

# 基于小胶质细胞功能障碍的阿尔茨海默病药物研发

肖梦洁<sup>1,2</sup>, 孙平<sup>1</sup>, 胡文辉<sup>1,2\*</sup>

(1. 广州医科大学药学院, 广东 广州 511436; 2. 中国科学院广州生物医药与健康研究院, 广东 广州 510530)

**摘要:** 阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 俗称老年痴呆, 是严重威胁全球中老年人健康的神经退行性疾病。由于发病机制尚不明确, 发病进程不可逆转, 造成了 AD 难防难治。AD 的主要症状是记忆、认知力的降低, 源于神经元受损, 但是基于神经元的 AD 新药研发近年来频遭失败, 急需探索新的治疗路径。小胶质细胞作为中枢神经系统的最重要的免疫细胞, 对神经元和大脑的功能维护起着重要的作用, 小胶质细胞的过度活化导致的神经炎症反应也是 AD 的重要病理特征, 参与到 AD 发病的各个环节, 因此抑制小胶质细胞的过度活化, 抑制神经炎症有望阻止 AD 的恶化进程。本文主要通过小胶质细胞与神经元之间的相互关联来论述靶向神经胶质细胞治疗 AD 的可能性, 并分析了小分子药物的研究现状和神经炎症抑制剂用于 AD 治疗的重要意义。

**关键词:** 神经元; 小胶质细胞; 神经退行性疾病; 阿尔茨海默病; 神经炎症

中图分类号: R967

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2017) 11-1660-07

## Drug discovery for Alzheimer's disease based on the functional disturbance of microglia

XIAO Meng-jie<sup>1,2</sup>, SUN Ping<sup>1</sup>, HU Wen-hui<sup>1,2\*</sup>

(1. School of Pharmaceutical Sciences, Guangzhou Medical University, Guangzhou 511436, China;

2. Guangzhou Institutes of Biomedicine and Health, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510530, China )

**Abstract:** Alzheimer's disease (AD) is the most prevalent neurodegenerative disease of the brain. Due to the uncertain pathogenesis, prevention and treatment of AD is difficult. Clinic symptoms of AD including progressive loss of memory and spatial orientation are rooted in synaptic and neuronal loss. Unsuccessful clinical trials of several candidate drugs based on amyloid hypothesis and tau hypothesis have led to exploration of new approaches. Neuro-inflammation characterized by dysfunction in microglia is believed to be the hallmark of AD and also the initiator of downstream responses in neurodegeneration. Alleviate microglia activation and neuro-inflammation may delay AD development. In this paper, we describe the current literature on interaction between microglia and neuron, and review the progress in AD drug discovery and neuro-inflammatory inhibitors for treatment of AD.

**Key words:** neurons; neuroglia; neurodegenerative disease; Alzheimer's disease; neurogenic inflammation

阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD), 俗称

老年痴呆, 是最常见的一种中枢神经退行性疾病。截止到 2015 年, 全球的老年痴呆患者已有 4 680 万, 并且在 2050 年将会达到 1.315 亿<sup>[1,2]</sup>, 造成严重的社会负担和经济负担。随着老龄化的进一步加剧, 痴呆患者数量将进一步上升<sup>[3]</sup>, 但迄今为止, AD 的诊断和治疗仍没有获得突破性进展, 现有的药物仅能改善患者症状, AD 仍是不治之症。

收稿日期: 2017-07-25; 修回日期: 2017-08-30.

基金项目: 广东省自然科学基金资助项目 (10251066302000000); 广东省重大科技专项资助项目 (2012A080201013); 广州医科大学高水平大学建设项目.

\*通讯作者 Tel: 86-20-37103271, E-mail: huwenhui@gzhu.edu.cn

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2017-0729

AD 发病机制非常复杂, 目前尚不清楚确切的发病机制, 可以确知的是脑内神经元的大量死亡与神经突触的丢失。因此, 通过保护神经元来治疗 AD 是最直接的手段。目前的策略主要是通过直接作用于神经元<sup>[4]</sup>, 和作用于脑内其他细胞来调控神经元的微环境<sup>[5,6]</sup>。

传统 AD 药物是直接作用于神经元本身, 比如已上市的几种 AD 药物 (多奈哌齐、美金刚和加兰他敏等) 均通过调控神经元突触功能起作用, 但仅能改善症状并不能改变 AD 发病进程。我国对 AD 药物研究起步较早, 在上世纪 80 年代浙江省医学科学院和中国科学院上海药物研究所的研究人员就从蛇足草中提取乙酰胆碱酯酶抑制剂石杉碱甲用于治疗痴呆<sup>[7]</sup>; 上海药物研究所的耿美玉研究团队<sup>[8]</sup>研制了国际上第一个靶向  $\beta$ -淀粉样蛋白 ( $\beta$ -amyloid, A $\beta$ ) 的寡糖类药物 971, 并于 2009 年实现了成果转让, 该药于 2013 年 7 月完成了 255 例轻中度 AD 患者 II 期临床研究, 目前正处于 III 期临床研究。当前, 第一大假说 A $\beta$  (主要由神经元分泌) 和第二大假说的 tau 蛋白 (聚集在神经元胞内) 都基于对神经元的直接保护, 也均遭遇重大危机。2016 年礼来旗下的 A $\beta$  单抗 solanezumab<sup>[9]</sup> 及 TauRx 治疗公司的聚集抑制剂 LMTX<sup>[10]</sup> 均在 III 期临床中失败。2017 年, 又有 3 家公司宣布其 AD 候选药未能通过 III 期临床试验, 分别为默沙东的  $\beta$  分泌酶 (beta-site amyloid precursor protein cleaving enzyme, BACE) 抑制剂 verubecestat (MK-8931)、Accera 公司的神经元新陈代谢改善药物 AC-1204 及灵北制药的选择性五羟色胺受体拮抗剂 idalopirdine (Lu-AE58054)。这一系列失败给基于神经元的新药研发前景蒙上了巨大的阴影, 当前急需探索更多的治疗路径来研制抗 AD 药物。

基于神经胶质细胞调控脑内微环境从而保护神经元<sup>[5,6]</sup>的 AD 新药研发策略正在兴起, 中枢神经系统的微环境主要由神经元与胶质细胞 (包括小胶质细胞、星形胶质细胞和少突胶质细胞) 组成。基于神经胶质细胞的新药研发目前主要通过抑制神经炎症修复小胶质细胞功能来实现, 小胶质细胞作为中枢神经系统最为重要的免疫效应细胞, 对维持脑的健康发挥着重大作用, 对神经元起着支持、营养和保护的作用。因此, 基于其生理病理功能寻找新靶点和新药已经成为 AD 药物研发的一条新思路。本综述主要通过小胶质细胞与神经元之间的相互作用来论述靶向小胶质细胞治疗 AD 的可能性, 并分析相关小分子药物的研究现状来探讨神经炎症抑制剂用于 AD 治

疗的重要意义。

## 1 小胶质细胞与神经元的相互作用

小胶质细胞是中枢神经系统内的吞噬细胞, 在正常生理状态下, 小胶质细胞处于静止状态, 通过细胞突起的拓展和收缩监控其所在脑区的微环境, 监视脑内是否存在病理性物质或细胞碎片<sup>[11]</sup>; 同时小胶质细胞在神经环路的可塑性调控方面起着重要的作用, 包括参与神经元树突棘的生理性修饰, 释放神经营养因子 (脑源性神经营养因子、胶质细胞源性神经营养因子和神经生长因子等) 及抗氧化物质等保护神经<sup>[12]</sup>。

当被病理性物质 (如死亡的神经元、毒性蛋白、外源性异物和病原体等) 激活后, 小胶质细胞突起迅速伸展到损伤部位, 同时启动天然免疫反应<sup>[13]</sup>。小胶质细胞识别病理性物质主要通过受体识别损伤信号相关分子模式 (damage-associated molecular patterns, DAMPs) 或病原信号相关分子模式 (pathogen-associated molecular patterns, PAMPs)<sup>[13]</sup>。常见的模式识别受体包括 Toll 样受体 (Toll-like receptors, TLR)、NLR 样受体 (NOD-like receptors, NLR)、甘露糖受体 (mannose receptor, MR)、清道夫受体 (scavenger receptor, SR) 和晚期糖基化终产物受体 (receptor for advanced glycation end products, RAGE) 等<sup>[13-17]</sup>。通过模式识别受体检测到损伤信号后, 小胶质细胞启动胞内相关通路, 释放促炎因子 (TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 和 IFN $\gamma$  等), 通过吞噬清除毒性物质后炎症随之消散<sup>[18]</sup>。但如果小胶质细胞持续激活, 大量促炎因子或其他神经毒性物质 (一氧化氮、过氧化物和兴奋性氨基酸等) 的释放将直接影响小胶质细胞对毒性物质的吞噬能力, 同时这些毒性物质会对神经元造成不同程度的损伤, 产生神经毒性<sup>[18]</sup>。

反过来, 受损的神经元可通过分泌细胞因子、核苷酸及趋化因子等信号分子招募小胶质细胞并调控其活性, 这些信号分子可分为 “find me”、“eat me” 及 “help me” 等信号<sup>[19]</sup>。其中 “help me” 信号可刺激小胶质细胞保护神经元, 而 “find me” 信号招募小胶质细胞抵达受损的神经元处, “eat me” 信号则协助小胶质细胞清除凋亡的神经<sup>[19]</sup>。如神经元可通过 CX3CL1/CX3CR1 和 CD200/CD200R 调节小胶质细胞的不同激活表型, 神经元和小胶质细胞之间的这种双向交流对维持脑健康起着至关重要的作用。来自神经元的趋化因子 CX3CL1 与小胶质细胞上的 CX3CR1 结合后, 抑制 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  和 IL-6 等炎症因子的产生和释放<sup>[20]</sup>。另外, 神经元还可以表达

CD200 作用于小胶质细胞上的 CD200R, CD200 和 CD200R 结合后,受体上的酪氨酸残基磷酸化,下调酪氨酸激酶活性,最终抑制 p38 有丝分裂原激活蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, p38-MAPK)、c-Jun 氨基末端激酶 (Jun N-terminal kinases, JNK) 等炎症信号通路及 IL-1 $\beta$ 、IL-6 和 TNF- $\alpha$  等炎症因子<sup>[21]</sup>。但是,这种双向交流也易于形成恶性循环,受损的神经元本身分泌的细胞信号分子活化小胶质细胞,其持续释放的神经毒性物质将进一步损伤神经元。

## 2 小胶质细胞在阿尔茨海默病中的重要作用

小胶质细胞的异常活化是 AD 的重要生理特征之一。在 AD 患者脑内, A $\beta$  斑块附近存在大量的激活态小胶质细胞,检测发现炎症因子含量明显升高<sup>[22]</sup>。体内外实验表明,聚集的 A $\beta$  与过度磷酸化的 tau 蛋白均能直接造成小胶质细胞过度活化,从而分泌大量炎症因子,继而激活静息态的胶质细胞,进一步放大炎症反应<sup>[18]</sup>。近几年,全基因组关联研究新发现了多种 AD 相关危险基因,如 2013 年发现的 CD33、CR1、TREM2、CD2AP 及 HLA-DRB5/HLA-DRB1 等<sup>[23-25]</sup>,这些新发现的基因大多与小胶质细胞有关,这表明以小胶质细胞为基础的神经炎症反应不仅仅是 AD 发病的次级产物,更参与到 AD 发病的各个阶段。TREM2 是表达于小胶质细胞表面的免疫受体,其表达可增强小胶质细胞对 A $\beta$  的清除能力<sup>[26]</sup>。因此,减弱小胶质细胞过度活化、抑制神经炎症越来越受到人们的关注。

## 3 基于小胶质细胞的药物开发

小胶质细胞介导的神经炎症理论为 AD 新药开发提供了靶点和思路。药物作用靶点包括在信号转导过程中扮演重要角色的表面受体,如 TLRs、RAGE 和过氧化物酶体增殖物活化受体  $\gamma$  (peroxisome proliferator activated receptor  $\gamma$ , PPAR  $\gamma$ ) 等,及受体接收信号后活化的下游激酶,如受体相互作用蛋白 1 (receptor-interacting protein, RIP1) 和 MAPK 等。

**3.1 Toll 样受体** TLRs 是最常见的模式识别受体之一,表达于多数免疫细胞,介导天然免疫反应,到目前为止,小鼠中已发现 12 种 TLR,而在人类中也已发现 10 种,其中 TLR1-TLR10 在两个种属中均相当保守<sup>[27]</sup>。在小胶质细胞中,TLRs 识别侵入性病原体,启动非特异性免疫。TLRs 激活后聚集髓样分化因子 88 (myeloid differentiation primary response gene 88, MyD88),最终激活核转录因子- $\kappa$ B (nuclear transcription factor  $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B) 信号通路,释放炎症因子<sup>[28-30]</sup>。TLR2 和 TLR4 基因多态性均发现与迟发型 AD 相关<sup>[27]</sup>,在 AD 转基因小鼠模型中,A $\beta$  斑块中

TLR2、TLR4、TLR5、TLR7 和 TLR9 的转录水平明显上调<sup>[31]</sup>。针对不同亚型 TLR 的小分子抑制剂结构不同,如基于吗啡酮结构改造的 TLR4 抑制剂环丙甲羟二羟吗啡酮 (图 1, 化合物 1) 的抑制活性是吗啡酮活性的近 100 倍,同时抑制脂多糖 (LPS) 诱导 BV-2 小胶质细胞一氧化氮的产生,在体内也有一定的疗效<sup>[32]</sup>。Fung 等<sup>[33]</sup>通过基于 TLR5 结构的高通量筛选获得的天然产物 girollion (图 1, 化合物 2),能同时抑制 MyD88 依赖和非依赖的 TLR 信号通路,阻断炎症因子 IL-6 和 IL-8 的生成。

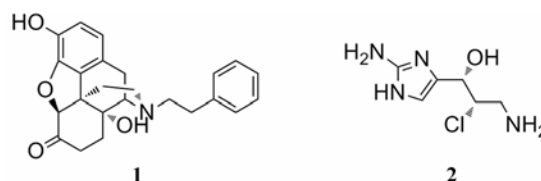


Figure 1 Toll-like receptor inhibitors

**3.2 RAGE** RAGE 表达于小胶质细胞和星形胶质细胞等多种神经胶质细胞,与 A $\beta$  结合后激活胶质细胞,引起炎症级联反应<sup>[34]</sup>。神经元上的 RAGE 与 A $\beta$  结合后,刺激 NF- $\kappa$ B 信号通路诱导释放巨噬细胞集落刺激因子 (macrophage colony stimulating factor, M-CSF)<sup>[34]</sup>。M-CSF 与小胶质细胞上 M-CSF 受体结合后,引起免疫应答,促进 SR 和载脂蛋白 E (apolipoprotein, ApoE) 的表达,导致炎症因子 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  和 IL-6 上调<sup>[35]</sup>。抑制小胶质细胞 RAGE 表达及活化能够抑制 A $\beta$  介导的小胶质细胞炎症反应和脑部 A $\beta$  的沉积,此外还可增强乙酰胆碱酯酶活性,从而改善认知功能的退化<sup>[36]</sup>。FPS-ZM1 (图 2, 化合物 3) 是 Deane 等<sup>[37]</sup>研究得到的 RAGE 抑制剂,与 RAGE V 区域结合的 K<sub>i</sub> 值为 25 nmol·L<sup>-1</sup>,还可抑制转基因小鼠脑内可溶性 A $\beta$  的聚集,同时抑制 A $\beta$  与 RAGE 的结合从而抑制炎症因子的表达,目前处于临床研究阶段。Han 等<sup>[38]</sup>基于 RAGE 的空间结构设计,修饰天然单体 argpyrimidine 结构得到的氨基吡啶类 RAGE 抑制剂 (图 2, 化合物 4),在转基因小鼠模型的表型筛选中表现出抑制脑部可溶性 A $\beta$  的聚集功能,也能有效抑制 A $\beta$  与 RAGE 的结合。噻唑化合物通过抑制 A $\beta$  与 RAGE 的结合来抑制炎症因子表达<sup>[39]</sup>,该类化合物是由 Lee 等<sup>[40]</sup>通过两种已知的拮抗剂结构设计得到的。其中三取代的噻唑化合物 (图 2, 化合物 5) 抑制 A $\beta$  与 RAGE 结合的半数抑制浓度 (IC<sub>50</sub>) 值为 0.91  $\mu$ mol·L<sup>-1</sup>,剂量在 10  $\mu$ mol·L<sup>-1</sup> 时抑制率达到 64.2%。

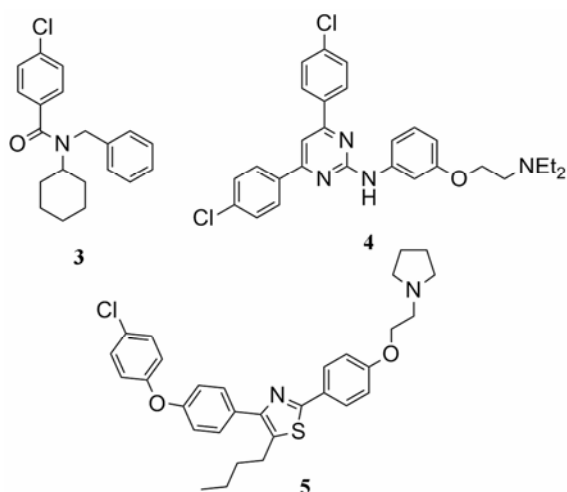


Figure 2 RAGE antagonists

**3.3 PPAR $\gamma$  信号通路** PPAR $\gamma$  将炎症与新陈代谢联系起来, 参与炎症反应和体内稳态控制, 在小胶质细胞内促进 PPAR $\gamma$  的激活能够降低促炎因子的表达, 发挥抗炎作用<sup>[39]</sup>。PPAR $\gamma$  激动剂包括噁唑烷二酮类化合物和部分非甾体抗炎药。近年来研究表明, 噁唑烷二酮类化合物能够通过抑制小胶质细胞活化起到保护神经元的功能, 干预中枢神经退行性疾病<sup>[41]</sup>。治疗 2 型糖尿病的药物曲格列酮 (troglitazone, 图 3, 化合物 6)、吡格列酮 (pioglitazone, 图 3, 化合物 7) 和罗格列酮 (rosiglitazone, 图 3, 化合物 8) 都是 PPAR $\gamma$  抑制剂。吡格列酮和罗格列酮都能抑制 A $\beta$  诱导的小胶质细胞激活<sup>[42]</sup>, 显著减少 AD 模型动物脑部淀粉样蛋白。曲格列酮可通过上调 PPAR $\gamma$  活性抑制 LPS 诱导的 BV2 细胞在炎症状态下的诱导性一氧化氮合酶 (inducible nitric oxide synthase, iNOS) 表达, 罗格列酮也在 2005 年被报道能够改善轻度认知障碍和早期 AD 症状<sup>[41]</sup>。

**3.4 p38-MAPK** MAPK 是一种蛋白激酶, 在多种不

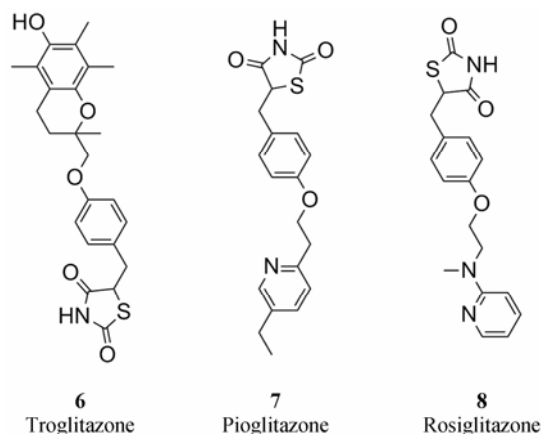


Figure 3 PPAR $\gamma$  inhibitors

同的细胞信号转导途径中充当共同的信号转导成分, 可调节基因表达、细胞增殖、分化、有丝分裂和凋亡等过程。p38-MAPK 是 MAPK 家族中的一员, 存在 4 种亚型 ( $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$  和  $\delta$ )<sup>[43]</sup>。炎症刺激可激活 p38-MAPK, 影响生物体内致炎与抗炎因素的平衡。p38-MAPK 可在转录水平上调节 iNOS 和环氧化酶-2 (cyclooxygenase, COX-2) 的表达<sup>[43]</sup>, 上调 TNF- $\alpha$  和 IL-1 $\beta$  等促炎因子的表达, 在炎症反应中起重要作用。尸检发现 AD 患者脑内 p38-MAPK 活性明显增加, 其上游通路中 MKK6 含量同样增加, 这些均发生在 AD 的早期<sup>[44, 45]</sup>。p38-MAPK 可逆抑制剂 PD169316<sup>[46]</sup> (图 4, 化合物 9) 的 IC<sub>50</sub> 值为 89 nmol·L<sup>-1</sup>, 通过抑制 p38-MAPK 信号通路可以抑制注射 A $\beta$  的大鼠的海马体神经元凋亡。小分子化合物 MW01-269A-SRM<sup>[47]</sup> (图 4, 化合物 10) 在体外实验中表现出选择性抑制 p38 $\alpha$ -MAPK 活性的能力, 在 AD 模型小鼠中能够减少海马体中 IL-1 $\beta$ 、TNF $\alpha$  和 S100 $\beta$  蛋白含量, 并对小鼠的行为缺陷有所改善, 为后续 p38 抑制剂用于治疗 AD 的研究打下基础。p38-MAPK 抑制剂 VR-745<sup>[48]</sup> (图 4, 化合物 11) 同样表现出很好的抑制活性和临床疗效, 用于治疗 AD 的治疗已进入临床 II 期。

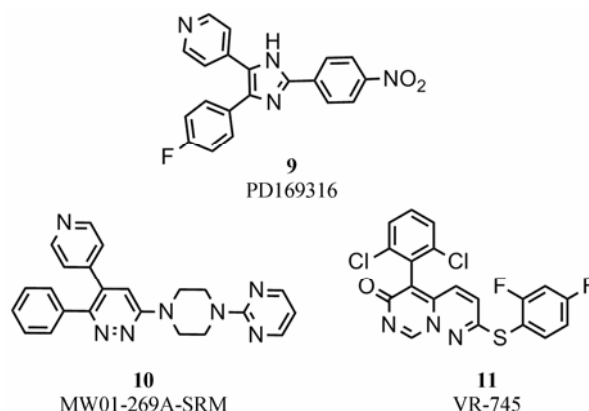


Figure 4 p38-MAPK inhibitors

**3.5 RIP1 抑制剂** RIP1 是调控细胞坏死和凋亡的重要上游激酶, 同时也参与多种炎症信号通路, 能够接受 TNF 和 TLR 家族配体刺激引发炎症反应<sup>[49-53]</sup>。通过 TNF 受体 1, RIP1 驱动多条炎症信号通路 [Fas 配体、TNF 相关凋亡诱导配体 (TNF-related apoptosis-inducing ligand, TRAIL)、TLR3 及 TLR4]<sup>[52]</sup>。抑制 RIP1 的活性可以作为多种炎症疾病的治疗手段。哈佛大学医学院袁钧瑛博士<sup>[54]</sup>设计了第一个 RIP1 激酶小分子抑制剂 Nec-1 (图 5, 化合物 12), 研究表明 Nec-1 能够有效减轻 APP/PS1 小鼠的认知损伤, 同时降低脑内

$A\beta$  及 tau 异常。目前 Nec-1 的临床 I 期研究在欧洲启动, 希望完成安全性研究后将这一药物应用在肌萎缩性脊髓侧索硬化症及 AD 的治疗中。Harris 等<sup>[55]</sup>优化得到的 RIP1 小分子抑制剂 ( $IC_{50}=10\text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ , 图 5, 化合物 13) 结合 RIP1 磷酸化位点起到抑制其活性的作用, 由于结构上的延展性, 该化合物可以成为较好的先导物。手性小分子 GSK963<sup>[56]</sup> (图 5, 化合物 14) 作为高选择性的 RIP1 抑制剂, 在激酶检测实验中  $IC_{50}$  值为  $8\text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ , 优于 Nec-1 ( $IC_{50}=1\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ), 有助于揭示 RIP1 激酶在炎症反应中的角色。

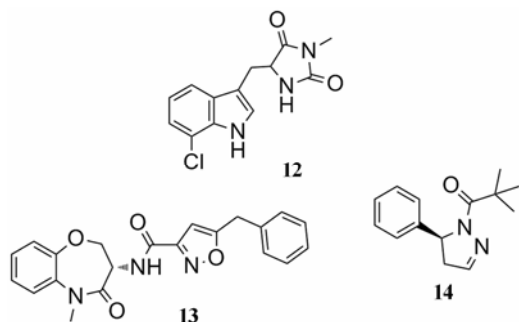


Figure 5 RIP1 inhibitors

**3.6 基于表型筛选的 AD 药物** 表型筛选在新药, 尤其是“first-in-class”的创新药研发中扮演最重要角色<sup>[57]</sup>。据统计, 从 1999 到 2008 年间美国 FDA 通过的 50 种首次发现的小分子新药中, 有 17 种是通过靶标药物筛选, 28 种是通过表型筛选得到的。对于 AD 这种机制复杂、靶标未明的疾病, 通过神经免疫细胞的表型筛选, 和 AD 模型小鼠记忆和认知能力评价显然是发现新药的最重要途径。复旦大学朱依淳教授研究组<sup>[58]</sup>发现益母草碱 (SCM-198) (图 6, 化合物 15) 能够抑制小胶质细胞过度活化, 减轻  $A\beta$  诱导的大鼠认知损伤, 同时该化合物对降脂和治疗脑卒中中具有明显疗效, 近期该化合物已成功转让。另外, 本研究组<sup>[59]</sup>通过小胶质细胞表型筛选发现的哌啶甲酮 (图 6, 化合物 16) 能够有效抑制神经炎症, 在多种 AD 模型上均能改善认知能力, 同时还能保护神经元, 该化合物目前已经获得国家食品药品监督管理局 (CFDA) 的临床试验批准, 将于近期推进 I 期临床研究。

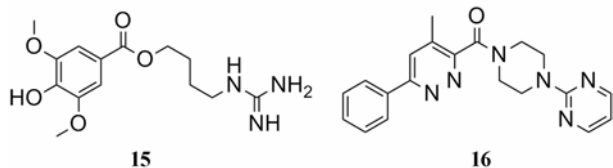


Figure 6 Unknown target neuro-inflammation inhibitors

## 4 前景与展望

小胶质细胞作为神经系统的免疫效应细胞, 在中枢神经系统病变和炎症反应中发挥着重要作用。小胶质细胞释放炎症因子和神经元表面受体接收信号的各个通路并非彼此孤立, 而是相互渗透相互协调, 这为基于小胶质细胞功能障碍的神经退行性疾病药物研发提供了更多靶点和思路, 研究人员可以基于参与炎症反应的各个表面受体和一系列下游激酶结构功能设计神经炎症抑制剂。虽然在临床前已有多个化合物表现出较好的临床前药效, 但由于免疫系统的复杂性, 还需在基础和临床研究上进行更深入的探讨。

AD 在全球范围内尚无有效的治疗手段, 因此, 各国的 AD 创新药均处于同一起跑线上。近年来, 一系列针对  $A\beta$  药物和 Tau 药物未能满足主要终点而失败, 也迫切需要研究者改变当前 AD 药物研发的现状, 需要各学科的科学家、医学家“八仙过海, 各显其能”, 任何可能的探索都值得去尝试。需要强调的是, 对于 AD 这样的复杂疾病, 单一靶点药物可能难以奏效, 联合用药会是未来 AD 的解决方案。本研究组的探索和候选新药<sup>[59]</sup>, 也是希望未来能与其他药物形成联合用药的方式治疗 AD。

## References

- [1] Global Observatory for Ageing and Dementia Care and the PSSRU. Improving healthcare for people living with dementia coverage, quality and costs now and in the future [R]. London: Alzheimer's Disease International, 2016.
- [2] Alzheimer's Disease International. The global economic impact of dementia [R]. London: Alzheimer's Disease International, 2010.
- [3] Wang J, Xia Y, Grundkeiqbal I, et al. Abnormal hyperphosphorylation of Tau: sites, regulation, and molecular mechanism of neurofibrillary degeneration [J]. J Alzheimer's Dis, 2013, 33: 123-139.
- [4] Wang XY, Chen J, Zhang JT. Effect of ginsenoside Rg1 on learning and memory impairment induced by  $\beta$ -amyloid peptide (25-35) and its mechanism of action [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 2001, 36: 1-4.
- [5] Lambertsen KL, Clausen BH, Babcock AA, et al. Microglia protect neurons against ischemia by synthesis of tumor necrosis factor [J]. J Neurosci, 2009, 29: 1319-1330.
- [6] Kerschensteiner M, Stadelmann C, Dechant G, et al. Neurotrophic cross-talk between the nervous and immune systems: implications for neurological diseases [J]. Ann Neurol, 2003,

- 53: 292–304.
- [7] Wang R, Yan H, Tang X, et al. Progress in studies of huperzine A, a natural cholinesterase inhibitor from Chinese herbal medicine [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2006, 27: 1–26.
- [8] Fan Y, Hu J, Li J, et al. Effect of acidic oligosaccharide sugar chain on scopolamine-induced memory impairment in rats and its related mechanisms [J]. *Neurosci Lett*, 2005, 374: 222–226.
- [9] Doody RS, Thomas RG, Farlow MR, et al. Phase 3 trials of solanezumab for mild-to-moderate Alzheimer's disease [J]. *N Engl J Med*, 2014, 370: 311–321.
- [10] Gauthier S, Feldman HH, Schneider LS, et al. Efficacy and safety of tau-aggregation inhibitor therapy in patients with mild or moderate Alzheimer's disease: a randomised, controlled, double-blind, parallel-arm, phase 3 trial [J]. *Lancet*, 2016, 388: 2873–2884.
- [11] Davalos D, Grutzendler J, Yang G, et al. ATP mediates rapid microglial response to local brain injury *in vivo* [J]. *Nat Neurosci*, 2005, 8: 752–758.
- [12] Panja D, Bramham CR. BDNF mechanisms in late LTP formation: a synthesis and breakdown [J]. *Neuropharmacology*, 2014, 76 Pt C: 664–676.
- [13] Guan Y, Ranoa DR, Jiang S, et al. Human TLRs 10 and 1 share common mechanisms of innate immune sensing but not signaling [J]. *J Immunol*, 2010, 184: 5094–5103.
- [14] Sterka D, Marriott I. Characterization of nucleotide-binding oligomerization domain (NOD) protein expression in primary murine microglia [J]. *J Neuroimmunol*, 2006, 179: 65–75.
- [15] Galea I, Palin K, Newman TA, et al. Mannose receptor expression specifically reveals perivascular macrophages in normal, injured, and diseased mouse brain [J]. *Glia*, 2005, 49: 375–384.
- [16] Khoury JE, Hickman SE, Thomas CA, et al. Scavenger receptor-mediated adhesion of microglia to beta-amyloid fibrils [J]. *Nature*, 1996, 382: 716–719.
- [17] Srikanth V, Maczurek AE, Phan TG, et al. Advanced glycation end products and their receptor RAGE in Alzheimer's disease [J]. *Neurobiol Aging*, 2011, 32: 763–777.
- [18] Hickman S, Allison E, El Khoury J. Microglial dysfunction and defective beta-amyloid clearance pathways in aging Alzheimer's disease mice [J]. *J Neurosci*, 2008, 28: 8354–8360.
- [19] Li Y, Du X, Liu C, et al. Reciprocal regulation between resting microglial dynamics and neuronal activity *in vivo* [J]. *Dev Cell*, 2012, 23: 1189–1202.
- [20] Limatola C, Ransohoff RM. Modulating neurotoxicity through CX3CL1/CX3CR1 signaling [J]. *Front Cell Neurosci*, 2014, 8: 229.
- [21] Hernangomez M, Carrillosalinas FJ, Mecha M, et al. Brain innate immunity in the regulation of neuroinflammation: therapeutic strategies by modulating CD200-CD200R interaction involve the cannabinoid system [J]. *Curr Pharm Design*, 2014, 20: 4707–4722.
- [22] McGeer PL, Itagaki S, Tago H, et al. Reactive microglia in patients with senile dementia of the Alzheimer type are positive for the histocompatibility glycoprotein HLA-DR [J]. *Neurosci Lett*, 1987, 79: 195–200.
- [23] He X, Sun BG. Roles of microglia and immune receptors in Alzheimer's disease [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2014, 49: 774–780.
- [24] Crehan H, Holton P, Wray S, et al. Complement receptor 1 (CR1) and Alzheimer's disease [J]. *Immunobiology*, 2012, 217: 244–250.
- [25] Singaraja RR. TREM2: a new risk factor for Alzheimer's disease [J]. *Clin Genet*, 2013, 83: 525–526.
- [26] Melchior B, Garcia A, Hsiung B, et al. Dual induction of TREM2 and tolerance-related transcript, Tmem176b, in amyloid transgenic mice: implications for vaccine-based therapies for Alzheimer's disease [J]. *Asn Neuro*, 2010, 2: 157–170.
- [27] O'Neill LA, Bowie AG. The family of five: TIR-domain-containing adaptors in Toll-like receptor signaling [J]. *Nat Rev Immunol*, 2007, 7: 353–364.
- [28] Laplantine E, Fontan E, Chiaravalli J. NEMO specifically recognizes K63-linked poly-ubiquitin chains through a new bipartite ubiquitin-binding domain [J]. *EMBO J*, 2009, 28: 2885–2895.
- [29] Su F, Bai F, Zhou H, et al. Microglial toll-like receptors and Alzheimer's disease [J]. *Brain Behav Immun*, 2016, 52: 187–198.
- [30] Wang LZ, Tian Y, Yu JT, et al. Association between late-onset Alzheimer's disease and microsatellite polymorphisms in intron II of the human toll-like receptor 2 gene [J]. *Neurosci Lett*, 2011, 489: 164–167.
- [31] Frank S, Copanaki E, Burbach GJ, et al. Differential regulation of toll-like receptor mRNAs in amyloid plaque-associated brain tissue of aged APP23 transgenic mice [J]. *Neurosci Lett*, 2009, 453: 41–44.
- [32] Selfridge BR, Wang X, Zhang Y, et al. Structure-activity relationships of (+)-naltrexone-inspired toll-like receptor 4 (TLR4) antagonists [J]. *J Med Chem*, 2015, 58: 5038–5052.
- [33] Fung S, Sofiyev V, Schneiderman J, et al. Unbiased screening of marine sponge extracts for anti-inflammatory agents combined with chemical genomics identifies girolline as an inhibitor of protein synthesis [J]. *ACS Chem Biol*, 2014, 9: 247–257.
- [34] Li M, Shang DS, Zhao WD, et al. Amyloid beta interaction

- with receptor for advanced glycation end products up-regulates brain endothelial CCR5 expression and promotes T cells crossing the blood-brain barrier [J]. *J Immunol*, 2009, 182: 5778–5788.
- [35] Fang F, Lue L, Yan S, et al. RAGE-dependent signaling in microglia contributes to neuroinflammation, A $\beta$  accumulation, and impaired learning/memory in a mouse model of Alzheimer's disease [J]. *FASEB J*, 2010, 24: 1043–1055.
- [36] Arancio O, Zhang H, Chen X, et al. RAGE potentiates A $\beta$ -induced perturbation of neuronal function in transgenic mice [J]. *EMBO J*, 2004, 23: 4096–4105.
- [37] Deane R, Singh I, Sagare AP, et al. A multimodal RAGE-specific inhibitor reduces amyloid  $\beta$ -mediated brain disorder in a mouse model of Alzheimer disease [J]. *J Clin Invest*, 2012, 122: 1377–1392.
- [38] Han YT, Choi G, Son D, et al. Ligand-based design, synthesis, and biological evaluation of 2-aminopyrimidines, a novel series of receptor for advanced glycation end products (RAGE) inhibitors [J]. *J Med Chem*, 2012, 55: 9120–9135.
- [39] Landreth G, Jiang Q, Mandrekar S, et al. PPAR $\gamma$  agonists as therapeutics for the treatment of Alzheimer's disease [J]. *Neurotherapeutics*, 2008, 5: 481–489.
- [40] Lee YS, Kim H, Kim Y, et al. Synthesis and structure-activity relationships of tri-substituted thiazoles as RAGE antagonists for the treatment of Alzheimer's disease [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2012, 22: 7555–7561.
- [41] Watson GS, Cholerton BA, Reger MA, et al. Preserved cognition in patients with early Alzheimer disease and amnesic mild cognitive impairment during treatment with rosiglitazone: a preliminary study [J]. *Am J Geriatr Psychiatry*, 2005, 13: 950–958.
- [42] Combs CK, Johnson DE, Karlo JC, et al. Inflammatory mechanisms in Alzheimer's disease: inhibition of  $\beta$ -amyloid-stimulated proinflammatory responses and neurotoxicity by PPAR $\gamma$  agonists [J]. *J Neurosci*, 2000, 20: 558–567.
- [43] Lee JC, Laydon JT, McDonnell PC, et al. A protein kinase involved in the regulation of inflammatory cytokine biosynthesis [J]. *Nature*, 1994, 372: 739–746.
- [44] Sun A, Liu M, Nguyen XV, et al. p38 MAP kinase is activated at early stages in Alzheimer's disease brain [J]. *Exp Neurol*, 2003, 183: 394–405.
- [45] Zhu X, Rottkamp CA, Hartzler A, et al. Activation of MKK6, an upstream activator of p38, in Alzheimer's disease [J]. *J Neurochem*, 2001, 79: 311–318.
- [46] Ashabi G, Alamdary SZ, Ramin M, et al. Reduction of hippocampal apoptosis by intracerebroventricular administration of extracellular signal-regulated protein kinase and/or p38 inhibitors in amyloid beta rat model of Alzheimer's disease: involvement of nuclear-related factor-2 and nuclear factor- $\kappa$ B [J]. *Basic Clin Pharmacol*, 2013, 112: 145–155.
- [47] Munoz L, Ralay RH, Roy SM, et al. A novel p38 alpha MAPK inhibitor suppresses brain proinflammatory cytokine up-regulation and attenuates synaptic dysfunction and behavioral deficits in an Alzheimer's disease mouse model [J]. *J Neuroinflamm*, 2007, 4: 21.
- [48] Bagley MC, Davis T, Dix MC, et al. Microwave-assisted Ullmann C-S bond formation: synthesis of the P38alpha MAPK clinical candidate VX-745 [J]. *J Org Chem*, 2009, 74: 8336–8342.
- [49] Silke J, Rickard JA, Gerlic M. The diverse role of RIP kinases in necroptosis and inflammation [J]. *Nat Immunol*, 2015, 16: 689–697.
- [50] Degtrev A, Huang Z, Boyce M, et al. Chemical inhibitor of nonapoptotic cell death with therapeutic potential for ischemic brain injury [J]. *Nat Chem Biol*, 2005, 1: 112–119.
- [51] Degtrev A, Hitomi J, Gernscheid M, et al. Identification of RIP1 kinase as a specific cellular target of necrostatins [J]. *Nat Chem Biol*, 2008, 4: 313–321.
- [52] Lukens JR, Vogel P, Johnson GR, et al. RIP1-driven autoinflammation targets IL-1 $\alpha$  independently of inflammasomes and RIP3 [J]. *Nature*, 2013, 498: 224–227.
- [53] Ofengeim D, Yuan J. Regulation of RIP1 kinase signaling at the crossroads of inflammation and cell death [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2013, 14: 727–736.
- [54] Yang SH, Lee DK1, Shin J, et al. Nec-1 alleviates cognitive impairment with reduction of A $\beta$  and tau abnormalities in APP/PS1 mice [J]. *EMBO Mol Med*, 2017, 9: 61–77.
- [55] Harris PA, King BW, Bandyopadhyay D, et al. DNA-encoded library screening identifies benzo[b][1,4]oxazepin-4-ones as highly potent and monoselective receptor interacting protein 1 kinase inhibitors [J]. *J Med Chem*, 2016, 59: 2163–2178.
- [56] Berger SB, Harris P, Kasparcova K, et al. Characterization of GSK'963: a structurally distinct, potent and selective inhibitor of RIP1 kinase [J]. *Cell Death Discov*, 2015, 1: 15009.
- [57] Moffat JG, Vincent F, Lee JA, et al. Opportunities and challenges in phenotypic drug discovery: an industry perspective [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2017, 16: 531–543.
- [58] Hong ZY, Shi XR, Zhu K, et al. SCM-198 inhibits microglial overactivation and attenuates A $\beta$ <sub>1-40</sub>-induced cognitive impairments in rats *via* JNK and NF- $\kappa$ B pathways [J]. *J Neuroinflamm*, 2014, 19: 147.
- [59] Zhou W, Zhong G, Fu S, et al. Microglia-based phenotypic screening identifies a novel inhibitor of neuroinflammation effective in Alzheimer's disease models [J]. *ACS Chem Neurosci*, 2016, 7: 1499–1507.