

· 综述 ·

阿尔茨海默病中 β -淀粉样蛋白清除机制的研究进展杨卉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: β -淀粉样蛋白 ($A\beta$) 形成的斑块沉积是阿尔茨海默病 (AD) 的一个特征性病理改变。在早发型和散发型 AD 患者脑中均可出现 $A\beta$ 清除障碍。了解 $A\beta$ 清除途径的具体机制对寻找有效的 AD 治疗策略至关重要。本文将对 $A\beta$ 细胞内降解清除途径、血脑屏障转运清除途径、脑间质液泵流清除途径及脑脊液吸收清除途径的具体机制作一综述。

关键词: 阿尔茨海默病; β -淀粉样蛋白; 清除机制

DOI: 10.16636/j.cnki.jinn.2017.02.015

阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 是最常见的痴呆类型, 包括早发型 AD (early-onset AD, EOAD) 和散发型或者晚发型 AD (late-onset AD, LOAD)。仅有一小部分 AD 患者属于 EOAD, 而 95% 的 AD 患者属于 LOAD^[1,2]。EOAD 的病理机制包括 β -淀粉样蛋白 (amyloid β , $A\beta$) 生成增多和 $A\beta$ 清除障碍^[3,4], 而 LOAD 仅有 $A\beta$ 清除障碍^[4]。故恢复机体 $A\beta$ 清除功能可能成为治疗 AD 的有效策略。

1 $A\beta$ 的生成

$A\beta$ 来源于一种名为淀粉样前体蛋白 (amyloid precursor protein, APP) 的跨膜蛋白^[5]。在非病理状态下, APP 由 α -分泌酶切割, 残留的羧基端片段由 γ -分泌酶切割, 这种切割途径不会产生 $A\beta$, 切割的产物也不会发生聚集^[6]。若 APP 首先被 β -分泌酶 1 (β -secretase 1, BACE1) 切割, 然后再被 γ -分泌酶切割则会产生可溶的 $A\beta$ 单体。最常见的可溶性 $A\beta$ 单体有 $A\beta_{1-40}$ 、 $A\beta_{1-38}$ 和 $A\beta_{1-42}$ ^[7]。 $A\beta_{1-40}$ 更易沉积于脉管系统, 导致淀粉样脑血管病 (cerebral amyloid angiopathy, CAA)。 $A\beta_1$ 较其他 $A\beta$ 单体既不易沉积在血管系统, 也不易沉积在脑内。 $A\beta_{1-42}$ 较 $A\beta_{1-40}$ 疏水性更高, 更易形成不溶于水的多聚体。 $A\beta_{1-42}$ 在酸性环境中容易形成难清除的寡聚物。 $A\beta$ 沉积,

尤其是 $A\beta_{1-42}$ 寡聚体具有较强的神经毒性, 可导致神经元死亡。

2 $A\beta$ 的清除

2.1 $A\beta$ 的降解清除

细胞内 $A\beta$ 可被神经元内泛素蛋白酶、溶酶体组织蛋白酶、胰岛素降解酶和胰岛素降解。细胞外的 $A\beta$ 也能被一些蛋白酶降解, 如脑啡肽酶 (降解单体 $A\beta_{1-40}$ 、 $A\beta_{1-42}$ 和 $A\beta$ 寡聚物)、基质金属蛋白酶 2、基质金属蛋白酶 3、基质金属蛋白酶 9、谷氨酸羧肽酶 II、内皮素转换酶、组织纤溶酶原激活剂、纤溶酶、血管紧张素转化酶和胰岛素降解酶^[8]。此外, 细胞外 $A\beta$ 还能通过胶质吞噬作用清除, 特别是脑组织间液中的 $A\beta$ 能够被小胶质细胞和星型胶质细胞摄取, 同时血管周围的 $A\beta$ 能够被血管平滑肌细胞、巨噬细胞和星型胶质细胞降解^[9]。降解清除 $A\beta$ 的过程受到以下 4 个因素的影响: 酶的表达和活性、配体亲和力和竞争力、细胞对 $A\beta$ 的摄取能力及细胞内蛋白降解通路的正常运行。

2.2 $A\beta$ 通过血脑屏障清除

2.2.1 $A\beta$ 在血脑屏障上的转运机制 $A\beta$ 能从间质间隙通过血脑屏障 (blood brain barrier, BBB) 转运到血液中, 反之亦然。尤其是局部可溶性 $A\beta$ 能够通过 LDL 受体家族成员, 如 LRP1 和 ATP-结合

基金项目: 江苏省自然科学基金 (BE2016610)

收稿日期: 2016-11-15; 修回日期: 2017-03-13

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。E-mail: xuyun20042001@aliyun.com。

匣式转运子 (ATP-binding cassette transporters, ABC transporters) 从组织间隙转运到脑实质^[10,11]。一些研究显示 LRP1 是 A β 通过 BBB 转运出脑的主要转运体,但也有研究认为它的转运效率非常低^[12,13]。主要负责 A β 转运出脑的 ABC 转运体是 ABCB1,它能直接将 A β 运输到循环系统。ABCA1 位于脑血管内皮细胞与血液相接触的细胞膜管腔侧,它不能直接结合 A β ,但能通过载脂蛋白 E (apolipoprotein E, ApoE) 依赖途径调节 A β 的清除^[14]。尽管有研究认为 ABCA1 能够诱导 ApoE 的脂化,促进血管周围 ApoE 与 A β 结合,从而易化 A β 被 LRP1 或 ABCB1 转运的过程^[15],但是管腔 ABCA1 调节 A β 清除的具体机制仍不清楚。此外, α 2-巨球蛋白 (α 2-macroglobulin, α 2M) 以及 LDLR-相关蛋白 2 (LDLR-related protein 2, LRP2) 与丛生蛋白形成的复合物 ApoJ 也参与调控 A β 在 BBB 上清除的过程^[10,11]。游离的 A β 能够通过晚期糖化终产物特异性受体 (advanced glycosylation end product-specific receptor, RAGE) 从循环系统进入到脑组织间隙^[11,16]。可溶性的转运体如可溶性的 RAGE、抗 A β -IgG、血清淀粉样蛋白 P 组件和可溶性 LRP (sLRP) 能够结合血浆中 70% ~ 90% 的 A β ,这些转运体与 RAGE 竞争性结合 A β ,从而阻止 A β 转运入脑^[17]。

2.2.2 影响 A β 通过 BBB 清除的因素 A β 通过 BBB 清除的过程受转运体的表达和活性、配体亲和力和竞争力,以及血管完整性的影响。在 AD 中,介导 A β 从中枢转运到外周血的转运体 LRP1 和 ABCB1 的表达降低^[18],同时介导 A β 从外周血转运到中枢的转运体 RAGE 的表达增高^[19]。AD 伴随的氧化损伤会使 sLRP 与 A β 的结合力下降,潜在地易化了 A β 通过 RAGE 进入脑组织间隙的过程^[19]。AD 脑内的炎症反应,能使脑内环境偏酸性从而影响配体结合力,促进 tau 蛋白的高度磷酸化并诱导 A β 构象变化导致其清除障碍^[20]。ApoE 是胆固醇转运体,能够与 A β 竞争结合 LRP1。AD 最强的遗传风险基因是 APOE * ϵ 4 (APOE * ϵ 4 > APOE * ϵ 3 > APOE * ϵ 2)^[21]。ApoE4 与其他 ApoE 亚型相比其调节 A β 清除的效率最低且抗氧化活性差,它能够通过调节与周细胞亲环蛋白 A 相关的促炎通路介导 BBB 的损伤。

2.3 脑间质液泵流清除

脑内的 A β 可以经非特异性脑间质液 (interstitial fluid, ISF) 泵流到脑脊液 (cerebrospinal fluid,

CSF) 后进入血液清除。以下内容将分述脑内血管周围 A β 通过血管周排出系统和胶质淋巴通路清除的过程。

2.3.1 血管周围排除系统 在 AD 和脑淀粉样血管病 (cerebral amyloid angiopathy, CAA) 中,血管周围 A β 清除受损。目前已知影响 A β 血管周围清除的因素有 APOE * ϵ 4、免疫复合物沉积、动脉年龄和动脉搏动。ApoE4 的表达与血管周围 A β 清除效率降低及免疫复合物沉积密切相关^[22]。血管周围 A β 清除效率随着动脉年龄增大而降低,这种变化不仅与内稳态下降和脑内可溶性 A β 水平升高有关,而且与 A β 在动脉壁的沉积有关,这增加了脑出血的风险^[23]。A β 免疫治疗的一个重要的并发症是 A β 斑块增溶后,A β 溶解进入血管周围排出系统,这一过程反而会加重 CAA。另外,动脉搏动可能推动血管周围脑组织间液中的溶质排除,而与年龄相关的动脉粥样硬化会引起血管形态学变化从而导致血管周围排除系统受损^[24]。

2.3.2 胶质淋巴清除通路 近期的小鼠研究提示水通道蛋白 4 (aquaporin, AQP4) 依赖的胶质淋巴通路在清除脑组织间隙中可溶性 A β 的过程中起到重要作用。在小鼠中,A β 由血管周排除系统清除,但与野生型小鼠相比,AQP4 基因敲除小鼠 A β 清除率降低了 55% ~ 65%^[25,26]。而且,与年轻鼠相比,老年鼠的胶质淋巴清除效率降低了 40%^[27],提示老年期胶质淋巴排除系统受损,这也揭示了高龄是迟发型 AD 发病的主要危险因素。

影响胶质淋巴系统脑组织间液溶质清除的因素有分子的大小、动脉搏动、AQP4 的表达和分布以及睡眠。在小鼠蛛网膜下腔注射荧光示踪物后,结果显示大分子的荧光示踪物进入脑实质的速度较小分子示踪物要慢,且血管周围可溶性 A β 能够通过 20 nm 的星型胶质细胞终足间隙^[25]。动脉搏动对血管周围间质液循环和 CSF 到脑实质的泵流起到重要作用^[28]。由于动脉搏动减少导致胶质淋巴瘀滞,富含 A β 的 CSF 再循环到血管周围,可被血管平滑肌摄取^[29]。这也是 A β 易聚集在血管周围空间的可能机制,且 A β 在血管周围聚集能导致血管周清除通路阻滞,进一步降低胶质淋巴清除效率^[30]。在 AQP4 基因敲除小鼠中,脑实质中的物质清除率降低了 70%,而 A β 清除率降低了 55% ~ 65%^[25,26]。体外培养的小鼠皮质星型胶质细胞经 A β ₁₋₄₂ 处理后 AQP4 的表达降低,提示在 AD 中

AQP4 的表达降低,这一改变能够进一步加速 $A\beta_{1-42}$ 聚集形成斑块沉积^[31]。急性脑损伤(traumatic brain injury, TBI),是 AD 发病的危险因素之一,TBI 伴随反应性胶质增生^[31]。在 TBI 初期,AQP4 的表达增加,但是后期 AQP4 的表达部位由血管周围终足变为星型胶质细胞胞体,导致 AQP4 介导的 $A\beta$ 清除作用减低^[32]。

小鼠在睡眠状态下 $A\beta$ 的清除速率是觉醒状态的两倍^[33]。这是由于睡眠状态下星型胶质细胞受到肾上腺素能信号从而改变其细胞体积,使细胞外空间增大 60%,从而使 $A\beta$ 的清除增加。并且这个过程受睡眠本身调控,而不受昼夜节律的影响,所以在正常睡眠或麻醉环境下 $A\beta$ 的清除速率均增加。近期的研究显示,睡眠中 $A\beta$ 的清除 60% 是通过 BBB 的转运清除,40% 是通过胶质淋巴系统加速 ISF 到 CSF 的流动而清除, $A\beta$ 的细胞内降解非常少^[33]。研究认为,在睡眠过程中胶质淋巴系统能够使 $A\beta$ 加速流向 BBB。因此,睡眠能够间接或直接加快 BBB 转运 $A\beta$ 的速率。这些研究也解释了为什么睡眠障碍增加 AD 的患病风险^[34]。

2.4 脑脊液吸收清除

循环于 CSF 中的 $A\beta$ 能够通过蛛网膜绒毛和血液脑脊液屏障(blood-cerebrospinal fluid barrier, BCSFB)吸收进入循环系统,或者通过血管周围和神经周围间隙亦或脑膜淋巴管进入淋巴系统。

CSF 通过吸收清除 $A\beta$ 依赖于 CSF 的生成,BCSFB 的完整性及转运体、蛛网膜绒毛阻力及淋巴吸收 CSF 的效率。在老龄和 AD 大脑中脉络丛产生的 CSF 减少,且通过 AQP1 水通道分泌到脑室的 CSF 减少。在 AD 中,脉络丛的结构会发生变化,如钙化、纤维化及 $A\beta$ 沉积,这些都导致 CSF 生成受阻。其次,这些结构变化影响了 BCSFB 的完整性,导致 $A\beta$ 清除减少。许多在 BBB 表达的 $A\beta$ 转运体也在 BCSFB 表达,包括 LRP1、LRP2、ABCB1 和 RAGE。但 BCSFB 上的 $A\beta$ 转运体随年龄表达的变化与这些转运体在 BBB 上的表达变化相反,这可能是 BCSFB 补偿了随年龄增长而导致的 BBB 转运体功能受损^[11]。在 AD 中蛛网膜绒毛的 CSF 外流抵抗增加,这个抵抗力增大的机制与正常压力性脑积水类似,这是由于蛛网膜绒毛部的 $A\beta$ 沉积和纤维化导致 CSF 流出减少,同时也降低了 CSF 对 $A\beta$ 的吸收。淋巴对 $A\beta$ 的吸收随着年龄增加而减少,这也是 LOAD 的风险因素。与之相反,在 EOAD 中

$A\beta$ 产生增多会引起淋巴系统对 $A\beta$ 的吸收增多。在 AD 转基因模型小鼠中, $A\beta$ 在颈腋淋巴结的水平和在脑内的水平均增加^[35]。

综上所述, $A\beta$ 的清除途径包括:酶解途径、细胞摄取清除途径、BBB 转运途径、脑组织间液泵流途径、CSF 重吸收途径及淋巴系统清除途径。目前大部分研究认为细胞外 $A\beta$ 主要通过 BBB 转运清除,但是近期研究发现胶质淋巴通路也是细胞外 $A\beta$ 清除的重要途径。随着脑膜淋巴管的发现,更多的 $A\beta$ 清除学说被提出。由于 $A\beta$ 沉积较 AD 临床症状出现早数年甚至数十年,因此 $A\beta$ 清除途径的研究将对 AD 治疗策略的研究提供更有力的依据。

参 考 文 献

- [1] Bruni AC, Conidi ME, Bernardi L. Genetics in degenerative dementia: current status and applicability[J]. Alzheimer Dis Assoc Disord, 2014, 28(3): 199-205.
- [2] Kim DH, Yeo SH, Park JM, et al. Genetic markers for diagnosis and pathogenesis of Alzheimer's disease[J]. Gene, 2014, 545(2): 185-193.
- [3] Potter R, Patterson BW, Elbert DL, et al. Increased in vivo amyloid-beta42 production, exchange, and loss in presenilin mutation carriers[J]. Sci Transl Med, 2013, 5(189): 189ra77.
- [4] Mawuenyega KG, Sigurdson W, Ovod V, et al. Decreased clearance of CNS beta-amyloid in Alzheimer's disease[J]. Science, 2010, 330(6012): 1774.
- [5] Bero AW, Yan P, Roh JH, et al. Neuronal activity regulates the regional vulnerability to amyloid-beta deposition[J]. Nat Neurosci, 2011, 14(6): 750-756.
- [6] Chow VW, Mattson MP, Wong PC, et al. An overview of APP processing enzymes and products[J]. Neuromolecular Med, 2010, 12(1): 1-12.
- [7] Zheng L, Cedazo-Minguez A, Hallbeck M, et al. Intracellular distribution of amyloid beta peptide and its relationship to the lysosomal system[J]. Transl Neurodegener, 2012, 1(1): 19.
- [8] Tarasoff-Conway JM, Carare RO, Osorio RS, et al. Clearance systems in the brain-implications for Alzheimer disease[J]. Nat Rev Neurol, 2015, 11(8): 457-470.
- [9] Yoon SS, Jo SA. Mechanisms of Amyloid-beta Peptide Clearance: Potential Therapeutic Targets for Alzheimer's Disease[J]. Biomol Ther (Seoul), 2012, 20(3): 245-255.
- [10] Bates KA, Verdile G, Li QX, et al. Clearance mechanisms of Alzheimer's amyloid-beta peptide: implications for therapeutic design and diagnostic tests[J]. Mol Psychiatry,

2009, 14(5): 469-486.

- [11] Pascale CL, Miller MC, Chiu C, et al. Amyloid-beta transporter expression at the blood-CSF barrier is age-dependent [J]. *Fluids Barriers CNS*, 2011, 8: 21.
- [12] Ito S, Ohtsuki S, Terasaki T. Functional characterization of the brain-to-blood efflux clearance of human amyloid-beta peptide (1-40) across the rat blood-brain barrier [J]. *Neurosci Res*, 2006, 56(3): 246-252.
- [13] Ito S, Ueno T, Ohtsuki S, et al. Lack of brain-to-blood efflux transport activity of low-density lipoprotein receptor-related protein-1 (LRP-1) for amyloid-beta peptide (1-40) in mouse: involvement of an LRP-1-independent pathway [J]. *J Neurochem*, 2010, 113(5): 1356-1363.
- [14] Fitz NF, Cronican AA, Saleem M, et al. Abca1 deficiency affects Alzheimer's disease-like phenotype in human ApoE4 but not in ApoE3-targeted replacement mice [J]. *J Neurosci*, 2012, 32(38): 13125-13136.
- [15] Elali A, Rivest S. The role of ABCB1 and ABCA1 in beta-amyloid clearance at the neurovascular unit in Alzheimer's disease [J]. *Front Physiol*, 2013, 4: 45.
- [16] Deane R, Singh I, Sagare AP, et al. A multimodal RAGE-specific inhibitor reduces amyloid beta-mediated brain disorder in a mouse model of Alzheimer disease [J]. *J Clin Invest*, 2012, 122(4): 1377-1392.
- [17] 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]. *J Neurochem*, 2010, 115(5): 1077-1089.
- [18] Pahnke J, Langer O, Krohn M. Alzheimer's and ABC transporters--new opportunities for diagnostics and treatment [J]. *Neurobiol Dis*, 2014, 72(Pt A): 54-60.
- [19] Zlokovic BV. Neurovascular pathways to neurodegeneration in Alzheimer's disease and other disorders [J]. *Nat Rev Neurosci*, 2011, 12(12): 723-738.
- [20] Krstic D, Knuesel I. Deciphering the mechanism underlying late-onset Alzheimer disease [J]. *Nat Rev Neurol*, 2013, 9(1): 25-34.
- [21] Liu CC, Kanekiyo T, Xu H, et al. Apolipoprotein E and Alzheimer disease: risk, mechanisms and therapy [J]. *Nat Rev Neurol*, 2013, 9(2): 106-118.
- [22] Carare RO, Teeling JL, Hawkes CA, et al. Immune complex formation impairs the elimination of solutes from the brain: implications for immunotherapy in Alzheimer's disease [J]. *Acta Neuropathol Commun*, 2013, 1: 48.
- [23] Pezzini A, Padovani A. Cerebral amyloid angiopathy-related hemorrhages [J]. *Neurol Sci*, 2008, 29 (Suppl 2S): 260-263.
- [24] Hawkes CA, Gatherer M, Sharp MM, et al. Regional differences in the morphological and functional effects of aging on cerebral basement membranes and perivascular drainage of amyloid-beta from the mouse brain [J]. *Aging Cell*, 2013, 12(2): 224-236.
- [25] Iliff JJ, Wang M, Liao Y, et al. A paravascular pathway facilitates CSF flow through the brain parenchyma and the clearance of interstitial solutes, including amyloid beta [J]. *Sci Transl Med*, 2012, 4(147): 147ra111.
- [26] Iliff JJ, Nedergaard M. Is there a cerebral lymphatic system? [J]. *Stroke*, 2013, 44(6 Suppl 1): S93-S95.
- [27] Kress BT, Iliff JJ, Xia M, et al. Impairment of paravascular clearance pathways in the aging brain [J]. *Ann Neurol*, 2014, 76(6): 845-861.
- [28] Iliff JJ, Wang M, Zeppenfeld DM, et al. Cerebral arterial pulsation drives paravascular CSF-interstitial fluid exchange in the murine brain [J]. *J Neurosci*, 2013, 33(46): 18190-18199.
- [29] Nedergaard M. Neuroscience. Garbage truck of the brain [J]. *Science*, 2013, 340(6140): 1529-1530.
- [30] Jessen NA, Munk AS, Lundgaard I, et al. The Glymphatic System: A Beginner's Guide [J]. *Neurochem Res*, 2015, 40(12): 2583-2599.
- [31] Ren Z, Iliff JJ, Yang L, et al. 'Hit & Run' model of closed-skull traumatic brain injury (TBI) reveals complex patterns of post-traumatic AQP4 dysregulation [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2013, 33(6): 834-845.
- [32] Thrane AS, Rangroo Thrane V, Nedergaard M. Drowning stars: reassessing the role of astrocytes in brain edema [J]. *Trends Neurosci*, 2014, 37(11): 620-628.
- [33] Xie L, Kang H, Xu Q, et al. Sleep drives metabolite clearance from the adult brain. *Science*, 2013, 342(6156): 373-377.
- [34] Picchioni D, Reith RM, Nadel JL, et al. Sleep, plasticity and the pathophysiology of neurodevelopmental disorders: the potential roles of protein synthesis and other cellular processes [J]. *Brain Sci*, 2014, 4(1): 150-201.
- [35] Pappolla M, Sambamurti K, Vidal R, et al. Evidence for lymphatic Abeta clearance in Alzheimer's transgenic mice [J]. *Neurobiol Dis*, 2014, 71: 215-219.