体α-氨基-3-羟基-5-甲基-4-异恶唑-丙ionic acid受体(α-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole-propionic acid receptor,

AMPA)的表达,在促进记忆形成和减缓神经退行性变中发挥作用。ApoE4可在细胞核内隔离Reelin受体载脂蛋白E受体2(apolipoprotein E receptor 2, ApoER2),阻止ApoER2胞内结构域的选择性剪接和释放,阻止ApoER2正常循环,并抑制Reelin信号通路转导,导致突触兴奋性下降,下调Reelin/ApoER2途径是ApoE4损害突触可塑性的重要机制,通过基因修饰方法增强Reelin基因功能对早发性AD具有保护作用,提示Reelin/ApoER2途径可能是早发性AD潜在的治疗靶点^[126-127]。

脑血管功能障碍被公认为AD的主要病理之一,BBB的破坏是认知能力下降的早期生物标志物。尽管Aβ和Tau都可以发挥血管毒性作用,导致AD大脑中的神经血管功能障碍和BBB分解,但ApoE4对脑血管系统表现出直接的毒性作用,与

A β 和 Tau 病理无关^[122]。ApoE4 通过炎症因子 IL-6 驱动 BBB 功能障碍, ApoE4 驱动 IL-6 表达是 BBB 功能障碍和神经炎症之间关系的纽带。ApoE4 诱导产生的相关血管因子, 与免疫反应升高协同作用, 也是导致 AD 病理增加的原因之一^[128]。近年一项针对 520 名患者的横向研究发现, 携带 *APOE* 基因的 AD 患者出现脑微出血比例增高, 且在 *APOE4* 基因携带者中脑微出血、脑皮质浅表铁沉着症、脑白质病变和血管周围间隙扩大与 A β 斑块的形成相关, 提示 *APOE4* 基因通过介导神经血管功能损伤, 促进 AD 病理^[129]。在小鼠血管壁细胞中表达 ApoE4, 会损害脑血管功能和小鼠空间学习记忆能力^[130]。ApoE4 与心血管疾病风险之间的相互作用对女性认知功能的损伤强于男性, 这些影响可能是由大脑中 Tau 病理的数量介导的。使用线性回归模型来检验性别、ApoE4、心血管风险及其相互作用对 Tau 沉积的影响发现, 性别、ApoE4 和心血管疾病风险对 Tau 沉积在内嗅皮质、下颞叶皮层和颞叶区域有显著的三方相互作用, 进一步发现, 携带 *APOE4* 基因的认知正常的老年女性, 早期特别容易受到大脑中 Tau 沉积的影响, 从而增加心血管疾病风险^[131]。随着年龄的增长, *APOE4* 基因的存在导致左旋肉碱生物能量系统的改变和左旋肉碱代谢物的产生, 从而对血管系统不利。年龄、ApoE4 水平增加与海马体积丢失率、情景记忆能力下降率增多有关。在认知正常的早期 AD 患者中, 减少心血管危险因素可降低患者 10 年内较少的海马体积损失和情景记忆下降, 表明降低心血管危险因素可能对 AD 高风险人群有益^[132]。因此, *APOE4* 基因可能与年龄增加、脑血管功能障碍相互作用, 促进 AD 发展^[133]。

综上, ApoE 介导 Tau 病理产生突触损失, ApoE 可进行 A β 非依赖性突触前破坏和 A β 依赖性的突触后破坏, 下调 Reelin/ApoER2 途径, 降低突触兴奋性和突触可塑性。ApoE4 可介导产生 IL-6 直接对 BBB 产生毒性作用。携带 *APOE4* 基因的患者 BBB 的损伤更易受到年龄、脑血管危险因素的影响。ApoE 损害突触可塑性及 BBB, 共同促进 AD 病理学发展。

3 基于 ApoE 的潜在治疗手段

目前 AD 疗法以三种胆碱酯酶抑制剂和一种 N-甲基-D-天冬氨酸受体阻滞剂的对症治疗为主, 可在短时间内部分改善 AD 患者的认知和行为症状^[134]。靶向 A β 的药物阿杜那单抗 (Aducanmab)

是美国食品药品监督管理局 (Food and drug administration, FDA) 于 2021 年批准的第一个潜在在改善 AD 的药物, 但其仍然存在脑出血、脑水肿等不良反应, 其临床益处需要进一步研究^[135]。因此, 迫切需要开发新的疾病修饰疗法来治疗 AD。多项临床实验分析显示, 抗体 lecanemab、aducanumab、solanezumab 和 donanemab 对 *ApoE4* 携带者的疗效略好于非携带者^[136]。在 AD 发病机制中, ApoE4 主要发挥毒害作用, 以引发神经炎症、脑血管系统损伤, 并加剧 A β 和 Tau 蛋白病理, 因此 ApoE4 的生理功能丧失有助于缓解 AD 病理学发展。美国国家老龄化研究所和 AD 测序项目工作组于 2023 年收集数据并讨论通过关于减少 ApoE4 能否作为 AD 的治疗干预措施的问题, 来自人类和动物模型的多项研究的累积数据一致表明, 降低 ApoE4 应该是 *APOE4* 基因携带者治疗方法的目标^[137]。靶向 ApoE4 的干预策略是潜在治疗携带 *APOE4* 基因的 AD 患者的有效手段^[138]。

3.1 ApoE 免疫疗法

抗 ApoE 免疫疗法是针对 ApoE4 的治疗方法之一^[138]。ApoE 抗体可以通过多种机制抑制淀粉样变性进展、缓解 A β 病理和改善认知功能^[139]。抗 ApoE 免疫疗法可改变神经胶质细胞反应、调节促炎细胞因子、修正 ApoE4 诱导的 ApoER2 减少和改善脑血管功能^[140]。

一种抗人 ApoE 抗体 HAE-4 存在潜在治疗效果, 该抗体选择性地识别在 CAA 和脑实质淀粉样蛋白病理中与 A β 共同沉积的人 ApoE。在表达人类 ApoE4 (5 $\times$ E4) 的 5 $\times$ FAD 杂交小鼠中, 这些杂交小鼠具有显著的 CAA 和实质斑块病理特征。长期 HAE-4 治疗这些杂交小鼠可减少包括 CAA 在内的 A β 沉积以及 A β 驱动的 Tau 扩散^[141]。HAE-4 不仅没出现抗 A β 抗体 (Bapineuzumab) 所存在的诱发脑水肿或出血的副作用, 而且在体内阻止 CAA 诱导的软脑膜动脉血管功能障碍。HAE-4 还抑制了皮层中的反应性小胶质细胞、星形胶质细胞和促炎相关基因表达, 提示靶向 CAA 和斑块核心的 ApoE 治疗可改善淀粉样蛋白病理, 同时保护脑血管完整性和功能^[140]。

另一种抗 ApoE 抗体 HJ6.3 在 APP/PS1 小鼠的长期治疗中降低脑 ApoE 水平, 阻止了新 A β 沉积物的形成, 限制了斑块生长, 并可能通过与 A β 聚集体的直接结合而参与斑块的清除。急性 HJ6.3 治疗也会干预 A β 沉积的过程, 14 d 局部施用 HJ6.3 治

疗也降低了淀粉样斑块的密度^[142]。ApoE3基督城变体(ApoE3 Christchurch, ApoE3 Ch)是一种罕见的纯合子变体,该变体以发现它的新西兰城市命名。ApoE3 Ch显著降低外周血脂异常和Tau病理,增强A β 斑块周围的小胶质细胞吞噬作用^[143]。硫酸乙酰肝素蛋白聚糖(heparan sulfate proteoglycans, HSPG)可抑制Tau扩散、调节A β 清除、聚集或毒性。ApoE4与HSPG的结合力较强,而ApoE2、ApoE3、ApoE3 Ch与HSPG的结合力较弱。ApoE3 Ch变体位于ApoE与LDLR-LRP结合的结构域,可参与阻断ApoE4-HSPG相互作用,恢复HSPG的神经保护作用^[144]。

一种表征ApoE3 Ch的单克隆抗体7C11可优先结合ApoE4,并破坏ApoE4-HSPG的相互作用。7C11减少了ApoE诱导的P301S小鼠视网膜中Tau蛋白积累,并抑制ApoE4敲入小鼠大脑中p-Tau水平。使用7C11抗体靶向ApoE-HSPG相互作用可能是一种潜在的AD新疗法^[143, 145]。一种罕见的ApoE变体ApoE4-R136S(Christchurch)突变被发现可预防携带PSEN1-E280A个体进展为早发性AD患者。ApoE4-R136S突变以基因剂量依赖性方式增加疾病保护和减少疾病相关细胞群,ApoE4-R136S纯合突变还可挽救ApoE4驱动的Tau病理、神经退行性变和神经炎症,因此ApoE-R136S突变可防止ApoE4驱动的AD病理,为AD的治疗开发提供一个靶点^[146]。

与携带APOE4基因的男性相比,携带APOE4基因的女性表现出更大的AD风险和更早的发病时间,可能与卵泡刺激素(follicle stimulating hormone, FSH)生理作用有关。FSH是一种在绝经后女性中升高的促性腺激素,被证明可激活海马体中的卵泡刺激素受体(follicle stimulating hormone receptor, FSHR),并驱动AD样病理和认知障碍。ApoE4和FSH通过激活C/EBP增强子结合蛋白 β (CCAAT/enhancer binding protein β , C/EBP β)/ δ 分泌酶信号,共同触发AD发病机制。通过抗FSH抗体(FSH-Ab)治疗卵巢切除术引起的AD样病变小鼠或APOE4基因敲入雌性小鼠,发现它们的认知缺陷均得到改善^[147]。

目前靶向A β 的单克隆抗体治疗效果依旧局限,且副作用问题难以克服。携带APOE基因提高患AD风险率,ApoE助推A β 、Tau病理和BBB损伤,因此靶向ApoE的治疗对于携带APOE基因的AD患者尤为重要。目前针对ApoE抗体有HAE-4、

HJ6.3、7C11等多种,抗ApoE治疗显示出减少ApoE表达的效果,且可调节神经胶质细胞功能,降低A β 和Tau病理,并改善脑血管功能和认知障碍。此外,增加神经保护性ApoE2和ApoE3 Ch的表达也是潜在的AD治疗方式。

3.2 老药新用对抗ApoE的疗法

基于降低ApoE水平可有效缓解AD神经病理的理论,利用已批准的药物来降低ApoE也是治疗AD的潜在方法^[148]。

二甲双胍(metformin)是一种常用的抗糖尿病药、降血糖药,是临床治疗2型糖尿病的一线药物。动物实验发现,利用二甲双胍灌胃治疗ApoE模型小鼠,300 mg/kg/d,持续5个月,可改善ApoE模型小鼠的认知功能,但却增加Tau磷酸化,表明利用二甲双胍针对胰岛素信号的治疗手段可能对携带APOE基因个体存在副作用^[149]。

雷帕霉素(rapamycin)是一种抗衰老、抗免疫排斥的药物,近期发现其可预防表达人类APOE4基因或过表达A β 的小鼠发展成AD。在5 $\times$ E4/5 $\times$ FAD杂交小鼠中,雷帕霉素恢复了脂质代谢、脑血流量、BBB介导A β 转运活性、神经递质水平、神经元完整性,并降低了A β 负荷。雷帕霉素已获得FDA批准,成为无症状APOE4基因携带者预防AD的一种潜在策略^[150]。

依诺肝素(enoxaparin)用于预防深静脉血栓形成及肺栓塞,依诺肝素分子对ApoE4与A β 相互作用位点具有很强的亲和力,可中和或破坏ApoE4-A β 复合物的形成,依诺肝素治疗可显著降低AD模型小鼠大脑皮质A β 水平,并减少斑块周围活化的星形胶质细胞的数量^[151]。

二十二碳六烯酸(docosahexaenoic acid, DHA)占大脑多不饱和脂肪酸总含量的40%以上,是脑磷脂和神经细胞膜磷脂不可或缺的成分,在促进和维持神经系统细胞的生长中起着重要的作用。APOE4基因携带者的DHA分解代谢加速、BBB的运输受损、脂质循环功能受损,DHA和二十碳五烯酸(eicosapentaenoic acid, EPA)向大脑的输送减少,引起ApoE4介导的认知障碍^[152]。DHA治疗后,CSF DHA增加28%,CSF EPA增加43%,且非APOE4基因携带者CSF EPA的增加是APOE4基因携带者的3倍。使用DHA足剂量补充剂治疗,发现会减少APOE4基因携带者大脑痴呆的影响,早期补充DHA可能会给携带APOE4基因的认知正常的老年人带来益处,提示补充DHA可能是一种

潜在的干预策略^[153]。

他莫西芬 (tamoxifen) 是一种抗雌激素药, 是治疗卵巢癌和乳腺癌的一线药物。研究发现, 利用他莫西芬治疗, 表达 ApoE4 的 P301S Tau 小鼠的星形胶质细胞的 ApoE4 表达水平下降, 进而显著减少 Tau 介导的病理学改变和神经退行性变, 提示他莫西芬治疗可能对降低 ApoE4 表达有益^[114]。

利用已开发的药物进行抗 ApoE 治疗, 揭示老药的新作用机制, 不仅节约研发成本, 还提高患者用药依从性。抗糖尿病药物 (如二甲双胍)、抗衰老和免疫排斥药物 (如雷帕霉素)、辅助脑细胞发育药物 (如 DHA)、抗雌激素 (如他莫西芬) 等在治疗携带 *APOE4* 基因的小鼠或患者中, 展现了降低 ApoE4 表达, 改善 ApoE4 介导的认识障碍、BBB 的损伤、A β 水平、Tau 病理和神经退行性变等作用。

3.3 基于 ApoE 的基因调控疗法

多项研究表明, 在 APP 转基因小鼠中敲除内源性 *ApoE* 可显著降低 A β 病理, 或在 APP 转基因小鼠中特异性敲除星形胶质细胞 *ApoE* 可降低与疾病相关的基因表达^[58, 154]。在 APP 模型小鼠中, 敲除 *ApoE4* 基因可观察到丝状 A β 沉积物减少、神经炎症下降、星形胶质细胞和小胶质细胞增生也减少^[155]。Tau P301S (PS19) 小鼠经过敲除 *ApoE* 后免受 Tau 介导的神经变性, 获得神经保护作用^[156]。在 PS19-ApoE4 小鼠中, 特异性敲除星形胶质细胞 *ApoE4* 可显著减少 Tau 介导的病理学改变和神经变性^[114]。因此, 通过基因敲除手段减少 ApoE 表达是缓解 AD 病理的一种有潜力的策略。

增加细胞中 ApoER2 的循环转运可提高 ApoER2 的表达水平, ApoER2 激活 Reelin 信号通路, 进而发挥 AD 的神经保护功能^[157]。ApoE4 减弱了分拣连接蛋白 17 (recombinant Sorting Nexin 17, SNX17) 与 ApoER2 的结合, 抑制了 ApoER2 的再循环, 导致细胞中 ApoER2 的表达水平降低, 导致突触生长受抑制。鼠尾草酸 (carnosic acid, CA) 是一种植物源抗氧化剂, 被证明在 AD 小鼠模型中具有神经保护和神经营养功能。CA 增强了 SNX17 与 ApoER2 的结合, 抵消了 ApoE4 对 ApoER2 的负面影响。CA 通过增加 N-甲基-D-天冬氨酸受体 (N-methyl-D-aspartic acid receptor, NMDAR) 和环磷酸腺苷反应元件结合蛋白 (cAMP-response element binding protein, CREB) 的磷酸化以及 AMPA 离子能谷氨酸受体 2

(glutamate receptor ionotropic AMPA 2, GRIA2) 的表达, 解除 ApoE4 对 Reelin 信号通路的抑制作用, 进而促进神经元突触生长^[157-158], 提示 CA 治疗通过抵消 ApoE4 对 Reelin 信号通路的抑制来发挥神经保护作用。此外, 通过使用钠通道阻滞剂阿米洛利 (amiloride) 或 shRNA 干扰技术抑制质子通道钠氢转运蛋白 6 (sodium-hydrogen exchanger, NHE-6) 水平, 可恢复被 ApoE4 所抑制的 Reelin 途径, 提高 Reelin 介导的兴奋性突触调节。通过药理学和遗传学方法对 ApoE4 小鼠进行抑制 NHE-6 治疗, 可增强 Reelin 表达, 并恢复了 A β 诱导的长时程增强 (long-term potentiation, LTP) 抑制^[159]。因此, CA 治疗可消除 ApoE4 对 ApoER2 和 Reelin 信号通路的抑制作用, 从而发挥神经保护作用。抑制 NHE-6 治疗方法可降低 ApoE4 的影响, 提高 Reelin 介导的兴奋传导。

LDLR、LRP1 与 ApoE 存在相互作用, 三者互作模式可能是 AD 潜在治疗的靶点。在 APP/PS1 小鼠模型中, 过表达 LDLR 可诱导 ApoE 表达降低, 并伴有 AD 神经病理减缓^[83]。过表达 LRP1 可使脑内 ApoE 水平降低 25%^[160], 过表达 LDLR 可使脑内 ApoE 水平降低 50%~90%, ApoE 与 A β 聚集的显著衰减, 提高 A β 清除和抑制斑块介导的神经炎症反应。两倍的 LDLR 蛋白过表达可以使脑部的 ApoE 和 A β 水平降低 50% 以上, 提示通过调节 LDLR 表达降低 ApoE 和 A β 水平是适于治疗 AD 的方法^[161]。同样, 在 PS19 小鼠中过表达 LDLR 也可显著降低脑部 ApoE 和磷酸化 Tau 水平, 并随后改善 Tau 病理和神经退行性变^[83]。LDLR 的可诱导降解物 (inducible degrader of the low-density lipoprotein receptor, IDOL) 是一种泛素连接酶, IDOL 与 LDLR 尾部结合, 从而触发 LDLR 泛素化和降解。敲除 *IDOL* 导致 APP/PS1 小鼠的 ApoE 水平显著降低, A β 清除加速, 淀粉样斑块负荷减少和神经炎症改善, 提示通过抑制 IDOL 防止 LDLR 降解也是改善 AD 的途径之一^[162]。因此, 过表达 LDLR 或敲除 IDOL 可降低 ApoE 水平和 A β 负荷, 是间接靶向 ApoE 的潜在干预方法。

反义寡核苷酸 (antisense oligodeoxynucleotides, ASO) 通过序列特异地与靶基因 DNA 或 mRNA 结合而抑制靶基因表达, 有望成为治疗神经系统疾病的潜在方法。ASO 是一类新型药物, 在基因水平调控靶基因表达。2016 年 FDA 批准使用的 ASO 药物诺西那生钠 (Nusinersen), 确定为

神经退行性疾病的有效治疗药物, 不仅延缓疾病进展, 还可改善疾病症状^[163]。鞘内注射ASO到CSF会产生药物作用广泛分布和长期效果。目前, 针对微管相关蛋白Tau的ASO治疗正处于1/2期临床试验中^[164]。使用ASO降低IDOL表达的治疗, 可显著增加雄性APP/PS1小鼠大脑LDLR水平和降低ApoE水平, 增强A β 的吞噬和清除, 进而改善A β 依赖性病理和认知能力下降^[165]。在A β 斑块沉积前, 利用ASO降低ApoE4表达的治疗可显著抑制APP/PS1小鼠大脑中A β 斑块的形成, 而在A β 斑块沉积后接种治疗可调节斑块大小和毒性^[69]。在5 $\times$ E4/P301S小鼠模型中, 针对ApoE4的ASO治疗可将ApoE4水平降低约50%, 同时显著降低Tau相关的病理^[166]。因此, 使用ASO技术降低IDOL或ApoE4表达, 可缓解A β 和Tau病理。

双链小干扰RNA (small interfering RNA, siRNA) 是另一种基于寡核苷酸的干预方法。随着siRNA化学修饰的进步, 用于有效和持久地在CNS中实现靶基因沉默, 使治疗神经系统疾病将成为可能^[167]。最近研究发现, 组织特异性ApoE siRNA完全沉默了大脑中的ApoE表达, 极大地抑制了APP/PS1小鼠、5 $\times$ FAD小鼠的淀粉样斑块负荷, 且不影响全身胆固醇水平^[168-169]。因此, 利用siRNA技术沉默ApoE表达, 对于携带*APOE4*基因的AD患者来说可能是一种有前景的治疗策略。

室管膜是大脑脑室系统和脊髓中央管的薄神经上皮层, 参与CSF的产生, 并被证明可作为神经再生的储存库^[170]。近期有课题组研究利用具有神经保护作用的ApoE2来中和或对抗ApoE4, 在已形成A β 斑块的小鼠中将腺相关病毒 (adeno-associated virus, AAV) 衣壳包被的*APOE2*基因导入小鼠大脑室管膜, 诱导ApoE2表达, 发现不仅可以防止新斑块形成, 甚至可缩小已沉积的斑块面积, 显著改善斑块周围的突触丢失和神经炎症, 此治疗方法不仅提示利用ApoE2中和ApoE4的基因疗法存在巨大潜力, 而且证明通过在室管膜转导靶基因表达可解决靶基因在脑实质扩散率低的问题^[171]。因此, 将载有*APOE2*基因的AAV递送至室管膜, 诱导ApoE2产生, 能有效对抗ApoE4介导的神经病理。

中药作为药物的天然宝库, 在治疗AD方面具有巨大潜力。中药白藜芦醇 (resveratrol, Res) 和水景苷 (salidroside, Sal) 在多项动物研究和临床

试验均可改善AD病理, 然而由于其特异性差、溶解度低、BBB穿透不足, 临床应用相当有限。一种纳米药物递送系统, 将Res和Sal封装在脂质体中, 脂质体用ApoE进行表面修饰 (ApoE-Res/Sal-Lips) 以弥补难以通过BBB的缺陷。在体外, ApoE-Res/Sal-Lips增加了细胞对Res和Sal的摄取, 增强了BBB渗透率, 提高了转运效率。在体内研究发现, ApoE-Res/Sal-Lips可缓解AD病理症状, 并改善学习和记忆障碍, 表明利用ApoE作为载体, 将药物靶向AD病理也是有前景的策略^[172]。在神经胶质细胞中, ApoE主要通过ATP结合盒转运蛋白A1 (ATP binding cassette transporter A1, ABCA1) 进行胆固醇外排。因此, 增加ABCA1活性被认为是一种治疗方法。CS-6253 (CS) 是一种新型ApoE模拟肽, 旨在结合和稳定ABCA1, 并维持其定位到质膜中, 从而促进胆固醇外排。以CS处理原代培养的神经胶质, 可增加细胞培养基中的可溶性脂质清除型ApoE水平和胆固醇外排率。在年轻的雄性E3FAD小鼠中, CS治疗降低了A β 水平和神经炎症性斑块沉积, 提高突触蛋白水平和记忆能力, 但CS治疗在年轻雌鼠和老年鼠中未发现治疗的益处, 可能CS治疗受限于性别和年龄因素^[173]。因此, 基于ApoE-Res/Sal-Lips体系递送药物Res或Sal, 可克服直接给药出现BBB穿透不足、药物靶向性差、药物利用率低的问题, 有效发挥药效作用。在细胞、年轻雄性模型小鼠实验中, 发现CS治疗可靶向ABCA1, 增加胆固醇外排, 降低A β 负荷。

综上, 随着基因编辑技术的广泛应用, 通过基因敲除手段减少ApoE表达是缓解AD病理的一种有潜力的策略。敲除内源性*ApoE*能够显著减少A β 病理、降低神经炎症、改善神经保护作用。增加ApoER2的循环转运能提高其表达, 并通过激活Reelin信号通路发挥神经保护作用。抑制NHE-6水平和CA治疗都可增强SNX17与ApoER2的结合, 抵消ApoE4对Reelin通路的抑制, 促进突触生长。此外, LDLR、LRP1与ApoE存在相互作用, 三者相互作用模式是AD潜在治疗的靶点, 过表达LDLR或抑制IDOL能降低ApoE水平和A β 负荷, 改善神经病理。ASO和siRNA技术显示出通过靶向ApoE或IDOL可改善A β 和Tau病理。ASO治疗降低ApoE4水平, siRNA技术在小鼠中沉默ApoE表达, 有助于减少淀粉样斑块负荷。除了上述方法

外, 室管膜转导靶基因表达可解决靶基因在脑实质扩散率低的问题。通过将载有 ApoE2 的 AAV 递送至小鼠大脑室管膜, 利用具有神经保护作用的 ApoE2 来中和或对抗 ApoE4 的基因疗法可以诱导 ApoE2 表达, 防止新斑块形成, 并缩小已沉积的斑块面积, 显著改善神经病理。基于 ApoE 的药物递送系统和靶向 ABCA1 的治疗方法也被研究用于改善 AD 病理。利用脂质体修饰的白藜芦醇和水景苣

(ApoE-Res/Sal-Lips), 提高了药物的脑部渗透率, 缓解了 AD 病理症状。CS-6253 作为 ApoE 模拟肽, 能增加 ABCA1 活性可以促进胆固醇外排, 降低 A β 负荷, 这也为 AD 的治疗提供了另一种潜在的策略。整体上, 这些研究表明, 通过基因敲除、药物递送系统和 RNA 干预等多种策略, 有效对抗 ApoE4, 减缓 AD 进展。此外, 本文总结多种潜在对抗 ApoE 治疗药物, 具体实验数据见表 2。

Table 2 Treatment drugs have been found to combat ApoE in animal experiments
表2 在动物实验中新发现可对抗ApoE的药物

名称	主要靶点	小鼠品系	月龄	给药方式	治疗时间	治疗剂量	参考文献
HAE-4	ApoE	5×E4/5×FAD小鼠	8~10	腹腔注射	8周	50 mg/(kg·周)	[140-141]
HJ6.3	ApoE	APP/PS1小鼠	7	腹腔注射	21周	10 mg/(kg·周)	[142]
7C11	ApoE	P301S小鼠	16	腹腔注射	4 d	第1天20 mg/kg, 第2~4天10 mg/kg	[145]
FSH-Ab	FSH	ApoE4-TR小鼠	4	腹腔注射	8周	200 μ g/d, 6 d/周	[147]
CA	ROS	3×Tg AD小鼠、hAPP-J20小鼠	3	经鼻给药	3月	2次/周	[157-158]
ASO	IDOL	APP/PS1小鼠	3	腹腔注射	6月	每3~4月注射一次, 40 μ g/次	[165]
ASO	Tau	P301S/ApoE4小鼠	6	脑室注射	3月	10 μ l到右侧脑室, 浓度为35 g/L	[166]
二甲双胍	AMPK	ApoE4-TR 小鼠	13	灌胃给药	5月	300 mg/(kg·d)	[149]
雷帕霉素	磷酸化mTOR	E4FAD小鼠	3	混饲给药	16周	2.24 mg/(kg·d)	[150]
他莫西芬	Tau	P301STau/Aldh1l1-CreERT2/apoE4 ^{flox/flox} 小鼠	5.5	腹腔注射	4月	200 mg/(kg·d), 5 d/周	[114]
CS-6253	ABCA1	E3FAD小鼠、E4FAD小鼠	4或8	腹腔注射	4月	30 mg/(kg·d)	[173]

FSH-Ab: 卵泡刺激素抗体 (follicle stimulating hormone-antibody)。CA: 鼠尾草酸 (carnosic acid), 是一种植物源抗氧化剂。ASO: 反义寡核苷酸 (antisense oligodeoxynucleotides)。二甲双胍: metformin。AMPK: 腺苷酸活化蛋白激酶 (adenosine 5'-monophosphate (AMP)-activated protein kinase)。雷帕霉素: rapamycin。mTOR: 一种哺乳动物雷帕霉素靶标蛋白 (mammalian target of rapamycin)。他莫西芬: tamoxifen。CS-6253: 一种新型ApoE模拟肽, 旨在结合和稳定ATP结合盒转运蛋白A1 (ATP binding cassette transporter A1, ABCA1)。

4 展 望

ApoE 是大脑内丰度最高的载脂蛋白, 可以帮助脂肪进出细胞。大脑中 ApoE 与富含胆固醇的高密度脂蛋白复合物结合, 以脂质微粒形式穿过细胞膜 ApoE 受体释放出细胞外, 后被神经元摄取。ApoE 摄入后主要参与神经元胆固醇跨细胞运输, 以维持神经发育和突触修复, 从而参与神经元脂质代谢过程。不同亚型的 ApoE 不同程度地调控神经元脂质转运, 因而 ApoE 不同变体致病风险不同, ApoE2 引起 AD 风险最小, 而 ApoE4 致病风险最大。ApoE 亚型对 AD 病理也具有不同的影响。与 ApoE2 和 ApoE3 相比, ApoE4 脂质化能力较差, 脂质转运能力受损, 导致细胞脂肪滴含量增加。ApoE4 通过产生毒性功能和抵制神经保护功能增加

AD 风险, 而 ApoE2 则可中和或对抗 ApoE4 对 AD 产生神经保护作用。ApoE4 通过与 ABCA1 作用促进胆固醇外排, 而与 LXR 受体作用损害脂质外排。ApoE4 加剧 A β 、Tau 和神经炎症等神经病理学, 同时还损伤血管和 BBB 完整性, 因此 ApoE4 对 AD 相关病理的影响是多层次的。超过 3/4 的 AD 病例与有害的 *APOE* 基因变异有关, 干预 ApoE 途径就可以改善大约 75% AD 患者的病情。ApoE4 在诱发神经退行性病变的复杂通路中属于上游介质, 使其成为治疗神经退行性疾病的理想靶点。ApoE4 导致脂质稳态受损, 并助推 A β 在血管和脑区积累, 是疾病进展的主要原因, 通过基因敲除技术直接靶向降低 ApoE4 表达, 临期前实验表明可降低 ApoE4 介导的神经病理。通过 CA 疗法、NHE-6 疗法、过表达 LDLR 或敲除 *IDOL* 的基因疗法、CS 治疗、

LXR 或 RXR 受体激动剂疗法, 间接消除 ApoE 作用, 展现出对抗 ApoE 的疗效, 已在细胞水平和动物实验中得到潜在可行性的验证。应用 ASO、siRNA、AAV 等新型治疗工具来降低 ApoE 表达, 也展现出一些治疗效果。借助纳米药物递送系统将药物 Res 或 Sal 包装成 ApoE-Res/Sal-Lips 脂质体系, 输送至大脑, 有效发挥药效作用, 充分发挥老药新用优势。

迄今为止, 针对 ApoE 的治疗开发主要集中在细胞或小鼠疾病模型上, 但 ApoE4 在小鼠和人类中的功能不同, 导致在小鼠身上有效的治疗方法不能很好地转化应用于人类。与抗 A β 和抗 Tau 免疫疗法相比, 抗 ApoE 疗法的人体临床试验转化仍然很少。ApoE 生物学和病理生物学的复杂性为设计有效的 ApoE 靶向治疗策略带来了挑战。传统对抗 ApoE4 的疗法困难重重, 可能主要因为不同变体 ApoE 的脂质化程度不同, 其蛋白质三级构象不同, 通过基因编辑或修饰手段很难将 ApoE4 构象转变为 ApoE3 或 ApoE2。其次由于 ApoE4 影响多条通路, 很难筛选出有意义的下游靶点。尽管存在重重困难, 但 ApoE4 是 AD 最大风险的遗传因素, 深入研究 ApoE4 对人类大脑的影响及其在 AD 发病机制中的作用, 有助于开发针对 ApoE4 和相关风险因素的靶向治疗策略, 为 AD 患者提供更有效的治疗方法。研发表达稳定、副作用少的新型 ApoE 抗体依然面临巨大挑战。通过新型技术降低大脑中 ApoE4 水平同时增加 ApoE2 水平是具有巨大治疗潜力的策略, 将是未来研究主攻方向。未来通过充分利用细胞类型特异性功能特点, 结合单细胞测序、多组学分析策略, 可能为开发 AD 治疗靶点提供重要见解。随着药物利用率提高和基因编辑技术、最小化 ASO, 以及毒性小 siRNA 等技术进步, 抗 ApoE4 疗法可能在不久的将来应用于临床试验中。

参 考 文 献

- [1] Long J M, Holtzman D M. Alzheimer disease: an update on pathobiology and treatment strategies. *Cell*, 2019, **179**(2): 312-339
- [2] Chen Y, Strickland M R, Soranno A, *et al.* Apolipoprotein E: structural insights and links to Alzheimer disease pathogenesis. *Neuron*, 2021, **109**(2): 205-221
- [3] Kulmiski A M, Huang J, Wang J, *et al.* Apolipoprotein E region molecular signatures of Alzheimer's disease. *Aging Cell*, 2018, **17**(4): e12779
- [4] 张磊, 郑芳. 载脂蛋白 E 基因分型方法学进展及其临床意义. *中华检验医学杂志*, 2018, **41**(12): 963-967
- [5] Zhang L, Zheng F. *Chin J Lab Med*, 2018, **41**(12): 963-967
- [6] Hatters D M, Peters-Libeu C A, Weisgraber K H. Apolipoprotein E structure: insights into function. *Trends Biochem Sci*, 2006, **31**(8): 445-454
- [7] Wilson C, Wardell M R, Weisgraber K H, *et al.* Three-dimensional structure of the LDL receptor-binding domain of human apolipoprotein E. *Science*, 1991, **252**(5014): 1817-1822
- [8] Huang Y, Mahley R W. Apolipoprotein E: structure and function in lipid metabolism, neurobiology, and Alzheimer's diseases. *Neurobiol Dis*, 2014, **72 Pt A**: 3-12
- [9] Tudorache I F, Trusca V G, Gafencu A V. Apolipoprotein E - A multifunctional protein with implications in various pathologies as a result of its structural features. *Comput Struct Biotechnol J*, 2017, **15**: 359-365
- [10] Yang L G, March Z M, Stephenson R A, *et al.* Apolipoprotein E in lipid metabolism and neurodegenerative disease. *Trends Endocrinol Metab*, 2023, **34**(8): 430-445
- [11] Wernette-Hammond M E, Lauer S J, Corsini A, *et al.* Glycosylation of human apolipoprotein E. The carbohydrate attachment site is threonine 194. *J Biol Chem*, 1989, **264**(15): 9094-9101
- [12] Weisgraber K H. Apolipoprotein E: structure-function relationships. *Adv Protein Chem*, 1994, **45**: 249-302
- [13] Yamazaki Y, Zhao N, Caulfield T R, *et al.* Apolipoprotein E and Alzheimer disease: pathobiology and targeting strategies. *Nat Rev Neurol*, 2019, **15**(9): 501-518
- [14] Troutwine B R, Hamid L, Lysaker C R, *et al.* Apolipoprotein E and Alzheimer's disease. *Acta Pharm Sin B*, 2022, **12**(2): 496-510
- [15] Qin W, Li W, Wang Q, *et al.* Race-related association between APOE genotype and Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis. *J Alzheimers Dis*, 2021, **83**(2): 897-906
- [16] Neu S C, Pa J, Kukull W, *et al.* Apolipoprotein E genotype and sex risk factors for Alzheimer disease: a meta-analysis. *JAMA Neurol*, 2017, **74**(10): 1178-1189
- [17] Fortea J, Pegueroles J, Alcolea D, *et al.* APOE4 homozygosity represents a distinct genetic form of Alzheimer's disease. *Nat Med*, 2024, **30**(5): 1284-1291
- [18] Lozupone M, Dibello V, Sardone R, *et al.* The impact of apolipoprotein E (*APOE*) epigenetics on aging and sporadic Alzheimer's disease. *Biology*, 2023, **12**(12): 1529
- [19] Shinohara M, Kanekiyo T, Tachibana M, *et al.* *APOE2* is associated with longevity independent of Alzheimer's disease. *eLife*, 2020, **9**: e62199
- [20] Li Z, Shue F, Zhao N, *et al.* APOE2: protective mechanism and therapeutic implications for Alzheimer's disease. *Mol Neurodegener*, 2020, **15**(1): 63
- [21] Windham I A, Powers A E, Ragusa J V, *et al.* APOE traffics to astrocyte lipid droplets and modulates triglyceride saturation and droplet size. 2024, **223**(4): e202305003
- [22] Farmer B C, Williams H C, Devanney N A, *et al.* APOE4 lowers energy expenditure in females and impairs glucose oxidation by increasing flux through aerobic glycolysis. *Mol Neurodegener*,

- 2021, **16**(1): 62
- [22] Williams H C, Farmer B C, Piron M A, *et al.* APOE alters glucose flux through central carbon pathways in astrocytes. *Neurobiol Dis*, 2020, **136**: 104742
- [23] Tcw J, Qian L, Pipalia N H, *et al.* Cholesterol and matrisome pathways dysregulated in astrocytes and microglia. *Cell*, 2022, **185**(13): 2213-2233.e25
- [24] Victor M B, Leary N, Luna X, *et al.* Lipid accumulation induced by APOE4 impairs microglial surveillance of neuronal-network activity. *Cell Stem Cell*, 2022, **29**(8): 1197-1212.e8
- [25] Lee H, Cho S, Kim M J, *et al.* ApoE4-dependent lysosomal cholesterol accumulation impairs mitochondrial homeostasis and oxidative phosphorylation in human astrocytes. *Cell Rep*, 2023, **42**(10): 113183
- [26] Muñoz Herrera O M, Zivkovic A M. Microglia and cholesterol handling: implications for Alzheimer's disease. *Biomedicines*, 2022, **10**(12): 3105
- [27] Litvinchuk A, Suh J H, Guo J L, *et al.* Amelioration of Tau and ApoE4-linked glial lipid accumulation and neurodegeneration with an LXR agonist. *Neuron*, 2024, **112**(3): 384-403.e8
- [28] Chen Y, Yin M, Cao X, *et al.* Pro- and anti-inflammatory effects of high cholesterol diet on aged brain. *Aging Dis*, 2018, **9**(3): 374-390
- [29] Duong M T, Nasrallah I M, Wolk D A, *et al.* Cholesterol, atherosclerosis, and APOE in vascular contributions to cognitive impairment and dementia (VCID): potential mechanisms and therapy. *Front Aging Neurosci*, 2021, **13**: 647990
- [30] Iannucci J, Sen A, Grammas P. Isoform-specific effects of apolipoprotein E on markers of inflammation and toxicity in brain glia and neuronal cells *in vitro*. *Curr Issues Mol Biol*, 2021, **43**(1): 215-225
- [31] Blanchard J W, Akay L A, Davila-Velderrain J, *et al.* APOE4 impairs myelination *via* cholesterol dysregulation in oligodendrocytes. *Nature*, 2022, **611**(7937): 769-779
- [32] Nichols E, Brickman A M, Casaletto K B, *et al.* AD and non-AD mediators of the pathway between the APOE genotype and cognition. *Alzheimers Dement*, 2023, **19**(6): 2508-2519
- [33] Agosta F, Vessel K A, Miller B L, *et al.* Apolipoprotein E epsilon4 is associated with disease-specific effects on brain atrophy in Alzheimer's disease and frontotemporal dementia. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, **106**(6): 2018-2022
- [34] Vermunt L, Sikkes S A M, van den Hout A, *et al.* Duration of preclinical, prodromal, and dementia stages of Alzheimer's disease in relation to age, sex, and APOE genotype. *Alzheimers Dement*, 2019, **15**(7): 888-898
- [35] Zhao N, Ren Y, Yamazaki Y, *et al.* Alzheimer's risk factors age, APOE genotype, and sex drive distinct molecular pathways. *Neuron*, 2020, **106**(5): 727-742.e6
- [36] Nemes S, Logan P E, Manchella M K, *et al.* Sex and APOE ϵ 4 carrier effects on atrophy, amyloid PET, and tau PET burden in early-onset Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement*, 2023, **19**(Suppl 9): S49-S63
- [37] Verghese P B, Castellano J M, Holtzman D M. Apolipoprotein E in Alzheimer's disease and other neurological disorders. *Lancet Neurol*, 2011, **10**(3): 241-252
- [38] Castellano J M, Kim J, Stewart F R, *et al.* Human apoE isoforms differentially regulate brain amyloid- β peptide clearance. *Sci Transl Med*, 2011, **3**(89): 89ra57
- [39] Christensen D Z, Schneider-Axmann T, Lucassen P J, *et al.* Accumulation of intraneuronal A β correlates with ApoE4 genotype. *Acta Neuropathol*, 2010, **119**(5): 555-566
- [40] Serrano-Pozo A, Qian J, Monsell S E, *et al.* APOE ϵ 2 is associated with milder clinical and pathological Alzheimer disease. *Ann Neurol*, 2015, **77**(6): 917-929
- [41] Morris J C, Roe C M, Xiong C, *et al.* APOE predicts amyloid-beta but not tau Alzheimer pathology in cognitively normal aging. *Ann Neurol*, 2010, **67**(1): 122-131
- [42] Gonneaud J, Arenaza-Urquijo E M, Fouquet M, *et al.* Relative effect of APOE ϵ 4 on neuroimaging biomarker changes across the lifespan. *Neurology*, 2016, **87**(16): 1696-1703
- [43] Fleisher A S, Chen K, Liu X, *et al.* Apolipoprotein E ϵ 4 and age effects on florbetapir positron emission tomography in healthy aging and Alzheimer disease. *Neurobiol Aging*, 2013, **34**(1): 1-12
- [44] Schmechel D E, Saunders A M, Strittmatter W J, *et al.* Increased amyloid beta-peptide deposition in cerebral cortex as a consequence of apolipoprotein E genotype in late-onset Alzheimer disease. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1993, **90**(20): 9649-9653
- [45] Bertram L, McQueen M B, Mullin K, *et al.* Systematic meta-analyses of Alzheimer disease genetic association studies: the A β Gene database. *Nat Genet*, 2007, **39**(1): 17-23
- [46] Salvadó G, Grothe M J, Groot C, *et al.* Differential associations of APOE- ϵ 2 and APOE- ϵ 4 alleles with PET-measured amyloid- β and tau deposition in older individuals without dementia. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 2021, **48**(7): 2212-2224
- [47] Pan F, Wang Y, Wang Y, *et al.* Sex and APOE genotype differences in amyloid deposition and cognitive performance along the Alzheimer's Continuum. *Neurobiol Aging*, 2023, **130**: 84-92
- [48] Fitz N F, Cronican A A, Saleem M, *et al.* Abca1 deficiency affects Alzheimer's disease-like phenotype in human ApoE4 but not in ApoE3-targeted replacement mice. *J Neurosci*, 2012, **32**(38): 13125-13136
- [49] Tokuda T, Calero M, Matsubara E, *et al.* Lipidation of apolipoprotein E influences its isoform-specific interaction with Alzheimer's amyloid beta peptides. *Biochem J*, 2000, **348**(Pt 2): 359-365
- [50] Verghese P B, Castellano J M, Garai K, *et al.* ApoE influences amyloid- β (A β) clearance despite minimal apoE/A β association in physiological conditions. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, **110**(19): E1807-E1816
- [51] Das S, Li Z, Wachter A, *et al.* Distinct transcriptomic responses to A β plaques, neurofibrillary tangles, and APOE in Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement*, 2024, **20**(1): 74-90
- [52] Lim Y Y, Mormino E C, Initiative A D N. APOE genotype and early β -amyloid accumulation in older adults without dementia. *Neurology*, 2017, **89**(10): 1028-1034

- [53] Hashimoto T, Serrano-Pozo A, Hori Y, *et al.* Apolipoprotein E, especially apolipoprotein E4, increases the oligomerization of amyloid β peptide. *J Neurosci*, 2012, **32**(43): 15181-15192
- [54] Liu C C, Zhao N, Fu Y, *et al.* ApoE4 accelerates early seeding of amyloid pathology. *Neuron*, 2017, **96**(5): 1024-1032.e3
- [55] Irizarry M C, Cheung B S, Rebeck G W, *et al.* Apolipoprotein E affects the amount, form, and anatomical distribution of amyloid beta-peptide deposition in homozygous APP(V717F) transgenic mice. *Acta Neuropathol*, 2000, **100**(5): 451-458
- [56] Holtzman D M, Bales K R, Wu S, *et al.* Expression of human apolipoprotein E reduces amyloid-beta deposition in a mouse model of Alzheimer's disease. *J Clin Invest*, 1999, **103**(6): R15-R21
- [57] Bien-Ly N, Gillespie A K, Walker D, *et al.* Reducing human apolipoprotein E levels attenuates age-dependent A β accumulation in mutant human amyloid precursor protein transgenic mice. *J Neurosci*, 2012, **32**(14): 4803-4811
- [58] Holtzman D M, Bales K R, Tenkova T, *et al.* Apolipoprotein E isoform-dependent amyloid deposition and neuritic degeneration in a mouse model of Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, **97**(6): 2892-2897
- [59] Wisniewski T, Drummond E. APOE-amyloid interaction: Therapeutic targets. *Neurobiol Dis*, 2020, **138**: 104784
- [60] Deane R, Sagare A, Hamm K, *et al.* apoE isoform-specific disruption of amyloid beta peptide clearance from mouse brain. *J Clin Invest*, 2008, **118**(12): 4002-4013
- [61] Huynh T P V, Davis A A, Ulrich J D, *et al.* Apolipoprotein E and Alzheimer's disease: the influence of apolipoprotein E on amyloid- β and other amyloidogenic proteins. *J Lipid Res*, 2017, **58**(5): 824-836
- [62] Lee H, Aylward A J, Pearce R V, *et al.* Cell-type-specific regulation of APOE and CLU levels in human neurons by the Alzheimer's disease risk gene SORL1. *Cell Rep*, 2023, **42**(8): 112994
- [63] Achariyar T M, Li B, Peng W, *et al.* Glymphatic distribution of CSF-derived apoE into brain is isoform specific and suppressed during sleep deprivation. *Mol Neurodegener*, 2017, **11**(1): 74
- [64] Dafnis I, Stratikos E, Tzinia A, *et al.* An apolipoprotein E4 fragment can promote intracellular accumulation of amyloid peptide beta 42. *J Neurochem*, 2010, **115**(4): 873-884
- [65] Lin Y T, Seo J, Gao F, *et al.* Apoe4 causes widespread molecular and cellular alterations associated with Alzheimer's disease phenotypes in human iPSC-derived brain cell types. *Neuron*, 2018, **98**(6): 1141-1154.e7
- [66] Chernyaeva L, Ratti G, Teirilä L, *et al.* Reduced binding of apoE4 to complement factor H promotes amyloid- β oligomerization and neuroinflammation. *EMBO Rep*, 2023, **24**(7): e56467
- [67] Mishra S, Knupp A, Szabo M P, *et al.* The Alzheimer's gene SORL1 is a regulator of endosomal traffic and recycling in human neurons. *Cell Mol Life Sci*, 2022, **79**(3): 162
- [68] Liu T, Zhu B, Liu Y, *et al.* Multi-omic comparison of Alzheimer's variants in human ESC-derived microglia reveals convergence at APOE. *J Exp Med*, 2020, **217**(12): e20200474
- [69] Huynh T P V, Liao F, Francis C M, *et al.* Age-dependent effects of apoE reduction using antisense oligonucleotides in a model of β -amyloidosis. *Neuron*, 2017, **96**(5): 1013-1023.e4
- [70] Sanan D A, Weisgraber K H, Russell S J, *et al.* Apolipoprotein E associates with beta amyloid peptide of Alzheimer's disease to form novel monofibrils. Isoform apoE4 associates more efficiently than apoE3. *J Clin Invest*, 1994, **94**(2): 860-869
- [71] Naseri N N, Wang H, Guo J, *et al.* The complexity of tau in Alzheimer's disease. *Neurosci Lett*, 2019, **705**: 183-194
- [72] Zhao J, Fu Y, Yamazaki Y, *et al.* APOE4 exacerbates synapse loss and neurodegeneration in Alzheimer's disease patient iPSC-derived cerebral organoids. *Nat Commun*, 2020, **11**(1): 5540
- [73] Heinonen O, Lehtovirta M, Soininen H, *et al.* Alzheimer pathology of patients carrying apolipoprotein E epsilon 4 allele. *Neurobiol Aging*, 1995, **16**(4): 505-513
- [74] Raulin A C, Doss S V, Heckman M G, *et al.* Impact of APOE on amyloid and tau accumulation in argyrophilic grain disease and Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol Commun*, 2024, **12**(1): 25
- [75] Young C B, Johns E, Kennedy G, *et al.* APOE effects on regional tau in preclinical Alzheimer's disease. *Mol Neurodegener*, 2023, **18**(1): 1
- [76] Therriault J, Benedet A L, Pascoal T A, *et al.* Association of apolipoprotein E ϵ 4 with medial temporal tau independent of amyloid-B. *JAMA Neurol*, 2020, **77**(4): 470-479
- [77] Singh N A, Tosakulwong N, Graff-Radford J, *et al.* APOE ϵ 4 influences medial temporal atrophy and tau deposition in atypical Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement*, 2023, **19**(3): 784-796
- [78] Montal V, Diez I, Kim C M, *et al.* Network Tau spreading is vulnerable to the expression gradients of APOE and glutamatergic-related genes. *Sci Transl Med*, 2022, **14**(655): eabn7273
- [79] Steward A, Biel D, Dewenter A, *et al.* ApoE4 and connectivity-mediated spreading of tau pathology at lower amyloid levels. *JAMA Neurol*, 2023, **80**(12): 1295-1306
- [80] Dincer A, Chen C D, McKay N S, *et al.* APOE ϵ 4 genotype, amyloid- β , and sex interact to predict tau in regions of high APOE mRNA expression. *Sci Transl Med*, 2022, **14**(671): eabl7646
- [81] Yan S, Zheng C, Paranjpe M D, *et al.* Association of sex and APOE ϵ 4 with brain tau deposition and atrophy in older adults with Alzheimer's disease. *Theranostics*, 2020, **10**(23): 10563-10572
- [82] Wang Y T, Pascoal T A, Therriault J, *et al.* Interactive rather than independent effect of APOE and sex potentiates tau deposition in women. *Brain Commun*, 2021, **3**(2): fcab126
- [83] Shi Y, Andhey P S, Ising C, *et al.* Overexpressing low-density lipoprotein receptor reduces tau-associated neurodegeneration in relation to apoE-linked mechanisms. *Neuron*, 2021, **109**(15): 2413-2426.e7
- [84] Gratzke M, Schlachetzki J C M, Albanus R D, *et al.* TREM2-independent microgliosis promotes tau-mediated neurodegeneration in the presence of ApoE4. *Neuron*, 2023, **111**(2): 202-219.e7
- [85] Arnaud L, Benech P, Greetham L, *et al.* APOE4 drives inflammation in human astrocytes via TAGLN3 repression and

- NF- κ B activation. *Cell Rep*, 2022, **40**(7): 111200
- [86] Lanfranco M F, Sepulveda J, Kopetsky G, *et al.* Expression and secretion of apoE isoforms in astrocytes and microglia during inflammation. *Glia*, 2021, **69**(6): 1478-1493
- [87] Gan Q, Wong A, Zhang Z, *et al.* Monomeric C-reactive protein induces the cellular pathology of Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement*, 2022, **8**(1): e12319
- [88] Qiu S, Palavicini J P, Wang J, *et al.* Adult-onset CNS myelin sulfatide deficiency is sufficient to cause Alzheimer's disease-like neuroinflammation and cognitive impairment. *Mol Neurodegener*, 2021, **16**(1): 64
- [89] Wang S, Li B, Solomon V, *et al.* Calcium-dependent cytosolic phospholipase A₂ activation is implicated in neuroinflammation and oxidative stress associated with ApoE4. *Mol Neurodegener*, 2022, **17**(1): 42
- [90] Butterfield D A, Mattson M P. Apolipoprotein E and oxidative stress in brain with relevance to Alzheimer's disease. *Neurobiol Dis*, 2020, **138**: 104795
- [91] Liou C W, Chen S H, Lin T K, *et al.* Oxidative stress biomarkers and mitochondrial DNA copy number associated with *APOE4* allele and cholinesterase inhibitor therapy in patients with Alzheimer's disease. *Antioxidants (Basel)*, 2021, **10**(12): 1971
- [92] Liu C C, Wang N, Chen Y, *et al.* Cell-autonomous effects of APOE4 in restricting microglial response in brain homeostasis and Alzheimer's disease. *Nat Immunol*, 2023, **24**(11): 1854-1866
- [93] Parhizkar S, Arzberger T, Brendel M, *et al.* Loss of TREM2 function increases amyloid seeding but reduces plaque-associated ApoE. *Nat Neurosci*, 2019, **22**(2): 191-204
- [94] Zhou Y, Song W M, Andhey P S, *et al.* Human and mouse single-nucleus transcriptomics reveal TREM2-dependent and TREM2-independent cellular responses in Alzheimer's disease. *Nat Med*, 2020, **26**(1): 131-142
- [95] Srinivasan K, Friedman B A, Etxeberria A, *et al.* Alzheimer's patient microglia exhibit enhanced aging and unique transcriptional activation. *Cell Rep*, 2020, **31**(13): 107843
- [96] Mathys H, Davila-Velderrain J, Peng Z, *et al.* Single-cell transcriptomic analysis of Alzheimer's disease. *Nature*, 2019, **570**(7761): 332-337
- [97] Shi Y, Manis M, Long J, *et al.* Microglia drive APOE-dependent neurodegeneration in a tauopathy mouse model. *J Exp Med*, 2019, **216**(11): 2546-2561
- [98] Kloske C M, Gearon M D, Weekman E M, *et al.* Association between APOE genotype and microglial cell morphology. *J Neuropathol Exp Neurol*, 2023, **82**(7): 620-630
- [99] Ferrari-Souza J P, Lussier F Z, Leffa D T, *et al.* APOE ϵ 4 associates with microglial activation independently of A β plaques and tau tangles. *Sci Adv*, 2023, **9**(14): eade1474
- [100] Yin Z, Rosenzweig N, Kleemann K L, *et al.* APOE4 impairs the microglial response in Alzheimer's disease by inducing TGF β -mediated checkpoints. *Nat Immunol*, 2023, **24**(11): 1839-1853
- [101] Li R Y, Qin Q, Yang H C, *et al.* TREM2 in the pathogenesis of AD: a lipid metabolism regulator and potential metabolic therapeutic target. *Mol Neurodegener*, 2022, **17**(1): 40
- [102] Magno L, Bunney T D, Mead E, *et al.* TREM2/PLC γ 2 signalling in immune cells: function, structural insight, and potential therapeutic modulation. *Mol Neurodegener*, 2021, **16**(1): 22
- [103] Yao H, Coppola K, Schweig J E, *et al.* Distinct signaling pathways regulate TREM2 phagocytic and NF κ B antagonistic activities. *Front Cell Neurosci*, 2019, **13**: 457
- [104] Zhong L, Sheng X, Wang W, *et al.* TREM2 receptor protects against complement-mediated synaptic loss by binding to complement C1q during neurodegeneration. *Immunity*, 2023, **56**(8): 1794-1808.e8
- [105] Vogels T, Murgoci A N, Hromádka T. Intersection of pathological tau and microglia at the synapse. *Acta Neuropathol Commun*, 2019, **7**(1): 109
- [106] Balu D, Valencia-Olvera A C, Nguyen A, *et al.* A small-molecule TLR4 antagonist reduced neuroinflammation in female E4FAD mice. *Alzheimers Res Ther*, 2023, **15**(1): 181
- [107] Machlovi S I, Neuner S M, Hemmer B M, *et al.* APOE4 confers transcriptomic and functional alterations to primary mouse microglia. *Neurobiol Dis*, 2022, **164**: 105615
- [108] Millet A, Ledo J H, Tavazoie S F. An exhausted-like microglial population accumulates in aged and APOE4 genotype Alzheimer's brains. *Immunity*, 2024, **57**(1): 153-170.e6
- [109] Wilkins H M, Wang X, Menta B W, *et al.* Bioenergetic and inflammatory systemic phenotypes in Alzheimer's disease APOE ϵ 4-carriers. *Aging Cell*, 2021, **20**(5): e13356
- [110] Jairani P S, Aswathy P M, Krishnan D, *et al.* Apolipoprotein E polymorphism and oxidative stress in peripheral blood-derived macrophage-mediated amyloid-beta phagocytosis in Alzheimer's disease patients. *Cell Mol Neurobiol*, 2019, **39**(3): 355-369
- [111] Lau S F, Wu W, Wong H Y, *et al.* The VCAM1-ApoE pathway directs microglial chemotaxis and alleviates Alzheimer's disease pathology. *Nat Aging*, 2023, **3**(10): 1219-1236
- [112] Kiani L. ApoE attracts microglia to amyloid- β plaques. *Nat Rev Neurol*, 2023, **19**(11): 639
- [113] Lau S F, Chen C, Fu W Y, *et al.* IL-33-PU. 1 transcriptome reprogramming drives functional state transition and clearance activity of microglia in Alzheimer's disease. *Cell Rep*, 2020, **31**(3): 107530
- [114] Wang C, Xiong M, Gratuze M, *et al.* Selective removal of astrocytic APOE4 strongly protects against tau-mediated neurodegeneration and decreases synaptic phagocytosis by microglia. *Neuron*, 2021, **109**(10): 1657-1674.e7
- [115] Love S, Chalmers K, Ince P, *et al.* Development, appraisal, validation and implementation of a consensus protocol for the assessment of cerebral amyloid angiopathy in post-mortem brain tissue. *Am J Neurodegener Dis*, 2014, **3**(1): 19-32
- [116] Mahan T E, Wang C, Bao X, *et al.* Selective reduction of astrocyte apoE3 and apoE4 strongly reduces A β accumulation and plaque-related pathology in a mouse model of amyloidosis. *Mol Neurodegener*, 2022, **17**(1): 13

- [117] Sienski G, Narayan P, Bonner J M, *et al.* APOE4 disrupts intracellular lipid homeostasis in human iPSC-derived glia. *Sci Transl Med*, 2021, **13**(583): eaaz4564
- [118] Wang H, Kulas J A, Wang C, *et al.* Regulation of beta-amyloid production in neurons by astrocyte-derived cholesterol. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2021, **118**(33): e2102191118
- [119] Saroja S R, Gorbachev K, Julia T, *et al.* Astrocyte-secreted glypican-4 drives APOE4-dependent tau hyperphosphorylation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2022, **119**(34): e2108870119
- [120] Xiong M, Wang C, Gratuze M, *et al.* Astrocytic APOE4 removal confers cerebrovascular protection despite increased cerebral amyloid angiopathy. *Mol Neurodegener*, 2023, **18**(1): 17
- [121] Narayan P, Sienski G, Bonner J M, *et al.* PICALM rescues endocytic defects caused by the Alzheimer's disease risk factor APOE4. *Cell Rep*, 2020, **33**(1): 108224
- [122] Montagne A, Nation D A, Sagare A P, *et al.* APOE4 leads to blood-brain barrier dysfunction predicting cognitive decline. *Nature*, 2020, **581**(7806): 71-76
- [123] Konijnenberg E, Tijms B M, Gobom J, *et al.* APOE ϵ 4 genotype-dependent cerebrospinal fluid proteomic signatures in Alzheimer's disease. *Alzheimers Res Ther*, 2020, **12**(1): 65
- [124] Butt O H, Long J M, Henson R L, *et al.* Cognitively normal APOE ϵ 4 carriers have specific elevation of CSF SNAP-25. *Neurobiol Aging*, 2021, **102**: 64-72
- [125] Lan G, Du J, Chen X, *et al.* Association of APOE- ϵ 4 and GAP-43-related presynaptic loss with β -amyloid, tau, neurodegeneration, and cognitive decline. *Neurobiol Aging*, 2023, **132**: 209-219
- [126] Wasser C R, Werthmann G C, Hall E M, *et al.* Regulation of the hippocampal transcriptome by Apoer2-ICD release. *Mol Neurodegener*, 2023, **18**(1): 62
- [127] Yi L X, Zeng L, Wang Q, *et al.* Reelin links apolipoprotein E4, tau, and amyloid- β in Alzheimer's disease. *Ageing Res Rev*, 2024, **98**: 102339
- [128] Riphagen J M, Ramakers I H G M, Freeze W M, *et al.* Linking APOE- ϵ 4, blood-brain barrier dysfunction, and inflammation to Alzheimer's pathology. *Neurobiol Aging*, 2020, **85**: 96-103
- [129] Shams M, Shams S, Martola J, *et al.* MRI markers of small vessel disease and the APOE allele in cognitive impairment. *Front Aging Neurosci*, 2022, **14**: 897674
- [130] Yamazaki Y, Liu C C, Yamazaki A, *et al.* Vascular ApoE4 impairs behavior by modulating gliovascular function. *Neuron*, 2021, **109**(3): 438-447.e6
- [131] Tsiknia A A, Reas E, Bangen K J, *et al.* Sex and APOE ϵ 4 modify the effect of cardiovascular risk on tau in cognitively normal older adults. *Brain Commun*, 2022, **4**(1): fcac035
- [132] Rosenich E, Bransby L, Yassi N, *et al.* Differential effects of APOE and modifiable risk factors on hippocampal volume loss and memory decline in $a\beta^-$ and $a\beta^+$ older adults. *Neurology*, 2022, **98**(17): e1704-e1715
- [133] Huguenard C J C, Cseresznye A, Darcey T, *et al.* Age and APOE affect L-carnitine system metabolites in the brain in the APOE-TR model. *Front Aging Neurosci*, 2022, **14**: 1059017
- [134] Cummings J. New approaches to symptomatic treatments for Alzheimer's disease. *Mol Neurodegener*, 2021, **16**(1): 2
- [135] Musiek E S, Gomez-Isla T, Holtzman D M. Aducanumab for Alzheimer disease: the amyloid hypothesis moves from bench to bedside. *J Clin Invest*, 2021, **131**(20): e154889
- [136] Evans C D, Sparks J, Andersen S W, *et al.* APOE ϵ 4's impact on response to amyloid therapies in early symptomatic Alzheimer's disease: analyses from multiple clinical trials. *Alzheimers Dement*, 2023, **19**(12): 5407-5417
- [137] Vance J M, Farrer L A, Huang Y, *et al.* Report of the APOE4 national institute on aging/alzheimer disease sequencing project consortium working group: reducing APOE4 in carriers is a therapeutic goal for Alzheimer's disease. *Ann Neurol*, 2024, **95**(4): 625-634
- [138] Safieh M, Korczyn A D, Michaelson D M. ApoE4: an emerging therapeutic target for Alzheimer's disease. *BMC Med*, 2019, **17**(1): 64
- [139] Kim J, Eltorai A E M, Jiang H, *et al.* Anti-apoE immunotherapy inhibits amyloid accumulation in a transgenic mouse model of A β amyloidosis. *J Exp Med*, 2012, **209**(12): 2149-2156
- [140] Xiong M, Jiang H, Serrano J R, *et al.* APOE immunotherapy reduces cerebral amyloid angiopathy and amyloid plaques while improving cerebrovascular function. *Sci Transl Med*, 2021, **13**(581): eabd7522
- [141] Gratuze M, Jiang H, Wang C, *et al.* APOE antibody inhibits A β -associated tau seeding and spreading in a mouse model. *Ann Neurol*, 2022, **91**(6): 847-852
- [142] Liao F, Hori Y, Hudry E, *et al.* Anti-ApoE antibody given after plaque onset decreases A β accumulation and improves brain function in a mouse model of A β amyloidosis. *J Neurosci*, 2014, **34**(21): 7281-7292
- [143] Chen Y, Song S, Parhizkar S, *et al.* APOE3ch alters microglial response and suppresses A β -induced tau seeding and spread. *Cell*, 2024, **187**(2): 428-445.e20
- [144] Bu G. APOE targeting strategy in Alzheimer's disease: lessons learned from protective variants. *Mol Neurodegener*, 2022, **17**(1): 51
- [145] Marino C, Perez-Corredor P, O'Hare M, *et al.* APOE Christchurch-mimetic therapeutic antibody reduces APOE-mediated toxicity and tau phosphorylation. *Alzheimers Dement*, 2024, **20**(2): 819-836
- [146] Nelson M R, Liu P, Agrawal A, *et al.* The APOE-R136S mutation protects against APOE4-driven Tau pathology, neurodegeneration and neuroinflammation. *Nat Neurosci*, 2023, **26**(12): 2104-2121
- [147] Xiong J, Kang S S, Wang M, *et al.* FSH and ApoE4 contribute to Alzheimer's disease-like pathogenesis via C/EBP β / δ -secretase in female mice. *Nat Commun*, 2023, **14**(1): 6577
- [148] Rhea E M, Raber J, Banks W A. ApoE and cerebral insulin: trafficking, receptors, and resistance. *Neurobiol Dis*, 2020, **137**: 104755
- [149] Zhang J, Lin Y, Dai X, *et al.* Metformin treatment improves the spatial memory of aged mice in an APOE genotype-dependent

- manner. *FASEB J*, 2019, **33**(6): 7748-7757
- [150] Lin A L, Parikh I, Yanckello L M, *et al*. APOE genotype-dependent pharmacogenetic responses to rapamycin for preventing Alzheimer's disease. *Neurobiol Dis*, 2020, **139**: 104834
- [151] Aguilar-Pineda J A, Paco-Coralla S G, Febres-Molina C, *et al*. *In silico* analysis of the antagonist effect of enoxaparin on the ApoE4-amyloid-beta (A β) complex at different pH conditions. *Biomolecules*, 2022, **12**(4): 499
- [152] Zhang X, Yuan T, Chen X, *et al*. Effects of DHA on cognitive dysfunction in aging and Alzheimer's disease: the mediating roles of ApoE. *Prog Lipid Res*, 2024, **93**: 101256
- [153] Arellanes I C, Choe N, Solomon V, *et al*. Brain delivery of supplemental docosahexaenoic acid (DHA): a randomized placebo-controlled clinical trial. *EBioMedicine*, 2020, **59**: 102883
- [154] Koutsodendris N, Blumenfeld J, Agrawal A, *et al*. Neuronal APOE4 removal protects against tau-mediated gliosis, neurodegeneration and myelin deficits. *Nat Aging*, 2023, **3**(3): 275-296
- [155] Bales K R, Verina T, Dodel R C, *et al*. Lack of apolipoprotein E dramatically reduces amyloid beta-peptide deposition. *Nat Genet*, 1997, **17**(3): 263-264
- [156] Shi Y, Yamada K, Liddelow S A, *et al*. ApoE4 markedly exacerbates tau-mediated neurodegeneration in a mouse model of tauopathy. *Nature*, 2017, **549**(7673): 523-527
- [157] Feng M, Cui D, Li Y, *et al*. Carnosic acid reverses the inhibition of ApoE4 on cell surface level of ApoER2 and Reelin signaling pathway. *J Alzheimers Dis*, 2020, **73**(2): 517-528
- [158] Lipton S A, Rezaie T, Nutter A, *et al*. Therapeutic advantage of pro-electrophilic drugs to activate the Nrf2/ARE pathway in Alzheimer's disease models. *Cell Death Dis*, 2016, **7**(12): e2499
- [159] Xian X, Pohlkamp T, Durakoglugil M S, *et al*. Reversal of ApoE4-induced recycling block as a novel prevention approach for Alzheimer's disease. *Elife*, 2018, **7**: e40048
- [160] Rauch J N, Luna G, Guzman E, *et al*. LRP1 is a master regulator of tau uptake and spread. *Nature*, 2020, **580**(7803): 381-385
- [161] Kim J, Castellano J M, Jiang H, *et al*. Overexpression of low-density lipoprotein receptor in the brain markedly inhibits amyloid deposition and increases extracellular A beta clearance. *Neuron*, 2009, **64**(5): 632-644
- [162] Choi J, Gao J, Kim J, *et al*. The E3 ubiquitin ligase Idol controls brain LDL receptor expression, ApoE clearance, and A β amyloidosis. *Sci Transl Med*, 2015, **7**(314): 314ra184
- [163] Leavitt B R, Tabrizi S J. Antisense oligonucleotides for neurodegeneration. *Science*, 2020, **367**(6485): 1428-1429
- [164] Bennett C F, Kordasiewicz H B, Cleveland D W. Antisense drugs make sense for neurological diseases. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2021, **61**: 831-852
- [165] Gao J, Littman R, Diamante G, *et al*. Therapeutic IDOL reduction ameliorates amyloidosis and improves cognitive function in APP/PS1 mice. *Mol Cell Biol*, 2020, **40**(8): e00518-19
- [166] Litvinchuk A, Huynh T V, Shi Y, *et al*. Apolipoprotein E4 reduction with antisense oligonucleotides decreases neurodegeneration in a tauopathy model. *Ann Neurol*, 2021, **89**(5): 952-966
- [167] Alterman J F, Godinho B M D C, Hassler M R, *et al*. A divalent siRNA chemical scaffold for potent and sustained modulation of gene expression throughout the central nervous system. *Nat Biotechnol*, 2019, **37**(8): 884-894
- [168] Li Y, Macyszko J R, Liu C C, *et al*. ApoE4 reduction: an emerging and promising therapeutic strategy for Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*, 2022, **115**: 20-28
- [169] Ferguson C M, Hildebrand S, Godinho B M D C, *et al*. Silencing Apoe with divalent-siRNAs improves amyloid burden and activates immune response pathways in Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement*, 2024, **20**(4): 2632-2652
- [170] Jiménez A J, Domínguez-Pinos M D, Guerra M M, *et al*. Structure and function of the ependymal barrier and diseases associated with ependyma disruption. *Tissue Barriers*, 2014, **2**: e28426
- [171] Jackson R J, Keiser M S, Meltzer J C, *et al*. APOE2 gene therapy reduces amyloid deposition and improves markers of neuroinflammation and neurodegeneration in a mouse model of Alzheimer disease. *Mol Ther*, 2024, **32**(5): 1373-1386
- [172] Chen M H, Liu X Z, Qu X W, *et al*. ApoE-modified liposomes encapsulating resveratrol and salidroside alleviate manifestations of Alzheimer's disease in APP/PS-1 mice. *Drug Dev Ind Pharm*, 2023, **49**(9): 559-571
- [173] Valencia-Olvera A C, Balu D, Bellur S, *et al*. A novel apoE-mimetic increases brain apoE levels, reduces A β pathology and improves memory when treated before onset of pathology in male mice that express APOE3. *Alzheimers Res Ther*, 2023, **15**(1): 216

Apolipoprotein E and Alzheimer's Disease: Risk, Mechanisms, and Treatment*

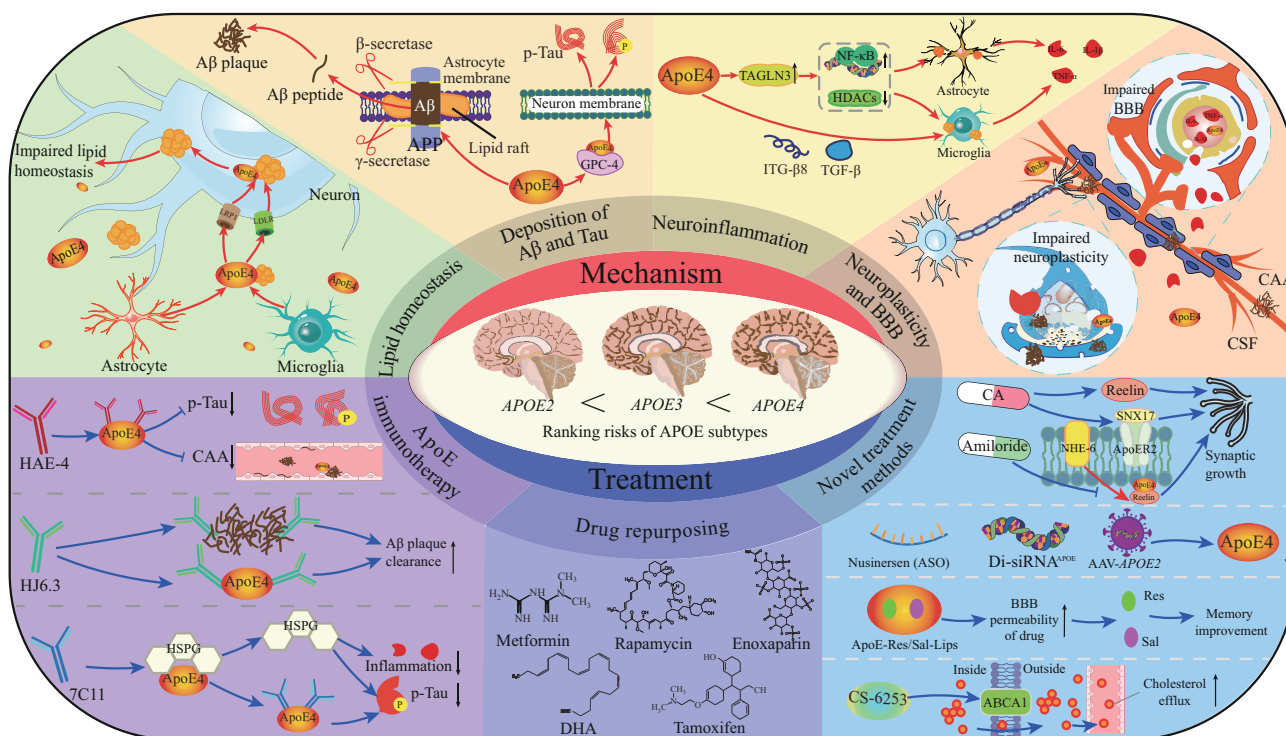
CHEN Shi-Yu¹⁾, LIN Zhi-Cheng¹⁾, YING Jia-Qin¹⁾, LI Wan-Yi³⁾, LIU Zhi-Tao³⁾, FANG Tian-Yuan¹⁾,
ZHOU Yu-Yu¹⁾, ZHANG Chu-Xia¹⁾, XIE Kai²⁾, XU Shu-Jun¹⁾, LI Li-Ping^{1)**}

¹⁾Department of Physiology and Pharmacology, Health Science Center, Ningbo University, Ningbo 315211, China;

²⁾Rehabilitative Department, the First Affiliated Hospital of Ningbo University, Ningbo 315211, China;

³⁾Department of Science and Education, Ningbo Rehabilitation Hospital, Ningbo 315040, China)

Graphical abstract



Abstract Alzheimer's disease (AD) is the most common form of dementia, and its prevalence is rapidly increasing with the aging population. Among the growing number of genetic risk factors, apolipoprotein E (ApoE)

* This work was supported by grants from Natural Science Foundation of Zhejiang Province (LY23H090004), the Fundamental Research Funds for the Provincial Universities of Zhejiang (SJLY2023008), the Natural Science Foundation of Ningbo (2023J068, 2022J035), The National Natural Science Foundation of China (82001155), Ningbo Key Research and Development Plan Project (2023Z173), the Medical Health Science and Technology Project of Zhejiang Provincial Health Commission (2022KY1144), Zhejiang Traditional Chinese Medicine Science and Technology Planning Project (2023ZL162), College Students' Scientific and Technological Innovation Project (Xinmiao Talent Plan) of Zhejiang Province (2024R405A069), Ningbo Yinzhou District Agricultural and Social Development Project (2022AS025), the Student Research, Innovation Program (SRIP) of Ningbo University (2024SRIP1904, 2024SRIP1905), and National 111 Project of China (D16013).

** Corresponding author.

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

Received: August 29, 2024 Accepted: October 2, 2024

is the most prevalent and strongest risk factor, accounting for nearly three-quarters of AD cases. ApoE is a key protein involved in lipids and cholesterol metabolism in the central nervous system. There are three subtypes of ApoE: ApoE2, ApoE3, and ApoE4, among which ApoE4 is a high-risk factor for the incidence of AD. ApoE4 not only affects lipid efflux and distribution in glial cells, but also affects the lipid metabolism in neurons, resulting in the imbalance of lipid homeostasis. ApoE plays a role in the processing of amyloid precursor protein (APP), which is associated with the early production of amyloid β -protein ($A\beta$) and plaque deposition. ApoE4 also reduces the solubility of Tau protein, which contributes to promoting the aberrant phosphorylation and the aggregation of Tau, and resulting in neurofibrillary tangles (NFTs). Moreover, brain regions expressing ApoE4 are more susceptible to Tau diffusion. Furthermore, ApoE4 has been demonstrated to activate the NF- κ B inflammatory pathway, convert microglia and astrocytes into the pro-inflammatory phenotypes, secrete pro-inflammatory factors and oxidative mediators, and induce neuroinflammation. Altogether, ApoE participates in AD neuropathology through multiple pathways such as $A\beta$ plaque, Tau pathology, neuroinflammation, neuroplasticity and blood-brain barrier, which all jointly promotes the progression of the disease. It has been demonstrated that anti-ApoE4 antibodies can reduce the formation of $A\beta$ plaques and neuroinflammation. The repurposing of metformin, rapamycin, enoxaparin, DHA, and tamoxifen have been shown to reduce the expression of ApoE4 protein and ameliorate AD pathology. Gene therapies utilising antisense oligonucleotides (ASO) and double-stranded interfering small RNA (siRNA) has been proved to be effective technologies to reduce ApoE4 expression and mitigate AD pathology. Adeno-associated virus (AAV)-mediated ApoE2 has been demonstrated to neutralize the negative effects of ApoE4 by expressing ApoE2 in the ventricular membrane. Traditional Chinese medicine resveratrol and waterside delivered by ApoE-modified liposome nanodrug delivery system can improve the BBB penetration of drugs and provide a new method for the treatment of AD. In addition, targeting the interaction of ApoE with low-density lipoprotein receptor (LDLR) and low density lipoprotein-related protein 1 (LRP1) receptors can indirectly regulate the expression level of ApoE, which provides a new perspective for the treatment of AD. This article aims to elucidate the roles of ApoE and its isoforms in the pathogenesis of AD and summarize the potential therapeutic strategies against ApoE with the hope of providing novel insights for the ApoE-based therapies combat AD.

Key words Alzheimer's disease, apolipoprotein E, lipid homeostasis, microglia, neuroinflammation, neuroglia

DOI: 10.16476/j.pibb.2024.0384

CSTR: 32369.14.pibb.20240384