

- [J]. Neuroimage Clin, 2016, 12(5):1004-1012.
- [22] Kim J, Whyte J, Patel S, et al. Methylphenidate modulates sustained attention and cortical activation in survivors of traumatic brain injury: a perfusion fMRI study[J]. Psychopharmacology, 2012, 222(1):47-57.
- [23] Mayer AR, Bellgowan PS, Hanlon FM. Functional magnetic resonance imaging of mild traumatic brain injury[J]. Neurosci Biobehav Rev, 2015, 49(12):8-18.
- [24] Rao JS, Ma M, Zhao C, et al. Alteration of brain regional homogeneity of monkeys with spinal cord injury: A longitudinal resting-state functional magnetic resonance imaging study[J]. Magn Reson Imaging, 2015, 33(9):1156-1162.
- [25] Bodien Y. Poster 56 functional magnetic resonance imaging-based detection of covert command-following and communication in a patient with severe traumatic brain injury: a case report[J]. PM&R, 2015, 7(9):110.
- [26] Guller Y, Giacino J. Potential applications of concurrent transcranial magnetic stimulation and functional magnetic resonance imaging in acquired brain injury and disorders of consciousness[J]. Brain Injury, 2014, 28(9):1190-1196.
- [27] Seghier ML, Hüppi PS. The role of functional magnetic resonance imaging in the study of brain development, injury, and recovery in the newborn. [J]. Semin Perinatol, 2010, 34(1):79-86.

以 β 淀粉样蛋白为靶点治疗阿尔茨海默病的 临床药物试验研究进展

陈永洪 综述 曾进胜 审校

中山大学附属第一医院神经内科, 广东省 广州市 510080

摘要: β 淀粉样蛋白 ($A\beta$) 所形成的斑块沉积是阿尔茨海默病 (AD) 的重要病理特征之一。 $A\beta$ 的聚集对神经细胞具有毒性作用, 可导致海马及皮质神经元的变性和死亡, 最终造成机体学习记忆及认知功能障碍。以 $A\beta$ 为治疗靶点, 减少 $A\beta$ 斑块的生成和促进其清除, 是目前治疗 AD, 改善认知功能障碍的主要策略之一, 并已有多种靶向药物进入临床药物试验。本文将近年的相关临床药物试验研究进展作了综述。

关键词: β 淀粉样蛋白; 阿尔茨海默病; 认知功能障碍; 临床药物试验

DOI: 10.16636/j.cnki.jinn.2018.03.023

阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 是最常见的导致学习记忆及认知功能障碍的疾病, 约占导致认知功能障碍病因的 50% ~ 70%^[1], 但 AD 的发病机制至今仍未完全阐明, 其中淀粉样蛋白假说是目前研究最多的 AD 病理机制之一。该学说的核心观点是 AD 发病过程中的关键因素之一是 β 淀粉样蛋白 (β -amyloid peptide, $A\beta$) 聚集体在细胞外沉积, 并最终导致认知功能障碍。该假说从

1992 年提出至今, 几乎统治了 AD 研究的学术圈和制药界。如今, 以 $A\beta$ 为靶点治疗 AD, 改善认知功能障碍的药物, 已不断从实验室研究进入临床药物试验。

1 调节 APP 代谢关键酶减少 $A\beta$ 的生成

$A\beta$ 是 β 淀粉样前体蛋白 (β -amyloid precursor, APP) 在加工修饰过程中的剪切产物。在生理状态下, APP 通过非淀粉样蛋白生成途径进行代谢时,

基金项目: 广东省科技项目 (2014B030301035; 2015B050501003); 广州市科技项目 (201604020010); 广东省神经系统疾病重大疾病诊治工程技术研究中心

收稿日期: 2017-12-07; **修回日期:** 2018-01-18

作者简介: 陈永洪 (1988-), 男, 在读博士, 主要从事脑血管疾病临床与机制的研究。

通信作者: 曾进胜 (1964-), 男, 博士后, 副院长, 科主任, 教授, 主任医师, 博士生导师, 主要从事脑血管疾病临床与机制的研究。E-mail: zengjs@pub.guangzhou.gd.cn.

其在 α 分泌酶作用下能够生成 α APPs 和蛋白 C83。在病理状态下, APP 则通过淀粉样蛋白途径进行代谢, 首先在 β 分泌酶 (BACE1) 作用下生成 β APPs 和蛋白 C99, C99 在 γ -分泌酶作用下进一步生成 A β 40 和 A β 42 (图 1)。理论上, 阻断 APP 的 A β 方向剪切或增加 APP 的非 A β 方向剪切, 均有利于减少 A β 毒性片段的生成, 因此, γ 、 β 分泌酶抑制剂或 α 分泌酶激动剂也被认为可能有助于治疗 AD。

1.1 γ 分泌酶抑制剂

γ -分泌酶作用于 APP 代谢的终末阶段, 因此该酶也被视为减少 A β 毒性片段生成的关键干预点。它是一种广泛存在于各种细胞内的蛋白酶复合体, 由 4 种成分构成: 早老蛋白 (presenilin, PS)、单过

性跨膜蛋白 (nicastrin, NCT)、前咽缺陷蛋白 (anterior pharynx defective, Aph-1) 及早老素增强蛋白 (presenilin enhancer protein 2, Pen-2)。目前研究表明, γ -分泌酶同时具有多种酶作用底物蛋白, 尤其是其中的 Notch 蛋白对细胞的增殖、生长、分化以及细胞间信号传导均具有重要作用。 γ -分泌酶抑制剂在降低酶活性的同时, 也非选择性地阻断 Notch 信号, 导致肿瘤风险增加。

近 10 年来, 相继有多种 γ 分泌酶抑制剂 (γ -secretase inhibitors, GSIs) 开始由实验室研发进入到临床试验阶段。Semagacestat 是其中的典型代表, 也曾被认为是最具发展前景的 AD 治疗药物。在临床 I 期 31 名健康受试者和临床 II 期 51 名轻 - 中

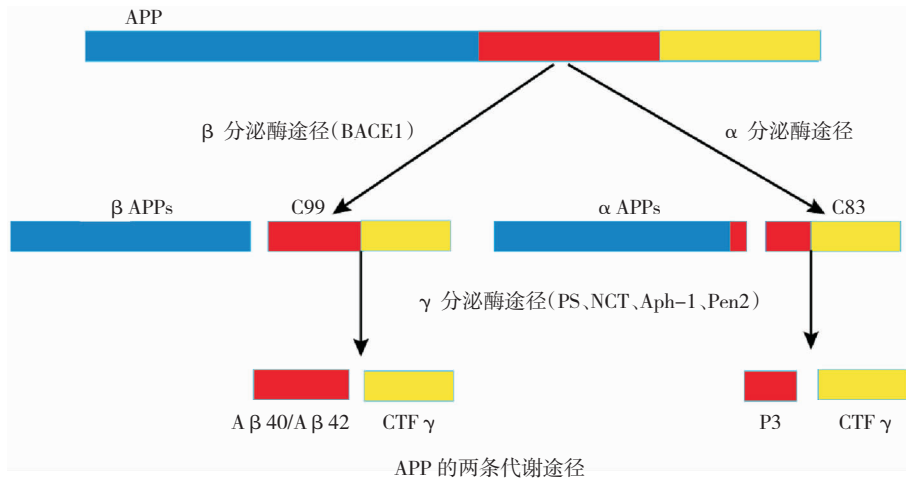


图 1 APP 代谢途径 (引自 Xiulian Sun, et al. 2012 [2])

度 AD 患者中, 均可使受试者血浆中的 A β 浓度降低, 但未能降低受试者脑脊液中的 A β 浓度。最终的临床 III 期试验结果也显示该药并未能延缓 AD 的病程及改善患者的认知功能, 且部分患者出现了严重的不良反应, 如皮肤癌和胃肠道毒性等, 于 2013 年宣布终止试验 [3]。

另一个有名的 GSIs 是 Avagacestat, 动物实验证实其能有效减少大脑、血浆及脑脊液中的 A β 。临床 I 期试验结果显示, 受试者仅出现轻微的不良反应。临床 II 期试验纳入 209 例轻 - 中度 AD 患者, 患者出现药物高剂量耐受性差, 且类似于 Semagacestat, 可导致肿瘤发生的危险性增加, 已于 2012 年宣布停止临床试验 [4]。

随着认识的深入, 能够改变 γ 分泌酶的活性, 将 APP 剪切成无毒的, 而又对 Notch 信号不产生明

显抑制效应的 γ 分泌酶剂型开始成为新的开发热点, 也称之为 γ 分泌酶调节剂 (γ -secretase modulators, GSMs)。Tarenflurbil 是第一个进入临床试验的 GSMs。临床 I 期试验在健康人群中展示出了良好的安全性, 进入临床 II 期试验, 210 例轻度 AD 患者对该药耐受性良好, 并且给药组认知功能下降速度较安慰剂组减慢。临床 III 期试验纳入 1600 名轻度 AD 患者, 但并没有明显改善患者的认知功能 [5]。Begacestat 是另外一种 GSMs, 其在临床 I 期试验即发现该药并不能有效减低受试者脑脊液中的 A β 浓度 [6], 最终也没有继续对其进一步开发。

日前所研发的 γ -分泌酶抑制剂/调节剂类药物, 均有不同程度的非选择性阻断 Notch 信号, 导致治疗效果以外的不良反应, 这也是该类药物临床应用受限的主要原因之一。因此, 深入了解 γ -分

泌酶的组成结构及功能,或许是进一步开发该类药物的关键所在。

1.2 β 分泌酶抑制剂

β -分泌酶包括多种蛋白酶,其中参与 $A\beta$ 生成的关键酶是天冬氨酸蛋白酶 1 (β -site amyloid precursor protein-cleaving enzyme 1, BACE1)。BACE1 作为 $A\beta$ 生成的起始关键酶,动物实验已证实抑制其功能的表达能有效降低体内 $A\beta$ 水平。在 BACE1 基因部分缺失的小鼠中, $A\beta$ 的生成大幅度下降,而在 BACE1 基因全缺失的小鼠中, $A\beta$ 几乎未见生成^[7]。

最为著名的是 BACE1 抑制剂是 Verubecestat,在两项临床 I 期试验中均可有效降低受试者脑脊液中的 $A\beta$ 浓度。临床 II 期试验前期纳入了 400 名轻 - 中度 AD 患者,然而遗憾的是,由于初步结果显示为阴性,日前该药用于治疗轻 - 中度 AD 患者的临床 III 期试验已终止,但该药另外一项针对 AD 前驱期患者的临床 III 期试验仍在继续,计划纳入 1350 名受试者,预计将于 2021 年完成^[8]。

AZD3293 于 2012 年开发进入临床 I 期试验,结果显示可有效降低受试者血浆及脑脊液中的 $A\beta$ 浓度。2014 年,AZD3293 开始进入临床 II/III 期试验,预计将有 2202 名 AD 前驱期和 1899 名轻度 AD 患者参与,计划于 2021 年完成^[9]。另外一种 BACE1 抑制剂 E2609,2012 年公布临床 I 期试验结果显示,该药明显降低了受试者血浆中的 $A\beta$ 浓度,但脑脊液中 $A\beta$ 浓度的降低则呈现明显的剂量依赖性。临床 II/III 期试验计划分别纳入 71 名轻 - 中度 AD 和 1330 名 AD 前驱期患者,将重点评价患者认知功能的改善及明确用药时机、安全性和每日剂量方案等^[10]。JNJ-54861911 临床 I 期试验结果显示,该药能有效降低受试者脑脊液中的 $A\beta$ 浓度,目前正在欧美开始了临床 II/III 期试验研究,并将目标重点放在预防和干预目标人群早期认知功能障碍的发生上^[10]。另外还有新研发的 CNP520,于 2015 年开展多中心期临床 I/IIa 试验,纳入 125 名介于 60 ~ 80 岁健康受试者,初期结果显示该药物并无明显安全性问题^[10],目前该药针对 AD 高危人群正进行临床 II/III 期试验,预计将有 2000 名受试者参与。

BACE1 基因具有重要的生长发育作用,BACE1 基因完全敲除的小鼠,在出生后即有认知功能障碍、海马神经元生成异常,甚至死亡等。幸庆的

是,临床药物试验受试者中暂无上述现象,未来的关注点将在于此类药物的用药时机及治疗 AD 的确切疗效。

1.3 α 分泌酶激动剂

α 分泌酶是裂解 β -APP 的主要分泌酶,属于解聚素 - 金属蛋白酶家族 (a disintegrin and metalloproteinase, ADAM)。有研究表明,在 APP 转基因小鼠神经元中过表达 ADAM10,可使 α APPs 的分泌增加,同时可降低 $A\beta$ 的水平^[11]。他汀类药物也是一种 α 分泌酶激动剂,给予高脂饮食喂养的大鼠,其血清 $A\beta$ 浓度增加,同时伴记忆功能减退,给予他汀类药物治疗后可降低血清中 $A\beta$ 浓度,但临床随机试验并没有发现他汀类药物能有效改善记忆障碍^[12]。乙酰胆碱脂酶抑制剂是目前用于改善认知的有效药物,有研究证实其作用途径之一是通过提高 ADAM10 的表达水平^[13]。

虽然上调 α 分泌酶活性能起到 APP 代谢的分流作用,但是由于 ADAM 同时具有多种作用底物,目前尚未开发出特异性的 α 分泌酶激动剂类药物,其临床应用仍有待于进一步研发。

2 抗体免疫治疗促进 $A\beta$ 的清除

$A\beta$ 肽具有被免疫系统识别的 B 细胞和 T 细胞抗原决定簇,构成了 $A\beta$ 疫苗及抗 $A\beta$ 抗体免疫治疗的药理基础。近年来,抗体免疫疗法促进 $A\beta$ 的清除,被认为可用于 AD 的治疗并改善认知,包括主动免疫和被动免疫。

2.1 抗 $A\beta$ 主动免疫

是指用外源性的 $A\beta$ 肽作为抗原刺激机体产生相应的抗体,该抗体与内源性 $A\beta$ 形成抗原抗体复合物,继而被激活的吞噬细胞清除。AN1792 是第一个人工合成的 $A\beta$ 疫苗,临床 I 期试验纳入 20 名轻 - 中度 AD 患者,发现 50% 的受试者认知功能较对照组有所改善。然而临床 II 期试验发现部分受试者注射该疫苗后出现急性脑膜炎,这也使得该疫苗临床试验宣告终止^[14]。继 AN1792 之后,CAD106 是第二代的 $A\beta$ 疫苗。临床 I 和 II 期试验结果显示该疫苗使用安全性良好,有望成为 AD 治疗的有效手段^[15]。ACC-001 也是第二代的 $A\beta$ 疫苗,临床 I 期试验结果同 CAD106,临床 II 期试验纳入 245 名轻 - 中度 AD 患者,但并无预期改善认知功能的治疗效果^[16]。

2.2 抗 $A\beta$ 被动免疫

是指利用 $A\beta$ 克隆抗体与脑中 $A\beta$ 结合,直接

诱导 Aβ 分解或者激活小胶质细胞通过吞噬作用清除 Aβ。最有名的莫过于靶向于 Aβ 的单抗 Solanezumab, 临床 I 和 II 期试验分别纳入健康受试者和轻 - 中度 AD 患者, 结果显示该疫苗使用安全, 受试者耐受性良好, 但认知功能未见明显改善。2009 年两项临床 III 期试验纳入 2000 余健康受试者和轻 - 中度 AD 患者, 进行为期 80 周的疫苗治疗, 然而治疗效果均为阴性^[17]。但进一步的亚组数据分析发现, 轻度 AD 患者中有 34% 认知功能障碍有所改善, 18% 行为能力下降有所延缓, 这些数据也点燃了制药公司继续研发这个疫苗的热情, 并招募了 2100 余名轻度 AD 患者进行长达 18 个月的第 3 次 III 期试验, 然而遗憾的是, 研究结果仍以失败告终^[18]。

Bapineuzumab 也是一种针对 Aβ 肽的单抗, 临床 I 和 II 期试验结果均与 Solanezumab 类似, 临床 III 期试验纳入 683 名健康受试者和 329 名轻 - 中度 AD 患者, 同样得出阴性结果, 且发现该疫苗在载脂蛋白 ε4 等位基因携带者中易诱发脑水肿, 目前该疫苗已停止研发应用^[19]。Crenezumab、Gantenerumab 和 GSK933776 是另外 3 种针对 Aβ 肽的单抗, 并逐渐将重点转移到轻度 AD 患者病情的改善, 未见明显的不良反应, 但疗效也没有达到预期目标^[20]。免疫球蛋白是 Aβ 肽的多克隆抗体, 有研

究发现静注免疫球蛋白 (intravenous immunoglobulin, IVIG) 能降低脑脊液中的 Aβ 浓度, 并可改善部分患者的认知功能障碍^[21]。临床 I 和 II 期试验的结果均证实 IVIG 的安全性值得肯定^[22], 临床 III 期试验纳入 390 名轻 - 中度 AD 患者接受为期 18 个月的 IVIG 治疗, 但最终的研究结果仍然令人失望, IVIG 除了降低血浆中 Aβ42 水平, 对患者认知及行为功能并无治疗效果^[23]。

3 小结与展望

迄今为止, 尚未有任何一种以 Aβ 作为靶点治疗 AD, 改善患者认知功能障碍的药物应用于临床取得成功 (表 1), 一系列临床药物试验的失败也掀起了学术界对于淀粉样蛋白假说准确性的广泛争论^[24, 25]。但不可否认的是, Aβ 的过量生成、聚集和沉积与认知功能障碍的发生有着密切关系^[26], 其可激活一系列的级联反应, 导致海马和大脑皮质神经元的丢失和死亡, 突触功能损害, 并最终导致患者学习记忆及认知功能障碍等。虽然目前很多候选药物没有达到治疗终点, 这与药物的血脑屏障通透性、安全性、用药时机以及患者的耐受性等不无关系。相信随着对 Aβ 致病机理研究的不断深入, 以 Aβ 作为靶点治疗 AD, 改善认知功能障碍的药物研发也将会取得突破性进展, 从而为患者带来新的希望。

表 1 靶向 Aβ 治疗 AD 改善认知类药物临床试验研究现状

作用途径	药物名称	临床试验阶段	纳入受试者类型	纳入数量	起止时间	结果	现状
减少 Aβ 生成	Semagacestat	III 期	AD	1537	2008~2011	阴性	终止
	Avagacestat	II 期	轻-中度 AD	209	2009~2010	阴性	终止
	Begacestat	I 期	健康人群	49	2007~2009	阴性	终止
	Tarenflurbil	III 期	轻度 AD	1600	2005~2008	阴性	终止
	Verubecestat	II 期/III 期	轻-中度 AD/AD 前驱期	2210/1350	2012~2017/2013~2021	阴性/未公布	终止/进行中
β 分泌酶抑制剂	AZD3293	II 期/III 期	AD 前驱期/轻度 AD	2202/1899	2014~2019/2016~2021	未公布	进行中
	E2609	II 期/III 期	轻-中度 AD/AD 前驱期	71/1330	2014~2018/2016~2020	未公布	进行中
	JNJ-54861911	II / III 期	AD 高危人群	1650	2015~2024	未公布	进行中
	CNP520	II / III 期	AD 高危人群	200	2017~2024	未公布	进行中
	AN1792	II 期	轻-中度 AD	375	2001~2003	阴性	终止
抗 Aβ 主动免疫	CAD106	II / III 期	AD 高危人群	1340	2015~2024	未公布	进行中
	ACC 001	II 期	轻-中度 AD	245	2009~2022	阴性	终止
促进 Aβ 清除	Solanezumab	III 期/III 期	轻-中度 AD/AD 高危人群	2129/2120	2013~2017/2012~2023	阴性/未公布	终止/进行中
	Bapineuzumab	III 期	轻-中度 AD	1100	2008~2012	阴性	终止
	Crenezumab	III 期	轻-中度 AD	750	2017~2022	未公布	进行中
	Gantenerumab	III 期/III 期	轻度 AD/AD 前驱期	1000/79	2014~2019/2010~2020	未公布	进行中
	GSK933776	I 期	轻度 AD	79	2010~2011	阴性	进行中
	IVIG	III 期	轻-中度 AD	390	2008~2012	阴性	终止

参 考 文 献

- [1] Quaglio G, Brand H, Dario C. Fighting dementia in Europe: the time to act is now [J]. *Lancet Neurol*, 2016, 15(5): 452-454.
- [2] Sun X, Bromley-Brits K, Song W. Regulation of beta-site APP-cleaving enzyme 1 gene expression and its role in Alzheimer's disease [J]. *J Neurochem*, 2012, 120(1): 62-70.
- [3] Doody RS, Raman R, Farlow M, et al. A phase 3 trial of semagacestat for treatment of Alzheimer's disease [J]. *N Engl J Med*, 2013, 369(4): 341-350.
- [4] Coric V, van Dyck CH, Salloway S, et al. Safety and tolerability of the gamma-secretase inhibitor avagacestat in a phase 2 study of mild to moderate Alzheimer disease [J]. *Arch Neurol*, 2012, 69(11): 1430-1440.
- [5] Green RC, Schneider LS, Amato DA, et al. Effect of tarenflurbil on cognitive decline and activities of daily living in patients with mild Alzheimer disease: a randomized controlled trial [J]. *JAMA*, 2009, 302(23): 2557-2564.
- [6] Martone RL, Zhou H, Atchison K, et al. Begacestat (GSI-953): a novel, selective thiophene sulfonamide inhibitor of amyloid precursor protein gamma-secretase for the treatment of Alzheimer's disease [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2009, 331(2): 598-608.
- [7] McConlogue L, Buttini M, Anderson JP, et al. Partial reduction of BACE1 has dramatic effects on Alzheimer plaque and synaptic pathology in APP Transgenic Mice [J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(36): 26326-26334.
- [8] Hawkes N. Merck ends trial of potential Alzheimer's drug verubecestat [J]. *BMJ*, 2017, 356: j845.
- [9] Cebers G, Alexander RC, Haerberlein SB, et al. AZD3293: Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Effects in Healthy Subjects and Patients with Alzheimer's Disease [J]. *J Alzheimers Dis*, 2017, 55(3): 1039-1053.
- [10] Evin G. Future Therapeutics in Alzheimer's Disease: Development Status of BACE Inhibitors [J]. *Bio Drugs*, 2016, 30(3): 173-194.
- [11] Postina R, Schroeder A, Dewachter I, et al. A disintegrin-metalloproteinase prevents amyloid plaque formation and hippocampal defects in an Alzheimer disease mouse model [J]. *J Clin Invest*, 2004, 113(10): 1456-1464.
- [12] Bangen KJ, Clark AL, Edmonds EC, et al. Cerebral Blood Flow and Amyloid-beta Interact to Affect Memory Performance in Cognitively Normal Older Adults [J]. *Front Aging Neurosci*, 2017, 9: 181.
- [13] Zimmermann M, Gardoni F, Marcello E, et al. Acetylcholinesterase inhibitors increase ADAM10 activity by promoting its trafficking in neuroblastoma cell lines [J]. *J Neurochem*, 2004, 90(6): 1489-1499.
- [14] Yang C, Xiao S. New developments of clinical trial in immunotherapy for Alzheimer's disease [J]. *Curr Pharm Biotechnol*, 2015, 16(6): 484-491.
- [15] Farlow MR, Andreasen N, Riviere ME, et al. Long-term treatment with active Abeta immunotherapy with CAD106 in mild Alzheimer's disease [J]. *Alzheimers Res Ther*, 2015, 7(1): 23.
- [16] Pasquier F, Sadowsky C, Holstein A, et al. Two Phase 2 Multiple Ascending-Dose Studies of Vanutide Cridificar (ACC-001) and QS-21 Adjuvant in Mild-to-Moderate Alzheimer's Disease [J]. *J Alzheimers Dis*, 2016, 51(4): 1131-1143.
- [17] Doody RS, Thomas RG, Farlow M, et al. Phase 3 trials of solanezumab for mild-to-moderate Alzheimer's disease [J]. *N Engl J Med*, 2014, 370(4): 311-321.
- [18] The LN. Solanezumab: too late in mild Alzheimer's disease? [J]. *Lancet Neurol*, 2017, 16(2): 97.
- [19] Vandenberghe R, Rinne JO, Boada M, et al. Bapineuzumab for mild to moderate Alzheimer's disease in two global, randomized, phase 3 trials [J]. *Alzheimers Res Ther*, 2016, 8(1): 18.
- [20] Leyhe T, Andreasen N, Simeoni M, et al. Modulation of beta-amyloid by a single dose of GSK933776 in patients with mild Alzheimer's disease: a phase I study [J]. *Alzheimers Res Ther*, 2014, 6(2): 19.
- [21] Dodel RC, Du Y, Depboylu C, et al. Intravenous immunoglobulins containing antibodies against beta-amyloid for the treatment of Alzheimer's disease [J]. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 2004, 75(10): 1472-1474.
- [22] Puli L, Tanila H, Relkin N. Intravenous immunoglobulins for Alzheimer's disease [J]. *Curr Alzheimer Res*, 2014, 11(7): 626-636.
- [23] Relkin NR, Thomas RG, Rissman RA, et al. A phase 3 trial of IV immunoglobulin for Alzheimer disease [J]. *Neurology*, 2017, 88(18): 1768-1775.
- [24] Herrup K. The case for rejecting the amyloid cascade hypothesis [J]. *Nat Neurosci*, 2015, 18(6): 794-799.
- [25] Lyon J. Alzheimer Outlook Far From Bleak [J]. *JAMA*, 2017, 317(9): 896-898.
- [26] Blennow K, Zetterberg H. The past and the future of Alzheimer's disease CSF biomarkers-a journey toward validated biochemical tests covering the whole spectrum of molecular events [J]. *Front Neurosci*, 2015, 9: 345.