

- 10618
- 9 Varvel NH, Bhaskar K, Patil AR, *et al.* Abeta oligomers induce neuronal cell cycle events in Alzheimer's disease[J]. J Neurosci, 2008, 43:10786 - 10793
 - 10 Liu K, Li L, Nissson PE, *et al.* Neoplastic transformation and tumorigenesis associated with sam68 protein deficiency in cultured murine fibroblasts[J]. J Biol Chem, 2000, 275:40195 - 40201
 - 11 Ittner A, Ke YD, Eersel J, *et al.* Brief update on different roles of tau in neurodegeneration[J]. IUBMB Life, 2011, 7:495 - 502
 - 12 Johson GV, Stoothoff WH. Tau phosphorylation in neuronal cell function and dysfunction [J]. J Cell Sci, 2004, 117:5721 - 5729
 - 13 Liu F, Grunke - bal I, Iqbal K, *et al.* Dephosphorylation of tau by protein phosphatase 5: impairment in Alzheimer's disease [J]. J Biol Chem, 2005, 280:1790 - 1796
 - 14 Liu F, Grunke - bal I, Iqbal K, *et al.* Truncation and activation of calcineurin a by calpain1 in Alzheimer's disease brain [J]. J Biol Chem, 2005, 280:37755 - 37762
 - 15 López - Tobón A, Castro - Álvarez JF, Piedrahita D, *et al.* Silencing of CDK5 as potential therapy for Alzheimer's disease [J]. Rev Neurosci, 2011, 2:143 - 152
 - 16 Liu F, Grunke - bal I, Iqbal K, *et al.* Contributions of protein phosphatases PP1, PP2A PP2B and PP5 to the regulation of tau phosphorylation [J]. Eur J Neurosci, 2005, 22:1942 - 1950
 - 17 Gilot D, Giudicelli F, Lagadic - Gossman D, *et al.* Akti - 1/2, an allosteric inhibitor of Akt 1 and 2, efficiently inhibits CaMKI α activity and arylhydrocarbon receptor pathway [J]. Chem Biol Interact, 2010, 3:546 - 52
 - 18 Pei JJ, Gong CX, An WL, *et al.* Okad acid induced Inhibition of protein phosphatase 2A produces activation of mitogen activated protein kinases ERK1/2 MEK1/2, AND P70S6, Similar to that in Alzheimer's disease [J]. Am J Pathol, 2003, 163:845 - 858
 - 19 Vogel SR, Schuck T, Tro - janowski JQ, *et al.* PP2A mRNA expression is quantitatively decreased in Alzheimer's disease hippocampus [J]. Exp Neurol, 2001, 168:402 - 412
 - 20 Zhu WL, Shi HS, Wang SJ, *et al.* Increased Cdk5/p35 activity in the dentate gyrus mediates depressive - like behaviour in rats [J]. Int J Neuropsychopharmacol, 2011, 20:1 - 15
 - 21 Chakrabarty P, Ceballos - Diaz C, Beccard A, *et al.* IFN - gamma promotes complement expression and attenuates amyloid plaque deposition in amyloid beta precursor protein transgenic mice [J]. J Immunol, 2010, 9:5333 - 5343
 - 22 Alonso Adel C, Li B, Grundke - Iqbal I, *et al.* Polymerization of hyperphosphorylated tau into filaments its inhibitory activity [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2006, 103:8864 - 8869
 - 23 Xiao A, Dai J. Axonal leakage is a key Neuropathological change in Alzheimer's disease [J]. Acta Med Univ Sci Technol H uazhong, 2006, 35(2):277 - 278
 - 24 王茜 戴甲培. 轴突病变, 轴突转运障碍与阿尔茨海默病 [J]. 中南民族大学学报, 2006, 25(4):27 - 30
 - 25 Syring C, Drögemüller C, Oevermann A, *et al.* Degenerative axonopathy in a Tyrolean grey calf [J]. J Vet Intern Med, 2010, 24(6):1519 - 1523

(收稿:2011 - 06 - 25)

(修回:2011 - 06 - 28)

脑胶质瘤细胞信号转导通路及其串话机制的研究进展

陈彩霞 步星耀 鲍玉洲

脑胶质瘤是严重危害人体健康的常见肿瘤之一, 多为原发性, 约占颅内肿瘤的 40% ~ 50%。由于该肿瘤为浸润性生长, 无明显界限, 因此外科手术很难在细胞水平完全切除, 化疗和放疗对胶质瘤细胞杀伤的特异性低, 治疗效果欠佳, 且对中枢神经系统乃至全身产生的毒性不良反应常难以耐受。近 30 年来, 胶质瘤的总体疗效一直没有获得明显的改善, 脑胶质瘤的 5 年病死率仅次于胰腺癌和肺癌, 位列第 3 位^[1]。因此, 脑胶质瘤一直是神经外科领域的难治性疾病, 对其病因、发病机制、生物学特性以及新治疗手段的探讨, 是神经外科的最急待解决的难题和热点

课题。

随着分子生物学的发展及其在肿瘤研究方面的进展, 已经发现胶质瘤的发生与 Rb、p53、Ink4a/p16 等多种抑癌基因的功能失活, survivin、caspase、bcl - 2、bcl - XL 等多种凋亡相关基因引起的凋亡抑制, 及 PDGFR、Cdk4、MDM2 等细胞生长促进因子的过度表达有关。许多研究者也针对这些基因异常, 探索基因治疗方法的研究。但由于胶质瘤也包括其他多数恶性肿瘤, 在发生机制上都属于多基因、多阶段的过程, 大多同时累及多种基因的不同作用环节。因此, 针对单个异常基因或环节的治疗, 很难在获得理想的疗效。在找到某些关键的靶点后针对这些靶基因进行治疗的过程中, 同时兼顾涉及增殖、凋亡、侵袭等多个通路或环节的异常, 才可能在胶质瘤治疗上获得突破

作者单位: 450003 郑州, 河南省人民医院检验科

通讯作者: 鲍玉洲, 电子信箱: baoyuzhou@126.com

阿尔茨海默病发病机制研究进展

张勤安 高晓群

阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 是老年人的常见病之一,属中枢神经系统退行性疾病。病人脑部组织的病理特征是细胞外淀粉多肽沉积形成脑部斑块,细胞内神经纤维缠结形成伴有神经元减少。患有此病的人表现为认知 (cognitive) 功能逐渐减退和行为错乱。除了一些少见的家族病外,AD 一般在 60 岁以后发病。由于患此病的风险随年龄增长,AD 已经成为发达国家老龄人群增多后的一个主要健康和社会问题。据我国人口调查我国许多大城市已进入老龄化社会,给社会及家庭带来许多问题,所以对 AD 真正发病机制的研究已成为国内外科技界非常重要的问题。

100 多年前由德国神经精神病学家 Alois Alzheimer 对 AD 病人大脑损害的特征首先作了描述。他对一个精神病人长期观察其病变恶化过程直至死亡,并作了尸体解剖。此后人们所做的病理改变显示密集的细胞外沉积 (即神经性或老年性斑块) 以及细胞内密集的纤维束形成 (即神经纤维缠结)。AD 有遗传性的也有是散在发病的。遗传性的或者家族性的 AD 是少见的,只占有所有病例的 5% ~ 10%。AD 的发病机制至今仍不清楚。根据早期的研究结果,人们提出了 AD 发病机制两大主要假说:即淀粉样肽假说 (amyloid hypothesis) 和 tau 蛋白假说 (tau hypothesis)。

一、淀粉样肽假说

假说认为 β -淀粉蛋白的形成是由于 β -淀粉蛋白前体 (amyloid precursor protein, APP) 的非正常剪切加工造成的诸多事件引发了神经元的损伤最终导致 AD 的形成。该假说还认为 β -淀粉蛋白可以引起活性氧族的形成,导致 Ca^{2+} 内流,诱导 tau 蛋白的磷酸化,进而导致神经元纤维缠结的形成^[1]。因此该假说认为 $\text{A}\beta$ 的形成是 AD 发病过程中非常关键的步骤。

$\text{A}\beta_{40}$ 和 $\text{A}\beta_{42}$ 是 $\text{A}\beta$ 的两种主要形式。 $\text{A}\beta$ 极易发生聚集,它的聚集不需要其他特殊的条件和其他特别的辅助因子。在动力学上 $\text{A}\beta_{42}$ 比 $\text{A}\beta_{40}$ 聚集的更快,AD 脑部的老年斑中 $\text{A}\beta_{42}$ 是 $\text{A}\beta$ 的主要形式。所以 $\text{A}\beta_{42}$ 在 AD 的形成过程中是致病的重要成分。

1984 ~ 1985 年 Glenner 和 Wong 以及 Masters 在 AD 病人的老年斑中纯化出 $\text{A}\beta$ 并进行了测序。由此答出了 $\text{A}\beta$ 是由它的前体蛋白 APP 经过蛋白酶解加工而成的结论。 $\text{A}\beta$ 的序列被报道后,许多的研究组紧接着就宣布他们鉴定出了产生 $\text{A}\beta$ 多肽的基因。自此对于 AD 的研究进入了蛋白,分子和基因时代。

测序的结果是 $\text{A}\beta$ 的基因编码定位于第 21 号染色体,位置就在 FAD 基因的附近,这个多肽的基因编码是 365 个氨基酸组成的具有 I 型跨膜结构的蛋白,把这个基因编码的蛋白被称为 APP。

将 APP 形成 $\text{A}\beta$ 的基因编码定位于第 21 号染色体,人们把已知的 21 号染色体三体的唐氏综合征和 AD 结合起来。其结论就是高 APP 基因含量在以后造成 $\text{A}\beta$ 产量的增加可能形成 AD。这里突出强调 $\text{A}\beta$ 和老年斑是 AD 最关键的证据。一些少数常染色体显性遗传的 AD 家族中 APP 基因也高度支持高浓度 APP 形成 $\text{A}\beta$ 在 AD 发病机制中的突出作用。

以上的这些发现使得 $\text{A}\beta$ 假说的形成有了坚实的理论基础,但是该假说几经演变其基本内容没有实质性变化。其内容就是 APP 可以通过两种途径进行加工,其一是产生 $\text{A}\beta$ 途径,其二是非产生 $\text{A}\beta$ 的途径^[2]。

APP 的合成后进行了多种翻译和修饰,但是与 AD 相关的最重要的翻译后修饰是蛋白酶解加工。这里主要有 3 种类型的蛋白酶即 α -分泌酶、 β -分泌酶或 β 位点 APP 酶切酶 (BACE),以及 γ -分泌酶,均与 APP 形成相关^[3~5]。APP 可以被 α -和 γ -或者 β -和 γ -分泌酶降解。所以在 APP 第一条途径进行加工中,APP 经过 β -和 γ -分泌酶的剪切产生较短 $\text{A}\beta$,对神经元能产生较强的毒性作用。在 APP 第二条途径进行加工中,APP 经过 α -和 γ -分

基金项目:国家自然科学基金资助项目 (30570629);荷兰科学院中荷合作项目 (05CDP030)

作者单位:450001 郑州大学基础医学院人体解剖教研室

通讯作者:高晓群,电子信箱:qinanzhang118@126.com

泌酶的剪切产生较短 P3,该过程中也有金属蛋白酶参与,这种加工结果不会产生老年斑,最后的结局是不会形成 AD。在该假说中,AD 脑部 tau 的过度磷酸化以及神经元纤维缠结的形成都是 A β 毒性的以后演变结果^[6]。

在神经斑块中被识别的主要的两个淀粉样多肽是淀粉样 β -蛋白(1~40)(A β 40)和淀粉样 β 蛋白(1~42)(A β 42),均由 APP 被 β -分泌酶和 γ -分泌酶连续酶解产生的。 β -分泌酶酶切后产生的 APP 片段导致细胞外 N-端蛋白片段即可溶性 APP- β 分子(sAPP- β)的释放。然而,膜上的 APP 跨膜区域被 γ -分泌酶进一步处理而产生 APP- β 分子 A β 40 或 A β 42。A β 40 或 A β 42 的形成是一个正常的过程,这些肽都能健康人的血浆和脑脊液(CSF)中检测到。很多研究表明,健康人和 AD 病人的脑脊液中的 A β 40 浓度相同。但是,在 AD 病人脑脊液中的 A β 42 浓度明显地低于正常人,这大概是反映了不溶性斑块的增加所造成的。

APP 代谢产生 A β 是非常复杂的调控过程有许多细胞信号途径参与其中,还有一些不直接参与激酶和磷酸酶活性的细胞途径也能直接影响 A β 的生成^[7-9]。所以 A β 的生成是细胞内多个因子共同活动的结果,但是可以肯定的是淀粉样肽假说认为 A β 的过度生成是导致 AD 的主要原因。基因技术和随机同源基因技术(random homozygous gene perturbation, RHGP)的应用可以寻找到与 A β 生成的相关因子,有助于进一步研究其内在作用机制,进一步理解 AD 的细胞与分子的发病机制^[10]。

二、tau 蛋白假说

该假说从 AD 的另外一个特征性病理改变,即神经元细胞内神经纤维缠结(NTFs)的形成角度进行研究。该假说认为过度磷酸化的 tau 蛋白引起微管蛋白组装的紊乱从而导致神经元骨架的变质。神经纤维缠结是由异常超微结构的双螺旋丝(paired helical filament, PHF)和束状细丝(straight filament, SF)组成。PHF 的主要成分是非正常的微管相关蛋白 tau,这种 tau 除了过度聚集外还具有异常磷酸化和其他的异常修饰,诸如异常糖基化,异常糖化,异常磷酸化,异常泛素化,异常的截断作用等。这与 tau 的正常促进和稳定管蛋白和微管的组装功能相悖。

正常人的脑中有 5~6 种 tau 的同工异构体,相对分子质量在(48~60)kDa 之间,这些同工异构体位于 17 号染色体的单一基因转录 mRNA 的剪切产

物。它们之间的差异是 C-末端含 3 个或 4 个由 31~32 个氨基酸残基组成的微观结合区,N-端有 0 个,1 个或 2 个由 29 个氨基酸残基构成的插入序列。tau 分子的等电点差异与其磷酸化修饰状态有关。

NTFs 的主要成分是过度磷酸化的 tau,它聚集在退行性变神经元胞体内,其量的多少与 AD 的临床痴呆的轻重程度呈正相关。在 AD 患者脑部如何出现 tau 蛋白的过度磷酸化的机制到目前为止并不十分清楚。许多学者认为可能是 tau 激酶上调或者是 tau 磷酸酶下调所产生的结果。在 tau 分子中所含的 1/5 丝氨酸和苏氨酸的氨基酸残基是可以被磷酸化的。这些可以被磷酸化的丝氨酸和苏氨酸在 AD 的脑中有 1/2 被磷酸化修饰^[11]。实验结果证明,多种蛋白激酶和脑组织中的蛋白磷酸酶在体外都可以使 tau 蛋白得到磷酸化修饰^[12]。已经知道最可能参与 tau 蛋白磷酸化的激酶有糖原合成酶激酶-3 β (GSK-3 β),周期蛋白依赖性蛋白激酶(CDK5),cAMP 依赖性蛋白激酶(PKA),应激激活的蛋白激酶和钙/钙调蛋白依赖性蛋白激酶 II(CaMK-II)。Iqbal 小组^[13]认为脑中调节 tau 蛋白磷酸化位点分别是:Ser-46, Thr-123, Ser-198, Ser-199, Ser-202, Ser-205, Ser-208, Ser-210, Thr-212, Thr-217, Thr-231, Ser-235, Ser-262, Ser-396, Ser-400, Thr-403, Ser-404, Ser-409, Ser-412, Ser-413 和 Ser-422。其实这些异常磷酸化的位点主要集中在 tau 蛋白分子的两个区域:一个是 N-末端 Ser-198 至 Thr-217,另一个是 C-末端 Ser-396 和 Ser-422。

在蛋白磷酸酯酶(protein phosphatases, PP)家族中在脑神经元细胞中能够调节 tau 蛋白磷酸化的是 PP2A,占总 tau 蛋白磷酸酶或许的 7 成以上,其余的 PP1, PP2B, PP2C, PP5 占约 3 成左右。但是 PP2B 在 AD 脑中是被异常激活而显示活性,PP2B 的活性不是被抑制,所以 PP2B 被认为在脑神经元细胞中并不参与 tau 蛋白磷酸化水平的调节^[14]。

tau 蛋白磷酸化的蛋白激酶或者磷酸酶活性改变使得 AD 脑中 tau 蛋白的过度磷酸化。在近 10 种 tau 蛋白激酶中,有依赖性蛋白激酶(CDK5)在 AD 脑中被激活的报道^[15]。在 AD 脑中蛋白磷酸酯酶(protein phosphatases, PP)家族中 PP2A, PP1, PP5 活性降低的同时,AD 脑中的其他蛋白出现了过度磷酸化的现象^[16]。这使得人们得出结论:蛋白磷酸酶的活性降低,特别是 PP2A 活性的降低可能导致 AD 脑神经元细胞中 tau 蛋白以及其他蛋白的过度磷酸化。PP2A

活性降低不仅使得它所催化的 tau 蛋白去磷酸化的水平下降,同时又激活或上调了其他 tau 蛋白激酶,导致了 tau 蛋白的异常过度磷酸化^[17,18]。但是在动物实验中,抑制其脑中 PP2A 的活性仅仅是导致 tau 分子的一部分位点的过度磷酸化,并不产生双螺旋丝 (PHF)^[19]。所以许多学者认为,PP2A 的活性降低仅是 AD 脑神经元细胞中 tau 蛋白过度磷酸化的一个原因。

另外,神经细胞凋亡过程中 tau 蛋白磷酸化水平是降低的,动物实验中高含量的过度磷酸化 tau 蛋白的神经细胞不易发生凋亡,tau 细丝的形成对神经细胞似乎有保护作用^[20,21]。这就使得在人类全长 tau 转基因小鼠脑中尽管有广泛的退行性变现象的存在,但是神经元细胞没有凋亡性细胞核的变化^[22]。到目前为止,高含量的过度磷酸化 tau 蛋白的神经元细胞没有被凋亡的机制没有明确的结论。

三、轴突漏假说

戴甲培教授等认为两大假说的关键思想在过去 20 年的大量研究工作中并没有获得理想的结论和有效的治疗方法,对于 SP 和 NFT 来说,它们在 AD 的发病机制上有如此重要的作用吗?它们之间是如何联系的?它们是 AD 病理变化的结果还是原因?这些问题一直被提出,但没有获得重要的、突破性进展^[23]。

长期以来的研究使得注意到,出现在 AD 病人脑内的病理改变包括 A β 沉淀、NTF 的形成、营养不良性神经突起、神经细胞的死亡、细胞死亡激活途径、能量代谢的改变和慢性有氧应激等,很难用一个符合逻辑的理论框架联系起来,也就是说不能将不同的 AD 发病机制假说进行统一。因此,对于 AD 的研究来说的确已处在一个关键性的十字路口^[24]。近年来的研究发现,轴突转运障碍(axonal transport impairment)和轴突病变(axonopathy)在 AD 发病机制上可能起到重要的作用^[25]。

对 AD 脑轴突病变的研究他们最近在 AD 脑中发现了一个以前没有学者注意到的神经病理改变,称之为-轴突漏(axonal leakage)。这一发现是基于使用能复苏人死亡后神经细胞摄取并进行轴突转运的神经示踪技术(postmortem tracing technique),该项技术可以对 AD 病人不同脑区进行观察。生物素标记的葡聚糖胺(biotinylated dextran amine,BDA),相对分子质量 10kDa),结果这种神经示踪技术显示了与肿胀的轴突和轴突膨体相伴随的“轴突漏”改变。轴突

漏在 AD 的病理机制,特别是与轴突和轴突膨体的肿胀以及与 AD 传统病理改变的关系是一个非常有意义的问题,有待进一步的探索。根据目前的发现,提出一个 AD 神经病理机制新的假说即“轴突漏假说”。假说认为“轴突漏”可能是 AD 更为早期,关键性的神经病理改变,可能导致轴突和轴突膨体的肿胀以及 SP 和 NFT 的形成^[24]。

四、小结与展望

淀粉样肽假说和 tau 蛋白假说的关键思想在过去 20 年的大量研究工作中对 AD 的研究起到了积极的指导作用,随着研究方法和研究技术的提高,使得研究内容有了更多更深的发展。特别是基因技术和随机同源基因干扰技术的应用,对导致 AD 的因子能够作出较为准确的鉴定。当然对于传统假说的重新思考除了是一个学习的过程外,更重要的目的是为 AD 的研究拓宽方向,“轴突漏假说”新的观点的提出可能对 AD 发病机制的探讨会起到积极的作用。假说本身之间的争论以及多假说之间的怀疑、修正或合作必将对 AD 的研究起到积极的推动作用,这将有助于尽快寻找到 AD 的发病机制的靶点,同时也有助于开发有效的 AD 的治疗方法。

参考文献

- Hardy J, Stroke DJ, The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: progress and problem on the road therapeutics [J]. Science, 2002, 297: 353 - 356
- Sekijie DJ. Alzheimer's disease results from the cerebral accumulation and cytotoxicity of amyloid beta - protein [J]. J Alzheimers Dis, 2001, 3(1): 75 - 80
- Wiessner C, Wiederhold KH, Tissot AC, *et al.* The second - generation active a β immunotherapy CAD106 reduces amyloid accumulation in APP transgenic mice while minimizing potential side effects [J]. J Neurosci, 2011, 25: 9323 - 9331
- Kimberly WT, LaVoie MJ, Ostaszewski BL, *et al.* Gama - secretase is a membrane protein complex comprised of presenilin, nicastrin, Aph - 1, and Pen - 2 [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2003, 100: 6382 - 6387
- Tian Q, Wang J. Role of serine/threonine protein phosphatase in Alzheimer's disease [J]. Neurosignals, 2002, 11: 262 - 269
- Hussain I, Powell DJ, Howlent DR, *et al.* ASP1 (BACE2) cleaves the amyloid precursor protein at the beta - secretase site [J]. Mol Cell Neurosci, 2000, 16(5): 609 - 619
- Serem WK, Bett CK, Ngunjiri JN, *et al.* Studies of the growth, evolution, and self - aggregation of β - amyloid fibrils using tapping - mode atomic force microscopy [J]. Microsc Res Tech, 2011, 74 (7): 699 - 708
- Zhang YW, Wang R, Liu Q, *et al.* Presenilin/ gamma - secretase - dependent processing of beta - amyloid precursor protein regulates EGF receptor expressions [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2007, 89: 10613