

髓样细胞触发受体 2 调控小胶质细胞功能及参与阿尔茨海默病发病机制的研究进展

张嘉维 综述 付剑亮 审校

上海交通大学附属第六人民医院神经内科,上海市 200233

摘要:阿尔茨海默病(AD)是一种以细胞外 β 淀粉样蛋白($A\beta$)沉积形成的淀粉样斑块、细胞内过度磷酸化 tau 蛋白形成的纤维缠结及神经炎症为特征性病理表现的神经退行性病变。近年来研究发现,髓样细胞触发受体 2(TREM2)基因突变显著增加阿尔茨海默病的发病风险。TREM2 在中枢神经系统(CNS)中仅表达于小胶质细胞,小胶质细胞作为 CNS 中最主要的一道免疫防线,吞噬中枢神经系统特异性碎片及 $A\beta$ 和 tau 等异常聚集蛋白,还可调节可溶性炎症介质的释放,以应对中枢神经系统损伤。本文对小胶质细胞 TREM2 在 AD 中的作用进行综述。

关键词:阿尔茨海默病;小胶质细胞;髓样细胞触发受体 2; β 淀粉样蛋白;炎症反应

DOI:10.16636/j.cnki.jinn.2018.06.019

阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)是最常见的痴呆类型,该病是与多基因有关的中枢神经系统退行性疾病。以 65 岁为界,AD 可分为早发型 AD(early-onset familial Alzheimer's disease, EOAD)与晚发型 AD(late-onset familial Alzheimer's disease, LOAD),其中 EOAD 主要由 β -淀粉样蛋白前体(β -amyloid precursor protein, APP)、早老素-1(presenilin, PSEN1)和早老素-2(PSEN2)基因错义突变引起,而载脂蛋白(Apolipoprotein, APOE)基因则是导致晚发型 AD 发病的重要危险基因。然而,APOE 基因突变不能解释 LOAD 发病的所有机制,因此推测,LOAD 可能是由多基因和环境因素共同作用所致^[1]。近年来,随着全基因组关联研究和二代基因测序技术的进展,越来越多的风险基因被发现。其中 2012 年发现的髓系细胞触发受体 2(triggering receptor expressed on myeloid cells 2, TREM2)基因备受关注,因为 TREM2 基因位点上的罕见突变增加 AD 发病风险的概率与 APOE 基因相似,但具体机制还不太明确,有待进一步研究^[2]。

1 髓系细胞触发受体 2

TREMs 是髓系细胞表面表达的一类蛋白家族,其编码基因位于人类染色体 6p21 和鼠类染色体 17C3。人类的 TREMs 基因包括 TREM1、TREM2、TREM4、TREM5 以及 TREM 样基因。TREM2 是一

种跨膜蛋白,由胞外区一个 V 型免疫球蛋白超家族结构域、3 个含有正电荷的赖氨酸残基跨膜序列的 N-糖基化位点以及胞内的短尾结构构成。细胞膜外结构域可能与细胞识别有关,研究发现,TREM2 受体在外周不仅表达于骨髓来源的巨噬细胞及单核细胞来源的树突细胞,也广泛存在于各种组织的巨噬细胞,包括破骨细胞、肺泡及肠道的巨噬细胞等表面,而在中枢神经系统仅表达于小胶质细胞,这些细胞参与抗原、细胞碎片以及异物识别和吞噬过程,同时还参与炎症反应的过程。细胞内结构域则常与由 TYROBP 基因编码的 DNAX 激活蛋白 12(DNAX-activating protein 12, DAP12)通过静电作用相互结合,当配体与 TREM2 结合后,DAP12 酪氨酸残基在免疫受体酪氨酸激活基序(ITAM)区域发生磷酸化,从而招募脾酪氨酸激酶(spleen tyrosine kinase, Syk),Syk 进一步激活磷脂酰肌醇激酶-3(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)和丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinases, MAPKs),并通过 IP3 门控 Ca^{2+} 通道的释放增加钙内流,参与各种细胞活动。TREM2/TYROBP 基因纯合突变会发生 Nasu-Hakola 病(一种以骨囊肿、骨折和痴呆为特征的常染色体隐性遗传病)。各个研究报道中 TREM2 基因突变携带者 AD 的发病风险平均增加 2~4 倍。其中,TREM2 R47H 是

基金项目:国家自然科学基金(81871103)

收稿日期:2018-01-08;修回日期:2018-07-02

作者简介:张嘉维(1992-),男,硕士在读,主要从事脑血管病和痴呆的研究。

通信作者:付剑亮(1970-),男,博士,主任医师,硕士研究生导师,主要从事脑血管病和痴呆的研究。E-mail:fujianliang@163.com。

AD 的主要风险基因, TREM2 R62H 突变也与 AD 的发生风险有关^[3]。

2 TREM2 调控小胶质细胞功能并参与 AD 发病机制

2.1 TREM2 介导小胶质细胞 A β 吞噬作用

AD 患者脑组织和 A β 沉积小鼠模型中均发现小胶质细胞在 A β 斑块周围聚集, 但是这些斑块相关性小胶质细胞的功能未知。有研究表明, 用基因或者药物的方法激活小胶质细胞可以改变小鼠模型中斑块沉积, 表明小胶质细胞的某些生理功能可以调节斑块沉积。例如, 在白细胞介素 10 (IL-10) 缺陷的 APP/PS1 小鼠中, 斑块沉积减少且小胶质细胞对 A β 的吞噬作用增强^[4]。而过表达白介素 10 则斑块沉积增加且小胶质细胞对 A β 的吞噬作用受抑制^[5]。

AD 患者的脑中和 A β 沉积小鼠模型中的 TREM2 表达增多, 特别是在斑块相关性小胶质细胞中。多项关于 A β 沉积小鼠模型和 AD 患者脑组织切片的研究均发现, TREM2 促进小胶质细胞在纤维性 A β 斑块周围聚集。TREM2 缺陷的 A β 沉积小鼠模型中斑块相关性小胶质细胞的数量显著减少^[6]。随后的研究也发现 TREM2 R47H 突变的 AD 患者与 TREM2 普通突变的患者相比斑块相关性小胶质细胞减少, 特别是在纤维状或致密的斑块周围。高分辨率共焦图像表明斑块相关小胶质细胞与纤维性斑块接触的部位 TREM2、DAP12 和 p-Tyr 富集, 提示可能有很多 DAP12 信号被激活, 推测在小胶质细胞-斑块交界处 TREM2 活化对于维持或引发小胶质细胞增生是必需的^[7]。

在 TREM2 敲除小鼠中发现淀粉样斑块整体结构发生明显的改变。TREM2 单倍不足或完全敲除的 5 \times FAD 小鼠中淀粉样斑块表现出更加疏松的形态^[7], 与 DAP12 缺陷 APPPS1-21 小鼠的斑块相似。R47H 突变携带者斑块也呈相对纤维状, 更加不紧凑, 与 TREM2 敲除的斑块沉积小鼠模型中的斑块形状类似。使用随机光学重建显微镜对淀粉样斑块进行的超微结构分析发现, 在 TREM2 表达减少或者不表达的小鼠中, 淀粉样蛋白丝更长, 表明 TREM2 在小胶质细胞限制淀粉样蛋白丝向周围延伸并使其变紧密过程中发挥重要作用。TREM2 或 DAP12 敲除的斑块沉积小鼠表现出更高水平的斑块相关性轴突营养不良。R47H 突变携带者的脑切片也观察到斑块相关性神经炎症性营养不良且

小胶质细胞在斑块周围聚集减少^[8]。因此, TREM2 缺陷可能会使小胶质细胞在斑块周围聚集减少从而使更多的神经元暴露于具有神经毒性的 A β 进而增加神经元损伤^[9]。

到目前为止, TREM2 对 A β 的影响仅在 APPS1-21 和 5 \times FAD 两种小鼠模型中, 两者都在小鼠 2 ~ 4 月龄时即表现出进展性的斑块沉积。TREM2 单倍不足 3 月龄或 7 月龄 APPPS1-21 的小鼠中, TREM2 对于皮质 A β 斑块没有影响。然而, TREM2 完全敲除的 APPPS1-21 小鼠对 A β 的影响则呈年龄依赖性。总的来说, TREM2 敲除的 APPPS1-21 小鼠在病变早期减少 A β 量而在晚期则增加 A β 斑块量^[10]。5 \times AD 小鼠模型中 TREM2 敲除对斑块沉积的影响可能也与病变进展相关。4 月龄 5 \times FAD 小鼠模型中, TREM2 缺陷对于不可溶性 A β 40 或 A β 42 的影响似乎不明显。8 月龄 5 \times FAD 小鼠模型中, TREM2 缺陷导致海马区斑块沉积增多但皮质无明显改变^[8]。总之, 这些研究表明 TREM2 对斑块沉积的影响随着病变进展或模型而变化。考虑到 APPPS1-21 和 5 \times FAD 这两种小鼠模型的病变进展迅速, 因此需在病变缓慢进展模型中进一步检测 TREM2 缺陷对斑块的影响。

2.2 TREM2 介导小胶质细胞 tau 吞噬作用

额颞叶痴呆 (frontotemporal dementia, FTD) 小鼠模型中小胶质细胞激活先于 tau 病变之前。而且小胶质细胞激活与 tau 磷酸化及 tau 病变播散相关^[11]。AD 患者颞叶皮质中 TREM2 蛋白水平与纤维缠结评分和成对的螺旋丝水平相关^[12] 且脑脊液 (cerebrospinal fluid, CSF) 可溶性 TREM2 片段 (soluble TREM2, sTREM2) 水平也与临床 AD 进展早期 CSF tau 蛋白水平相关^[13]。R47H 患者 CSF p-tau 水平更高且 TREM2 上游的一个突变也与脑中 tau 病变相关。这些发现均提示 TREM2 可能在 AD tau 病变发生发展中起关键作用。TREM2 对于 AD 中磷酸化 tau 蛋白 (phosphorylated tau, p-tau) 在营养不良性神经突聚集的作用并不清楚。TREM2 缺陷的斑块沉积 AD 小鼠模型中, 斑块周围过度磷酸化 tau 标记物在有的研究中表现为增加^[8] 而有的则表现为减少^[10]。这些结果的差异性可能是由于疾病进展程度不同, 淀粉样斑块促进 p-tau 蛋白聚集的作用不同造成的。由 TREM2 信号传导受损引起的斑块相关性轴突营养不良的增加可促进 tau 病变的发展或扩散。过度磷酸化 Tau 蛋白的异常聚集

与神经元及突触的损伤密切相关。5 月龄 TREM2 过表达 P301S tau 小鼠脑中神经元损伤显著减少且突触素水平升高。由于神经元及突触的损伤与空间认知功能下降相关, P301S tau 小鼠 TREM2 过表达空间认知功能显著改善。TREM2 过表达改善包括 Ser202/Thr205 (AT8 抗原表位) 和 Thr231 (AT180 抗原表位) 在内的多个病理部位的 tau 蛋白过度磷酸化水平, 但 AT100 抗原表位的免疫反应性和不溶于酰肌氨酸的 tau 的水平保持不变, 表明 TREM2 过表达可能改变 tau 过度磷酸化状态而不能改变 tau 聚集。

2.3 TREM2 调节神经炎症反应

近几十年来对 AD 发病机制的研究主要集中于淀粉样蛋白和 tau 蛋白假说, 而近来, 临床前、遗传学和生物信息学数据显示, 免疫系统介导的作用在 AD 的发生发展过程中发挥重要作用^[14]。TREM2 突变与 AD 之间的关系更是将免疫反应与 AD 发病机制紧密关联。神经炎症是中枢神经系统发生的一种特殊的免疫应答, 被认为是 AD 等许多病理状态的特征表现。小胶质细胞是神经炎症过程的主要细胞, 可产生多种促炎和抗炎因子, 具有神经毒性和神经保护功能。研究发现, TREM2 可通过调节炎性细胞因子的释放来调节外周组织的炎症过程。TREM2 缺陷导致实验性自身免疫性脑脊髓炎模型中炎症反应失控^[15]。

TREM2 在 AD 病理状态下对炎症反应的影响存在争议。体外培养 TREM2 缺陷的原代小胶质细胞或 TREM2 缺陷的骨髓源性巨噬细胞均表现为促炎因子水平升高^[9]。然而, 体内实验则表明, TREM2 敲除可减少炎症水平。APPPS1-21 和 5 × FAD 小鼠模型中 TREM2 敲除炎症相关性转录物水平降低, AD 小鼠模型与野生型对照组相比这些转录物上调, 提示在体内 TREM2 是这些促炎因子转录物形成所需要的^[16,17]。体内外实验出现矛盾性结果的原因可能是由于刺激物及实验条件差异造成的。体外研究用的是细菌细胞壁的一个组成部分——脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 刺激细胞模拟脑内系统性炎症反应从而确定 TREM2 对炎症反应的影响。而体内实验则用斑块沉积的小鼠模型观察 TREM2 对炎症反应的影响。LPS 等急性刺激及神经退行性病变和 Aβ 沉积等体内慢性刺激对小胶质细胞表型的影响显然是不同的。在 TREM2 敲除的脱髓鞘和中风模型中也发现炎症表型减少。

这些结果表明, TREM2 在炎症反应中的作用可能取决于刺激物是急性的或者慢性的。研究发现, 野生型和 TREM2^{-/-} 离体的小胶质细胞在 Aβ1-42 作用下释放相同的肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor α, TNFα), 提示 TREM2 并没有直接参与 Aβ 刺激作用下炎症因子的释放^[17]。

2.4 sTREM2——潜在的 AD 生物标志物

CSF 中的 Aβ42 和 tau 等 AD 相关蛋白含量改变反映 AD 病变的发生或发展。最早可检测的 AD 病理学标记物是 CSF 中的 Aβ42 下降, 可能是由于 Aβ42 整合到脑实质内的 Aβ 斑块。虽然 CSF 中低 Aβ42 水平提示将来发生认知功能障碍的风险高, 但是低 CSF Aβ42 水平也可能保持多年无症状^[18]。AD 患者 CSF 中 tau 和 p-tau 水平的升高可能是由于 tau 病理表现在颞叶内侧和新皮质的扩散而使神经毒性和神经损伤增加。CSF 中 tau 和 p-tau 的升高与临床可检测的认知障碍的发生呈正相关^[19]。TREM2 经蛋白水解作用释放可在 CSF 和血清中检测到 sTREM2。发现 TREM2 突变与 AD 密切相关后, 许多研究表明 CSF 中 sTREM2 水平可能反映临床前 AD 到临床 AD 转变中的炎症反应过程。一个关于晚发型 AD 和常染色体显性遗传 AD 患者的研究发现, AD 患者 CSF 中 sTREM2 水平升高, 且 sTREM2 水平与 tau 和 p-tau 水平呈正相关。然而, sTREM2 和 Aβ42 之间没有显著关联, 提示 sTREM2 水平升高与神经性损伤而非 Aβ 出现相关^[20]。另一个关于晚发型 AD 人群的横断面研究发现, 低 CSF Aβ42 且认知功能正常的临床前 AD 人群, CSF sTREM2 并未出现统计学显著差异, 但在 AD 轻度认知功能障碍 (mild cognitive impairment, MCI) 患者中则显著增高^[21]。总而言之, 这些结果与 Aβ 斑块沉积和神经性损伤后出现的显著小胶质细胞激活和炎症反应一致, 也与明显的神经退行性病变及认知功能下降的发生一致。

CSF sTREM2 水平可能既可以作为监测疾病进展的标志物, 也提示小胶质细胞在临床前 AD 向认知损伤转变过程中的潜在作用。虽然几个研究均表明 sTREM2 水平升高是临床前 AD 向临床 AD 转变的标志, 也有研究表明 AD 患者 CSF sTREM2 水平降低或没有改变^[22]。研究结果的不同可能是由于 sTREM2 定量技术不同或是研究队列中人群组成差异造成的。因此, 需进一步阐明 AD 发生发展过程中 sTREM2 水平的动态变化。

3 展望

随着越来越多的深入研究,更多的证据表明AD是一种多基因病。TREM2作为AD相关的遗传风险基因之一,不仅在小胶质细胞介导的吞噬及中枢炎症中发挥重要作用,而且sTREM2还有望作为预测临床前AD向临床AD转变的生物标志物,故而进一步阐明并利用其功能或许能成为AD预防和治疗新的分子靶点。

参 考 文 献

- [1] Ertekin-Taner N. Genetics of Alzheimer disease in the pre- and post-GWAS era [J]. *Alzheimers Res Ther*, 2010, 2 (1): 3.
- [2] Ulrich JD, Ulland TK, Colonna M, et al. Elucidating the Role of TREM2 in Alzheimer's Disease [J]. *Neuron*, 2017, 94(2): 237-248.
- [3] Colonna M, Wang Y. TREM2 variants: new keys to decipher Alzheimer disease pathogenesis [J]. *Nat Rev Neurosci*, 2016, 17(4): 201-207.
- [4] Guillot-Sestier MV, Doty KR, Gate D, et al. IL10 deficiency rebalances innate immunity to mitigate Alzheimer-like pathology [J]. *Neuron*, 2015, 85(3): 534-548.
- [5] Chakrabarty P, Li A, Ceballos-Diaz C, et al. IL-10 alters immunoproteostasis in APP mice, increasing plaque burden and worsening cognitive behavior [J]. *Neuron*, 2015, 85(3): 519-533.
- [6] Jay TR, Hirsch AM, Broihier ML, et al. Disease Progression-Dependent Effects of TREM2 Deficiency in a Mouse Model of Alzheimer's Disease [J]. *J Neurosci*, 2017, 37(3): 637-647.
- [7] Yuan P, Condello C, Keene CD, et al. TREM2 Haplodeficiency in Mice and Humans Impairs the Microglia Barrier Function Leading to Decreased Amyloid Compaction and Severe Axonal Dystrophy [J]. *Neuron*, 2016, 92(1): 252-264.
- [8] Wang Y, Ulland TK, Ulrich JD, et al. TREM2-mediated early microglial response limits diffusion and toxicity of amyloid plaques [J]. *J Exp Med*, 2016, 213(5): 667-675.
- [9] Takahashi K, Rochford CD, Neumann H. Clearance of apoptotic neurons without inflammation by microglial triggering receptor expressed on myeloid cells-2 [J]. *J Exp Med*, 2005, 201(4): 647-657.
- [10] Jay TR, Miller CM, Cheng PJ, et al. TREM2 deficiency eliminates TREM2+ inflammatory macrophages and ameliorates pathology in Alzheimer's disease mouse models [J]. *J Exp Med*, 2015, 212(3): 287-295.
- [11] Maphis N, Xu G, Kokiko-Cochran ON, et al. Reactive microglia drive tau pathology and contribute to the spreading of pathological tau in the brain [J]. *Brain*, 2015, 138(6): 1738-1755.
- [12] Lue LF, Schmitz CT, Serrano G, et al. TREM2 Protein Expression Changes Correlate with Alzheimer's Disease Neurodegenerative Pathologies in Post-Mortem Temporal Cortices [J]. *Brain Pathol*, 2015, 25(4): 469-480.
- [13] Suarez-Calvet M, Kleinberger G, Caballero MAA, et al. sTREM2 cerebrospinal fluid levels are a potential biomarker for microglia activity in early-stage Alzheimer's disease and associate with neuronal injury markers [J]. *Embo Molecular Medicine*, 2016, 8(5): 466-476.
- [14] Zhang B, Gaiteri C, Bodea LG, et al. Integrated systems approach identifies genetic nodes and networks in late-onset Alzheimer's disease [J]. *Cell*, 2013, 153(3): 707-720.
- [15] Gonzalez Murcia JD, Schmutz C, Munger C, et al. Assessment of TREM2 rs75932628 association with Alzheimer's disease in a population-based sample: the Cache County Study [J]. *Neurobiol Aging*, 2013, 34(12): 2889.
- [16] Ulrich JD, Finn MB, Wang Y, et al. Altered microglial response to Abeta plaques in APPPS1-21 mice heterozygous for TREM2 [J]. *Mol Neurodegener*, 2014, 9: 20.
- [17] Wang Y, Cella M, Mallinson K, et al. TREM2 lipid sensing sustains the microglial response in an Alzheimer's disease model [J]. *Cell*, 2015, 160(6): 1061-1071.
- [18] Fagan AM, Xiong C, Jasielec MS, et al. Longitudinal change in CSF biomarkers in autosomal-dominant Alzheimer's disease [J]. *Sci Transl Med*, 2014, 6(226): 226ra30.
- [19] Brier MR, Gordon B, Friedrichsen K, et al. Tau and A β imaging, CSF measures, and cognition in Alzheimer's disease [J]. *Sci Transl Med*, 2016, 8(338): 338ra66.
- [20] Piccio L, Deming Y, Del- \acute{a} guila JL, et al. Cerebrospinal fluid soluble TREM2 is higher in Alzheimer disease and associated with mutation status [J]. *Acta Neuropathol*, 2016, 131(6): 925-933.
- [21] Su \acute{a} rez-Calvet M, Kleinberger G, Araque Caballero M \acute{a} , et al. sTREM2 cerebrospinal fluid levels are a potential biomarker for microglia activity in early-stage Alzheimer's disease and associate with neuronal injury markers [J]. *EMBO Mol Med*, 2016, 8(5): 466-476.
- [22] Henjum K, Almdahl IS, Årskog V, et al. Cerebrospinal fluid soluble TREM2 in aging and Alzheimer's disease [J]. *Alzheimers Res Ther*, 2016, 8(1): 17.