

## 药物调节自噬治疗阿尔茨海默病

谭成勇<sup>1</sup>, 田慧珍<sup>1</sup>, 况煌<sup>1</sup>, 洪芬芳<sup>2\*</sup>, 杨树龙<sup>1\*</sup>

(1. 南昌大学基础医学院, 江西 南昌 330031; 2. 南昌大学基础医学实验教学中心, 江西 南昌 330006)

**摘要:** 阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 是以认知功能障碍为临床表现的疾病。过去虽然对 AD 发病机制研究取得了显著进展, 但阻断 AD 病情发展的有效治疗方法并不令人满意。自噬 (autophagy) 异常被认为参与 AD 发病机制, 自噬的调节可能成为 AD 治疗新策略。经 mTOR 依赖性和非依赖性 (Bcl-2/Beclin-1、GSK-3 $\beta$  和 p-AKT 等) 途径调节自噬的药物显示出很好的缓解 AD 症状作用。此外, 一些从植物中提取出的化合物也被报道可经多途径、多靶标调节自噬阻止 AD 进展。本文对近期有关药物包括植物提取药物调节自噬治疗 AD 的研究进展作一综述, 为临床治疗 AD 提供新的理论基础。

**关键词:** 自噬; 阿尔茨海默病; 植物提取化合物; 药物

中图分类号: R971 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2019)06-0984-07

## Medications regulate autophagy for treatment of Alzheimer's disease

TAN Cheng-yong<sup>1</sup>, TIAN Hui-zhen<sup>1</sup>, KUANG Huang<sup>1</sup>, HONG Fen-fang<sup>2\*</sup>, YANG Shu-long<sup>1\*</sup>

(1. College of Basic Medicine, Nanchang University, Nanchang 330031, China; 2. Medical Experimental Teaching Center, Nanchang University, Nanchang 330006, China)

**Abstract:** Alzheimer's disease (AD) is characterized clinically as irreversible cognitive dysfunction. Although a significant progress has been made in the study of AD pathogenesis, the effective measures to block AD progress have not been satisfactory. Abnormal autophagy is thought to be involved in the pathogenesis of AD, and regulation of autophagy may become a new strategy for AD treatment. Some medicines, which regulate autophagy by mTOR-dependent and independent (Bcl-2/Beclin-1, GSK-3 $\beta$ , and p-AKT) pathways, have shown excellent effects in alleviating AD symptoms. In addition, certain compounds extracted from plants have also been reported to regulate autophagy and prevent AD progression through multiple pathways and multiple targets. This article reviews the recent advances in the regulation of autophagy and AD treatment. It provides a new theoretical basis for clinical treatment of AD.

**Key words:** autophagy; Alzheimer's disease; plant extract compound; medicine

阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 是一种与年龄相关的神经退行性疾病, 病理特征为  $\beta$  样淀粉蛋白 ( $\beta$ -amyloid, A $\beta$ ) 沉积导致老年斑 (senile plaque)

形成和 Tau 蛋白过度磷酸化导致神经原纤维缠结 (neurofibrillary tangles) 形成<sup>[1]</sup>。自噬是真核细胞内的一种分解代谢过程, 可去除功能受损的细胞、细胞器以及功能失调的蛋白质聚集体<sup>[2]</sup>, 自噬过程包括自噬诱导、囊泡成核和扩张和自噬体形成<sup>[3]</sup>。自噬在 AD 发病过程中起着重要作用, 自噬涉及的信号转导途径复杂多样 (图 1), 该发现推动了一系列关于药物调节自噬的研究。针对调节自噬信号途径的包括一些天然化合物在内的药物在 AD 动物模型实验中表现出巨大治疗潜

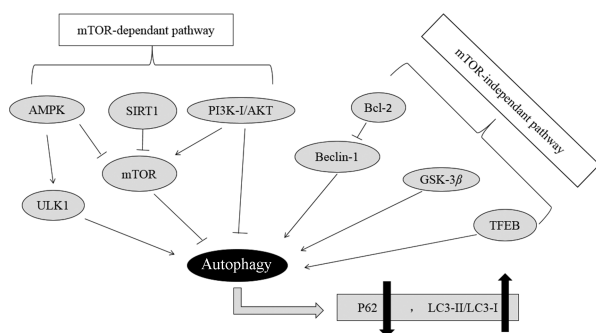
收稿日期: 2018-12-10; 修回日期: 2019-01-13.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81660751, 81660151, 81260504); 江西省重点研发计划 (20161BBG70067); 江西省自然科学基金资助项目 (2017BAB205085).

\*通讯作者 Tel: 86-791-86360556,

E-mail: hongfenfang@126.com; slyang@ncu.edu.cn

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2018-1107



**Figure 1** Major autophagy pathway. AMPK: Adenosine 5'-mono-phosphate (AMP)-activated protein kinase; ULK1: Unc-51-like kinase 1; SIRT1: Silent mating type information regulation 2 homolog-1; Bcl-2: B-cell lymphoma-2; TFEB: Transcriptional factor EB

能。本文主要对上述相关最新研究进展作一综述。

## 1 非植物提取药物

### 1.1 经 mTOR 依赖性途径影响自噬的药物

哺乳动物雷帕霉素靶标 (mammalian target of rapamycin, mTOR) 是一种重要的丝氨酸-苏氨酸蛋白酶, 由 mTORC1 和 mTORC2 两种复合物组成。mTOR 是自噬过程主要的调控者, 其活性受饥饿、生长因子等因素调节, mTOR 依赖性途径激活抑制自噬起始过程<sup>[4]</sup>。目前在 AD 患者中发现 mTOR 途径被激活, 而 mTOR 途径抑制对改善 AD 症状有一定作用<sup>[5]</sup>。

**1.1.1 经典 mTOR 抑制剂—雷帕霉素** 雷帕霉素 (rapamycin) 是一种自噬特异性诱导剂, 经抑制 mTOR 依赖性途径, 从而上调自噬标记因子如 ULK1、p62、Beclin-1、LC3-I/LC3-II、Atg3/5/7/12 等诱导自噬。Singh 等<sup>[6]</sup>证实  $A\beta_{1-42}$  降低 III 类磷脂酰肌醇 3-激酶 PI3K、蛋白激酶 AKT 1 和环磷腺苷效应元件结合蛋白 (cAMP-response element binding protein, CREB) 磷酸化水平, 雷帕霉素可诱导自噬缓解此作用, 改变  $A\beta_{1-42}$  神经变性结果, 提示雷帕霉素经 PI3K/AKT1/mTOR/CREB 途径激活自噬并改善 AD 病变。研究显示, 雷帕霉素酯类似物 CCI-779 (rapamycin ester analog CCI-779/temsirolimus, CCI-779) 在 Tau 突变转基因 AD 鼠模

型 (Tg 鼠) 中可减少 Tau 聚集体形成, 显著降低野生型鼠和 Tg30 鼠 mTOR 信号转导。但进一步实验表明, CCI-779 治疗并未完全阻止早期或晚期 Tg30 鼠 Tau 病变进展, 提示 mTOR 依赖性自噬刺激在阻止 Tau 聚集方面可能并不完全有效<sup>[7]</sup>, 并且有报道表明, 雷帕霉素也是一种免疫抑制剂, 长期使用雷帕霉素可能使 AD 患者免疫系统受到损伤, 其潜在的不利影响需进一步证实<sup>[8]</sup>。

**1.1.2 经 p-AKT-mTOR 途径影响自噬的药物** 除雷帕霉素这个经典 mTOR 抑制剂, 其他药物也表现出对 mTOR 相关途径的抑制效应 (表 1)<sup>[6-13]</sup>。AKT 是 mTOR 上游的正性调节分子, 可直接启动 mTOR 磷酸化, 从而激活 mTOR 途径抑制自噬。早期研究显示, AKT 通过 PI3K 激活后产生磷脂酰肌醇 3,4,5-三磷酸 (PIP3), 并通过 T389 处的下游激酶 mTOR p70S6K 的磷酸化介导多种细胞内功能, 而另一项研究表明, 触发 mTORC2 负反馈环可激活 AKT<sup>[14-16]</sup>, 随后实验发现, 孕酮激素 (progesterone) 可在经  $A\beta$  处理的星形胶质细胞中提高 p-AKT 水平, 下调 mTOR 信号转导, 因此学者猜测孕酮激素通过刺激 mTORC2 负反馈环上调 p-AKT。但触发 mTORC2 负反馈环如何升高 mTOR 正性调节分子 p-AKT 而且同时降低 p-mTOR, 需进一步研究。此外, 孕酮激素还显著抑制促炎细胞因子白细胞介素-1 (interleukin-1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ ) 和肿瘤坏死因子- $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ ) 水平, 提示孕酮激素可抑制  $A\beta$  处理的星形胶质细胞中 p-mTOR 水平, 激活自噬, 产生神经保护作用<sup>[9]</sup>。

**1.1.3 经 AMPK-mTOR 途径影响自噬的药物** 近来研究表明, AMPK-mTOR 途径参与调节自噬起始阶段, AMP 依赖的蛋白激酶 [adenosine 5'-monophosphate (AMP)-activated protein kinase, AMPK] 活化可抑制 mTOR 表达, 从而促进自噬的激活。然而, 在 AD 发病过程中可观测到 AMPK 减少, 自噬发生异常。Zhang 等<sup>[10,11]</sup>经蛋白质免疫印迹 (Western blot) 实验发现硒氨酸 (selenomethionine) 处理大鼠海马和皮质后, 自噬

**Table 1** The effects of non-plant extracts on autophagy and Alzheimer's disease (AD). +: Activation; -: Inhibition;  $\uparrow$ : Enhancement;  $\downarrow$ : Decrease

Pathway	Medication	Autophagy activation		AD pathological protein change		Reference
		Cell experiment	Animal experiment	Tau level	$A\beta$ level	
mTOR-dependent pathway	Rapamycin	+, LC3-I/LC3-II $\uparrow$ , Beclin-1 $\uparrow$		$\downarrow$	$\downarrow$	[6-8]
p-AKT-mTOR pathway	Progesterone	Unclear			$\downarrow$	[9]
AMPK-mTOR pathway	Selenomethionine		+, LC3-II $\uparrow$ , p-AMPK $\uparrow$ , mTOR $\downarrow$	$\downarrow$	$\downarrow$	[10,11]
	Statin		+, mTOR $\downarrow$ , LC3-II $\uparrow$ , IDE $\uparrow$	$\downarrow$	$\downarrow$	[12]
	Cilostazol		+, SIRT1 $\uparrow$ , p-LKB1 $\uparrow$ , p-AMPK $\alpha$ $\uparrow$ , mTOR $\downarrow$	$\downarrow$	$\downarrow$	[13]

标记因子 LC3-II 表达显著增加、p-AMPK 水平升高、mTOR 表达抑制、p70S6K 水平显著减少,提示硒蛋氨酸可能经 AMPK-mTOR 介导的自噬途径促进 Tau 蛋白降解,改善 AD 症状。随后还发现硒蛋氨酸也可经调节 AKT-mTOR-p70S6K 途径增加自噬体-溶酶体融合以及自噬降解来促进 A $\beta$  清除。上述研究显示,硒蛋氨酸经多种途径调节自噬促进 Tau 和 A $\beta$  降解清除,提示硒蛋氨酸治疗 AD 有巨大潜能。斯达汀处理星形胶质细胞可减少 mTOR 磷酸化,提高 LC3-II 表达水平。他汀类药物可经一种基于自噬的非常规分泌途径诱导星形胶质细胞分泌胰岛素降解酶 (IDE),而 IDE 下调细胞外 A $\beta$  水平,进一步研究发现使用 AMPK 抑制剂处理细胞可逆转上述效果,提示斯达汀经 AMPK-mTOR 途径激活星形胶质细胞自噬,可为治疗 AD 提供一个潜在的新型治疗靶点<sup>[12]</sup>。西洛他唑 (cilostazol) 可显著降低 N2a 细胞内 A $\beta$  聚集和磷酸化 Tau 含量,改善 AD 鼠模型空间学习和记忆能力,并且显著增加 p-ACC (AMPK 激活的最初靶标) 和 p-AMPK $\alpha$  的表达。而 AD 鼠模型经去乙酰化酶 (sirtuin 1, SIRT1) 基因敲除处理后, p-LKB1 和 p-AMPK $\alpha$  表达量显著下降,西洛他唑处理未能增加 p-LKB1 和 p-AMPK $\alpha$  表达,提示西洛他唑与 AMPK 和 SIRT1 的紧密联系,其通过激活 SIRT1 偶联 p-LKB1/p-AMPK $\alpha$  并抑制 mTOR 活化,增强自噬减少 A $\beta$  积累<sup>[13]</sup>。

## 1.2 mTOR 非依赖性促进自噬的药物

尽管 mTOR 依赖性途径是治疗 AD 热门靶点,然而经药物抑制 mTOR 途径增强自噬可带来很多不良反应,因此经其他途径激活自噬是一个新选择。以下罗列了最近研究证实的一些可经不同 mTOR 非依赖性途径调节自噬对治疗 AD 有前景的药物。① Bcl-2/Beclin-1 途径。Xue 等<sup>[17]</sup>发现 Beclin-1 表达水平与细胞活力呈正相关,在损伤发生前激活 Beclin-1 依赖性自噬可阻止神经细胞死亡,而抑制 Beclin-1 依赖性自噬则加速细胞死亡,提示促进 Beclin-1 依赖性自噬在 AD 中可能具有潜在预防作用。② GSK-3 $\beta$  途径。实验表明糖原合成酶激酶-3 $\beta$  (GSK-3 $\beta$ ) 能激活自噬,低浓度锂 (lithium)

可抑制 GSK-3 $\beta$  减轻自噬<sup>[18]</sup>。然而,在锂的体外实验中发现,高浓度锂可增强自噬,因此锂是否低浓度减轻自噬、高浓度增强自噬尚不明确,但长期锂治疗可能会减轻脑脊液中 AD 病变,表现为脑脊液中磷酸化 Tau 水平降低,提示锂增强自噬可能有助于改善 AD 病情<sup>[19]</sup>。③ 自噬-溶酶体途径。GTM-1 是一种新型 mTOR 非依赖性途径自噬诱导剂,Chu 等<sup>[20]</sup>发现 GMT-1 在人神经元中可经 AKT 非依赖性和 mTOR 非依赖性方式促进自噬清除 A $\beta$ ,且可逆转自噬-溶酶体融合抑制剂胡萝卜素和天冬酰胺导致的自噬通量降低,缓解 AD 鼠模型 A $\beta$  病变和改善其认知缺陷。

## 2 植物提取化合物类

研究显示,在植物提取物中存在调节自噬的化合物,许多具有优良药理作用的天然产物是控制或预防 AD 有效选择,下文总结基于调节自噬治疗 AD 的植物提取化合物最新研究进展 (表 2<sup>[21-30]</sup>、3<sup>[31-41]</sup>),根据药物调节自噬途径进行分类 (表 3)。

此外,近年来出现大量研究报道某些天然活性成分可调节自噬,如多酚类 (polyphenols)。富含多酚物质或纯多酚物质被报道通过调节相关途径,增强自噬清除蛋白质聚集,起到神经保护和治疗 AD 作用 (表 2)。在少数情况下,天然酚类物质也被证明能抑制自噬,或通过自噬相关途径诱导细胞死亡<sup>[42,43]</sup>,其中黄酮类 (flavonoid) 广泛存在于蔬菜、水果等植物中,近几年研究发现黄酮类化合物具神经保护和诱导自噬作用。在阐述抗 AD 的多酚类物质文献中,近年主要报道黄酮类、橄榄苦苷元 (oleuropein aglycone)、白藜芦醇 (resveratrol) 和姜黄素 (curcumin),本文按调节自噬途径综述这一类化合物,为以后研究多酚类抗 AD 的构效关系提供理论依据。

### 2.1 经 mTOR 途径调节自噬的植物提取化合物

从黄芩中分离得到的黄芩素 (wogonin) 是 mTOR 分子的抑制剂,可显著促进原代皮质星形胶质细胞清除 A $\beta$ <sub>40</sub>,且在原代皮质星形胶质细胞和 SH-SY5Y 细胞中发现 LC3-II 积聚,显示黄芩素可诱导自噬和促进自噬体成熟从而促进 A $\beta$ <sub>40</sub> 清除<sup>[31]</sup>。

**Table 2** The effects of polyphenols on autophagy and AD. +: Activation; -: Inhibition;  $\uparrow$ : Enhancement;  $\downarrow$ : Decrease

Medication	Autophagy activation		AD pathological protein change		Reference
	Cell experiment	Animal experiment	Tau level	A $\beta$ level	
Flavonoid					
Dihydromyricetin		+, SIRT1 $\uparrow$ , mTOR $\downarrow$		$\downarrow$	[21]
Fisetin	+, p70S6K $\downarrow$ , p-4E-BP1 $\downarrow$ , TFEB $\uparrow$ , Nrf2 $\uparrow$		$\downarrow$	$\downarrow$	[22]
Silibinin		+, LC3-I/LC3-II $\downarrow$ , autophagosome $\downarrow$		$\downarrow$	[23]
Curcumin	+, LC3 $\uparrow$ , mTOR $\downarrow$ , APP $\downarrow$			$\downarrow$	[24,25]
Pomegranate		+, Beclin-1 $\uparrow$ , LC3-II $\uparrow$		$\downarrow$	[26]
Oleuropein aglycone	+, mTOR $\downarrow$ , SIRT1 $\uparrow$ , Ca <sup>2+</sup> $\uparrow$			$\downarrow$	[27,28]
Resveratrol	+, Ca <sup>2+</sup> $\uparrow$ , AMPK $\uparrow$ , mTOR $\downarrow$			$\downarrow$	[29,30]

**Table 3** The effects of plant extracts on autophagy and AD. +: Activation; -: Inhibition; ↑: Enhancement; ↓: Decrease

Pathway	Medication	Autophagy activation		AD pathological protein change		Reference
		Cell experiment	Animal experiment	Tau level	A $\beta$ level	
mTOR-dependent pathway	Wogonin	+, LC3-II ↑			↓	[31]
	Protopanaxadiol derivative	+			↓	[32]
	Methyllycaconitine	-				[33]
	Thamnoia vermicularis	+	+, mTOR ↓, PI3K ↓, p-AKT ↓, p-AMPK ↑		↓	[34]
	Arctigenin		+		↓	[35]
	Radix	+, mTOR ↓, p70S6K ↓, p-AMPK /Raptor ↑			↓	[36]
Bcl-2/Beclin-1	Madecassoside	- , Bcl-2 ↑, Beclin-1 ↓, LC3-II/LC3-I ↓			↓	[37]
PI3K/AKT/Beclin-1 Autophagy/lysosome	$\beta$ -Asarone rBTI	- , p-AKT, p-mTOR ↑	+, lysosome ↓, A $\beta$ cytotoxicity ↓		↓	[38-40] [41]

另外, 原人参二醇 (protopanaxadiol derivative, PPD) 衍生物 DDPU 也可经 PI3K/AKT/mTOR 途径激活自噬, 提高 A $\beta$  的清除率, 在治疗 AD 方面有潜在作用<sup>[32]</sup>。

甲基牛扁亭碱 (methyllycaconitine) 可能经 mTOR 途径抑制 A $\beta_{25-35}$  诱导的异常自噬, 从而缓解 A $\beta_{25-35}$  细胞毒性起到细胞保护作用, 并且甲基牛扁亭碱具有良好的安全性, 表明甲基牛扁亭碱可能是一种抗 AD 有前景的药物<sup>[33]</sup>。

Li 等<sup>[34]</sup>发现  $\beta$  淀粉样前体蛋白 ( $\beta$ -site amyloid precursor protein, APP)/PS1 转基因 AD 鼠模型经雪茶 (thamnoia vermicularis) 乙醇提取物处理后, mTOR、PI3K 和 AKT 磷酸化水平降低, 而 AMPK 磷酸化表达上调, 提示雪茶乙醇提取物可作为一个有效自噬激活剂经 AMPK/PI3K/AKT/mTOR 途径激活自噬促进 A $\beta$  清除。另外, 雪茶也作为 PI3K 抑制剂和 AMPK 间接激活剂, 抑制 PERK/eIF2 $\alpha$  途径介导 BACE1 表达, 从而抑制 A $\beta$  产生, 有益于治疗 AD。

研究显示, 以转基因 AD 鼠模型为研究对象, 实验证实牛蒡子苷元 (arctigenin) 可激活 AMPK/Raptor 途径和抑制 AKT/mTOR 途径增强自噬促进 A $\beta$  清除<sup>[35]</sup>。

Zhao 等<sup>[36]</sup>发现 SH-SY5Y 细胞经远志 (polygalae) 处理后, mTOR 和 p70s6k 表达下调, 显示远志诱导自噬, 进一步研究发现磷酸化 AMPK/Raptor 水平增加, 提示远志可经 AMPK/Raptor/mTOR 途径诱导自噬清除 A $\beta$ 。

研究认为, 姜黄素可增强自噬标记蛋白如 LC3 表达和减少 mTOR 蛋白表达诱导自噬, 保护细胞免受氧化应激损伤。姜黄素能逆转自噬抑制剂氯喹诱导的自噬抑制, 减少 APP 转录水平和翻译水平, 通过促进 LC3-I 向 LC3-II 转化激活自噬, 还参与自噬-溶酶体系统和 APP 代谢改善自噬通量。而另一研究发现, 将溶酶体特异性磷酸肌醇 PI(3,5) P2 基因或者瞬时受体电位黏

蛋白 - 1 基因 (transient receptor potential mucolipin - 1, TRPML1) 敲除后, 姜黄素可抑制由 A $\beta_{1-42}$  诱导激活的 HT-22 细胞 mTOR/S6K 途径, 显示姜黄素抑制自噬, 这与早期研究结果相反<sup>[24,25]</sup>, 其机制还需进一步研究。

Kou 等<sup>[21]</sup>发现二氢杨梅素 (dihydromyricetin) 可上调 SIRT1 水平和抑制 mTOR 信号途径从而激活自噬, 并显著逆转 AD 鼠模型海马神经元自噬功能紊乱。

非瑟酮 (fisetin) 是一种有机黄酮类天然化合物, 非瑟酮处理 AD 鼠模型皮层神经元细胞可降低 p70S6K 和 4E-BP1 磷酸化水平, 经货物受体 (cargo receptor) 促进选择性自噬发生, 活化 TFEB 和 Nrf2 可诱发自噬和溶酶体基因的表达, 促进磷酸化 Tau 经自噬得以降解, 且提示非瑟酮可抑制 mTORC1 活性<sup>[22]</sup>。

## 2.2 经 Bcl-2/Beclin-1 途径调节自噬的植物提取化合物

研究发现, 羟基积雪草苷 (madecassoside) 减少自噬体和炎症因子产生, 增加 Bcl-2 水平, 降低 Beclin-1, 阻断轻链 LC3-I 向 LC3-II 转化, 提示羟基积雪草苷可经 Beclin-1/Bcl-2 途径调节自噬, 从而对 A $\beta_{25-35}$  诱导的神经细胞自噬和炎症反应起保护作用<sup>[37]</sup>。

SH-SY5Y 细胞经 A $\beta_{25-35}$  处理后,  $\beta$ -细辛醚和自噬抑制剂 3-甲基腺嘌呤都可逆转 A $\beta_{25-35}$  引起的 Beclin-1 和 LC3B 水平上升以及抗凋亡蛋白 Bcl-2 水平下降, 提示  $\beta$ -细辛醚经 Beclin-1/Bcl-2 途径减轻自噬<sup>[38]</sup>。对经 A $\beta_{1-42}$  处理的 PC12 细胞施用  $\beta$ -细辛醚后也观察到相同结果<sup>[39]</sup>。此外, 对 APP/PS1 转基因 AD 鼠模型研究发现,  $\beta$ -细辛醚增加 p-AKT 和 p-mTOR 水平, 抑制自噬, 提高 AD 鼠模型空间学习和记忆能力<sup>[40]</sup>。综上所述, 可认为  $\beta$ -细辛醚可能涉及 PI3K/AKT/Beclin-1 途径抑制自噬作用, 具有缓解 AD 症状潜能。

与其他水果和蔬菜相比, 石榴由高浓度多酚组成。APPsw/Tg 2576 鼠模型经 4% 石榴饲料补充 15 个月后

可显著诱导自噬,表现为 Beclin-1、脂质化 LC3-II 蛋白表达上调、突触可塑性增加以及脑中  $A\beta$  沉积减少,提示石榴在预防 AD 发生方面可能具有潜在效应<sup>[26]</sup>。

### 2.3 经自噬-溶酶体途径调节自噬的植物提取药物

由于自噬体最终与溶酶体融合使溶酶体内的蛋白质降解,因此溶酶体含量可用来评估自噬水平。Li 等<sup>[41]</sup>用自噬抑制剂氯喹处理 AD 模型蠕虫后,溶酶体数量显著减少,抑制蛋白质降解,阻断自噬过程。随后用重组荞麦胰蛋白酶抑制剂 (recombinant buckwheat trypsin inhibitor, rBTI) 处理,溶酶体数目不再下降,显示 rBTI 经促进自噬-溶酶体降解途径降低有毒蛋白质和蛋白质聚集体,缓解  $A\beta$  细胞毒性作用,发挥抗 AD 作用。

### 2.4 调节氧化应激水平

NF- $\kappa$ B 在氧化应激和神经炎症中扮演着重要的作用,氧化应激激活时,胶质细胞产生炎症介导因子 COX-2 和 iNOS; p53 是一种肿瘤抑制蛋白,是调节氧化应激关键因子,在 AD 鼠中观察到 p53 蛋白的增加,研究表明抑制或消除 p53 蛋白可诱导自噬。水飞蓟宾 (silibinin) 是来自草药蓟 (水飞蓟) 的黄酮类天然化合物,为水飞蓟素主要药理活性成分。Song 等<sup>[23]</sup>发现大鼠注射  $A\beta_{25-35}$  可使海马区自噬水平下调,LC3-I/LC3-II 转换率明显降低, p53 蛋白水平和炎症介导因子 COX-2 和 iNOS 水平显著增加,自噬体和自噬泡数目减少,而经水飞蓟宾处理可逆转  $A\beta_{25-35}$  作用,因此水飞蓟宾是治疗 AD 潜在候选药物。

### 2.5 其他

橄榄苦苷是多酚类物质中较好的自噬诱导剂,存在于特级初榨橄榄油中。对迄今为止已知的橄榄苦苷调节自噬途径分类,有以下 3 种: ① 橄榄苦苷经  $Ca^{2+}$ /CaMKK/AMPK/mTOR 轴调节自噬。橄榄苦苷增加细胞内  $Ca^{2+}$ , 激活  $Ca^{2+}$ /CaMKK $\beta$ /AMPK 轴,使 ULK1 形成四元复合物,直接或间接抑制 mTOR,从而诱导自噬通量的增加。② 橄榄苦苷经 PARP1-SIRT1 轴调节自噬。橄榄苦苷通过激活 SIRT1 诱导自噬。③ 橄榄苦苷作为表观遗传调节剂。橄榄苦苷处理能显著下调组蛋白去乙酰化酶 2 (HDAC2) 表达<sup>[27]</sup>。Pantano 等<sup>[28]</sup>发现长期低剂量摄取橄榄油可激活自噬,即使在晚期 AD 鼠模型中多酚也显著激活神经元自噬。

雷公藤是一种具有抑制自身炎症作用的中草药,已被鉴定出含有上百种有效药理活性成分。Xu 等<sup>[44]</sup>发现雷公藤内酯能抑制  $A\beta_{25-35}$  诱导的异常自噬增强过程,降低胞内活性氧水平和 LC3-II/LC3-I 比例。研究发现雷公藤丁能刺激自噬,增强细胞活力。随后,用雷公藤丁处理 AD 模型鼠 3 h 或 6 h 显著增加 eGFP-LC3

数量,显示雷公藤丁诱导自噬体形成。雷公藤丁处理 3 h 后,细胞中 p-mTOR 和 p70S6K 显著降低,提示雷公藤丁可能抑制 mTOR 信号通路使自噬激活,但到目前为止该途径中的特定分子靶标仍不明确<sup>[45,46]</sup>。

金钗石斛生物碱 (*Dendrobium nobile* Lindl alkaloid) 可促进海马神经元自噬体形成和降解增加自噬通量,诱导大鼠海马神经元自噬<sup>[47]</sup>。银杏叶提取物 (*Ginkgo biloba* extract) 可增加 APP 转基因 AD 鼠模型脑中脂质干细胞 LC3-II 和 Beclin-1 蛋白水平,显示自噬增强。研究表明,小胶质细胞培养过程中经银杏叶提取物处理后 LC3-II、Beclin-1 和 p62 蛋白浓度增加,且长期用银杏提取物处理 TgCRND8 APP-转基因鼠观察到自噬激活,认知功能改善,提示银杏叶提取物作为一种临床耐受良好的植物提取药物,长期使用可改善 AD 病变<sup>[48]</sup>。

最近研究表明,用  $A\beta_{25-35}$  处理 PC12 细胞后 LC3-II/LC3-I 比值下降,用芳基萘基木脂素处理以剂量依赖性方式显著提升比值,在经  $A\beta_{25-35}$  处理前后使用芳基萘基木脂素都显著增加 LC3-II 表达量,显示自噬激活<sup>[49]</sup>。Meng 等<sup>[50]</sup>发现绞股蓝总皂苷也可抑制 LC3-I 向 LC3-II 转化,对抗  $A\beta_{25-35}$  诱导的自噬。而另一研究发现,在 AD 细胞模型和啮齿动物模型中,绞股蓝总皂苷激活转录因子 EB (transcriptional factor EB, TFEB) 经自噬促进  $A\beta$  清除,因此绞股蓝总皂苷虽可缓解 AD 病理,但其机制还需进一步确证。

早期报道 SIRT1 是白藜芦醇一个分子靶点,白藜芦醇经 SIRT1 依赖性途径诱导自噬,减轻  $A\beta_{25-35}$  诱导的 PC12 细胞毒性<sup>[29]</sup>。研究还发现,白藜芦醇增加胞内  $Ca^{2+}$  水平和促进 AMPK 第 172 位点苏氨酸磷酸化激活 AMPK,继而抑制 mTOR 激活自噬,发挥抗 AD 作用<sup>[30]</sup>, SIRT1、AMPK 和 mTOR 依赖途径共同参与白藜芦醇治疗 AD 病理模型鼠。

## 3 结语及展望

近几年 AD 对人类威胁越来越大,随着药物结构开发、实验技术难题的攻克以及对 AD 发生的分子机制和相关研究更透彻,对 AD 相关药物研究也有一定进展。早期普遍认为,AD 患病基于胆碱能假说,即乙酰胆碱不足是患 AD 的原因,随后发现基于此设计的药物只能缓解 AD。目前人们更倾向于神经元中毒性蛋白质如  $A\beta$  大量聚集、Tau 过度磷酸化及自噬异常或不足是患 AD 的原因。研究发现,复杂的自噬过程信号转导包括很多途径,因此发现和设计调节这些途径的药物是目前治疗和预防 AD 的首要任务。尽管关于 AD 和自噬研究报道很多,但还缺乏对某一靶点的深层次阐述。此外,很多植物提取物是抗 AD 有希望的

候选药物, 因此找到其对应靶点、进行活体实验以及找出其抗 AD 的构效关系并合成其衍生物还有待进一步研究。

## References

- [1] Peng Y, Li PP, Li L, et al. Progress of clinical trials in Alzheimer's disease drugs [J]. *Acta Pharm Sin (药学学报)*, 2016, 51: 1185-1195.
- [2] Hua F, Yu JJ, Li K, et al. Autophagy in ageing and ageing-related diseases [J]. *Acta Pharm Sin (药学学报)*, 2014, 49: 764-773.
- [3] Chen Y, Klionsky DJ. The regulation of autophagy-unanswered questions [J]. *J Cell Sci*, 2011, 124: 161-170.
- [4] Chen X, Kondo K, Motoki K, et al. Fasting activates macroautophagy in neurons of Alzheimer's disease mouse model but is insufficient to degrade amyloid-beta [J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 12115.
- [5] Heras-Sandoval D, Perez-Rojas JM, Hernandez-Damian J, et al. The role of PI3K/AKT/mTOR pathway in the modulation of autophagy and the clearance of protein aggregates in neurodegeneration [J]. *Cell Signal*, 2014, 26: 2694-2701.
- [6] Singh AK, Kashyap MP, Tripathi VK, et al. Neuroprotection through rapamycin-induced activation of autophagy and PI3K/AKT1/mTOR/CREB signaling against amyloid-beta-induced oxidative stress, synaptic / neurotransmission dysfunction, and neurodegeneration in adult rats [J]. *Mol Neurobiol*, 2017, 54: 5815-5828.
- [7] Frederick C, Ando K, Leroy K, et al. Rapamycin ester analog CCI-779/temsirolimus alleviates Tau pathology and improves motor deficit in mutant Tau transgenic mice [J]. *J Alzheimers Dis*, 2015, 44: 1145-1156.
- [8] Cai Z, Yan LJ. Rapamycin, autophagy, and Alzheimer's disease [J]. *J Biochem Pharmacol Res*, 2013, 1: 84-90.
- [9] Hong Y, Liu Y, Zhang G, et al. Progesterone suppresses  $A\beta_{42}$ -induced neuroinflammation by enhancing autophagy in astrocytes [J]. *Int Immunopharmacol*, 2018, 54: 336-343.
- [10] Zhang ZH, Wu QY, Zheng R, et al. Selenomethionine mitigates cognitive decline by targeting both Tau hyperphosphorylation and autophagic clearance in an Alzheimer's disease mouse model [J]. *J Neurosci*, 2017, 37: 2449-2462.
- [11] Zhang ZH, Wu QY, Chen C, et al. Selenomethionine attenuates the amyloid- $\beta$  level by both inhibiting amyloid- $\beta$  production and modulating autophagy in neuron-2a/ $A\beta$ PPswe cells [J]. *J Alzheimers Dis*, 2017, 59: 591-602.
- [12] Son SM, Kang S, Choi H, et al. Statins induce insulin-degrading enzyme secretion from astrocytes *via* an autophagy-based unconventional secretory pathway [J]. *Mol neurodegener*, 2015, 10: 56.
- [13] Park SY, Lee HR, Lee WS, et al. Cilostazol modulates autophagic degradation of  $\beta$ -amyloid peptide *via* SIRT1-coupled LKB1/AMPK $\alpha$  signaling in neuronal cells [J]. *PloS One*, 2016, 11: e0160620.
- [14] Trendelenburg AU, Meyer A, Rohner D, et al. Myostatin reduces AKT/TORC1/p70S6K signaling, inhibiting myoblast differentiation and myotube size [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2009, 296: C1258-C1270.
- [15] Wan X, Harkavy B, Shen N, et al. Rapamycin induces feedback activation of AKT signaling through an IGF-1R-dependent mechanism [J]. *Oncogene*, 2007, 26: 1932-1940.
- [16] Caballero B, Coto-Montes A. An insight into the role of autophagy in cell responses in the aging and neurodegenerative brain [J]. *Histol Histopathol*, 2012, 27: 263-275.
- [17] Xue Z, Zhang S, Huang L, et al. Increased expression of Beclin-1-dependent autophagy protects against  $\beta$ -amyloid-induced cell injury in PC12 cells [J]. *J Mol Neurosci*, 2013, 51: 180-186.
- [18] Morlet E, Hozer F, Costemale-Lacoste JF. Neuroprotective effects of lithium: what are the implications in humans with neurodegenerative disorders? [J]. *Geriatr Psychol Neuropsychiatr Vieil*, 2018, 16: 78-86.
- [19] Motoi Y, Shimada K, Ishiguro K, et al. Lithium and autophagy [J]. *ACS Chem Neurosci*, 2014, 5: 434-442.
- [20] Chu C, Zhang X, Ma W, et al. Induction of autophagy by a novel small molecule improves  $A\beta$  pathology and ameliorates cognitive deficits [J]. *PLoS One*, 2013, 8: e65367.
- [21] Kou X, Liu X, Chen X, et al. Ampelopsin attenuates brain aging of *D*-gal-induced rats through miR-34a-mediated SIRT1/mTOR signal pathway [J]. *Oncotarget*, 2016, 7: 74484-74495.
- [22] Kim S, Choi KJ, Cho SJ, et al. Fisetin stimulates autophagic degradation of phosphorylated Tau *via* the activation of TFEB and Nrf2 transcription factors [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 24933.
- [23] Song X, Zhou B, Cui L, et al. Silibinin ameliorates  $A\beta_{25-35}$ -induced memory deficits in rats by modulating autophagy and attenuating neuroinflammation as well as oxidative stress [J]. *Neurochem Res*, 2017, 42: 1073-1083.
- [24] Jaronowitchawan T, Chaicharoenaudomrung N, Namkaew J, et al. Curcumin attenuates paraquat-induced cell death in human neuroblastoma cells through modulating oxidative stress and autophagy [J]. *Neurosci Lett*, 2017, 636: 40-47.
- [25] Zhang L, Fang Y, Cheng X, et al. Curcumin exerts effects on the pathophysiology of Alzheimer's disease by regulating PI(3,5)P2 and transient receptor potential mucolipin-1 expression [J]. *Front neurol*, 2017, 8: 531.
- [26] Braidy N, Essa MM, Poljak A, et al. Consumption of pomegranates improves synaptic function in a transgenic mice model of Alzheimer's disease [J]. *Oncotarget*, 2016, 7: 64589-64604.
- [27] Cordero JG, Garcia-Escudero R, Avila J, et al. Benefit of oleuropein aglycone for Alzheimer's disease by promoting autophagy [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2018, 2018: 5010741.
- [28] Pantano D, Luccarini I, Nardiello P, et al. Oleuropein aglycone and polyphenols from olive mill waste water ameliorate cogni-

- tive deficits and neuropathology [J]. *Br J Clin Pharmacol*, 2017, 83: 54-62.
- [29] Deng H, Mi MT. Resveratrol attenuates  $A\beta_{25-35}$  caused neurotoxicity by inducing autophagy through the TyrRS-PARP1-SIRT1 signaling pathway [J]. *Neurochem Res*, 2016, 41: 2367-2379.
- [30] Kou X, Chen N. Resveratrol as a natural autophagy regulator for prevention and treatment of Alzheimer's disease [J]. *Nutrients*, 2017. DOI:10.3390/nu9090927.
- [31] Zhu Y, Wang J. Wogonin increases  $\beta$ -amyloid clearance and inhibits Tau phosphorylation *via* inhibition of mammalian target of rapamycin: potential drug to treat Alzheimer's disease [J]. *Neurol Sci*, 2015, 36: 1181-1188.
- [32] Guo X, Lv J, Lu J, et al. Protopanaxadiol derivative DDPU improves behavior and cognitive deficit in AD mice involving regulation of both ER stress and autophagy [J]. *Neuropharmacology*, 2018, 130: 77-91.
- [33] Zheng X, Xie Z, Zhu Z, et al. Methyllycaconitine alleviates amyloid- $\beta$  peptides-induced cytotoxicity in SH-SY5Y cells [J]. *PLoS One*, 2014, 9: e111536.
- [34] Li C, Guo XD, Lei M, et al. *Thamnia vermicularis* extract improves learning ability in APP/PS1 transgenic mice by ameliorating both  $A\beta$  and Tau pathologies [J]. *Acta pharmacol Sin*, 2017, 38: 9-28.
- [35] Zhu Z, Yan J, Jiang W, et al. Arctigenin effectively ameliorates memory impairment in Alzheimer's disease model mice targeting both  $\beta$ -amyloid production and clearance [J]. *J Neurosci*, 2013, 33: 13138-13149.
- [36] Zhao H, Wang ZC, Wang KF, et al.  $A\beta$  peptide secretion is reduced by *Radix Polygalae*-induced autophagy *via* activation of the AMPK/mTOR pathway [J]. *Mol Med Rep*, 2015, 12: 2771-2776.
- [37] Du B, Zhang Z, Li N. Madecassoside prevents  $A\beta_{25-35}$ -induced inflammatory responses and autophagy in neuronal cells through the class III PI3K/Beclin-1/Bcl-2 pathway [J]. *Int Immunopharmacol*, 2014, 20: 221-228.
- [38] Chang W, Teng J.  $\beta$ -Asarone prevents  $A\beta_{25-35}$ -induced inflammatory responses and autophagy in SH-SY5Y cells: down expression Beclin-1, LC3B and up expression Bcl-2 [J]. *Int J Clin Exp Med*, 2015, 8: 20658-20663.
- [39] Xue Z, Guo Y, Zhang S, et al.  $\beta$ -Asarone attenuates amyloid  $\beta$ -induced autophagy *via* AKT/mTOR pathway in PC12 cells [J]. *Eur J Pharmacol*, 2014, 741: 195-204.
- [40] Deng M, Huang L, Ning B, et al.  $\beta$ -Asarone improves learning and memory and reduces acetyl cholinesterase and  $\beta$ -amyloid 42 levels in APP/PS1 transgenic mice by regulating Beclin-1-dependent autophagy [J]. *Brain Res*, 2016, 1652: 188-194.
- [41] Li J, Cui X, Ma X, et al. rBTI reduced  $\beta$ -amyloid-induced toxicity by promoting autophagy-lysosomal degradation *via* DAF-16 in *Caenorhabditis elegans* [J]. *Exp Gerontol*, 2017, 89: 78-86.
- [42] Nabavi SF, Sureda A, Dehpour AR, et al. Regulation of autophagy by polyphenols: paving the road for treatment of neurodegeneration [J]. *Biotechnol Adv*, 2018, 36: 1768-1778.
- [43] Stefani M, Rigacci S. Beneficial properties of natural phenols: highlight on protection against pathological conditions associated with amyloid aggregation [J]. *Biofactors*, 2014, 40: 482-493.
- [44] Xu P, Li Z, Wang H, et al. Triptolide inhibited cytotoxicity of differentiated PC12 cells induced by amyloid- $\beta_{25-35}$  *via* the autophagy pathway [J]. *PLoS One*, 2015, 10: e0142719.
- [45] Steele JW, Ju S, Lachenmayer ML, et al. Latrepirdine stimulates autophagy and reduces accumulation of  $\alpha$ -synuclein in cells and in mouse brain [J]. *Mol Psychiatry*, 2013, 18: 882-888.
- [46] Steele JW, Lachenmayer ML, Ju S, et al. Latrepirdine improves cognition and arrests progression of neuropathology in an Alzheimer's mouse model [J]. *Mol Psychiatry*, 2013, 18: 889-897.
- [47] Li LS, Lu YL, Nie J, et al. *Dendrobium nobile* Lindl alkaloid, a novel autophagy inducer, protects against axonal degeneration induced by  $A\beta_{25-35}$  in hippocampus neurons *in vitro* [J]. *CNS Neurosci Ther*, 2017, 23: 329-340.
- [48] Liu X, Hao W, Qin Y, et al. Long-term treatment with *Ginkgo biloba* extract EGb 761 improves symptoms and pathology in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease [J]. *Brain behav immun*, 2015, 46: 121-131.
- [49] Gu MY, Kim J, Yang HO. The neuroprotective effects of justicidin A on amyloid  $\beta_{25-35}$ -induced neuronal cell death through inhibition of Tau hyperphosphorylation and induction of autophagy in SH-SY5Y cells [J]. *Neurochem Res*, 2016, 41: 1458-1467.
- [50] Meng X, Luo Y, Liang T, et al. Gypenoside XVII enhances lysosome biogenesis and autophagy flux and accelerates autophagic clearance of amyloid- $\beta$  through TFEB activation [J]. *J Alzheimers Dis*, 2016, 52: 1135-1150.