

· 综述 ·

低密度脂蛋白受体相关蛋白 1 在阿尔茨海默病中的研究进展

杨卉¹ 综述 徐运^{1,2} 审校

1. 南京中医药大学中西医结合鼓楼临床医学院神经内科,江苏省南京市 210008
2. 南京大学医学院附属鼓楼医院神经内科,江苏省南京市 210008

摘要: 阿尔茨海默病的主要病理学特征之一是 β -淀粉样蛋白(A β)过度沉积,基于 β -淀粉样蛋白级联学说,降低A β 水平是对抗阿尔茨海默病的有效策略。本文对低密度脂蛋白受体相关蛋白 1(LRP1)介导的细胞对A β 的摄取及降解以及LRP1介导的外周与中枢神经系统中A β 转运及清除的具体机制的研究进展作一综述。

关键词: 低密度脂蛋白受体相关蛋白 1; 阿尔茨海默病; β -淀粉样蛋白

阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)是最常见的神经系统退行性疾病,85岁以上的人群有半数患AD^[1]。目前,AD发病的具体分子机制仍不清楚。早发性AD与淀粉样前体蛋白(amyloid precursor protein, APP)和早老素(presenilin, PSEN)基因突变密切相关,而迟发性AD与 β -淀粉样蛋白(β -amyloid, A β)的清除障碍相关。载脂蛋白E(apolipoprotein, ApoE)^[2]与低密度脂蛋白受体相关蛋白 1(low-density lipoprotein receptor-related protein 1, LRP1)^[3]均对脑内A β 的清除起到重要作用。

1 概述

LRP1是一种内吞受体,属于低密度脂蛋白(low-density lipoprotein, LDL)受体家族成员。这类受体家族的成员都是细胞表面受体并参与胆固醇代谢、胞内运输及细胞信号传导等过程,且在突触可塑性和神经元发育方面起到重要作用。LRP1的分子量为600 kDa,它能够结合约40种功能和结构各异的配体。LRP1包含两个异源二聚体肽段,一个是515 kDa的重链,它包含与配体结合的结构区域并位于细胞膜外,另一个是包含跨膜区域和细胞质尾域的85 kDa的轻链。大多数的LRP1配体与细胞膜外的II和IV区域结合,这些配体中与AD相关的蛋白有ApoE、APP、A β 和 α 2巨球蛋白。LRP1能够通过细胞摄取和溶酶体降解途径调控脑内A β 的清除或者通过转胞吞作用使A β 通过血脑

屏障(blood brain barrier, BBB)进入外周循环。

目前有40多个基因研究关注LRP1的单核苷酸多态性与AD的关系。一些独立的研究证明LRP1中单核苷酸多态性的同义与非同义改变有正相关性。最近的一项研究发现AD患者脑中A β 产生与清除的失衡是导致AD发病的关键,而LRP1与A β 的清除密切相关^[4]。

2 LRP1介导的细胞对A β 的摄取及降解

LRP1介导的细胞对A β 的摄取及降解对中枢神经系统中A β 的清除有重要作用。近年的文献报道阐述了在中枢神经系统中神经元、平滑肌细胞及星形胶质细胞中LRP1能调节A β 的细胞内吞及降解。最近的研究证实了神经元能直接通过LRP1摄取A β 42,且LRP1能将摄取的A β 转运到溶酶体内进行降解^[5]。然而,研究发现溶酶体不能完全降解A β ,且随着时间积累A β 会在溶酶体内沉积^[6]。另有研究发现溶酶体内高浓度的A β 42和酸性环境能易化A β 42的聚集从而产生细胞毒性^[7]。故神经元对A β 的摄取超过溶酶体降解能力时,沉积在溶酶体内的A β 能产生细胞毒性,对AD的病理发展起到促进作用。

Kanekiyo等^[8]的研究发现脑血管平滑肌细胞能通过LRP1摄取周围环境的A β 并将其清除。在体外实验中,降低人脑血管平滑肌细胞中LRP1的表达能够明显减少其对A β 40和A β 42的清除能力,

收稿日期:2014-11-06; 修回日期:2014-12-06

作者简介:杨卉(1989-),女,满族,在读博士,主要从事阿尔茨海默病相关研究。

通讯作者:徐运(1961-),女,博士,主任医师、教授、博士生导师、科主任,主要从事脑血管疾病及认知功能障碍的相关研究。Email: xuyun20042001@aliyun.com。

且用溶酶体抑制剂处理人脑血管平滑肌细胞能减少细胞内 A β 的降解,说明脑血管平滑肌细胞上的 LRP1 能够通过溶酶体途径调节 A β 的清除。进一步的研究证实特异性抑制小鼠脑血管平滑肌细胞 LRP1 表达能导致 A β 沉积增加。脑血管平滑肌细胞中 LRP1 介导的 A β 摄取对细胞有毒性作用并能导致细胞衰退和死亡,这个过程与上述神经元对 A β 的摄取作用一样,并不是发挥神经保护作用而是导致细胞毒性。

LRP1 也参与脑内星形胶质细胞对 A β 的摄取与降解。目前研究发现只有表达 ApoE 的星形胶质细胞能够发挥清除 A β 的作用且这一过程能被 LRP1 抑制剂 RAP(receptor-associated protein) 抑制。另外, Li 等^[9] 发现,抑制 U87 星形胶质细胞瘤 LRP1 表达后,细胞对可溶性 A β 42 单体和 A β 42 寡聚物的摄取能力均降低,且摄取可溶性 A β 42 单体的能力降低幅度较大,细胞摄取的 A β 42 均通过溶酶体途径降解。

近期的研究发现一种名为 sortilin 的 I 型跨膜蛋白对 ApoE 依赖的 A β 降解过程起重要作用^[10]。Sortilin 缺乏的小鼠表现为全身高表达 ApoE,且由于对 ApoE 结合 A β 形成的复合物清除减少导致 A β 沉积和淀粉样斑块增多。虽然 sortilin 是神经元上介导 ApoE 依赖的 A β 清除的主要受体,但是它与游离 A β 结合的能力比 LRP1 要低 1000 倍,说明与 sortilin 相比 LRP1 在清除游离 A β 过程中发挥更重要的作用。

3 脑内 A β 的外流转运

血脑屏障由脑血管内皮细胞与神经胶质细胞组成,它是中枢神经系统与外周血液之间的一个渗透屏障,能够抑制血浆与脑组织间液中的溶质自由流动从而保护中枢神经系统的稳态。许多研究报道了注射入小鼠脑内的人源性 A β 能够进入外周循环,说明在脑与外周循环之间存在一种特殊的 A β 转运系统^[4]。Shibata 等^[11] 的实验证明了可溶性的 A β 40 能够通过 LRP1 转运透过 BBB,随后一系列的实验通过运用 LRP1 抑制剂、LRP1 特异性抗体及干扰 RNA 等技术进一步验证了这个结论^[12-14]。最初研究人员认为 A β 与常见的 LRP1 配体(如 ApoE、ApoJ、 α 2M) 结合形成复合物后才能通过 BBB,后来的研究证明在模型小鼠中游离的 A β 能够直接与 LRP1 配体结合区域 II 和 IV 结合并通过细胞转胞吞作用穿透 BBB^[15]。

尽管 LRP1 在脑内 A β 穿透 BBB 的过程中起到重要作用,但仍有学者质疑血脑屏障上的 LRP1 的表达水平是否足以调控 A β 的外流,且能够证明 LRP1 调控 A β 转胞吞作用的证据较少。Nazer 等^[16] 运用 Madin-Darby 犬肾脏细胞系作为 BBB 体外模型的实验没有发现 LRP1 介导转胞吞作用。这个实验只证实了在 BBB 模型细胞系中 A β 只经过了细胞内吞及胞内降解的过程,因此作者认为 LRP1 可能需要一个共转运体或者一个下游分子的协同作用才能完成对 A β 的转胞吞作用。P-gp 可能是调控脑内 A β 外流的一个共转运体,它主要表达于脑毛细血管管腔膜,因此,它可能与 LRP1 共同协作完成对 A β 的转胞吞过程^[17]。另外 megalin / LRP2 能够参与调节与 ApoJ 结合的 A β 复合物的转胞吞过程^[18],但上述这些受体调控的 A β 转胞吞过程的具体机制仍有待研究。

4 外周 A β 的内流转运

LRP1 介导的对 A β 的转胞吞作用能够使脑内的 A β 转运到外周系统,同时也能将外周的 A β 转运至脑内。Pflanzner 等^[12] 在原代小鼠脑毛细血管内皮细胞中发现通过 LRP1 转胞吞作用从外周进入脑内的 A β 和通过 LRP1 从脑内转出至外周的 A β 总量相等。有研究认为晚期糖化终产物受体(receptor for advanced glycation end products, RAGE) 能够调节 A β 从外周内流进入脑内的过程^[19]。由于人的原代脑微血管内皮细胞 RAGE 的表达水平非常低^[20],所以对于 RAGE 是否在 BBB 表达仍存在争议。此外, Do 等^[21] 运用原位脑灌注技术发现了在小鼠体内,有机阴离子转运多肽 la4(organic anion transporter polypeptide la4, oatpla4) 也与 A β 从外周血转运至脑内的过程密切相关。

5 外周 LRP1 调控的 A β 清除

α 和 β 分泌酶分别主导 APP 的非淀粉样酶切途径和淀粉样酶切途径。LRP1 能被 α 和 β 分泌酶水解释放其胞外段可溶性的 LRP1(sLRP1) 至细胞外液^[22]。在血浆、人脑组织和脑脊液中均能检测到 sLRP1^[23]。

在人类和小鼠的血浆中, sLRP1 是外周系统中与 A β 结合的主要蛋白,能够结合 70% ~ 90% 的游离 A β ^[24]。A β 与 sLRP1 结合形成的复合物不能通过 BBB 并且能够被肝脏和肾脏清除。AD 患者血浆中 sLRP1 的水平与正常人相比显著下降,且 AD 患者血浆中游离的 A β 的含量较正常人高,故导致

AD患者外周 $A\beta$ 转运至脑内的量增加^[24]。另外,sLRP1的氧化水平与AD和老龄化相关,在AD患者和AD模型小鼠中氧化的sLRP1不能与 $A\beta$ 结合^[24]。这些结果提示外周sLRP1与 $A\beta$ 结合水平的下降能促使外周游离的 $A\beta$ 聚集增多并增加其内流入脑内的量。

肝脏是调节血浆蛋白水平的主要器官。有研究证实小鼠肝脏是摄取外周血浆中 $A\beta$ 的主要器官^[25]。将放射标记的 $A\beta$ 注入小鼠外周循环后发现,肝脏细胞能够摄取90%的放射标记的 $A\beta$ 。此外,肾脏、脾脏和胃也在外周 $A\beta$ 清除系统中起到一定的作用^[24,25]。Tamaki等^[26]阐释了肝脏摄取 $A\beta$ 的机制,研究证明肝脏LRP1能够饱和和结合血浆中的 $A\beta$,运用LRP1配体结合抑制剂RAP或用siRNA技术使LRP1表达沉默都能导致肝脏对 $A\beta$ 摄取能力的下降。胰岛素降解酶、脑啡肽酶和其他一些蛋白酶能够将肝细胞内吞的 $A\beta$ 肽段降解。另外,外周 $A\beta$ 的清除能够影响 $A\beta$ 转运至脑内的过程。Mackic等^[27]在年老的松鼠猴中发现外周 $A\beta$ 清除系统的损伤与脑内 $A\beta$ 的沉积相关。Tamaki等人发现大鼠肝脏LRP1的表达水平随着年龄的增加而下降^[26],而人血浆中 $A\beta$ 的水平随着年龄增高而增加。这些结果都提示随着年龄增加,肝脏对 $A\beta$ 的摄取能力下降从而导致血浆中 $A\beta$ 水平增高,最终促进 $A\beta$ 通过BBB转运至脑内。

6 展望

由于LRP1对 $A\beta$ 的清除起到重要作用,且在老年人及AD患者中LRP1的表达量随年龄增加而减少,故提高LRP1在血脑屏障或外周的表达可作为AD的潜在治疗靶点。目前,有药物研究显示降低胆固醇的他汀类药物能够提高LRP1和其他的LDL受体在肝脏^[28]和血脑屏障^[29]上的表达从而增加 $A\beta$ 的清除。另外,Alaa等^[30]的研究发现橄榄油提取物Oleocanthal能够通过提高小鼠脑血管内皮细胞LRP1表达提高 $A\beta$ 的清除率从而可能发挥对抗AD的功效。Sehgal等^[31]证明了从茄科植物睡茄根部提取的活性物质能够提高AD模型小鼠的认知功能并显著增加小鼠肝脏LRP1和sLRP1的表达水平且减少小鼠脑内 $A\beta$ 沉积。在AD患者血浆中sLRP1水平下降,导致 $A\beta$ 外周清除率降低且外周内流转运至脑内的 $A\beta$ 增加,故提高血浆中sLRP1水平可能提高脑内及外周 $A\beta$ 的清除率。Sagare等^[24]的研究证明重组LRP1的IV结构域

(LRP-IV)能够有效清除AD模型小鼠脑内及血浆中的游离 $A\beta$,并且LRP-IV较sLRP1能够更高效地与 $A\beta$ 结合。以上基于调控LRP1治疗AD的基础研究都得到了理想的结果。然而,我们需要进一步的临床研究来评估这些治疗方法对AD患者的有效性及稳定性。另外,由于LRP1能够与多种非 $A\beta$ 的配体结合,所以在调控LRP1的同时还应避免影响其与其他配体的结合而产生不良反应。随着LRP1与 $A\beta$ 相互作用机制被逐步阐明,新的研究可能为AD的治疗提供更为有效的方案。

参 考 文 献

- [1] Mayeux R, Stern Y. Epidemiology of Alzheimer disease. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2012, 2(8): a006239.
- [2] Kanekiyo T, Xu H, Bu G. ApoE and Abeta in Alzheimer's disease: accidental encounters or partners? *Neuron*, 2014, 81(4): 740-754.
- [3] Kanekiyo T, Bu G. The low-density lipoprotein receptor-related protein 1 and amyloid-beta clearance in Alzheimer's disease. *Front Aging Neurosci*, 2014, 6: 93.
- [4] Martiskainen H, Haapasalo A, Kurkinen KM, et al. Targeting ApoE4/ApoE receptor LRP1 in Alzheimer's disease. *Expert Opin Ther Targets*, 2013, 17(7): 781-794.
- [5] Kanekiyo T, Cirrito JR, Liu CC, et al. Neuronal clearance of amyloid-beta by endocytic receptor LRP1. *J Neurosci*, 2013, 33(49): 19276-19283.
- [6] Fuentelba RA, Liu Q, Zhang J, et al. Low-density lipoprotein receptor-related protein 1 (LRP1) mediates neuronal Abeta42 uptake and lysosomal trafficking. *PLoS One*, 2010, 5(7): e11884.
- [7] Hu X, Crick SL, Bu G, et al. Amyloid seeds formed by cellular uptake, concentration, and aggregation of the amyloid-beta peptide. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2009, 106(48): 20324-20329.
- [8] Kanekiyo T, Liu CC, Shinohara M, et al. LRP1 in brain vascular smooth muscle cells mediates local clearance of Alzheimer's amyloid-beta. *J Neurosci*, 2012, 32(46): 16458-16465.
- [9] Li Y, Cheng D, Cheng R, et al. Mechanisms of U87 astrocytoma cell uptake and trafficking of monomeric versus protofibril Alzheimer's disease amyloid-beta proteins. *PLoS One*, 2014, 9(6): e99939.
- [10] Carlo AS, Gustafsen C, Mastrobuoni G, et al. The pro-neurotrophin receptor sortilin is a major neuronal apolipoprotein E receptor for catabolism of amyloid-beta peptide in the brain. *J Neurosci*, 2013, 33(1): 358-370.
- [11] Shibata M, Yamada S, Kumar SR, et al. Clearance of

- Alzheimer's amyloid-ss (1 - 40) peptide from brain by LDL receptor-related protein-1 at the blood-brain barrier. *J Clin Invest* , 2000 , 106(12) : 1489-1499.
- [12] Pflanzner T , Janko MC , Andre-Dohmen B , et al. LRP1 mediates bidirectional transcytosis of amyloid-beta across the blood-brain barrier. *Neurobiol Aging* , 2011 , 32 (12) : 2323 e2321-e2311.
- [13] Sagare AP , Deane R , Zlokovic BV. Low-density lipoprotein receptor-related protein 1: a physiological A beta homeostatic mechanism with multiple therapeutic opportunities. *Pharmacol Ther* , 2012 , 136(1) : 94-105.
- [14] Zlokovic BV , Deane R , Sagare AP , et al. Low-density lipoprotein receptor-related protein-1: a serial clearance homeostatic mechanism controlling Alzheimer's amyloid beta-peptide elimination from the brain. *J Neurochem* , 2010 , 115(5) : 1077-1089.
- [15] Deane R , Wu Z , Sagare A , et al. LRP/amyloid beta-peptide interaction mediates differential brain efflux of A beta isoforms. *Neuron* , 2004 , 43(3) : 333-344.
- [16] Nazer B , Hong S , Selkoe DJ. LRP promotes endocytosis and degradation , but not transcytosis , of the amyloid-beta peptide in a blood-brain barrier in vitro model. *Neurobiol Dis* , 2008 , 30(1) : 94-102.
- [17] Hartz AM , Miller DS , Bauer B. Restoring blood-brain barrier P-glycoprotein reduces brain amyloid-beta in a mouse model of Alzheimer's disease. *Mol Pharmacol* , 2010 , 77(5) : 715-723.
- [18] Bell RD , Sagare AP , Friedman AE , et al. Transport pathways for clearance of human Alzheimer's amyloid beta-peptide and apolipoproteins E and J in the mouse central nervous system. *J Cereb Blood Flow Metab* , 2007 , 27(5) : 909-918.
- [19] Candela P , Gosselet F , Saint-Pol J , et al. Apical-to-basolateral transport of amyloid-beta peptides through blood-brain barrier cells is mediated by the receptor for advanced glycation end-products and is restricted by P-glycoprotein. *J Alzheimers Dis* , 2010 , 22(3) : 849-859.
- [20] Urich E , Lasic SE , Molnos J , et al. Transcriptional profiling of human brain endothelial cells reveals key properties crucial for predictive in vitro blood-brain barrier models. *PLoS One* , 2012 , 7(5) : e38149.
- [21] Do TM , Bedussi B , Chasseigneaux S , et al. Oatp1a4 and an L-thyroxine-sensitive transporter mediate the mouse blood-brain barrier transport of amyloid-beta peptide. *J Alzheimers Dis* , 2013 , 36(3) : 555-561.
- [22] Liang F , Jia J , Wang S , et al. Decreased plasma levels of soluble low density lipoprotein receptor-related protein-1 (sLRP) and the soluble form of the receptor for advanced glycation end products (sRAGE) in the clinical diagnosis of Alzheimer's disease. *J Clin Neurosci* , 2013 , 20 (3) : 357-361.
- [23] Liu Q , Zhang J , Tran H , et al. LRP1 shedding in human brain: roles of ADAM10 and ADAM17. *Mol Neurodegener* , 2009 , 4: 17.
- [24] Sagare A , Deane R , Bell RD , et al. Clearance of amyloid-beta by circulating lipoprotein receptors. *Nat Med* , 2007 , 13(9) : 1029-1031.
- [25] Ghiso J , Shayo M , Calero M , et al. Systemic catabolism of Alzheimer's A beta40 and A beta42. *J Biol Chem* , 2004 , 279(44) : 45897-45908.
- [26] Tamaki C , Ohtsuki S , Iwatsubo T , et al. Major involvement of low-density lipoprotein receptor-related protein 1 in the clearance of plasma free amyloid beta-peptide by the liver. *Pharm Res* , 2006 , 23(7) : 1407-1416.
- [27] Mackic JB , Bading J , Ghiso J , et al. Circulating amyloid-beta peptide crosses the blood-brain barrier in aged monkeys and contributes to Alzheimer's disease lesions. *Vascul Pharmacol* , 2002 , 38(6) : 303-313.
- [28] Moon JH , Kang SB , Park JS , et al. Up-regulation of hepatic low-density lipoprotein receptor-related protein 1: a possible novel mechanism of antiatherogenic activity of hydroxymethylglutaryl-coenzyme A reductase inhibitor Atorvastatin and hepatic LRP1 expression. *Metabolism* , 2011 , 60(7) : 930-940.
- [29] Shinohara M , Sato N , Kurinami H , et al. Reduction of brain beta-amyloid (A beta) by fluvastatin , a hydroxymethylglutaryl-CoA reductase inhibitor , through increase in degradation of amyloid precursor protein C-terminal fragments (APP-CTFs) and A beta clearance. *J Biol Chem* , 2010 , 285 (29) : 22091-22102.
- [30] Abuznait AH , Qosa H , Busnena BA , et al. Olive-oil-derived oleocanthal enhances beta-amyloid clearance as a potential neuroprotective mechanism against Alzheimer's disease: in vitro and in vivo studies. *ACS Chem Neurosci* , 2013 , 4 (6) : 973-982.
- [31] Sehgal N , Gupta A , Valli RK , et al. Withania somnifera reverses Alzheimer's disease pathology by enhancing low-density lipoprotein receptor-related protein in liver. *Proc Natl Acad Sci U S A* , 2012 , 109(9) : 3510-3515.