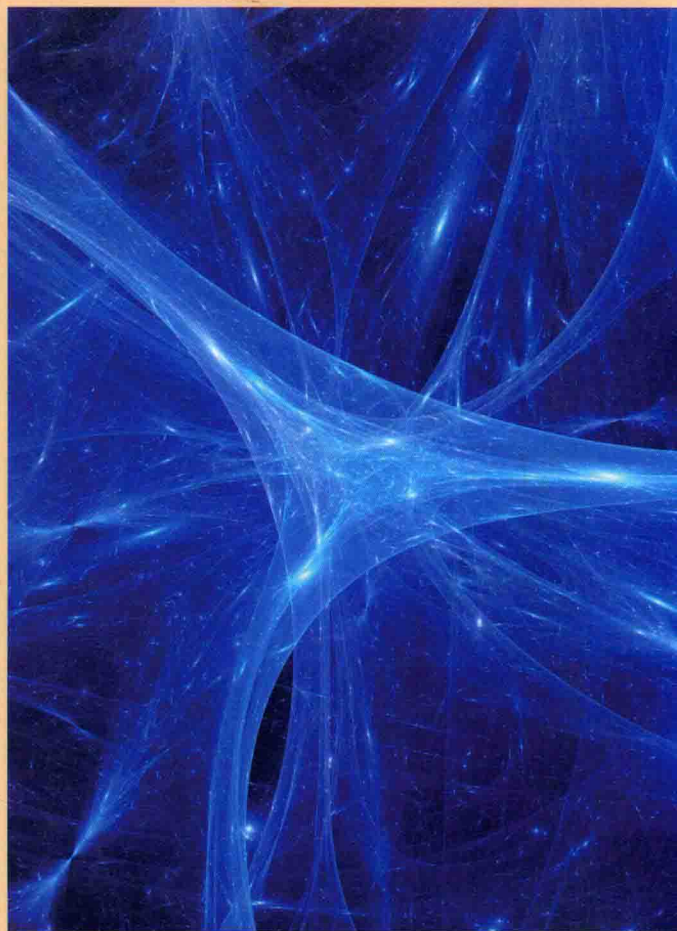


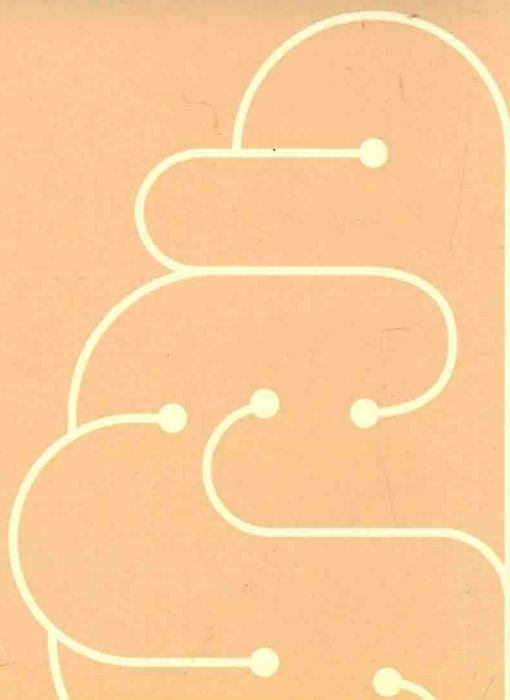


阿尔茨海默病

姜招峰◎主编

发病机理及其相关生物活性物质研究

The Pathogenesis of Alzheimer's Disease and Related
Bioactive Substances Research



中国轻工业出版社 | 全国百佳图书出版单位

阿尔茨海默病发病机理 及其相关生物活性 物质研究

姜招峰 主编

戴雪伶 黄汉昌 常 平 副主编

 中国轻工业出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

阿尔茨海默病发病机理及其相关生物活性物质研究/姜招峰
主编. —北京: 中国轻工业出版社, 2016. 6
ISBN 978-7-5184-0914-3

I. ①阿… II. ①姜… III. ①老年痴呆症—病理—研究
②老年痴呆症—生物活性—研究 IV. ①R592

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2016) 第 089555 号

责任编辑: 李亦兵 贾磊 责任终审: 张乃柬 封面设计: 锋尚设计
版式设计: 宋振全 责任校对: 吴大鹏 责任监印: 张可

出版发行: 中国轻工业出版社 (北京东长安街 6 号, 邮编: 100740)

印刷: 北京君升印刷有限公司

经销: 各地新华书店

版次: 2016 年 6 月第 1 版第 1 次印刷

开本: 720 × 1000 1/16 印张: 7.25

字数: 140 千字

书号: ISBN 978-7-5184-0914-3 定价: 80.00 元

邮购电话: 010-65241695 传真: 65128352

发行电话: 010-85119835 85119793 传真: 85113293

网址: <http://www.chlip.com.cn>

Email: club@chlip.com.cn

如发现图书残缺请直接与我社邮购联系调换

110659K1X101HBW

前 言

阿尔茨海默病 (Alzheimer's Disease, AD) 即人们熟知的老年痴呆症, 是一种中枢神经系统退行性病变疾病。该病患者承受着认知功能 (记忆、抽象思维能力、逻辑思考能力等) 减退和非认知性精神症状 (如日落综合征等) 带来的痛苦, 患者及其家属的工作和日常生活受到严重干扰。随着社会逐渐老龄化, 阿尔茨海默病的患病人数和潜在发病人数不容乐观, 因而阿尔茨海默病的发病机理、治疗措施等相关研究一直是世界上众多科学家的研究热点。阿尔茨海默病的发病原因已形成了若干假说, 如淀粉样蛋白级联假说、基因假说、Tau 蛋白过磷酸化假说、自由基代谢异常假说。经过多年的研究与验证, 围绕着 β -淀粉样蛋白这一核心物质的淀粉样蛋白级联假说一直占据着机理研究的主流地位。同样, 围绕着 β -淀粉样蛋白这一核心物质引发的相关作用途径都已成为筛选抗阿尔茨海默病的生物活性物质的作用靶点。这些生物活性物质的筛选研究, 有些是新鲜出炉, 有些已非常成熟, 获得了美国食品和药物管理局 (FDA) 认可进入临床。这些科研资料的积累都为开发治疗阿尔茨海默病的药物奠定了坚实的基础。

本书旨在概述当前对 β -淀粉样蛋白及其涉及的神经毒性途径的研究, 并以这一过程中涉及的靶点为基础筛选得到可能具备抗阿尔茨海默病的生物活性物质, 为从事阿尔茨海默病研究的科研人员、研究生提供一些背景资料和较前沿的生物活性物质研究进展。

本书的编写主要由北京联合大学功能食品科学技术研究院的科研人员完成, 该院的研究生刘文娟、许可、张姣、洪亮等投入了大量的时间协助完成资料的收集、整理及校对工作。本书的出版得到了北京市属高等学校人才强教计划——高层次人才项目 (PHR20090514) 的支持。在此一并表示衷心感谢!

由于时间仓促, 加之编者水平有限, 书中错漏之处难免, 恳请读者指正!

编 者

目 录

第一章 阿尔茨海默病概述	1
一、阿尔茨海默病流行病学研究	2
(一) 阿尔茨海默病患病率	2
(二) 阿尔茨海默病发病率	3
(三) 阿尔茨海默病死亡率	3
(四) 阿尔茨海默病病因学与风险因素分析	4
二、阿尔茨海默病主要病理学特征	5
(一) 老年斑	6
(二) 神经元纤维缠结	6
(三) 神经元缺失	7
(四) 神经元间突触连接减弱与细胞凋亡	7
三、与阿尔茨海默病相关的致病学说	8
(一) 淀粉样蛋白级联假说	8
(二) 基因假说	9
(三) Tau 蛋白过磷酸化假说	9
四、阿尔茨海默病诊断标准与评价方法	11
(一) 阿尔茨海默病诊断标准	11
(二) 认知功能评测	12
(三) 生物学指标	12
参考文献	14
第二章 β -淀粉样蛋白与阿尔茨海默病	19
一、 β -淀粉样蛋白的分泌过程	19
(一) 经由 α -和 γ -分泌酶酶解途径 (α -途径)	20
(二) 经由 β -和 γ -分泌酶酶解途径 (β -途径)	20
二、 β -淀粉样蛋白在阿尔茨海默病发病中的作用	22
(一) β -淀粉样蛋白与炎症反应	23
(二) β -淀粉样蛋白对线粒体功能的影响	24
(三) β -淀粉样蛋白对 Tau 蛋白磷酸化的影响	26
(四) β -淀粉样蛋白影响突触功能	28

三、 β -淀粉样蛋白与其他风险因素的关系	29
(一) β -淀粉样蛋白与载脂蛋白 E 基因的关系	29
(二) 金属离子与 β -淀粉样蛋白的关系	29
(三) β -淀粉样蛋白与胆碱能损伤的关系	30
参考文献	30
 第三章 β -淀粉样蛋白的制备与结构分析	32
一、 β -淀粉样蛋白样品的常规制备方法	32
(一) β -淀粉样蛋白样品的溶解	32
(二) β -淀粉样蛋白样品的制备	32
二、体积排阻色谱	33
(一) 分布系数	33
(二) 校正原理	34
(三) 体积排阻色谱法的特点	34
(四) 色谱柱的选择	35
三、圆二色光谱	35
四、淀粉样物质染色	37
(一) 刚果红染色法	37
(二) 银浸染色法	39
(三) 甲基紫法	39
(四) 其他染色法	40
五、 β -淀粉样蛋白形态学研究方法	41
(一) 透射电子显微镜	41
(二) 原子力显微镜	44
参考文献	46
 第四章 β -淀粉样蛋白毒性研究方法	47
一、 β -淀粉样蛋白细胞毒性研究方法	49
(一) 细胞模型	49
(二) 细胞存活率测定	49
(三) 细胞凋亡检测	51
二、阿尔茨海默病模型动物及其行为学研究	53
(一) 阿尔茨海默病病理研究动物模型	53
(二) 大鼠应用于阿尔茨海默病的发病机理研究	56
(三) 阿尔茨海默病模型大鼠的学习与记忆行为学研究	57

三、阿尔茨海默病样大脑病变观察	59
(一) 电子计算机断层扫描技术	59
(二) 组织化学显微观察	64
参考文献	65
 第五章 阿尔茨海默病治疗的生物活性物质	68
一、基于淀粉级联假说的抗阿尔茨海默病活性物质作用	68
(一) 抑制 β -淀粉样蛋白生成	68
(二) 减少 β -淀粉样蛋白聚集	76
(三) 加速 β -淀粉样蛋白清除	79
二、壳寡糖作用	79
(一) 对神经元的保护及再生	80
(二) 抗氧化	80
(三) 抑制 β -分泌酶	81
(四) 螯合铜离子	81
(五) 抑制胆碱酯酶、血管紧张素转化酶和肾素	82
(六) 抑制 Tau 蛋白磷酸化	82
三、姜黄素作用	83
(一) 抗神经元凋亡	83
(二) 抗炎症	83
(三) 抗氧化	84
(四) 抑制 β -淀粉样蛋白生成	84
四、其他与阿尔茨海默病相关的活性物质作用	84
(一) 抗氧化物质	84
(二) 用于调节金属离子作用的活性物质	90
(三) 与胆碱能系统相关的活性物质	94
(四) 兴奋性和抑制性递质功能调节物质	98
(五) 降低脂质成分含量的物质	99
参考文献	100

第一章 阿尔茨海默病概述

痴呆在老年性疾病中的关注程度已跃居前位，老年痴呆无论在国内还是国外均已成为威胁老年健康的一大杀手，是仅次于心血管病、癌症、脑卒中之后威胁老年人生命健康的高发病。老年期痴呆包括阿尔茨海默病（AD）、血管性痴呆（VD）和混合性痴呆等。阿尔茨海默病是由德国人 Alois Alzheimer 于 1906 年首先描述的一种严重危害人类健康的神经退行性疾病。

1901 年 11 月 25 日，51 岁的女性患者奥古斯特入院时，其家人陈述：患者 5 年来发生渐进性的记忆力和理解力减退、说话不顺畅乃至错乱、听幻觉、失去辨别事物与方向的能力、性格偏执、日常生活中拒绝家人的帮助等。Alois Alzheimer 将这个女病人收入医院诊治，并对患者进行医学检查，确认其上述症状均很明显，并且书写自己的名字也会错乱。经过反复对症治疗，其症状未能改善却继续加重，直至 1906 年 4 月 8 日病逝。

Alois Alzheimer 对患者脑组织进行病理检查，发现广泛性萎缩，脑重量减轻，病理切片的显微镜检视主要为大脑皮质和皮质下灰质呈现广泛神经细胞脱落、胶质细胞增生、神经元纤维缠结以及嗜银染色的斑块等。1906 年 11 月 26 日，在德国慕尼黑举行的德国精神病学会年会中，Alois Alzheimer 首次报告了他对这例 51 岁脑功能渐进性衰退女患者长达 4 年多的观察、诊治、追访以及研究的结果，并将这种病症命名为脑功能渐进性衰退的失智症。1910 年，德国精神病学家克雷皮林在其编撰的第 8 版《精神病学》教科书中，把 Alois Alzheimer 报道的上述病症冠以他的名字，称为阿尔茨海默病（Alzheimer's Disease）。

阿尔茨海默病患者一般会从最初的轻微健忘和思维混乱发展为神经功能严重丧失，日常生活完全不能自理，由发病至死亡平均病程为 8~10 年，以不断发展的记忆障碍、全面智能减退、个性改变以及精神行为异常为主要临床表现，是老年性痴呆最常见的形式之一。在阿尔茨海默病发病早期，日常行为主要表现为记忆力减退，尤其以近期记忆障碍为主；在发病中期，有明显的认知功能障碍，近事遗忘尤为显著，远期记忆也明显受累，并出现抽象思维能力丧失；在发病晚期，形成重度痴呆，记忆行为、逻辑思维、语言表达和运动协调逐步丧失。

阿尔茨海默病是渐进性的中枢神经系统性退行性疾病，从组织病理上看，阿尔茨海默病患者的大脑尸检主要表现为神经元外沉积大量的老年斑（SP），

而神经元胞体内形成神经元纤维缠结 (NFT)。造成阿尔茨海默病患者以上组织病理病变的因素目前依然不清楚。一方面, 阿尔茨海默病病程时间长, 临床上监测阿尔茨海默病患者的日常行为比较困难; 另一方面, 老年斑和神经元纤维缠结是确证阿尔茨海默病病理的特异因素, 而这两个因素在活体水平上的检测目前还存在一定的困难。因此, 目前急需开发、完善阿尔茨海默病病症诊断及病程程度的评价方法。

一、阿尔茨海默病流行病学研究

自 20 世纪 50 年代以来, 关于阿尔茨海默病的流行病学研究已在世界上很多国家普遍开展并逐渐深入。阿尔茨海默病是与老龄化相关的神经退行性疾病, 调查显示, 65 岁以上老人的年平均发病率为 1% ~ 3%, 65 岁者发病率为 2.5%, 而 90 岁以上者发病率达到 85.6%。随着社会人口老龄化的迅猛发展, 老年人在人群中的比重越来越大, 阿尔茨海默病必将成为一个不可忽视的卫生和社会问题。目前, 世界范围内老年痴呆患者据估计已超过 3500 万, 到 2050 年这个数字可能会超过 1 个亿, 这将为社会带来巨大的经济负担 (图 1-1)。由于缺乏有效的预防及治疗措施, 在发达国家阿尔茨海默病已成为继心脏病、癌症和中风之后的第四大死因。

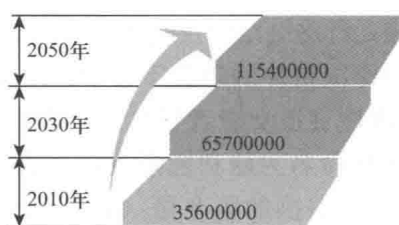


图 1-1 国际阿尔茨海默病组织 (ADI) 对阿尔茨海默病患者人数的统计和预测数字

(一) 阿尔茨海默病患率

1. 欧美地区

在欧美发达国家, 老年痴呆患者中的 50% ~ 60% 是阿尔茨海默病。欧洲老年人阿尔茨海默病的患病率在 65 ~ 69 岁为 0.6%, 大于 90 岁者为 22.2%, 年龄标化患病率为 4.4%。美国阿尔茨海默病患人数已达 500 万, 预计在 2050 年将增加至 1000 万。

2. 中国

我国从 20 世纪 90 年代起, 60 岁以上的老人已达 1.26 亿, 占全国总人口的 10%, 提前进入人口老龄化的行列。2011 年 4 月 28 日国家统计局公布第六次全国人口普查数据显示, 我国 60 岁及以上人口占总人口的 13.26%, 比

2000 年上升了 2.93%，其中 65 岁及以上人口占 8.87%，比 2000 年人口普查上升了 1.91%，据估计 2025 年可达 2.8 亿，占总人口的 18.4%。随着人口老龄化的日趋明显，阿尔茨海默病必将成为一个严重的社会问题。2005 年在北京、上海、成都、西安 4 个主要城市进行老年痴呆患病率调查显示，65 岁以上老年人阿尔茨海默病患病率男性为 3.4%，女性为 7.7%，总患病率为 5.9%。该结果提示，我国阿尔茨海默病的患病率与西方国家资料接近。根据这一结果估计，我国现有阿尔茨海默病患者人数达 350 多万。

（二）阿尔茨海默病发病率

在流行病学研究中，发病率比患病率更为重要，它能直接提示阿尔茨海默病的危险因素，更好地描述阿尔茨海默病的时间分布。

欧洲国家阿尔茨海默病的发病率在 65~69 岁、70~74 岁、75~79 岁、80~84 岁、85~89 岁分别为 2.5‰、5.2‰、10.7‰、22.1‰、46.1‰，美国在上述各年龄段中阿尔茨海默病的发病率依次为 6.1‰、11.1‰、20.1‰、38.4‰、74.5‰，东亚各国在上述各年龄段中阿尔茨海默病的发病率为 0.7‰、2.1‰、5.8‰、14.9‰、39.7‰。

有研究显示，10 年前我国上海地区 55 岁以上、60 岁以上及 65 岁以上阿尔茨海默病发病率分别为 0.42%、0.56%、0.89%，并且年龄每增加 5 岁，阿尔茨海默病的发病率增加 1.06 倍。屈秋民等对西安地区的调查结果与上海相似，阿尔茨海默病发病率 55 岁以上为 0.54%，65 岁以上为 0.69%，男、女阿尔茨海默病发病率无显著差异。北京城乡 60 岁以上老年人痴呆的年平均发病率为 1.6%，其中阿尔茨海默病为 1.0%。总之，近些年来流行病学数据显示，阿尔茨海默病发病率呈上升趋势，这可能一方面与轻度阿尔茨海默病识别与诊断能力提高有关，另一方面与阿尔茨海默病的发病几率呈上升趋势从而使新发病例数增加有关。另外，阿尔茨海默病发病率有无地域差异尚待进一步研究。

（三）阿尔茨海默病死亡率

在阿尔茨海默病发病早期仅有轻微的临床症状，如判断力下降、记忆力减退以及极轻微的性格改变，有时会伴随行为异常。很少有患者在此阶段死亡。随着时间推移，这些行为出现的频率越来越高。病程到后期，阿尔茨海默病患者已不能自理，甚至连行走都需要他人帮助，吞咽反射消失，难以与他人交流。

一般而言，阿尔茨海默病患者在确诊罹患阿尔茨海默病后 8~10 年死亡，有部分患者可存活 20 年。而其死因并非源于阿尔茨海默病，大部分死于肺炎、败血症及泌尿系统疾病。有统计表明，阿尔茨海默病患者平均生存时间为 5.9 ± 3.7 年，国内研究者随访了 2788 名 60 岁以上老年人，3 年后痴呆总死亡

率高达 42.46%，阿尔茨海默病死亡率约为 52.9%，标化年死亡率为 14.53%。可以说，阿尔茨海默病已成为继心脑血管病、恶性肿瘤之后危害老年人生命的主要疾病之一。

（四）阿尔茨海默病病因学与风险因素分析

多数阿尔茨海默病病例为非遗传性的散发性阿尔茨海默病（约 90%），通常在 65 岁以后发病，称为晚发性阿尔茨海默病。而家族史遗传性阿尔茨海默病（F 阿尔茨海默病）仅占阿尔茨海默病病例的 10%，且多在 65 岁以前就表现出发病迹象，因此 F 阿尔茨海默病病例通常属于早发性阿尔茨海默病。据推测 F 阿尔茨海默病发病可能与位于第 21 号染色体上的淀粉样蛋白前体（APP 基因）、第 14 号染色体上的衰老前素 -1 基因（PSEN-1）或第 1 号染色体上的衰老前素 -2 基因（PSEN-2）发生突变有关。 β -淀粉样蛋白（ $A\beta$ ）是正常的淀粉样蛋白前体酶切产物，表明有其生理功能（仍不清楚）。淀粉样蛋白前体基因突变会增加 β -淀粉样蛋白的表达量或导致 β -淀粉样蛋白₄₂生成量的提高，但由于突变多位于 β -淀粉样蛋白酶切区域附近，得到的产物也多为野生型。然而，有些突变则位于 β -淀粉样蛋白内部。比如 HCHWA-D 突变，这些突变中某些对于淀粉样蛋白前体加工没有影响，却使 β -淀粉样蛋白更易于纤维化。

淀粉样蛋白前体基因突变引起的病因只占 F 阿尔茨海默病病例的小部分。相关研究将大部分阿尔茨海默病病例起因归结到第 14 号染色体，且经原位克隆识别出 PSEN-1 基因的突变，而 PSEN-1 基因能编码广泛存在的膜蛋白。PSEN-1 发生基因突变是 F 阿尔茨海默病最主要的发病原因，PSEN-2 的基因突变也与阿尔茨海默病发病相关。衰老前素基因发生突变能提高 β -淀粉样蛋白₄₂/ β -淀粉样蛋白₄₀的比率，在 PSEN-1 基因突变病例的潜伏期， β -淀粉样蛋白₄₂沉积增多是一个前导事件。对家族性阿尔茨海默病病例的研究是淀粉样蛋白级联假说的基础，该假说认为 β -淀粉样蛋白₄₂的异常增加能触发阿尔茨海默病，伴随着神经缠结形成，神经细胞坏死以及最终的阿尔茨海默病发生。

载脂蛋白 E（ApoE）的 $\epsilon 4$ 等位基因是目前唯一发现的能引起散发性阿尔茨海默病的遗传性风险因子，但其作用机理仍不清楚。载脂蛋白 E 作为胆固醇的载体对膜质的再利用及神经元修复效率较其他载体低，载脂蛋白 E 能够促进 β -淀粉样蛋白沉积形成老年斑。此外，载脂蛋白 $\epsilon 4$ 基因也与其他一些阿尔茨海默病致病因素有关，包括葡萄糖利用率低，线粒体功能异常，以及细胞骨架机能障碍。

与阿尔茨海默病相关的危险因素很多，既有遗传及基因突变的因素，也有同样重要的后天因素。阿尔茨海默病的发病危险因素主要分三类：衰老、基因

和环境因素。其中有确切相关性的危险因素有性别、年龄和家族史；而有些危险因素尚在研究阶段，如受教育程度、头部外伤史、高血压、热量摄取量和高胆固醇血症等。对于遗传因素来讲，淀粉样蛋白前体的基因突变、衰老前素 1 (PS-1)、衰老前素 2 (PS-2) 均已被证实是早发性痴呆的决定因素。

阿尔茨海默病以家族性或散发性两种形式存在。遗传学研究已发现三种基因，即淀粉样蛋白前体、衰老前素-1 和衰老前素-2 突变时能引起家族性阿尔茨海默病。其中任何一种基因的突变均可引起 β -淀粉样蛋白_{42/43} 水平的增高。 β -淀粉样蛋白_{42/43} 是沉积于阿尔茨海默病病人脑内的淀粉样蛋白前体蛋白酶解片断。在淀粉样蛋白前体上携带有致阿尔茨海默病突变基因的转基因小鼠可出现自发的与年龄有关的 β -淀粉样蛋白沉积和记忆损害。遗传线索和联系研究发现载脂蛋白 E $\epsilon 4$ 等位基因与阿尔茨海默病有剂量-依赖关系，能同时增加家族性和散发性阿尔茨海默病的危险性，并占危险性的 50%。载脂蛋白 E 基因型能帮助诊断并确定需要进行治疗干预的人群。载脂蛋白 E $\epsilon 4$ 等位基因与阿尔茨海默病关系的生物学基础仍不明。在某些病例，起病年龄和 β -淀粉样蛋白沉积与 $\epsilon 4$ 等位基因的量呈正相关，这提示阿尔茨海默病的危险性可由 β -淀粉样蛋白直接或间接介导。因为 50% 的阿尔茨海默病病人没有载脂蛋白 E，而且在符合孟德尔遗传规律的阿尔茨海默病家族，没有淀粉样蛋白前体、衰老前素-1 或衰老前素-2 中任何一种突变存在，所以有可能存在其他遗传的或环境危险因素，这还需要进一步证实。

二、阿尔茨海默病主要病理学特征

阿尔茨海默病患者的日常行为主要表现为记忆力衰退，行为异常，认知下降等。衰老是生命体正常的生理变化过程，在正常衰老情况下，神经细胞并不会发生大量死亡，然而在阿尔茨海默病病变过程中，患者大脑内却会发生大量的神经细胞机能衰退以及神经元之间失去联络，甚至神经元的死亡。阿尔茨海默病最先损伤包括海马及相关结构在内的与控制记忆脑区相关的神经元。随着海马区神经元机能发生障碍，患者短时记忆衰退，日常自理能力下降；随之与语言、逻辑能力相关的皮层神经元大量死亡，此时阿尔茨海默病患者逐渐失去判断能力并伴随着人格发生改变；最终损伤波及到其他脑区时，患者卧床不起并对外界刺激反应迟滞。

随着年龄的增长多数正常个体脑内也会出现少量老年斑和神经元纤维缠结 (图 1-2)。衰老是阿尔茨海默病发病的主要风险性因素，阿尔茨海默病发病时的重要病理变化包括： β -淀粉样蛋白沉积发展成为老年斑，Tau 蛋白过磷酸化形成纤维缠结，血管瘤坏死，细胞周期异常，胶质细胞发生炎症反应，神经元氧化应激及线粒体机能障碍等。

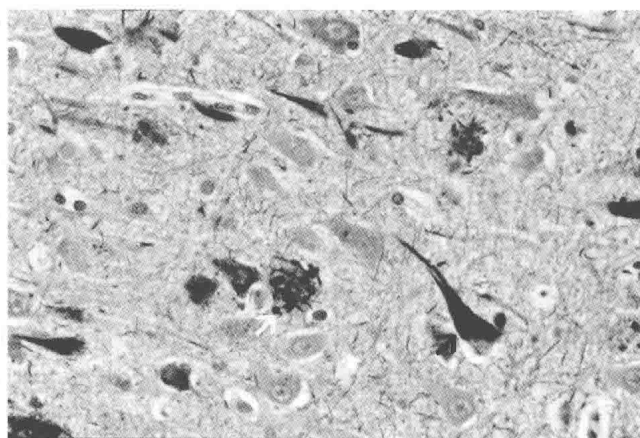


图 1-2 银离子染色显示的阿尔茨海默病主要病理特征
(白箭头指向老年斑, 黑箭头指向神经元纤维缠结)

(一) 老年斑

老年斑的出现是阿尔茨海默病的一个主要病理学特征, 在阿尔茨海默病患者脑中被发现大量的老年斑, 其典型的老年斑直径为 $50 \sim 200 \mu\text{m}$, 在细胞外呈球形结构。老年斑的主要成分是 β -淀粉样蛋白, 在老年斑周围以及内部发现了小胶质细胞, 周围环绕着星形胶质细胞, 最近研究发现, 老年斑成分中除了淀粉样蛋白, 还包括其他很多的分子, 包括免疫蛋白(补体、细胞因子)、生长因子、黏附分子、载脂蛋白 E 和蛋白聚糖等。神经炎斑块可能与局部胶质细胞反应有关, 斑块周围常见激活的小胶质细胞和活化的星形胶质细胞。关于老年斑的形成时间还不太清楚, 可能是个漫长的过程, 需要数月甚至数年时间。首先 β -淀粉样蛋白聚集形成可溶性寡聚体, 然后这些寡聚体与细胞内的其他物质结合形成难溶的纤维, 最终形成阿尔茨海默病里的老年斑。另外有实验发现, 老年斑的形成不仅仅是由于体内失调的 β -淀粉样蛋白, 还与在阿尔茨海默病脑中有较高浓度的金属离子有关, Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 等离子可能与病理性的 β -淀粉样蛋白互相作用也是老年斑形成的一个重要原因。目前对老年斑是阿尔茨海默病的产物还是诱因仍不太明确, 但是, 目前研究者均认为淀粉样蛋白对神经细胞具有很强的毒性。

(二) 神经元纤维缠结

神经元纤维缠结是阿尔茨海默病的另一个病理特征。微管系统是神经细胞骨架的主要成分, 微管由 α 、 β 微管蛋白和微管相关蛋白组成, 微管在维持细胞功能上起了重要作用, Tau 蛋白作为微管相关蛋白对促进微管形成和维持微管稳定性中起了重要作用。在阿尔茨海默病脑中, 神经纤维缠结由直径为 $10 \sim$

15nm 的纤维互相缠绕形成配对的螺旋丝，其主要成分是过度磷酸化的 Tau 蛋白。正常情况下，Tau 蛋白可以结合一定数量的磷酸分子，但是在阿尔茨海默病脑中 Tau 蛋白过度磷酸化。Tau 蛋白的磷酸化产生两方面的影响：一是 Tau 蛋白过度磷酸化导致其无法与微管结合，破坏了微管的稳定性，二是过度磷酸化的 Tau 蛋白聚集形成二聚体，进而形成双螺旋结构，最终形成缠结。由于微管系统被破坏，各种营养运输接近瘫痪，最终导致神经细胞死亡。目前已经发现的多种神经退行性疾病中，如阿尔茨海默病、帕金森病、脑叶硬化症、唐氏综合征等，均出现了与 Tau 蛋白相关的特征性病理改变。

（三）神经元缺失

阿尔茨海默病脑中神经元大量死亡，也是阿尔茨海默病的特征之一。在正常衰老的细胞中，不会出现大量的神经元丢失，阿尔茨海默病病理受累区域的变性改变包括神经元丢失、反应性神经胶质细胞增生、小神经胶质细胞的激活等。不同区域的神经元丢失差别很大，在海马锥体细胞层可达 60%，基底核、额颞叶新皮层某些区域可大于 80%。在阿尔茨海默病病变进程中，从海马区及其相关结构到皮层区最后到全部脑区的大量神经元依次被损伤，相继出现胞间联系丧失，神经元功能丧失，最终神经元大量死亡，在阿尔茨海默病发病晚期能观察到脑组织出现严重的萎缩现象。阿尔茨海默病大脑萎缩，通常质量低于 1kg，且组织缺失的水平与认知下降的程度呈正相关性。脑组织缺失表现为脑回变窄、脑裂增宽，皮质变薄及脑室扩大等。阿尔茨海默病脑萎缩通常是弥漫性的，主要影响额叶、顶叶、颞叶，尤其是内侧颞叶（海马和海马旁回），而枕叶、初级运动和感觉皮质一般不受累及，尤其是颞下角。

（四）神经元间突触连接减弱与细胞凋亡

阿尔茨海默病的第三大病理学特征为神经元间突触连接减弱直至细胞凋亡。典型的突触由轴突末梢的轴突膜即突触前膜、与突触前膜相对的胞体膜或树突膜即突触后膜及前后膜间的间隙三部分组成。突触在神经元间化学神经递质及生理电信号转换中起重要的作用，突触的可塑性影响大脑的学习与记忆功能。较之神经元胞内信号传递，突触信号连接是很脆弱的，主要靠神经递质的浓度、分子间的亲和作用等因素。突触前膜分泌与运输囊泡的异常及突触间隙环境的改变均会导致突触的异常。突触的变性和丢失在阿尔茨海默病发病早期即出现，且在阿尔茨海默病病理改变和认知功能下降中更明显。与正常衰老的大脑相比较，阿尔茨海默病患者中与认知及记忆功能相关的大脑皮层内突触标志性蛋白，包含突触前膜突触素、突触后膜密度蛋白 PSD95 均较低。研究表明，微管蛋白约占突触连接区总蛋白的 7%，约占突触后膜密度蛋白的 14%，微管蛋白在突触区既是结构蛋白又起到调节蛋白的作用，参与突触功能的实现和突触结构可塑性的调节作用。阿尔茨海默病患者突触丧失的机制可能

与大脑神经元细胞外 β -淀粉样蛋白的早期聚积诱发了神经元的损伤和突触的损害有关。作为神经元信号输出端的突触前膜及信号接受端的突触后膜,其表面分布着与神经信号转导相关的膜受体蛋白,可溶性 β -淀粉样蛋白寡聚体与突触前及或突触后膜蛋白的直接或间接相互作用可能触发了神经元的后期级联偶联信号,引起了神经元的氧化应激反应,使Tau蛋白过磷酸化,最终导致神经元的凋亡。

三、与阿尔茨海默病相关的致病学说

阿尔茨海默病的致病因素有很多,目前并非所有的致病因素全被研究者所掌握,研究者仅能解释部分现象,目前学术界主要有以下几种学术假说:①淀粉样蛋白级联假说;②基因假说;③Tau蛋白过磷酸化假说;④自由基代谢异常假说;⑤炎症反应假说。其中研究比较彻底、实验证据比较充分的有淀粉样蛋白级联假说、基因假说、Tau蛋白过磷酸化假说等。

(一) 淀粉样蛋白级联假说

该学说认为,在阿尔茨海默病患者脑内 β -淀粉样蛋白的过量产生以及清除机制的失调是诱发阿尔茨海默病的关键因素之一,该假说提出后被大多数学者所认可。 β -淀粉样蛋白经由淀粉样蛋白前体分解所产生, β -淀粉样蛋白是淀粉样蛋白前体在人体的正常代谢产物之一,所有的神经细胞均可以产生 β -淀粉样蛋白并可以向细胞外释放。由于机体本身存在着有效的 β -淀粉样蛋白清除机制,使得 β -淀粉样蛋白的产生和分解处于平衡状态,而当这种平衡被外界打破时会导致 β -淀粉样蛋白的异常聚集,进而引起神经细胞内连串的复杂反应,如突触变化、Tau蛋白磷酸化、神经递质丢失和炎症反应,导致记忆和认知功能障碍,产生阿尔茨海默病的症状(图1-3)。

淀粉样蛋白级联假说认为脑内 β -淀粉样蛋白产生与清除的失衡是阿尔茨海默病发病的先决条件,引起神经元的退化直至痴呆的发生。支持该假说的证据包括:发生F阿尔茨海默病所涉及的突变在淀粉样蛋白前体和衰老前素中也有发现;淀粉样蛋白前体和衰老前素基因的突变都能促进 β -淀粉样蛋白₄₂的表达量;另外,最近研究表明F阿尔茨海默病患者与唐氏综合症患者同样多一个淀粉样蛋白前体基因的副本,而后者在早年就出现 β -淀粉样蛋白沉积,这就为淀粉样蛋白前体过表达引发 β -淀粉样蛋白沉积提供了证据。可溶性 β -淀粉样蛋白转化为更易于形成不溶性沉积物的 β -折叠结构,在此过程中丝状 β -淀粉样蛋白₄₂异构体会引发其他 β -淀粉样蛋白的错误折叠。最初认为只有老年斑中不溶性的 β -淀粉样蛋白具有神经毒性,有报道证实可溶性的 β -淀粉样蛋白寡聚体也能破坏海马的长时程增强及神经突触的可塑性。

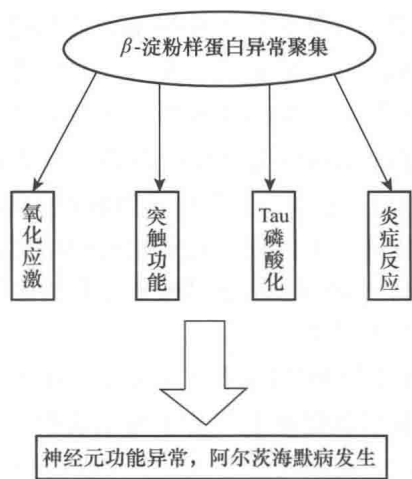


图 1-3 β -淀粉样蛋白诱导阿尔茨海默病病症的级联假说

(二) 基因假说

阿尔茨海默病病变具有家庭聚集性，40% 的 F 阿尔茨海默病患者有阳性家族史，呈常染色体显性遗传及多基因遗传，故有人提出基因假说。二十年的研究发现，与阿尔茨海默病发病相关的基因有 21 号染色体上的 β -淀粉样蛋白的淀粉样蛋白前体基因，14 号染色体上的 PSEN-1 基因，1 号染色体上的 PSEN-2 基因，19 号染色体上的载脂蛋白 E 基因和 12 号染色体上的 A2M 基因。65 岁以前起病的早发类型阿尔茨海默病常有痴呆家族史，病情进展较快。目前大多数学者认为早发型阿尔茨海默病由淀粉样蛋白前体和衰老前素基因突变引起。而晚发型阿尔茨海默病多为非遗传性阿尔茨海默病，目前认为其发病与载脂蛋白 E- ϵ 4 等位基因密切相关。晚发型阿尔茨海默病家族史调查结果表明，具有两个载脂蛋白 E4 基因者发生晚发型阿尔茨海默病的危险性是具有两个载脂蛋白 E3 者的 8 倍，而具有载脂蛋白 E2 等位基因者发生晚发型阿尔茨海默病的危险性更低，因此有学者指出：多达 75% 的晚发型阿尔茨海默病患者在某种程度上与载脂蛋白 E 有关。

目前寻找阿尔茨海默病发生的关键基因的手段主要是根据基因的病理和生物途径，采用基因芯片、全基因扫描等新技术进行探索。

(三) Tau 蛋白过磷酸化假说

Tau 蛋白是微管相关蛋白家族的成员之一，Tau 蛋白基因位于 17 号染色体长臂上，长度超过 100kb，含 16 个外显子。通过转录后 mRNA 不同方式的剪切，翻译后形成 Tau 蛋白，可形成 2N4R、2N3R、1N4R、1N3R、0N4R 和 0N3R 六种不同的异构体，分别包含了 441、412、410、383、381、352 个氨基

酸残基，其中氨基酸残基最少的 Tau 蛋白只在婴儿脑中发现。Tau 蛋白几乎全部分布于轴突中，只有很少一部分位于神经细胞体和树突中。六种异构体的不同之处在于 C 端重复序列（R）的数量以及 N 端的一个或两个插入序列（N），其中重复序列所在氨基酸序列区域与 Tau 蛋白的微管结合功能相关。

大量的研究表明，Tau 蛋白可能没有严格的二级结构，分子中的肽骨架处于随机弯曲状态，只有第二或第三个重复序列存在少量的 β -折叠结构。Tau 蛋白经过煮沸或溶于稀酸并不失去促进微管组装的功能，所有 Tau 蛋白异构体的序列中都包含有异常高比例的亲水氨基酸残基和许多脯氨酸残基，使其更倾向于形成不具有完整的折叠结构。

Tau 蛋白主要分部在中枢和周围神经系统神经细胞的轴突中，Tau 蛋白对于微管聚集的起始和延长以及稳定上起着十分重要的作用。Tau 蛋白是一种与微管组装相关的磷酸蛋白，在正常神经元中，Tau 蛋白通过在微管间形成交叉结构来聚合微管蛋白，参与微管的组装与稳定，将营养从胞体输送到突触末端。Tau 蛋白是一种磷酸化蛋白，正常情况下每摩尔的 Tau 蛋白包含 1~3mol 的磷酸，而在阿尔茨海默病病人脑中，Tau 蛋白磷酸化水平比正常人高了 3~4 倍。神经纤维缠结是由异常的过磷酸化 Tau 蛋白组成。阿尔茨海默病中 Tau 蛋白的过磷酸化使其几乎完全丧失了对微管的亲和力，导致微管解体且危及轴突运输，造成神经元及突触的机能障碍。过磷酸化 Tau 蛋白易发生沉积形成不溶性丝状缠结，进一步损伤神经细胞。Tau 蛋白的活性主要受到其多个磷酸化位点的调控，其磷酸化激酶主要有 GSK-3 β 、PKA、CDK5 和 CD2 等。Tau 蛋白磷酸化位点有 20 多个，其中哪些位点的磷酸化在阿尔茨海默病中起作用，或者哪些位点磷酸化使 Tau 蛋白更加有毒性，至今仍不太清楚，这将是以后研究的热点。

Tau 蛋白过磷酸化与纤维缠结的形成是阿尔茨海默病的起因还是结果尚不清楚。阿尔茨海默病脑组织内 Tau 蛋白病变首先出现在过渡内嗅区，并逐渐扩散到海马和杏仁核，最后是新脑皮层；而 β -淀粉样蛋白沉积则倾向于较早出现于新脑皮层。目前对 β -淀粉样蛋白和 Tau 蛋白磷酸化两者在病理上的先后顺序仍不清楚。有体外实验发现， β -淀粉样蛋白能导致胞内 Tau 蛋白磷酸化；也有研究者却发现，Tau 蛋白磷酸化能影响胞外淀粉样蛋白沉淀。因此 β -淀粉样蛋白和 Tau 蛋白磷酸化在病理过程中谁起了主导作用，至今仍不能确定，但是这从侧面反映了 Tau 蛋白磷酸化在阿尔茨海默病的发病过程中起着重要的作用。

另外，还有一些关于阿尔茨海默病发病机理的假说，包括细胞周期调控蛋白的异常、炎性反应、氧化应激以及神经元能量代谢紊乱导致的线粒体机能障碍。虽然各种假说都足以引发阿尔茨海默病，但均不能完整解释这一神经退行