

以 A β 为靶的老年性痴呆的治疗策略

Research Strategies of A β Amyloid as a Target of Alzheimer Therapy

姚志彬

(中山医科大学脑研究室 广州 510089)

老年性痴呆(Alzheimer disease, AD)是以进行性认知障碍和记忆能力损害为主的中枢神经系统退变性疾病。其主要病理变化包括老年斑(senile plaque, SP)、神经纤维缠结(neurofibrillary tangle, NFT)和选择性神经元及突触的丢失。由于AD病因和病理机制尚不清楚,其治疗亦缺乏理想的方法。传统的治疗方法主要有:脑细胞活化剂、心理治疗、拟胆碱药物治疗等等。前者似乎疗效不大,后者因其对神经有一定的毒性,限制了临床应用。现行的AD治疗研究策略主要包括两个方面:(1)开发新的低毒性的拟胆碱药物;(2)神经营养物质的应用,包括脑室直接灌注神经营养因子和神经营养因子基因修饰细胞的脑内移植(基因治疗)。尽管在这两方面的研究都取得了一些可喜的进展,但估计近期内尚不会有很大的突破,其远期前景也不容乐观。因为这两种治疗策略都在于缓解症状或减慢神经元退变的速度,并不涉及阻止AD的神经病理过程。

随着在AD分子生物学和神经生物学方面的研究进展,近年来对AD发病过程的细胞分子机制的理解取得了长足的进步,其最主要的进展是发现了AD的两大分子标志物: β 淀粉样蛋白(amyloid β -protein, A β)和tau蛋白。它们分别和老年斑及神经纤维缠结相联系,从而揭示了从A β 的前体蛋白的加工—A β 的生成—A β 的沉积到老年斑的形成及其伴随的神经元损害是老年性痴呆病理机制的中心环节。尽管这一过程尚有许多细节没有彻底搞清楚,但现有的研究资料充分地说明,对抗A β 的形成和沉积是治疗AD的一个新的研究方向。

一、减少 A β 前体蛋白的生成

β 淀粉样蛋白的分子量约4.2KD,由39~43个氨基酸组成。它是由一个更大的淀粉样前体蛋白(Amyloid precursor protein, App)裂解而来。App的表达比较复杂,其RNA通过不同的剪辑产生多种编码App的mRNA,进而产生多种App异构体。体内各种细胞均可产生App,在脑中以App695和

App751 mRNA水平较高。App mRNA经翻译生成A β 。理论上减少A β 的前体库内的App的含量必将导致A β 的生成减少,关键是如何减少App。目前能够做到的减少App的策略是用抗体封闭和反义技术。体外培养实验显示,运用抗App的多克隆抗体可以消除App的功能。反义技术是运用反义DNA或RNA来抑制与其互补的特异基因或mRNA,从而阻断某种蛋白的合成。如运用针对App序列的反义结构(antisense),包括反义mRNA和反义DNA也能够减少App的含量。例如制备App的反义RNA投递到脑内,或者构建表达反义结构的基因并将其导入靶细胞,然后移植到脑内,从而在转录或翻译的水平减少App的合成,这一策略应属于基因治疗的范畴。由于APP可能具有某种正常的生理功能,一概的阻断可能会有某些副作用,因此,反义技术的策略应主要应用于家族性AD,这类病人的APP基因突变与A β 增多相关。

二、干预 App 的加工,减少 A β 的生成

App通过多种蛋白水解机制进行加工,其淀粉肽序列中有 α 、 β 、 γ 3个酶切位点,其中 α 分泌酶酶切位点位于 β 淀粉样蛋白第16位赖氨酸和17位的亮氨酸之间。该位点的肽键发生水解可阻止任何A β 肽的形成。 β 和 γ 酶切位点分别位于App的氨基端的Met671~Asp672之间和A β 羧基端的第39~43区段某一肽键上。 β 和 γ 分泌酶催化发生的水解反应均可产生 β 淀粉样蛋白,因此通过调节脑组织 α 、 β 、 γ 分泌酶的活性,调节App的水解加工,减少A β 的生成,是治疗AD的一个理想途径。如选择性地升高 α 分泌酶的活性,抑制 β 和 γ 分泌酶的活性都将阻止A β 的生成。问题是目前尚未找到选择性激活 α 分泌酶或抑制 β 分泌酶的制剂。此外,上述酶切反应多数发生在细胞表面及其附近,细胞表面的App也可转化到细胞内产生可溶性A β ,然后再释放到细胞外环境。细胞内App的降解多数在内吞小体—溶酶体系统(endosomal-lysosomal system)内进

行。有证据显示,溶酶体抑制剂——氯奎和 NHCl , 可以抑制 $\text{A}\beta$ 的生成。

三、抑制 $\text{A}\beta$ 的集聚

β 淀粉样蛋白是老年斑的主要成份。研究显示,在生理情况下 $\text{A}\beta$ 是可溶性的,它可能具有某种生理功能。 $\text{A}\beta$ 的神经营养作用已被体外实验所证实。但是,一旦可溶性 β 淀粉样蛋白变为不可溶性并在神经组织里淀积下来,它似乎就具有了神经毒性作用。从可溶的 β 淀粉样蛋白到不可溶性的 β 淀粉样蛋白的沉积再到老年斑形成,是典型的 AD 病变过程。这一过程的细节虽不清楚,但大致可分为核化(nucleation)阶段(或称“种子”形成)和扩布聚集阶段。核化是一个缓慢的过程,在生理条件下可能需要几十年甚至 100 年,核化机制可能涉及淀粉肽的结构变化,即从 α 螺旋变为 β 折叠。促进和加速“核化”过程的因素有: $\text{A}\beta$ 的含量增多; $\text{A}\beta$ 初始序列的改变;与其它刺激 β 淀粉样蛋白集聚成份的相互作用。 β 淀粉蛋白核心形成后即是快速的扩布聚集阶段,即更多的 $\text{A}\beta$ 聚集为淀粉样纤维,它与其它成份如补体、丝氨酸蛋白酶抑制剂 $\alpha 1$ -抗糜蛋白酶($\alpha 1$ -antichymotrypsin, ACT)、载脂蛋白 E (ApoE) 和硫化蛋白多糖(SPG)等大分子物质相互作用,装配为病理斑块。比如,体外研究证实,硫化的氨基多糖能诱导 $\text{A}\beta$ 的聚集,增加 $\text{A}\beta$ 的 β 折叠,并通过侧链的相互作用,使蛋白与蛋白质之间或者蛋白与糖类之间的结合趋于稳定。

最新的研究证明,自由基和过氧化损害参与了上述 $\text{A}\beta$ 的核化和聚集过程。其一, $\text{A}\beta$ 本身可以自我形成肽自由基,诱导活性氧产生,形成不溶性沉积。第二,进行性糖基化终产物(advanced glycosylation end products, AGE)已经在老年斑和神经纤维缠结中被发现,它们可使蛋白发生交联,增加对蛋白酶的抗性,降低其可溶性。因此,抗氧化和抗自由基损害作为治疗 AD 的一个主要策略受到了极大的重视。通过抗氧化、抗自由基和抗糖基化可以减少 $\text{A}\beta$ 的聚集,阻止 $\text{A}\beta$ 与其它糖蛋白的结合与交联。最近的研究显示,运用大剂量的 VitE 可以明显改善 AD 患者的临床症状,表明抗氧化的确可以作为治疗 AD 的一条途径。

四、拮抗 $\text{A}\beta$ 参与的炎症反应

对老年斑的免疫组织化学分析证明,除 $\text{A}\beta$ 以外,补体(C1q, C3d 和 C4d)和激活的小胶质细胞也是老年斑的较恒定成份。这说明,老年斑形成过程有炎症反应参与。 $\text{A}\beta$ 本身可以激活补体通路,或者为补体激活提供激活框架以形成膜攻击复合物。此

外, $\text{A}\beta$ 也通过激活小胶质细胞和星形胶质细胞发挥作用。它们分泌多种免疫因子,如 IL1 、 IL6 、 $\text{TNF}-\alpha$ 等,这些免疫因子参与了老年斑的形成。进一步的研究发现,弥散的或不成熟的老年斑含有较多的小胶质细胞,而所谓成熟的老年斑(Mature plaque)则含较少的小胶质细胞。这表明,老年斑相关的炎症反应并不是斑块形成的后期事件,很可能是在斑块形成的早期和中期阶段发挥了作用。然而,AD 患者脑内 T 细胞亚系和老年斑中免疫球蛋白的缺乏,表明与淀粉样斑的形成有关的炎症反应,可能与免疫复合物介导的补体激活和/或细胞免疫介导的反应无关。最近,回顾性临床研究证明,长期应用皮质激素或非类固醇抗炎药物,可以推迟或防止 AD 症状的发生;脑外伤或感染作为 AD 发病的危险因素之一已受到重视。这些临床资料,从另一方面佐证了 AD 病变涉及到炎症反应过程。因此,进一步研究长期的抗炎治疗以拮抗 $\text{A}\beta$ 参与的炎症反应及其与 AD 患者认知反应改善的关系,包括在各种动物模型上试验其对淀粉样斑块形成的影响,是 AD 治疗研究的又一策略。

五、清除淀粉

淀粉在脑细胞内沉积是 AD 的病理特征之一,它可以呈斑块状或弥散状(弥散斑)沉积在细胞间隙,也可以沉积在血管壁和室管膜下。研究显示,淀粉在生理上和代谢上均不是最终产物。当淀粉沉积的条件被移除时,沉积的淀粉也可被吸收或降解。理论上如果清除和替代与淀粉相互作用的某些成份,将使残余者更容易降解。因此,设法清除淀粉是 AD 治疗的另一途径。遗憾的是,目前我们尽管知道淀粉可以被清除,但对其清除的途径和机制还了解甚少。通过研究揭示淀粉的清除机制是实现这一治疗策略的第一步。

六、以 $\text{A}\beta$ 为靶的中医药治疗 AD 的策略

在西医治疗 AD 收效不大的情况下,中医药如何在 AD 治疗中发挥作用,一直为许多研究者所关注,然而,其研究进展却不大,尤其在基础研究方面。现在提出的以 $\text{A}\beta$ 为靶的中医药治疗 AD 的策略,即是可以考虑选择一些临床认为有效的方药或中药单体,观察其对 $\text{A}\beta$ 生成和沉积过程的作用;也可发挥中药复方的优势,选择作用于上述 $\text{A}\beta$ 产生— $\text{A}\beta$ 沉积过程的不同环节的药物,组成新的治疗 AD 的配方。比如补肾药中可能含蛋白酶调节成份,化痰和去痰药中可能有清除淀粉的成份,抗氧化和抗炎的中药更是很多。按照中药“君、臣、佐、使”的

(下转第 21 页)

在各工业国中,由于对废砂排放的限制和排放费用不断提高,投资增添废砂再生设备在经济上比排放废砂更为合适。这促使铸造行业十分重视废砂的再生处理,不断改善再生技术和设备。同时对废砂的利用也在研究中,例如,已有的研究表明,有可能将铸造废砂用于铺路的沥青混合料中。

试想,如果允许铸造厂随意就地排放废砂,废砂的再生技术和设备能迅速发展吗?废砂的利用能受到重视吗?尽管笔者是铸造行业中的一员,但为使铸造行业有美好的将来,笔者仍要呼吁政府制订有关法规,限制铸造废砂的无序弃置。

2. 废渣

铸造行业需排放的废渣包括金属熔炼过程中产生的炉渣和用过的耐火材料,除熔炼铜合金的炉渣中可能含有铅、砷之类的有害元素外,所有的废渣都是无害的。用无害的废渣制造水泥已有多年的经验,是完全可行的。同时,废渣也是良好的铺路材料。

我国铸造行业每年排放的废渣约 350 万吨,由于铸造生产厂点众多,而且非常分散,不仅难以合理利用废渣,还使工厂周围的环境日益恶化。这种情况亟待统一的规划和管理。

此外,目前我国铸造行业排放的废渣中一般都夹有相当多的金属,应在管理排放的同时强调金属的回收。钢、铁铸造厂的废渣中夹带的钢铁,较易于分离和检出。铝合金炉渣中通常都含有相当多的铝。因为夹带的铝很细小,难以分离,故宜在集中管理的条件下,用“再炼”法加以回收。铜合金炉渣尤应经特殊的工艺处理,以回收金属,并防止排放含铅的废渣。

力促废旧汽车铸件的翻新使用

将废旧机器的铸件加以破碎后回炉重熔,是铸造行业的传统做法。但是,废旧机器的铸件是否都应该回炉重熔?尤其是回收量很大的废旧汽车铸件,是否应重熔则值得认真研究。

位于德国曼海姆的戴姆勒—奔驰工厂,每年为大轿车和商用车生产 20 万台柴油发动机。由他们的经验得知,废旧汽车的发动机 99% 可以翻新再

用,主要零件,如缸体和曲轴都可再用。目前该厂每年翻新发动机 8 500 台,翻新发动机的售价比新机低 30%,而对其品质的保证则与新机相同。目前该厂出厂的翻新机虽不算多,但做到了物尽其用,对可持续发展而言则是一个值得重视的好信息。

德国于 1996 年 10 月通过了“物资回收利用和废弃物管理条例”,提出:制造厂有责任、也有必要在其产品使用期届满后将其回收。戴姆勒—奔驰工厂的举措意义重大。将来,无论从法规方面或经济方面看,都应增加翻新机的产量。10 年之内,充分利用废旧汽车铸件可能成为世界上普遍采用的做法。

对于这一事例,铸造行业的同仁可能有多种不同的感受,铸件的需求量将有所减少,实是令人不快的;但使铸件“物尽其用”,却是令人欣慰的。总之,从节省能源、保护环境、充分利用资源等方面看,笔者和许多同仁都希望能在在这方面做得更好些,进展更快些。

铸造厂应实行规模经济生产, 保持环境优美

在不久的将来,ISO 14000 环境保护体系的认证,会和现在 ISO 9000 品质保证体系的认证同样重要。有些情况下,订货方在签署订货合同之前,要对供货方进行环境条件考察。说“不久的将来”,实际上决不会太久。目前,东南亚和南亚国家中,都已有少数铸造厂进行了 ISO 14000 环保体系的认证。实施环保体系国际标准将会给企业带来巨大的效益。

应该说明,要达到 ISO 14000 系列的要求,铸造厂在环境保护方面的投入要比其他制造行业大得多。铸造行业中,按单位生产总值的环保投入相比,小型铸造厂又比大型铸造厂高得多。

德国 1993 年的统计表明:从业人员 20~49 人的铸造厂,单位生产总值的环保投入约为 500 人以上的大型铸造厂的 5 倍。从这一点看来,铸造行业中实行规模经济生产是大势所趋,势在必行。

综上所述,我国铸造行业必须在前述多方面实行重大改革,实施可持续发展战略,真是任重而道远!

(责任编辑 刘先曙)

(上接第 35 页)

配伍原则,将这些在不同环节发挥作用的味药配成方剂,有可能开拓出中医药治疗 AD 的新路径。

总之,AD 的治疗是一个困难而又富于挑战性的课题。现有的研究策略需要继续,但开辟新的研究思路已势在必行。充分利用关于 AD 研究的最新成果,抓住 A β 生成、沉积和老年斑形成等 AD 发病的中心环节,调整和重新设计对 AD 治疗的研究策

略,预计将极大地推动 AD 治疗的研究进展。然而,如何灵活运用这些策略,并在某一环节首先取得突破,则有待于对 AD 治疗研究的深入,也有赖于对 AD 病理机制的进一步理解。

(删去全部参考文献,外文 12 篇,中文 2 篇)

(责任编辑 肖庆山)