

CD40-CD40L 相互作用对阿尔茨海默病的影响

王宝萍 综述 徐书雯 审校

广东省人民医院东病区神经科, 广东省医学科学院, 广东省老年医学研究所,
广东省神经科学研究所, 广东省广州市 510080

摘要: 阿尔茨海默病 (AD) 是认知功能减退、精神行为异常为特征的中枢神经系统变性病。近来发现肿瘤坏死因子超家族成员 CD40 及其配体 CD40L 相互作用可以影响 A β 的产生及 Tau 蛋白磷酸化, 参与小胶质细胞介导的固有免疫及适应性免疫应答, 并且参与外周血管炎症反应, 与 AD 病理机制关系密切。围绕 CD40-CD40L 为中心的潜在的诊断及治疗手段等方面做一综述。

关键词: 阿尔茨海默病; 炎症反应; CD40; CD40L

阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 是一种以认知障碍、行为异常为主要表现的临床综合征。目前我国 AD 患者约 500 万人, 约占全世界总病例数的 1/4, 且每年约有 30 万人加入该行列。据统计, 老年性痴呆约占老年病死亡原因的第四位, 仅次于心脑血管病和癌症。而 AD 的发病机制尚不清楚, 近来研究发现肿瘤坏死因子受体超家族成员 CD40 与其同源配体 CD40L 与 AD 的病理机制关系密切。目前国内对 CD40-CD40L 通路的研究主要限于冠心病、脑血管病、高血压等血管损伤方面, 而国外对该通路与 AD 的病理机制、诊断及治疗方面研究的较多。一般 AD 诊断后存活期在 5~20 年, 目前尚无行之有效的治疗方法, 早期诊断及治疗可以改善症状、延缓病程的进展、提高病人的生活质量, 减轻社会及家庭经济负担。

1 CD40 及 CD40L 概念

CD40 是肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF) 受体超家族成员之一, 主要表达于 B 淋巴细胞、单核细胞、树突状细胞、内皮细胞等。CD40L 是 CD40 的同源配体 (又称 CD154 或 gp39), 主要表达于活化的 CD4⁺ T 细胞及血小板, CD40L 在一定条件下可与 CD40 结合后发挥生物学效应。sCD40L 即可溶性 CD40 配体, 是由膜性 CD40L 水解而成。血浆中约 95% 的 sCD40L 来自于活化的血小板。最近发现 CD40 表达于各种中枢神经细胞, 包括星形胶质细胞及小胶质细胞。小胶质细胞

不仅是脑组织中的巨噬细胞, 也是中枢神经系统抗原提呈细胞 (APC) 和免疫效应细胞。AD 患者多伴有血脑屏障损伤, 外周血 T 淋巴细胞可以透过该屏障进入脑组织, 与小胶质细胞共同参与适应性免疫应答, CD40-CD40L 在其中起关键作用。

2 病理机制

2.1 A β 的产生及清除

A β 是由淀粉样前体蛋白 APP 被 β 和 γ 分泌酶裂解产生, 其中 A β 1-42 的寡聚体形式毒性最强^[1]。目前认为 A β 仍是 AD 的始发因素和关键环节。大量研究发现 CD40-CD40L 相互作用对 A β 诱导的小胶质细胞活化起重要作用, 其主要刺激小胶质细胞产生炎症介质, 减弱了小胶质细胞吞噬 A β 的能力, 故阻断 CD40/CD40L 信号通路可增强小胶质细胞对 A β 的吞噬作用, 保护神经元免受损害。Mullan 等^[2] 体外研究发现小胶质细胞经可溶性 A β 处理后表面 CD40 表达增加, CD40L 干预后与对照组比较发现 TNF- α 产生增加, 并诱导神经元损伤, 提示 A β 肽与 CD40L 对刺激小胶质细胞产生前炎性因子具有协同作用。同时在转基因 AD 模型鼠 TgAPPsw/CD40L 基因缺陷鼠及体外试验证明阻断 CD40 通路可以降低 A β 肽诱导的小胶质细胞活化及炎性因子产生, 降低 Tg2576 (HAPPswE) AD 模型鼠的 A β 沉积, 减轻神经元损伤并改善 PSAPP AD 鼠的认知功能。后来 Laporte 等^[3] 在 PSAPP/CD40 基因缺陷鼠也验证了上述观点。

基金项目: 广州市科技计划项目基金 (2010Y1-C101)

收稿日期: 2010-12-18; **修回日期:** 2011-03-16

作者简介: 王宝萍 (1986-), 女, 硕士研究生, 主要从事阿尔茨海默病的研究。

通讯作者: 徐书雯 (1962-), 女, 硕士, 主任医师, 硕士研究生导师, 主要从事痴呆的基础及临床研究。

CD40-CD40L 作用不仅在于干扰 A β 的去路,而且近来发现其对 A β 的产生也有影响。有研究认为 CD40-CD40L 在 AD 出现典型的临床症状之前就已经发挥炎症作用。经 CD40L 处理的体外培养的神神经母细胞瘤细胞及人胚肾转基因 AD 鼠 (HEK/APP^{sw}) CD40^{wt} 细胞及 CD40 突变细胞,前者 sAPP β 增加,后者予 γ 分泌酶活性抑制剂 sAPP β 水平降低、sAPP α 水平增加,提示 CD40-CD40L 对 β 及 γ 分泌酶有调节作用,且后者可能通过负反馈调节 α 分泌酶来影响 A β 的生成^[4]。Volmar 等^[5]也发现 sCD40L 刺激 HEK-2993 使其过度表达淀粉样前体蛋白和 CD40,导致 A β 显著增加。

综上所述,CD40-CD40L 可以导致 A β 产生及清除失衡,活化小胶质细胞释放炎症因子(如 TNF- α , IL-1 等),引发炎症级联反应,并通过上调一氧化氮合成酶(iNOS),破坏血脑屏障,诱导细胞凋亡^[6],阻断 CD40-CD40L 信号通路可以改善 AD 的病理损伤。

2.2 对 Tau 的影响

Mullan 等^[7]研究发现 CD40L 基因敲除的 AP-Psw 转基因 AD 模型鼠在 AD 病理早期出现异常 tau 蛋白磷酸化减少,阻断 CD40/CD40L 可以减轻 Tau 蛋白过度磷酸化。Laporte 等^[7]通过对 Tg2576 转基因 AD 模型鼠(Tg2576, APP^{sw})体内外用 CD40 或 CD40L 干预研究发现,CD40-CD40L 相互作用可单独影响 Tau 蛋白磷酸化,可能通过降低细胞周期素依赖性激酶 5(cyclin dependent kinase 5, Cdk5),调控神经元功能及其相关蛋白表达水平、调节该酶激活因子及抑制因子 p35/p25 来实现的。

2.3 免疫炎症方面

A β 引发的炎症级联反应是研究的热点。CD40-CD40L 相互作用增强 A β 诱导的小胶质细胞固有免疫及适应性免疫应答^[8]。近来研究发现少量的 CD4⁺ T 淋巴可以通过破损的血脑屏障介导适应性免疫,产生干扰素 γ (interferon- γ , IFN- γ)等促炎症因子可以加重炎症反应,进一步加重神经元损伤。有研究发现用米诺环素可以下调 T 细胞活化产生的 CD40L,并且可以减轻 AD 的炎症反应。已经证明 A β 肽抗体或疫苗介导的免疫治疗在 AD 转基因模型鼠中能明显减少 A β 沉积、减轻神经元损伤,但是在 II 期临床试验中发现经 A β 免疫治疗的患者少数会发生严重的无菌性脑膜炎,这并非由 A β 疫苗的毒性所致,而是由活化 T 细胞产生的神

经毒性引起的。最近 Obregon^[9]在 APP^{sw} 和 PSAPP 的转基因 AD 模型鼠中通过 CD40 基因敲除或药物等干预,可以增强 A β 免疫、减少细胞毒性 T 细胞对产生 A β 的神经元的损伤,同时减少 A β 介导的血管炎症反应。提示阻断 CD40-CD40L 途径可以调节免疫反应。

3 外周血早期诊断 AD 及其进展快慢的预测因子

Desideri 等^[10]发现 AD 患者外周血中 sCD40L 增加,且与 AD 临床进展快慢相关,并首次证明了 sCD40L 与 AD 的严重程度独立相关。3 次检测患者外周血 sCD40L 都在 6.0 ng/mL 或以上(敏感性 63.3%,特异性 63.8%),那么该患者在接下来的 1 年里很可能出现更严重的认知损害。Shimizu 等^[11]对 136 例轻度认知功能障碍(MCI)病人随访 4~7 年,发现 MCI-AD 外周血 sCD40 水平明显增高,而 MCI 认知稳定者无增高。且 sCD40 与 MMSE 评分呈负相关,再次提示 sCD40 与 AD 的严重程度有关。有趣的是 sCD40、sCD40L 联合 A β 及 APOE 共同作为临床诊断 AD 预测因子,发现其敏感度及特异度可达到 90%^[12]。但是 sCD40L 单独作为 AD 的预测因子,其敏感性及其特异性很低,因为 sCD40L 是动脉粥样硬化的预测指标。多数学者认为动脉粥样硬化是 AD 潜在的危险因素,因此,sCD40L 只有联合 A β 及 APOE 等指标才更准确更可靠,才能对临床早期诊断 AD 具有更重要的意义,同时为区别血管性痴呆及 AD 提供客观依据。我们期待这些生物靶标在临床发挥作用。

4 治疗

4.1 人脐血干细胞(HUCBCs)移植

神经元细胞属于非可再生细胞,近来发现 HUCBCs 自体移植无排斥反应,有望治疗神经元变性病,但其分化为神经元细胞尚无明确实验室及临床证据。有研究对 HUCBCs 与骨髓细胞体外联合培养未发现细胞增殖反应^[13]。2010 年全国神经免疫学年会徐运等报道,其临床研究用小剂量 HUCBCs 多次静脉及鞘内注射治疗多发性硬化,实验室检查发现神经元数量无明显增加,但发现患者临床症状明显改善,考虑 HUCBCs 可能改善炎症微环境。国外有研究在 PSAPP 及 APP^{sw}AD 模型鼠内注入 HUCBC,发现脑组织及外周血 A β 沉积减少,淀粉样斑块减少,并且已经证明是通过减少小胶质细胞表面 CD40 表达,降低外周及脑组织 sCD40,提高免疫球蛋白 M(IG-M),减弱炎症反应来实

现^[14]。也有学者认为可能与 HUCBC 抑制小胶质细胞表面表达 MCH 分子及 Th-1 活化有关,间接通过抑制 CD40-CD40L 通路来改善 AD 病理及症状^[15]。HUCBCs 可能具有免疫调节潜能,但其具体机制有待于进一步研究。

4.2 他汀类药物

多数学者认为 AD 并非纯粹的神经元变性过程,可能有血管性因素存在。sCD40L 与血管损伤的发生发展直接相关。随着年龄增长,大部分 AD 病人有血管淀粉样变,血管内皮损伤,血脑屏障破坏,大血管粥样硬化。已有研究证明在炎症相关性疾病动脉粥样硬化和 AD 患者的内皮细胞 CD40 分子呈异常高表达^[16]。来自于活化血小板的 sCD40L 与内皮表面 CD40 相互作用加重 A β 诱导的血管炎性损伤。他汀类及非甾体抗炎药可能会减轻血管炎症反应。流行病学研究结果^[17]表明长期使用他汀类药物与阿尔茨海默病(AD)的风险降低相关。洛伐他汀通过调节 CD40-CD40L 通路来抑制干扰素- γ 诱导的非受体型酪氨酸蛋白激酶及信号转导子及转录激动子(JAK/STAT1)通路及炎症介质产生,从而减轻炎症对 AD 的病理作用。有研究证实同时服阿司匹林及阿托伐他汀可降低血小板微粒 CD40L 水平^[18]。其机制可能与脂代谢的关键酶 3-羟基-3-甲基戊二酸单酰辅酶(HMG-CoA)有关。HMG-CoA 还原酶抑制剂(他汀类药物)具有抗炎和免疫调节特性,抑制脂代谢紊乱引起的氧化应激和炎症反应,抑制血小板活化,降低 sCD40L 水平,并下调低密度脂蛋白受体(LRP)。也有学者认为他汀类药物通过抑制戊二烯化阻断 Rho/ROCK 信号转导途径,增强 α 分泌酶活性,减少 A β 产生来改善 AD 病理^[19]。但有文章报道 LRP 可以转运大脑 A β 到外周血,并且可以介导小胶质细胞对 A β 的吞噬^[20]。但降低 LRP 并不一定获益,Scandi 等^[21]对 5092 名 65 岁以上人群的研究发现,他汀类药物的应用与 AD 的发病无关。所以对他汀类治疗 AD 尚存争议,需要更多的临床研究。

4.3 非甾体消炎药(NSAIDs)

近来研究证明 NSAIDs 通过调节 CD40-CD40L 的作用减轻 AD 的炎症病理反应^[22]:体外 N9 及鼠原代小胶质细胞经 IFN- γ 活化后,予阿司匹林等 NSAIDs 干预发现 CD40 表达下降,并与炎症因子释放减少相平行。其可能的机制^[23]是:阿司匹林等在基因转录水平调节,降低 CD40 介导的核因子

κ B(NF- κ B)炎性信号转导通路的活化、减少炎症因子释放。流行病学资料表明长期的抗炎药物治疗可以降低 AD 的发病率。Breitner 等^[25]长期跟踪随访发现 NSAIDs 可以降低 AD 的发病风险。这可能与抑制 MG 活性及 CNS 中存在的免疫细胞活化而产生的炎症反应有关。但有学者也认为糖皮质激素及 NSAIDs 对 AD 无效,并且因其胃肠道副作用而加重患者的痛苦。也有人认为预防脑卒中的小剂量阿司匹林虽长期服用对 AD 无效,而大剂量长期有效。

5 问题与展望

CD40-CD40L 可以影响 A β 的产生及清除,影响 Tau 蛋白磷酸化,亦可以通过 A β 诱导的小胶质细胞异常活化产生的固有免疫和适应性免疫应答加重神经炎症反应,多种途径启动并促进 AD 的病理机制的发生发展,进一步加重神经元损伤,阻断该通路可以减轻 AD 病理损伤。但其具体机制尚不清楚,需从基因水平进一步研究 CD40 及 CD40L 如何异常表达,以寻找阻断 CD40/CD40L 信号通路的关键环节,为进一步基因治疗奠定基础。

sCD40L 或 sCD40 与 A β 、Tau 蛋白及 APOE 联合有望成为早期诊断 AD 的生物靶标,其相关的潜在治疗手段包括他汀类药物、非甾体消炎药类、人脐血干细胞移植,免疫治疗等可能给 AD 患者带来帮助,但这也需要大样本量的临床试验进一步验证。有趣的是,阻断 CD40-CD40L 反应可以阻断 Th1 细胞的免疫应答过程,减轻炎症反应,这就为 A β 疫苗治疗的有效性及其安全性提供了新思路。因此,调节 CD40/CD40L 信号通路,把握好小胶质细胞的活化状态,抑制其有害作用,发挥其神经保护作用,有望成为延缓 AD 进展的新靶点。

参 考 文 献

- [1] Querfurth HW, LaFerla FM. Alzheimer's disease. *New England J Med*, 2010, 362(4): 329-344.
- [2] Todd Roach J, Volmar CH, Dwivedi S, et al. Behavioral effects of CD40-CD40L pathway disruption in aged PSAPP mice. *Brain Res*, 2004, 10(15): 161-168.
- [3] Laporte V, Ait Ghezala G, Volmar CH, et al. CD40 deficiency mitigates Alzheimer's disease pathology in transgenic mouse models. *J Neuroinflammation*, 2006, 3(3): 342-343.
- [4] Volmar CH, Ait-Ghezala G, Frieling J. CD40/CD40L interaction induces A β production and increases γ -secretase activity independently of tumor necrosis factor receptor associated

- factor (TRAF) signaling. *Exp Cell Res*, 2009, 315 (13) : 2265-2274.
- [5] Volmar CH, Ait Ghezala G, Frieling J, et al. The granulocyte macrophage colony stimulating factor (GM-CSF) regulates amyloid beta (Abeta) production. *Cytokine*, 2008, 42 (3) : 336-344.
- [6] Manczak M, Mao P, Nakamura K, et al. Neutralization of granulocyte macrophage colony-stimulating factor decreases amyloid beta 1-42 and suppresses microglial activity in a transgenic mouse model of Alzheimer ' s disease. *Hum Mol Genet*, 2009, 18 (20) : 3876-3893.
- [7] Tan J, Town T, Paris D, et al. Microglial activation resulting from CD40-CD40L interaction after beta-amyloid stimulation. *Science*, 1999, 286 (5448) : 2352-2355.
- [8] Laporte V, Ait-Ghezala G, Volmar CH, et al. CD40 ligation mediates plaque-associated tau phosphorylation in β -amyloid overproducing mice. *Brain Res*, 2008, 1231 : 132-142.
- [9] Townsend KP, Town T, Mori T, et al. CD40 signaling regulates innate and adaptive activation of microglia in response to amyloid beta-peptide. *Eur J Immunol*, 2005, 35 (3) : 901-910.
- [10] Obregon D, Hou H, Bai Y, et al. CD40L disruption enhances A β vaccine-mediated reduction of cerebral amyloidosis while minimizing cerebral amyloid angiopathy and inflammation. *Neurobiol Dis*, 2008, 29 (2) : 336-353.
- [11] Desideri G, Cipollone F, Necozone S, et al. Enhanced soluble CD40 ligand and Alzheimer ' s disease : Evidence of a possible pathogenetic role. *Neurobiol Aging*, 2008, 29 (3) : 348-356.
- [12] Buchhave P, Janciauskiene S, Zetterberg H, et al. Elevated plasma levels of soluble CD40 in incipient Alzheimer ' s disease. *Neurosci Lett*, 2009, 450 (1) : 56-59.
- [13] Ait-ghezala G, Abdullah L, Volmar CH, et al. Diagnostic utility of APOE, soluble CD40, CD40L, and Abeta1-40 levels in plasma in Alzheimer ' s disease. *Cytokine*, 2008, 44 (2) : 283-287.
- [14] Wang M, Yang Y, Yang D, et al. The immunomodulatory activity of human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells in vitro. *Immunology*, 2009, 126 (2) : 220-232.
- [15] Nikolic WV, Hou H, Town T, et al. Peripherally administered human umbilical cord blood cells reduce parenchymal and vascular beta-amyloid deposits in Alzheimer mice. *Stem Cells Dev*, 2008, 17 (3) : 423-439.
- [16] Giunta B, Zadeh KR, Tan J. Impact of the CD40-CD40L Dyad in Alzheimer ' s Disease. *CNS Neurol Disord Drug Targets*, 2010, 9 (2) : 149-155.
- [17] Tan J, Town T, Mod T, et al. CD40 is expressed and functional on neuronal cells. *EMBO J*, 2002, 21 (4) : 643-652.
- [18] Townsend KP, Shytle DR, Bai Y, et al. Lovastatin modulation of microglial activation via suppression of functional CD40 expression. *J Neurosci Res*, 2004, 78 (2) : 167-176.
- [19] 赵燕, 杨明, 崔建英, 等. 阿托伐他汀、阿司匹林对高血压患者血小板微粒 CD62p、CD40L 的影响. *临床心血管病杂志*, 2010, 26 (3) : 193-195.
- [20] 朱天瑞, 李晓红. 他汀类药物对阿尔茨海默病的治疗作用. *国际神经病学神经外科学杂志*, 2010, 37 (1) : 77-80.
- [21] Farfara D, Lifshitz V, Frenkel D. Neuroprotective and neurotoxic properties of glial cells in the pathogenesis of Alzheimer ' s disease. *Cell Mol Med*, 2008, 12 (3) : 762-780.
- [22] Scandi PP, Sparks DL, Khachaturian AS, et al. Do statins reduce risk of incident dementia and Alzheimer disease? The Cache County Study. *Arch Gen Psychiatry*, 2005, 62 (2) : 217-224.
- [23] Ait-Ghezala G, Mathura VS, Laporte V, et al. Genomic regulation after CD40 stimulation in microglia : relevance to Alzheimer ' s disease. *Brain Res Mol Brain Res*, 2005, 140 (1-2) : 73-85.
- [24] Ueda H, Yamazaki C, Yamazaki M. A hydroxyl group of flavonoids affects oral anti-inflammatory activity and inhibition of systemic tumor necrosis factor-alpha production. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2004, 68 (1) : 119-125.
- [25] Breitner JC, Haneuse SJ, Walker R, et al. Risk of dementia and AD with prior exposure to NSAIDs in an elderly community-based cohort. *Neurology*, 2009, 72 (22) : 1899-1905.