

血脑屏障与 β -淀粉样蛋白相互作用在阿尔茨海默病的研究进展

夏敏¹ 综述 柳太云² 审校

1. 遵义医学院,贵州省遵义市 563000

2. 贵州省人民医院神经内科,贵州省贵阳市 550002

摘要:既往研究普遍认为血脑屏障的破坏为血管性痴呆的始动因素, β 淀粉样蛋白($A\beta$)沉积为阿尔茨海默病的始动因素。然而随着对阿尔茨海默病发病机制研究的深入,越来越多的证据表明,血脑屏障与 $A\beta$ 相互作用共同促进阿尔茨海默病的发生发展。

关键词:阿尔茨海默病;血脑屏障; β -淀粉样蛋白

DOI:10.16636/j.cnki.jinn.2017.02.016

阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)是一种神经系统退行性疾病,其主要病理学特征为局部的神经元和突触变性丢失导致的脑萎缩,细胞外 β -淀粉样蛋白(β -amyloid, $A\beta$)沉积形成的神经炎性斑块以及细胞内 tau 蛋白高度磷酸化形成的神经原纤维缠结。既往研究认为少数家族性 AD 与 $A\beta$ 产生过多有关,而散发性 AD 和部分家族性 AD 与 $A\beta$ 清除障碍有关^[1]。 $A\beta$ 产生和清除慢性失衡可能会导致其在大脑中堆积,从而促进 AD 的发生发展。然而,随着对 AD 发病机制研究的深入,越来越多的证据表明,血脑屏障(blood-brain barrier, BBB)与 $A\beta$ 相互作用共同促进 AD 的发生发展,而非单一因素所决定。本文就血脑屏障及其与 $A\beta$ 相互作用在 AD 发生发展的作用及机制进行综述。

1 BBB 结构与功能

BBB 由脑微血管内皮细胞以及包绕在其外层的基膜、周细胞和星形胶质细胞足突组成。BBB 与血管壁平滑肌细胞、神经元、小胶质细胞等共同构成血管神经单元(neurovascular unit, NVU)。NVU 可调控血脑屏障通透性和脑血流量,维持脑组织间液的化学成分,以保持最佳的脑功能。脑微血管内皮细胞为 BBB 的关键细胞,其通过紧密连接(tight junction, TJ)相连,TJ 保证了内皮细胞高电阻、细胞旁途径低渗透,从而形成物理屏障,保证了 BBB 的功能。内皮细胞的主要功能:①内皮细胞膜形成了细胞间的扩散屏障以限制亲水性分子和离子进入脑;②内皮细胞表面的受体或通道可调节大分子

和蛋白质出入脑;③内皮细胞可调节循环免疫系统细胞进入脑微环境,从而充当中枢神经系统与外周的通信接口。周细胞和星形胶质细胞是维持 BBB 功能的重要组成部分,星形胶质细胞与神经元相连接。小胶质细胞在中枢神经系统炎症或变性过程中被激活,可识别神经元的损伤,为中枢神经系统的免疫细胞。

血脑屏障的主要功能^[2]:防止血液循环中的有毒物质进入中枢神经系统,清除脑组织中的废物,减少神经细胞死亡;维持离子平衡,有助于脑内环境的稳态,优化神经信号;限制扩散,维持中枢神经系统的低蛋白环境,保护神经系统的网络连接;隔离中枢和外周神经递质,减少串扰;免疫监视作用,尽可能减小炎症反应和细胞损伤。这些功能对维持中枢神经系统正常生理功能至关重要,BBB 损伤将会影响中枢神经系统正常运转。

在 AD 发病过程中,内皮细胞转运以及 $A\beta$ 清除受影响,内皮细胞和周细胞的功能受损,TJ 的完整性破坏,神经胶质细胞被激活,从而导致血脑屏障功能受损。BBB / NVU 功能障碍病理变化包括以下几方面:①循环系统的物质从血浆泄漏至中枢神经系统;②转运蛋白的调节障碍导致中枢神经系统营养物质供应不足、毒素积累以及外来成分入侵;③NVU 细胞表达和/或分泌的蛋白质发生变化,可促进炎症、氧化应激和神经元损伤。目前的证据表明,BBB / NVU 功能失调可导致包括 AD 在内的多种神经系统疾病的发展,进而促进认知能力

收稿日期:2016-10-20;修回日期:2017-03-12

作者简介:夏敏(1988-),女,现就读于遵义医学院研究生院神经病学。

通信作者:柳太云(1964-),男,主任医师,教授,博士,主要从事神经遗传病和神经心理学的研究。

的下降和神经退行性变。

此外,脑代谢也取决于脑脊液循环,脑脊液由侧脑室脉络丛产生并由蛛网膜颗粒吸收进入静脉窦。在脉络丛的血液和脑脊液之间的界面存在血-脑脊液屏障,并在脑组织和脑脊液界面存在脑-脑脊液屏障,两者均存在紧密连接限制分子进出脑组织。虽然这些屏障损害不在本文范围内进行叙述,但其功能障碍也可能导致神经毒性物质从血液进入脑继而损害中枢神经系统。

2 AD 患者的研究

AD 的研究最早源于患者死后脑组织病理检查,多采用免疫组化染色检测脑组织切片中的 A β 抗原以及测定血脑屏障的通透性。Alois Alzheimer 在一个生前有着严重记忆障碍的患者脑内发现动脉硬化、神经原纤维缠结以及老年斑块。一些研究通过对脑细胞中 A β 抗体进行染色,从而测得 A β 沉积数量。部分研究通过测定内皮细胞膜上转运受体的数量,从而测得血脑屏障的通透性。近期的 AD 患者尸检调查研究表现出不同的结果,一些发现 BBB 破坏^[3],也有研究没有发现任何 BBB 损伤的证据^[4],更多的证据来自 claudin 表达谱的研究。claudin 是组成 TJ 的形态与功能完整性所必须的蛋白质^[5],在 AD 患者脑内发现过度表达的 claudin,可能提示细胞应激反应或 BBB 功能障碍^[6]。

虽然 AD 患者死后脑组织病理检查可提供有价值的信息,且能够准确定位血脑屏障损害及功能障碍的程度,然而大部分证据局限于 AD 终末阶段的研究,其有以下两个主要的缺点:首先, BBB 功能障碍可能是由于患者死后循环与平衡缺失而产生的效应^[4];第二,获取 AD 早期阶段的尸检证据是很困难的,因为患者通常生活多年后才出现首发症状,且年龄是 BBB 功能的重要影响因素。因此我们应积极探索 AD 早期阶段的病理机制,才能提供更完整可靠的依据。

3 动物模型的研究

小鼠是广泛运用于研究 AD 病理以及治疗方法的动物模型之一,目前已经有多种模拟人类 AD 表型的动物模型。在过去的几十年里,一些转基因小鼠模型用来表达 AD 不同的病理改变,包括淀粉样蛋白病变、淀粉样血管病变、tau 蛋白病变以及神经元和突触变性丢失等^[7]。常见的模型是携带 AD 相关基因的小鼠模型^[8],这些转基因小鼠通常也显示了脑淀粉样血管病变,说明 A β 病理和脑血管之

间的相互作用。利用这些模型,通过不同的技术组合来评价 BBB^[9],显示了 BBB 与 A β 相互作用的机制。也有大量研究,将 A β 注射到小鼠或大鼠的脑或血管中,然后对 A β 跨血脑屏障及其对内皮细胞毒性作用进行评估。Pluta 等^[10]认为 A β 可以通过受损的 BBB 而引起神经元损伤。Gentile 等^[11]认为 BBB 泄漏会增加 A β 进入中枢神经系统的可能,从而引发 AD。Ujiie 等^[12]认为血脑屏障通透性增加与 A β 在脑内沉积相关。Wang 等^[13]证实高度表达于 BBB 内皮细胞膜上的 P-糖蛋白(P-gp)可参与 A β 清除,其数量减少将导致小鼠中枢神经系统中 A β 大量堆积。Storek 等^[14]通过实验证明选择性阻断小鼠内皮细胞膜上低密度脂蛋白受体相关蛋白-1(LRP1)可使脑中的可溶性 A β 升高以及血浆 A β 水平降低,从而导致空间学习和记忆障碍。然而 Poduslo 等^[15]在 A β 沉积的小鼠中并没有发现血脑屏障通透性增加。Banks 等^[16]通过注射放射性标记的 A β 到小鼠体内,结果发现 A β 通过 BBB 从血液进入到脑的转运非常有限,因此推测 BBB 渗透性的增高不太可能导致 A β 在脑中的沉积。

动物模型的研究已提供相当大的一部分证据,支持 A β 与 BBB 共同作用在 AD 中发挥重要作用的假说。虽然动物模型研究可控性较强,且提供了 BBB 的评估技术和入侵成像验证的可能性,但其与人体存在差异性,转换为 AD 在人体的病理生理过程仍然很困难,尤其老年痴呆症的认知功能下降可能是多方面的因素共同造成的,导致动物模型很难完全模拟 AD 在人体的病理生理过程。

4 血脑屏障细胞模型的研究

血脑屏障体外建模是体外研究的常用方法。通过研究 A β 对血脑屏障内皮细胞完整性的破坏,从而对 BBB 屏障功能进行评估。证据表明可溶性 A β 可通过多种受体跨血脑屏障转运。脑内的 A β 可与内皮细胞基底膜上的 LRP1 相结合,随后与顶膜上的 P-gp 结合泵出至血液,这对正常人和 AD 患者脑内的 A β 流出起着至关重要的作用。而晚期糖基化终末产物受体(RAGE)介导了 A β 从血液流入到大脑^[17]。此外,血管内皮生长因子和内皮源性一氧化氮合酶也可能会影响 A β 的跨血脑屏障转运。据报道 A β 寡聚体可直接上调 RAGE 在血管内皮细胞上的表达^[18]。A β -RAGE 相互作用可破坏紧密连接蛋白和血脑屏障完整性。A β 可诱导细胞氧化应激,进而引发一连串的氧化还原反应,导

致细胞凋亡和血管炎症。Qosa 等^[19]通过人脑内皮细胞在体外建立血脑屏障模型,证明可溶性 A β 在纳摩尔浓度下可破坏内皮细胞的完整性及其自身的转运。中枢神经系统 A β 除通过血脑屏障清除外,也可被胰岛素降解酶和脑啡肽酶降解清除,这些酶是由大脑中不同的细胞成分包括内皮细胞所表达^[20, 21]。目前更多的是从生理和病理相关的角度研究 A β 肽的组成,而其通过血脑屏障的清除及其降解清除的体外研究相对较少。

5 影像学研究

目前为止,大多数血脑屏障损伤成像研究聚焦于增强磁共振成像(MRI)以及正电子发射断层扫描(PET),增强计算机断层扫描(CT)使用相对较少。

MRI 研究显示了血脑屏障漏,尤其在合并脑白质病变和血管病变的痴呆患者。动态对比增强磁共振(DCE-MRI)广泛运用于血脑屏障的体内研究,通过顺磁性造影剂,如钆的化合物,质子的弛豫行为随 MRI 信号的改变而改变。BBB 通透性取决于化合物的大小和亲脂性,理想情况下,造影剂几乎不能通过完整的血脑屏障,但却很容易穿过受损的 BBB。Gd-DTPA 是 MRI 中最常见的对比剂,Gd-DTPA 分子量相对较小(分子量为 0.6 kDa),可以通过已受损 BBB 的紧密连接。动态增强成像依赖于造影剂浓度的时间梯度评价,造影剂从血管内到血管外细胞间隙的传输速率衡量 BBB 通透性,最直接的评估方法是调查在感兴趣区域的相对信号增强。Hartz 等^[22]通过观察 MRI 的 T₁ 及增强 T₁ 加权像来判断 BBB 的完整性,结果表明 A β 与紧密连接的改变有关,从而破坏了 BBB 的完整性。总体而言基于 MRI 的研究提供了血脑屏障破坏及其与 A β 相互作用的依据,特别是存在脑白质病变和血管病变的 AD 患者。

PET 技术被广泛运用于神经影像学,可通过示踪剂与感兴趣区的病理生理过程之间相互作用对活体大脑进行分子定量及功能评估。Van Assema 等^[23]通过 PET 量化 A β 及 P-gp 来衡量 BBB 功能障碍,结果发现与正常组对比,AD 患者 P-gp 功能下降以及 A β 沉积增加。近几年 β 淀粉样蛋白 PET 成像迅速发展,为 AD 早期诊断提供了潜在的可能性。A β -PET 通过示踪剂可检测到中到重度的 A β 沉积。目前常用的小分子示踪剂有¹¹C-PIB、¹⁸F-Florbetapir 等。¹⁸F-Florbetapir 既是一种 A β 显像

剂,也是一种可与脑内 A β 结合的免疫抑制剂治疗药物。¹¹C-PIB 为硫黄素 T 的衍生物,可在疾病的早期过程中检测到 AD 病理改变,可显示 A β 在脑内聚集的数量及分布,并且有助于鉴别 AD 与其他类型的痴呆。¹¹C-PIB 及¹⁸F-Florbetapir 检测到的淀粉样斑块主要是由不溶性纤维化 A β 组成^[24],目前认为不溶性 A β 与 AD 的进展并没有良好的相关性,而可溶性 A β 是较好的疾病状态标志物。Dag Selin 等^[25]在中枢神经系统第一次使用基于抗体的示踪剂,由于抗体可与特殊形式的蛋白质特异性结合,其可显示脑中的可溶性 A β ,此技术将可能成为预测 AD 患者疾病阶段的重要诊断工具。

6 展望

血脑屏障是脑微血管的重要组成部分,其参与调节脑血流量、物质转运、代谢和免疫等。BBB 功能紊乱在 AD 的各个阶段均可见,甚至可能先于神经元变性。目前大量研究显示了 BBB 与 A β 相互作用共同促进 AD 发生发展的证据,相信随着受体介导 A β 清除的深入研究结合影像学技术的发展,可进一步阐明 A β 与 BBB 相互作用的机制,必会最大限度地寻找新的有效的预防及治疗痴呆的方法。

参 考 文 献

- [1] Sagare AP, Bell RD, Zlokovic BV. Neurovascular defects and faulty amyloid- β vascular clearance in Alzheimer's disease [J]. J Alzheimers Dis, 2013, 33 (Suppl 1): S87-S100.
- [2] Abbott NJ. Blood-brain barrier structure and function and the challenges for CNS drug delivery [J]. J Inher Metab Dis, 2013, 36 (3): 437-449.
- [3] Ryu JK, McLarnon JG. A leaky blood-brain barrier, fibrinogen infiltration and microglial reactivity in inflamed Alzheimer's disease brain [J]. J Cell Mol Med, 2009, 13 (9A): 2911-2925.
- [4] Munoz DG, Erkinjuntti T, Gaytan-Garcia S. Serum protein leakage in Alzheimer's disease revisited [J]. Ann NY Acad Sci, 1997, 826: 173-189.
- [5] Günzel D, Yu AS. Claudins and the modulation of tight junction permeability [J]. Physiol Rev, 2013, 93 (2): 525-569.
- [6] Spulber S, Bogdanovic N, Romanitan MO, et al. Claudin expression profile separates Alzheimer's disease cases from normal aging and from vascular dementia cases [J]. J Neurol Sci, 2012, 322 (1-2): 184-186.
- [7] LaFerla FM, Green KN. Animal models of Alzheimer disease [J]. Cold Spring Harb Perspect Med, 2012, 2 (11):

- a006320.
- [8] Garcia-Alloza M, Robbins EM, Zhang-Nunes SX, et al. Characterization of amyloid deposition in the APPswe/PS1dE9 mouse model of Alzheimer disease [J]. *Neurobiol Dis*, 2006, 24 (3) : 516-524.
- [9] Wunder A, Schoknecht K, Stanimirovic DB, et al. Imaging blood-brain barrier dysfunction in animal disease models [J]. *Epilepsia*, 2012, 53 (Suppl 6) : 14-21.
- [10] Pluta R, Januszewski S, Ułamek M. Ischemic blood-brain barrier and amyloid in white matter as etiological factors in leukoaraiosis [J]. *Acta Neurochir Suppl*, 2008, 102 : 353-356.
- [11] Gentile MT, Poulet R, Di Pardo A, et al. Beta-Amyloid deposition in brain is enhanced in mouse models of arterial hypertension [J]. *Neurobiol Aging*, 2009, 30 (2) : 222-228.
- [12] Ujiie M, Dickstein DL, Carlow DA, et al. Blood-brain barrier permeability precedes senile plaque formation in an Alzheimer disease model [J]. *Microcirculation*, 2003, 10 (6) : 463-470.
- [13] Wang W, Bodles-Brakhop AM, Barger SW. A Role for P-Glycoprotein in Clearance of Alzheimer Amyloid β -Peptide from the Brain [J]. *Curr Alzheimer Res*, 2016, 13 (6) : 615-620.
- [14] Storck SE, Meister S, Nahrath J, et al. Endothelial LRP1 transports amyloid- β (1-42) across the blood-brain barrier [J]. *J Clin Invest*, 2016, 126 (1) : 123-136.
- [15] Poduslo JF, Curran GL, Wengenack TM, et al. Permeability of proteins at the blood-brain barrier in the normal adult mouse and double transgenic mouse model of Alzheimer ' s disease [J]. *Neurobiol Dis*, 2001, 8 (4) : 555-567.
- [16] Banks WA, Kastin AJ, Barrera CM, et al. Lack of saturable transport across the blood-brain barrier in either direction for beta-amyloid1-28 (Alzheimer ' s disease protein) [J]. *Brain Res Bull*, 1991, 27 (6) : 819-823.
- [17] Qosa H, Abuasal BS, Romero IA, et al. Differences in amyloid-beta clearance across mouse and human blood-brain barrier models : Kinetic analysis and mechanistic modeling [J]. *Neuropharmacology*, 2014, 79 : 668-678.
- [18] Wan W, Cao L, Liu L, et al. A β (1-42) oligomer-induced leakage in an in vitro blood-brain barrier model is associated with upregulation of RAGE and metalloproteinases, and down-regulation of tight junction scaffold proteins [J]. *J Neurochem*, 2015, 134 (2) : 382-393.
- [19] Qosa H, LeVine H 3rd, Keller JN, et al. Mixed oligomers and monomeric amyloid- β disrupts endothelial cells integrity and reduces monomeric amyloid- β transport across hCMEC/D3 cell line as an in vitro blood-brain barrier model [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2014, 1842 (9) : 1806-1815.
- [20] Son SM, Cha MY, Choi H, et al. Insulin-degrading enzyme secretion from astrocytes is mediated by an autophagy-based unconventional secretory pathway in Alzheimer disease [J]. *Autophagy*, 2016, 12 (5) : 784-800.
- [21] Wang Z, Yang D, Zhang X, et al. Hypoxia-induced down-regulation of neprilysin by histone modification in mouse primary cortical and hippocampal neurons [J]. *PLoS One*, 2011, 6 (4) : e19229.
- [22] Hartz AM, Bauer B, Soldner EL, et al. Amyloid- β contributes to blood-brain barrier leakage in transgenic human amyloid precursor protein mice and in humans with cerebral amyloid angiopathy [J]. *Stroke*, 2012, 43 (2) : 514-523.
- [23] van Assema DM, Lubberink M, Bauer M, et al. Blood-brain barrier P-glycoprotein function in Alzheimer ' s disease [J]. *Brain*, 2012, 135 (pt 1) : 181-189.
- [24] Klunk WE, Engler H, Nordberg A, et al. Imaging brain amyloid in Alzheimer ' s disease with Pittsburgh Compound-B [J]. *Ann Neurol*, 2004, 55 (3) : 306-319.
- [25] Sehlin D, Fang XT, Cato L, et al. Antibody-based PET imaging of amyloid beta in mouse models of Alzheimer ' s disease [J]. *Nat Commun*, 2016, 7 : 10759.