

· 综述 ·

β 淀粉样蛋白寡聚体参与阿尔茨海默病发病机制的研究进展

张钰, 马兰*

(哈尔滨医科大学附属第二医院老年病科, 哈尔滨 150001)

【摘要】 阿尔茨海默病(AD)是痴呆的最常见病因,我国 AD 患者群体巨大,AD 防治势在必行。淀粉样蛋白斑块靶向治疗的失败让毒性 β 淀粉样蛋白寡聚体(AβOs)学说愈加醒目,体内、外试验证明 AβOs 的神经毒性可能是 AD 病理改变的原因。本文主要阐述 AβOs 致病机制的最新研究进展和治疗策略,旨在更好地了解 AD 与 AβOs 之间的关系,为临床进一步研究提供参考。

【关键词】 阿尔茨海默病;药物治疗;β 淀粉样蛋白寡聚体

【中图分类号】 R741.02;R741.05 **【文献标志码】** A **【DOI】** 10.11915/j.issn.1671-5403.2021.08.131

Progress of amyloid β-protein oligomers involved in the pathogenesis of AD

ZHANG Yu, MA Lan*

(Department of Geriatrics, Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150001, China)

【Abstract】 Alzheimer's disease (AD) is the most common cause of dementia. The population of AD patients is numerous in China, so its prevention and treatment are imperative. The failure of therapies targeted to amyloid plaques has made the theory of neurotoxic amyloid β-protein oligomers (AβOs) more striking. *In vivo* and *in vitro* experiments have proved that the neurotoxicity of AβOs may be the cause of pathological changes in AD. This article mainly reviews the latest advances in the pathogenesis of AβOs and treatment strategies, and aims to better understand the relationship between AD and AβOs and provides references for further researches.

【Key words】 Alzheimer's disease; drug treatment; amyloid β-protein oligomers

This work was supported by the Key Project of Natural Science Foundation of Heilongjiang Province (ZD2018017).

Corresponding author: MA Lan, E-mail: LiLyma1963@163.com

阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)是一种中枢神经系统退行性疾病,是痴呆的最常见病因^[1]。目前我国 AD 患者达 1 450 万,并预计在 2050 年达到 3 003 万^[2]。AD 降低患者生存质量,给患者家庭和社会带来巨大负担,已成为美国第六大致死疾病^[3],足见 AD 防治形势之紧迫。β 淀粉样蛋白(amyloid β-protein, Aβ)与 AD 关系密切,近年研究发现, Aβ 寡聚体(amyloid β-protein oligomers, AβOs)具有较强的神经毒性,可以通过多种机制介导突触功能和数量异常,引起神经元死亡,其产生和积累可能是导致 AD 神经退变的主要原因。

1 淀粉样蛋白学说

AD 最显著的临床症状是进展迅速、以记忆丧失为主的认知功能障碍,相关的神经病理学改变主

要涉及由细胞凋亡、坏死、氧化应激和神经炎症等过程介导的突触末端进行性丢失和神经元死亡^[4]。1906 年 Alzheimer^[5]报告了首例 AD 患者,并在其脑内发现了老年斑和神经原纤维缠结(neurofibrillary tangles, NFTs),这成为日后诊断 AD 的重要病理特征。其中老年斑主要由 Aβ 沉积形成, NFTs 主要由过度磷酸化的 tau 蛋白聚集形成^[6]。AD 的绝大多数病因学和治疗学研究都是以 Aβ 和 tau 蛋白为核心开展的。

Aβ 是由跨膜淀粉样前体蛋白(amyloid precursor protein, APP)经过 β 和 γ 分泌酶两次裂解后产生的神经毒性蛋白,是蛋白质错误折叠形成的^[1]。其能够以单体、寡聚体、原纤维和不溶性纤维的形式存在^[7, 8],在脑内沉积并伴随突触损伤和神经元死亡。由于 Aβ 斑块的主要成分是聚集沉积的不溶性原纤

收稿日期: 2020-08-06; 接受日期: 2020-11-23

基金项目: 黑龙江省自然科学基金重点项目(ZD2018017)

通信作者: 马兰, E-mail: LiLyma1963@163.com

维^[1],所以早期研究认为纤维体是主要的神经毒物^[9, 10]。但最新的前瞻性研究报告发现老年斑中的A β 沉积程度与痴呆程度不成正比^[11]。近几年研究倾向于A β Os具有的神经毒性,能够引起包括中枢炎症反应及tau蛋白的聚集、过度磷酸化和增殖在内的各种神经病理毒性事件,是导致AD的真正病因^[12, 13]。

2 A β Os参与AD发病机制

2.1 A β Os的神经毒性

突触可塑性是突触连接两个神经元的强度可调节特性,是记忆形成的神经生物学基础,主要通过长时程增强(long-term potentiation, LTP)和长时程抑制(long-term depression, LTD)两种方式协调记忆的形成^[14]。与A β 单体相比,寡聚化的A β 在给药24 h后会导致神经元大量死亡^[15]。有研究发现,AD患者皮层中的淀粉样蛋白斑块核心,即不溶性A β 纤维,不会对LTP产生干扰作用,如果将斑块核心溶解,释放出可溶性A β Os,则会降低大鼠的突触功能和数量,干扰LTP的诱导和维持,损害健康成年大鼠对习得行为的记忆能力^[16],说明A β Os是诱发神经损伤的主要毒物。A β Os注射到大鼠和猕猴的侧脑室后会扩散并积累在认知和记忆相关的脑区,并且在A β Os大量存在的脑区观察到包括突触丢失、tau过度磷酸化、星形胶质细胞和小胶质细胞激活在内的AD的主要病理特征,但在注射部位未发现纤维状A β 沉积^[17]。这印证了A β Os的神经毒性学说,为早期AD主要表现为记忆障碍提供了分子基础。

2.2 A β Os介导神经元和突触损伤

A β 主要有A β_{1-40} 和A β_{1-42} 两种形式。A β_{1-42} 的长链结构使其更易聚集,增加的两个疏水氨基酸残基使其具有更强毒性^[18, 19]。A β_{1-42} 的四聚体和八聚体复合物在膜结构上形成单向电流通道,导致多种离子进入细胞内,介导膜损伤和细胞内离子稳态失衡^[7, 20]。星形胶质细胞是脑内重要的免疫细胞,他和神经元之间的相互作用对维持正常脑功能十分重要。A β Os能够在富含胆固醇的星形胶质细胞膜上形成孔道,引起Ca²⁺内流。Ca²⁺浓度升高会刺激还原型辅酶II氧化酶产生活性氧,诱发自由基对神经元和胶质细胞的攻击,引发氧化应激反应,通过激活脂质过氧化,同时消耗细胞内氧化还原平衡的关键物质谷胱甘肽,使得胶质细胞向神经元传递的谷胱甘肽减少。氧化应激和抗氧化剂缺乏的双重打击最终引发了神经元的死亡^[21]。

有研究认为A β Os在介导突触毒性的通路上游发挥作用。A β Os可以预先激活N-甲基-D-天冬氨酸受体(N-methyl-D-aspartate receptor, NMDAR),提高LTP阈值,进而激活钙调蛋白依赖性蛋白激酶II(calcium/calmodulin-dependent protein kinase II, CaMK II),抑制加强突触传递的多个关键步骤,包括抑制下游LTP诱导的CaMK II T289的自磷酸化以及突触 α -氨基-3-羟基-5-甲基-4-异恶唑丙酸受体的功能锚定^[22]。有研究发现,抑制CaMK II活性可以逆转A β Os介导的LTP损伤和树突棘丢失,说明CaMK II激活在突触损伤中起核心作用,A β Os可能在AD早期就参与了突触可塑性损伤^[22]。有研究发现,APP基因敲入AD小鼠模型中产生的A β 毒性异构体在脑内迅速形成寡聚物,并在老年斑积累之前就可以观察到小鼠出现认知能力下降的表现^[23]。也有研究称,寡聚体诱导突触变性的机制是通过引发突触后膜NMDAR表达减少而实现的,且受体表达大幅下降发生在树突棘密度变化之前,主要是与突触可塑性损伤相关^[24]。突触丢失是AD认知障碍的最相关因素,树突棘作为形成突触的关键部位,他的形态和密度的变化对记忆形成至关重要^[25]。A β Os通过改变树突棘形态和密度进而影响突触间信息传递,介导突触丢失,最终导致神经元死亡。

2.3 高分子量寡聚体毒性更强

A β Os的神经毒性受其分子大小和分子构象的影响。A β Os结构复杂,其分子量为10~150 ku不等,甚至还存在更大的原纤维前体形式。构象上也存在 α -折叠、 β -折叠、 α 螺旋和无规卷曲等多种折叠形式^[13, 26]。与AD最密切的A β 寡聚形式尚未明确,但研究倾向于高分子量(high molecular weight, HMW)寡聚体的神经毒性更强。研究者使用抗A β Os特异性单抗NU4测定寡聚体的分子量,结果显示,能被NU4阻断毒性并改善认知能力的A β Os的分子量为79 ku,属于HMW寡聚体^[13]。在AD脑中提取出的2~12个聚体组成的混合物中, HMW的十二聚体与疾病的关系更密切,对转基因小鼠脑内注射A β 十二聚体能够引起记忆损害。十二聚体分解为三聚体和四聚体则会逆转模型的认知损害^[26]。

通过对比HMW寡聚体和低分子量寡聚体介导膜损伤的能力发现, HMW-A β_{1-42} 对细胞膜完整性和代谢完整性的破坏更加严重。研究者推测, A β_{1-42} 先攻击细胞膜,随后诱导线粒体膜损伤和溶酶体渗漏,导致离子梯度和脂膜电势丢失、线粒体代谢解偶联^[18]。

3 最新治疗策略

目前有 16 种药物以淀粉样蛋白为靶点^[27], 其中最受瞩目也是争议颇多的药物当属阿杜那单抗。他以 A β 斑块和寡聚体为靶标, 在 1b 期临床试验中显示出 A β 清除疗效, 对受试者的 A β 斑块和临床症状都有改善。同时该药还有较高的脑内渗透性, 能够通过外周给药提高脑内药物浓度。研究者发现阿杜那单抗能够促进小胶质细胞向 A β 斑块募集, 小胶质细胞通过与抗体的 Fc 段结合发挥吞噬和清除 A β 的作用^[28]。但 3 期临床试验结果存在矛盾, 有专家认为, 应进行第三次确定性 3 期试验以明确阿杜那单抗对 AD 的疗效^[29]。

更汀芦单抗与阿杜那单抗相似, 优先靶向不溶性 A β 的清除, 只部分靶向寡聚体^[30]。该药因 3 期临床试验的无效性分析而被终止, 实验组和安慰剂组的主要和次要疗效指标无明显差异。但在对 3 期试验的探索性分析中发现, 部分患者表现出剂量依赖性临床有效性和生物标志物有效性, 阴性结果可能与给药剂量过低有关。该药有望进行进一步的 3 期试验^[31]。

BAN2401 也是一种单抗药物, 主要靶向分子为约 100 ku 的寡聚体形式——可溶性原纤维^[8]。其选择性与可溶性原纤维结合, 对斑块无亲和力, 高度特异性使血管性水肿不良反应的发生率低于阿杜那单抗^[30]。动物实验发现, BAN2401 可以在不影响既成斑块的情况下降低可溶性原纤维水平, 阻止斑块形成^[8]。在对轻、中度 AD 患者的安全性和耐受性评估中, BAN2401 在所有测试剂量下均安全且耐受良好, 且单次或多次给药均未达到最大耐受剂量^[8]。目前正在进行大型 3 期试验以进一步评估 BAN2401 的疗效和安全性^[32]。

4 总结

A β Os 在 AD 神经病理改变中的核心作用得到众多研究支持, A β Os 神经毒性的可逆性更是为 AD 治疗指明道路^[33]。当前, 针对 A β Os 的研究层出不穷, 多项以 A β Os 为靶点的药物已进入 2、3 期试验阶段。这些研究为终止和逆转神经退行性病理改变提供了无限可能。

【参考文献】

[1] Dobson CM. The amyloid phenomenon and its links with human disease[J]. Cold Spring Harb Perspect Biol, 2017, 9(6): a023648. DOI: 10.1101/cshperspect.a023648.

[2] 王英全, 梁景宏, 贾瑞霞, 等. 2020–2050 年中国阿尔茨海默病患病情况预测研究[J]. 阿尔茨海默病及相关病, 2019, 2(1): 289–298. DOI: 10.3969/j.issn.2096-5516.2019.01.012.
Wang YQ, Liang JH, Jia RX, *et al.* Alzheimer disease in China (2015–2050) estimated using the 1% population sampling survey in 2015[J]. Chin J Alzheimer's Dis Relat Disord, 2019, 2(1): 289–298. DOI: 10.3969/j.issn.2096-5516.2019.01.012.

[3] Alzheimer's Association. 2016 Alzheimer's disease facts and figures[J]. Alzheimers Dement, 2016, 12(4): 459–509. DOI: 10.1016/j.jalz.2016.03.001.

[4] de la Monte SM. The full spectrum of Alzheimer's disease is rooted in metabolic derangements that drive type 3 diabetes[J]. Adv Exp Med Biol, 2019, 1128: 45–83. DOI: 10.1007/978-981-13-3540-2_4.

[5] Alzheimer A, Eorreni L, Borghi R, *et al.* Über eine eigenartige Erkrankung der Hirnrinde[J]. Allg Z Psychiat Med, 1907, 64: 146–148.

[6] Araki W. Reversibility of Abeta oligomer neurotoxicity[J]. Oncotarget, 2017, 8(31): 50335–50336. DOI: 10.18632/oncotarget.19083.

[7] 安鹏远, 王钦文, 徐淑君. 不同聚集状态的 A β 寡聚体在阿尔茨海默病发生中的作用机制研究进展[J]. 生物化学与生物物理进展, 2016, 43(2): 109–114. DOI: 10.16476/j.pibb.2015.0277.
An PY, Wang QW, Xu SJ. The role and underlying mechanism of differently aggregated component of oligomeric β -amyloid protein in the progress of Alzheimer's disease[J]. Prog Biochem Biophys, 2016, 43(2): 109–114. DOI: 10.16476/j.pibb.2015.0277.

[8] Logovinsky V, Satlin A, Lai R, *et al.* Safety and tolerability of BAN2401 — a clinical study in Alzheimer's disease with a protofibril selective A β antibody[J]. Alzheimers Res Ther, 2016, 8(1): 14. DOI: 10.1186/s13195-016-0181-2.

[9] Miranker AD. Unzipping the mysteries of amyloid fiber formation[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2004, 101(13): 4335–4336. DOI: 10.1073/pnas.0401163101.

[10] Wetzel R, Shivaprasad S, Williams AD. Plasticity of amyloid fibrils[J]. Biochemistry, 2007, 46(1): 1–10. DOI: 10.1021/bi0620959.

[11] Harris P, Fernandez Suarez M, Surace EI, *et al.* Cognitive reserve and A β 1-42 in mild cognitive impairment (Argentina-Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative)[J]. Neuropsychiatr Dis Treat, 2015, 11: 2599–2604. DOI: 10.2147/NDT.S84292.

[12] Reiman EM. Alzheimer's disease: attack on amyloid-beta protein[J]. Nature, 2016, 537(7618): 36–37. DOI: 10.1038/537036a.

[13] Sebollela A, Mustata GM, Luo K, *et al.* Elucidating molecular mass and shape of a neurotoxic A β oligomer[J]. ACS Chem Neurosci, 2014, 5(12): 1238–1245. DOI: 10.1021/cn500156r.

[14] 苗素云, 倪丽艳, 王利, 等. 睡眠剥夺和海马依赖性记忆[J]. 中国神经精神疾病杂志, 2017, 43(4): 253–256. DOI: 10.3969/j.issn.1002-0152.2017.04.014.

- Miao SY, Ni LY, Wang L, *et al.* Sleep deprivation and hippocampus-dependent memory[J]. Chin J Nerv Ment Dis, 2017, 43(4): 253–256. DOI: 10.3969/j.issn.1002-0152.2017.04.014.
- [15] Pike CJ, Burdick D, Walencewicz AJ, *et al.* Neurodegeneration induced by beta-amyloid peptides *in vitro*: the role of peptide assembly state[J]. J Neurosci, 1993, 13(4): 1676–1687. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.13-04-01676.1993.
- [16] Shankar GM, Li S, Mehta TH, *et al.* Amyloid-beta protein dimers isolated directly from Alzheimer's brains impair synaptic plasticity and memory[J]. Nat Med, 2008, 14(8): 837–842. DOI: 10.1038/nm1782.
- [17] Forny-Germano L, Lyra e Silva NM, Batista AF, *et al.* Alzheimer's disease-like pathology induced by amyloid-beta oligomers in nonhuman primates[J]. J Neurosci, 2014, 34(41): 13629–13643. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.1353-14.2014.
- [18] Yasumoto T, Takamura Y, Tsuji M, *et al.* High molecular weight amyloid β_{1-42} oligomers induce neurotoxicity *via* plasma membrane damage[J]. FASEB J, 2019, 33(8): 9220–9234. DOI: 10.1096/fj.201900604R.
- [19] Tamagno E, Guglielmotto M, Monteleone D, *et al.* The Unexpected role of $A\beta_{1-42}$ monomers in the pathogenesis of Alzheimer's disease[J]. J Alzheimers Dis, 2018, 62(3): 1241–1245. DOI: 10.3233/JAD-170581.
- [20] Ciudad S, Puig E, Botzanowski T, *et al.* $A\beta(1-42)$ tetramer and octamer structures reveal edge conductivity pores as a mechanism for membrane damage[J]. Nat Commun, 2020, 11(1): 3014. DOI: 10.1038/s41467-020-16566-1.
- [21] Angelova PR, Abramov AY. Interaction of neurons and astrocytes underlies the mechanism of $A\beta$ -induced neurotoxicity[J]. Biochem Soc Trans, 2014, 42(5): 1286–1290. DOI: 10.1042/BST20140153.
- [22] Opazo P, Viana da Silva S, Carta M, *et al.* CaMK II metaplasticity drives abeta oligomer-mediated synaptotoxicity[J]. Cell Rep, 2018, 23(11): 3137–3145. DOI: 10.1016/j.celrep.2018.05.036.
- [23] Izuo N, Murakami K, Fujihara Y, *et al.* An App knock-in mouse inducing the formation of a toxic conformer of $A\beta$ as a model for evaluating only oligomer-induced cognitive decline in Alzheimer's disease[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2019, 515(3): 462–467. DOI: 10.1016/j.bbrc.2019.05.131.
- [24] Lacor PN, Buniel MC, Furlow PW, *et al.* Abeta oligomer-induced aberrations in synapse composition, shape, and density provide a molecular basis for loss of connectivity in Alzheimer's disease[J]. J Neurosci, 2007, 27(4): 796–807. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.3501-06.2007.
- [25] 薛华, 马英杰, 赵东芹. 树突棘与神经相关疾病[J]. 山东师范大学学报(自然科学版), 2020, 35(2): 232–235. DOI: 10.3969/j.issn.1001-4748.2020.02.014.
- Xue H, Ma YJ, Zhao DQ. Dendritic spines and nervous associated diseases[J]. J Shandong Norm Univ (Nat Sci), 2020, 35(2): 232–235. DOI: 10.3969/j.issn.1001-4748.2020.02.014.
- [26] Shea D, Hsu CC, Bi TM, *et al.* Alpha-sheet secondary structure in amyloid beta-peptide drives aggregation and toxicity in Alzheimer's disease[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2019, 116(18): 8895–8900. DOI: 10.1073/pnas.1820585116.
- [27] Cummings J, Lee G, Ritter A, *et al.* Alzheimer's disease drug development pipeline: 2020[J]. Alzheimers Dement (N Y), 2020, 6(1): e12050. DOI: 10.1002/trc2.12050.
- [28] Sevigny J, Chiao P, Bussière T, *et al.* The antibody aducanumab reduces $A\beta$ plaques in Alzheimer's disease[J]. Nature, 2016, 537(7618): 50–56. DOI: 10.1038/nature19323.
- [29] Knopman DS, Jones DT, Greicius MD. Failure to demonstrate efficacy of aducanumab: an analysis of the EMERGE and ENGAGE trials as reported by Biogen, December 2019[J]. Alzheimers Dement, 2021, 17(4): 696–701. DOI: 10.1002/alz.12213.
- [30] Tolar M, Abushakra S, Hey JA, *et al.* Aducanumab, gantenerumab, BAN₂₄₀₁, and ALZ-801 — the first wave of amyloid-targeting drugs for Alzheimer's disease with potential for near term approval[J]. Alzheimers Res Ther, 2020, 12(1): 95. DOI: 10.1186/s13195-020-00663-w.
- [31] Ostrowitzki S, Lasser RA, Dorflinger E, *et al.* A phase III randomized trial of gantenerumab in prodromal Alzheimer's disease[J]. Alzheimers Res Ther, 2017, 9(1): 95. DOI: 10.1186/s13195-017-0318-y.
- [32] Tolar M, Abushakra S, Sabbagh M. The path forward in Alzheimer's disease therapeutics: reevaluating the amyloid cascade hypothesis[J]. Alzheimers Dement, 2020, 16(11): 1553–1560. DOI: 10.1016/j.jalz.2019.09.075.
- [33] Fantini J, Chahinian H, Yahi N. Progress toward Alzheimer's disease treatment: leveraging the Achilles' heel of $A\beta$ oligomers? [J]. Protein Sci, 2020, 29(8): 1748–1759. DOI: 10.1002/pro.3906.

(编辑: 和雨璇)