

· 综述 ·

阿尔茨海默病 β 淀粉样蛋白沉积斑块和寡聚体致病假说及其面临的挑战

苏梓南¹, 李凯², 张根发^{3*}

(北京师范大学:¹文理学院,³生命科学学院,北京 100875;²北京医院神经内科,北京 100730)

【摘要】 阿尔茨海默病作为当下发病率较高、影响范围广泛、致病机制复杂的神经退行性疾病之一,在近 40 年内一直是学术界重点研究的对象。关于阿尔茨海默病关键蛋白 β 淀粉样蛋白及其前体蛋白(APP),则先后形成了沉积斑块致病假说和寡聚体致病假说。然而近年来随着研究技术的发展,β 淀粉样蛋白沉积斑块和 β 淀粉样蛋白寡聚体之间的关联性的发现,使得两种致病假说的相关性提升。本文综述了近年来国际学术界对于 β 淀粉样蛋白及其前体蛋白致病机制的研究结果,对两种假说进行了分析,并对未来阿尔茨海默病致病机制相关研究可能出现的新方向、新热点提出展望。

【关键词】 阿尔茨海默病;β 淀粉样蛋白;沉积斑块;寡聚体

【中图分类号】 R74

【文献标志码】 A

【DOI】 10. 11915/j. issn. 1671-5403. 2023. 02. 032

β amyloid plaque deposition and oligomer: hypothesis for pathogenesis of Alzheimer's disease and challenges they faced

Su Zinan¹, Li Kai², Zhang Genfa^{3*}

(¹Faculty of Arts and Sciences, ³College of Life Sciences, Beijing Normal University, Beijing 100875, China; ²Department of Neurology, Beijing Hospital, Beijing 100730, China)

【Abstract】 Alzheimer's disease (AD), a neurodegenerative disease with high morbidity, wide affection and complex pathogenesis, has become hot spot of scientific researches over the latest forty years. For β amyloid protein, the key protein to AD, and its precursor, amyloid precursor protein (APP), plaque deposition and oligomer were successively hypothesized as the pathogenesis for AD. However, with the development of research technology in recent years, the correlation between β amyloid plaque and β amyloid oligomer has been found, which makes the correlation between the two pathogenesis hypotheses of AD improved. In this paper, we reviewed the research results on the pathogenesis of β amyloid protein and its precursor protein in recent years, compared and analyzed the two hypotheses, and proposed possible directions and hot spots for future research related to the pathogenesis of AD.

【Key words】 Alzheimer's disease; β amyloid protein; plaque deposition; oligomer

Corresponding author: Zhang Genfa, E-mail: gfzh@bnu.edu.cn

阿尔茨海默病(Alzheimer disease, AD)是生物体中枢神经元死亡或功能减退而引发的神经疾病。作为目前发病机制较为复杂,临床治疗难度较大的疑难病症之一,阿尔茨海默病的具体发病机制仍不甚清晰。随着科学技术的快速发展以及科研工作的深入进行,研究人员先后提出 β 淀粉样蛋白沉积斑块致病假说和 β 淀粉样蛋白寡聚体致病假说,为阿尔茨海默病发病机制的研究提供了许多合理思路。诚然,这两种假说在保有其合理性的同时,仍不可避免的存在诸多不足和未知因素,而随着分子、基因层面研究日趋充分,两种假说也呈现出越来越大的关

联性,即 β 淀粉样蛋白沉积斑块和 β 淀粉样蛋白寡聚体的形成与累积存在相关性,其中 β 淀粉样蛋白二聚体已被证实与 β 淀粉样蛋白沉积斑块的形存在密切联系,而二聚体大量累积的位置与沉积斑块存在重叠现象^[1]。因此,一些研究人员试图将 β 淀粉样蛋白沉积斑块和寡聚体归为同一通路中的关键产物,以此寻找更为完善的致病机制假说。

1 β 淀粉样蛋白沉积斑块致病假说

在 AD 发病机制研究过程中,β 淀粉样蛋白沉积斑块早在 20 世纪 80 年代就已引起诸多研究人员

的关注。 β 淀粉样蛋白沉积斑块是由脑组织胞间 β 淀粉样蛋白沉积形成的,其形成的原因是由于基因突变(已知相关基因有 *Lys670-Asn*, *Met671-Leu* 基因等)导致 β 淀粉样蛋白的前体蛋白(amyloid precursor protein, APP)的结构和功能发生改变,导致脑脊液中长期含有高浓度的 β 淀粉样蛋白,在物理沉降和蛋白质凝结作用下形成斑块状沉淀^[2-4]。正因如此,学术界在研究 β 淀粉样蛋白沉积斑块致病假说时, β 淀粉样蛋白沉积斑块致病、高浓度 β 淀粉样蛋白致病两种观点较为流行。

1.1 β 淀粉样蛋白沉积斑块的致病性

β 淀粉样蛋白沉积斑块在光学显微镜下可见,与相应抗体结合能力较强,便于研究人员观测。在对于 β 淀粉样蛋白沉积斑块的观察中,研究人员发现其与生物认知能力呈现显著负相关性,这主要是由于 β 淀粉样蛋白沉积斑块的存在常与神经元死亡或突触数量减少共存,且二者发生的位置重叠性较高^[3,4]。然而这些证据均无法直接证明 β 淀粉样蛋白沉积斑块是导致AD发生的主要原因。对此,学术界有多种解释,其中,有研究人员在AD模型小鼠病变部位尝试筛选出了多种细胞来源的促炎症反应因子,并通过多种分子生物学和生物化学技术验证了炎症发生位置和 β 淀粉样蛋白沉积斑块发生位置的高重叠性,进而阐明了 β 淀粉样蛋白沉积斑块通过引发脑部炎症导致神经元受损的致病机制^[4,5]。然而, β 淀粉样蛋白沉积斑块的致病性遭到了许多学者的质疑,其中有研究表明,位于海马区的神经元功能、结构缺陷的发生显著优先于细胞外 β 淀粉样蛋白沉积斑块的形成^[6]。

1.2 高浓度游离 β 淀粉样蛋白的致病性

由于 β 淀粉样蛋白沉积斑块直接致病的说法缺乏直接证据, β 淀粉样蛋白沉积斑块究竟是导致AD的主因,或者只是AD发病的症状之一,目前在学术界仍存争议。其中,有研究人员关注了 β 淀粉样蛋白沉积斑块附近以游离状态存在的高浓度 β 淀粉样蛋白,提出 β 淀粉样蛋白可能与过度磷酸化的tau蛋白——一类神经元特有的细胞骨架关键蛋白结合,从而导致tau蛋白纤维化,导致神经细胞缠结,最终引发神经元死亡^[7]。这一研究不但提出了新的AD致病通路,也在一定程度上验证了沉积斑块可能仅是AD进程中的一个症状。对于 β 淀粉样蛋白、APP蛋白产生有关的基因突变,包括其自身基因、分子伴侣基因及其他相关调控元件的基因突变,均有继续深入研究的价值,其互作关系或许是帮助了解 β 淀粉样蛋白沉积并形成斑块的合理思路。

而对于游离 β 淀粉样蛋白致病性,则可以考虑在细胞层面进行研究,即深入分析包括促炎症因子在内的细胞因子在 β 淀粉样蛋白形成前后的变化情况。

2 β 淀粉样蛋白寡聚体致病假说

在探究游离 β 淀粉样蛋白的过程中,研究人员发现了多样的 β 淀粉样蛋白寡聚体,在对其生理生化特性进行研究后, β 淀粉样蛋白寡聚体致病假说逐渐形成。

2.1 β 淀粉样蛋白寡聚体性质

β 淀粉样蛋白寡聚体是几个或十几个 β 淀粉样蛋白单体通过非共价键结合形成的低聚物,由于其组合的多样性,加之 β 淀粉样蛋白本身由于缺乏 α 螺旋结构所具有的易变性(图1^[8]),因而具有丰富的异构体与三维结构(图2^[9])。 β 淀粉样蛋白本身的结构并不稳定,在外界环境改变时常出现裂解、变性或蛋白质功能下降等现象^[8,10]。而其生理毒性同样与 β 淀粉样蛋白单体数量有关,且聚合数高于四聚体的 β 淀粉样蛋白寡聚物易裂解为单体数 ≤ 4 的寡聚体^[8]。有研究人员特意对 β 淀粉样蛋白寡聚体的生理毒性进行了研究,结果表明,其毒性从大到小排序依次为四聚体、三聚体、二聚体、单体,以数值表示则其比例约为13:8:3:1^[11]。然而,已有的研究表明, β 淀粉样蛋白二聚体可能与 β 淀粉样蛋白纤维化及沉积斑块的形成存在相互关联,即二者的合成和累积常会通过影响 β 淀粉样蛋白合成途径或改变其纤维化进程,进而导致二者合成量提升,通过免疫荧光染色观测其在脑组织中分布位置同样具有较大重叠^[12]。因此,判别 β 淀粉样蛋白寡聚体生理毒性应在蛋白分子本身毒力和生物学个体两方面同时开展,通过分子和个体层面对照实验对其在生物体中的致病性进行评估,从而提高相关检测结果的客观性。

2.2 β 淀粉样蛋白寡聚体致病途径

β 淀粉样蛋白寡聚体结构的不稳定性,使其更难被人体免疫系统识别和清除。与 β 淀粉样蛋白沉积斑块相比, β 淀粉样蛋白寡聚体在生物体中受到蛋白质裂解酶的催化作用只有前者的约40%,这使得 β 淀粉样蛋白寡聚体更容易以胶体溶液的形式在生物体脑组织中累积^[11]。另一方面, β 淀粉样蛋白的高度易变性使其更易与其他蛋白质,如神经元表面的受体蛋白或tau蛋白结合,从而引发神经元生理活性下降、发生病变或死亡^[13-15]。有研究表明, β 淀粉样蛋白二聚体与小鼠海马体神经元轴突数量成负相关,即高浓度的 β 淀粉样蛋白二聚体会



图1 Aβ42 三维结构示意图^[8]

Figure 1 Three-dimensional structure of Aβ42

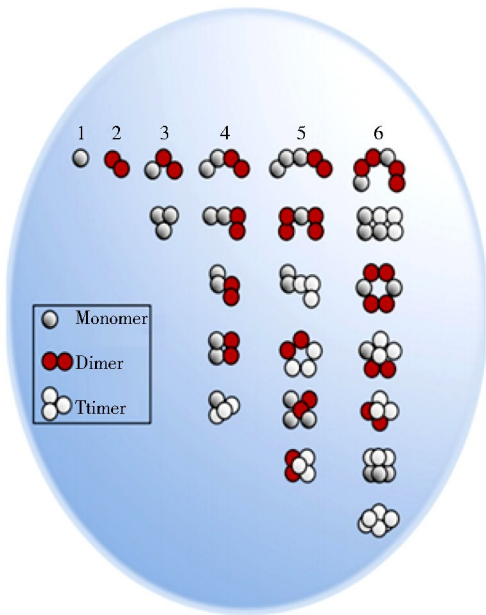


图2 β 淀粉样蛋白寡聚体部分示意图^[9]

Figure 2 Diagram of parts of β amyloid protein oligomer

使其海马体神经元轴突数量减少,从而引发小鼠神经系统功能性减退,进而导致 AD 的发生^[16]。在 AD 致病机制的探索中,学者们对于 β 淀粉样蛋白寡聚体的认知和研究起步晚于对于 Aβ 斑块及纤维状蛋白的研究,这主要是限于蛋白质电泳技术及 β 淀粉样蛋白寡聚体本身分子量接近(β 淀粉样蛋白单体仅含有 58 个碱基),β 淀粉样蛋白寡聚体提取及分离时易出现原液溢出或难以分离等现象^[16]。对于有相同数量 β 淀粉样蛋白单体组成的寡聚体,其生理和病理特性往往相差较大,而其相同的分子

量又使研究者无法通过常规的凝胶电泳法进行分离^[16,17]。为解决这一问题,一些学者尝试使用免疫检测方法对异构体低聚物进行分离,然而由于 β 淀粉样蛋白的不稳定性,导致其与抗体结合率较低,分离效果同样不理想^[18]。因此,对于单体含量较多的寡聚体分离提纯,至今仍是研究 β 淀粉样蛋白寡聚体领域的瓶颈。

β 淀粉样蛋白寡聚体体外合成和研究或许是解决其分离提纯瓶颈的合理方案。由于 APP 蛋白及 β 淀粉样蛋白单体本身分子量较小,且其基因已知,故通过工程菌或化学手段合成 β 淀粉样蛋白单体,进而合成 β 淀粉样蛋白寡聚体的研究方法已被诸多学者采用。然而有研究人员指出,β 淀粉样蛋白寡聚体在体外环境中的生理毒性可能远远低于其在生物体内的毒性。即便是从患病小鼠脑组织中成功分离得到的 β 淀粉样蛋白寡聚体,其在体外环境中的生理毒性也有所下降^[11]。

尽管 β 淀粉样蛋白寡聚体的多样性对科学研究构成了一定挑战,其相关致病假说仍为 AD 研究注入了新的活力。有研究人员关注到了 β 淀粉样蛋白寡聚体对 Wnt 信号通路的靶向性,并通过蛋白组学等技术筛选得到了 AD 新的关键蛋白^[19]。而 β 淀粉样蛋白寡聚体与早先发现的 β 淀粉样蛋白沉积斑块或 β 淀粉样蛋白纤维在 AD 进程中亦可能存在一定关联^[20]。因此,β 淀粉样蛋白寡聚体致病假说的后续研究中,对于 β 淀粉样蛋白寡聚体相关细胞因子以及 β 淀粉样蛋白寡聚体与纤维互作关系的相关研究,或许对于完善 β 淀粉样蛋白寡聚体致病假说及 β 淀粉样蛋白作用机制十分关键。

3 小 结

学术界对于阿尔茨海默病的研究已逾 30 年,然而其致病机制仍待深入研究。目前已有的 β 淀粉样蛋白沉积斑块和寡聚体致病途径两种假说,在当下生物研究技术日趋完善的背景下,在后续研究中,现有致病假说之间的相关性研究可能是未来阿尔茨海默病研究的热点。

除此之外,更多致病假说仍被不断发现,进而开启了更多全新的阿尔茨海默病致病通路研究视角。近年来,脑肠轴概念被科研人员广泛提及,有研究表明阿尔茨海默病患者肠道菌群中部分益生菌种群数量与正常人存在较大出入,且这一相关性与 AD 发病进程同样紧密相关,从而引发了学术界关于通过干预肠道微生物群落延缓 AD 进程的可行性的探讨^[21]。2022 年 5 月,武汉大学张振涛和叶克强教授

团队发现 tau 蛋白 K353 位点可与去甲肾上腺素代谢产物 3,4 二羟基苯乙醇醛共价结合,从而导致 tau 蛋白沉积、病变^[22]。这一发现是 tau 蛋白继磷酸化通路、与 β 淀粉样蛋白互作通路之外又一新发现的致病通路,同时也说明在宏观研究层面,针对阿尔茨海默病致病通路研究在未来一段时间内,新的研究进展可能仍将在新通路发现、已发现途径进一步完善、不同通路或假说关联性研究三个方面取得。

在极为丰富的研究背景下,阿尔茨海默病沉积斑块和寡聚体致病假说早已不再是独立的两种假说,而正在被更多新证据、新发现串联起来,形成更具客观性、综合性的假说:(1)在细胞、分子层面的研究可以对突变基因和分泌量明显改变的细胞因子进行筛选,充实 β 淀粉样蛋白级联假说;(2)通过研究关键基因、物质(如磷酸肌醇依赖性蛋白激酶-1、代谢性谷氨酸受体蛋白)的作用机制,也许有助于已知通路的联通及新通路的建立;(3)针对分子伴侣表达调控的相关研究可能对揭示 β 淀粉样蛋白发生病变的内在原因具有重要意义;(4)有关生物体内环境体外构建等相关技术突破同样可能是阿尔茨海默病研究中的关键。

【参考文献】

- [1] Teplow DB. On the subject of rigor in the study of amyloid β -protein assembly[J]. *Alzheimer's Res Ther*, 2013, 5(4): 39. DOI: 10.1186/alzrt203.
- [2] Howland DS, Savage MJ, Huntress FA, *et al.* Mutant and native human beta-amyloid precursor proteins in transgenic mouse brain[J]. *Neurobiol Aging*, 1995, 16(4): 685-699. DOI: 10.1016/0197-4580(95)00078-s.
- [3] Mullan M, Crawford F, Axelman K, *et al.* A pathogenic mutation for probable Alzheimer's disease in the APP gene at the N-terminus of beta-amyloid[J]. *Nat Genet*, 1992, 1(5): 345-347. DOI: 10.1038/ng0892-345.
- [4] Yin Z, Raj D, Saiepour N, *et al.* Immune hyperreactivity of A β plaque-associated microglia in Alzheimer's disease[J]. *Neurobiol Aging*, 2017, 55: 115-122. DOI: 10.1016/j.neurobiolaging.2017.03.021.
- [5] Hoshino M. Fibril formation from the amyloid- β peptide is governed by a dynamic equilibrium involving association and dissociation of the monomer[J]. *Biophys Rev*, 2017, 9(1): 9-16. DOI: 10.1007/s12551-016-0217-7.
- [6] Hsia AY, Masliah E, McConlogue L, *et al.* Plaque-independent disruption of neural circuits in Alzheimer's disease mouse models[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1999, 96(6): 3228-3233. DOI: 10.1073/pnas.96.6.3228.
- [7] Gulisano W, Maugeri D, Baltrons MA, *et al.* Role of amyloid- β and Tau proteins in Alzheimer's disease: confuting the amyloid cascade[J]. *J Alzheimers Dis*, 2018, 64(s1): S611-S631. DOI: 10.3233/JAD-179935.
- [8] Urbanc B, Betnel M, Cruz L, *et al.* Elucidation of amyloid beta-protein oligomerization mechanisms: discrete molecular dynamics study[J]. *J Am Chem Soc*, 2010, 132(12): 4266-4280. DOI: 10.1021/ja9096303.
- [9] Hayden EY, Teplow DB. Amyloid β -protein oligomers and Alzheimer's disease[J]. *Alzheimers Res Ther*, 2013, 5(6): 60. DOI: 10.1186/alzrt226.
- [10] Laganowsky A, Liu C, Sawaya MR, *et al.* Atomic view of a toxic amyloid small oligomer[J]. *Science*, 2012, 335(6073): 1228-1231. DOI: 10.1126/science.1213151.
- [11] Ono K, Condrion MM, Teplow DB. Structure-neurotoxicity relationships of amyloid beta-protein oligomers[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106(35): 14745-14750. DOI: 10.1073/pnas.0905127106.
- [12] O'Nuallain B, Freir DB, Nicoll AJ, *et al.* Amyloid beta-protein dimers rapidly form stable synaptotoxic protofibrils[J]. *J Neurosci*, 2010, 30(43): 14411-14419. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.3537-10.2010.
- [13] Ardiles AO, Tapia-Rojas CC, Mandal M, *et al.* Postsynaptic dysfunction is associated with spatial and object recognition memory loss in a natural model of Alzheimer's disease[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109(34): 13835-13840. DOI: 10.1073/pnas.1201209109.
- [14] O'Nuallain B, Freir DB, Nicoll AJ, *et al.* Amyloid β -protein dimers rapidly form stable synaptotoxic protofibrils[J]. *J Neurosci*, 2010, 30(43): 14411-14419. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.3537-10.2010.
- [15] Shankar GM, Li S, Mehta TH, *et al.* Amyloid β -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.
- [16] Watt AD, Perez KA, Rembach A, *et al.* Oligomers, fact or artefact? SDS-PAGE induces dimerization of β -amyloid in human brain samples[J]. *Acta Neuropathol*, 2013, 125(4): 549-564. DOI: 10.1007/s00401-013-1083-z.
- [17] Pujol-Pina R, Vilaprinyó-Pascual S, Mazzucato R, *et al.* SDS-PAGE analysis of A β oligomers is disserving research into Alzheimer's disease: appealing for ESI-IM-MS[J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 14809. DOI: 10.1038/srep14809.
- [18] Rahimi F. Aptamers selected for recognizing amyloid β -protein — a case for cautious optimism[J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(3): 668. DOI: 10.3390/ijms19030668.
- [19] Bruggink KA, Kuiperij HB, Gloerich J, *et al.* Dickkopf-related protein 3 is a potential A β -associated protein in Alzheimer's disease[J]. *J Neurochem*, 2015, 134(6): 1152-1162. DOI: 10.1111/jnc.13216.
- [20] Yamin G, Teplow DB. Pittsburgh compound-B (PiB) binds amyloid β -protein protofibrils[J]. *J Neurochem*, 2017, 140(2): 210-215. DOI: 10.1111/jnc.13887.
- [21] Vogt NM, Kerby RL, Dill-McFarland KA, *et al.* Gut microbiome alterations in Alzheimer's disease[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 13537. DOI: 10.1038/s41598-017-13601-y.
- [22] Kang SS, Meng L, Zhang X, *et al.* Tau modification by the norepinephrine metabolite DOPEGAL stimulates its pathology and propagation[J]. *Nat Struct Mol Biol*, 2022, 29(4): 292-305. DOI: 10.1038/s41594-022-00745-3.