115(4):283 – 285.
[24] 张 帆. 术中"井喷"对人工耳蜗植入结果对影响[D]. 郑州:郑州大学第一附属医院,2014:21 – 38.
[25] 殷善开,王林娥,吴雅琴,等. 耳道上径路耳蜗植入术[J]. 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志,2008,43(2):105 – 108.
[26] 刘寒波,冯 永,陈登明,等. 经外耳道后上径路人工耳蜗植入手术入路和相关解剖关系研究[J]. 临床耳鼻咽喉头颈外科杂志,2007,21(10):447 – 449.
[27] Postelmans JT, Grolman W, Tang RA, et al. Comparison of two approaches to the management of cochlear implantation[J]. Laryngoscope, 2009,119(8):1571 – 1578.
[28] Colletti V, Fiorino FG, Carner M, et al. Basal turn cochleostomy via the middle fossa route for cochlear implant insertion[J]. Am J Otol, 1998, 19(6):778 – 784.
[29] 曹丽红. 颅中窝入路耳蜗底转开窗人工耳蜗植入术的解剖学研究[D]. 天津:天津医科大学,2008:22 – 24.
[30] Colletti V, Fiorino FG, Saccetto L, et al. Improved auditory performance of cochlear implant patients using the middle fossa approach[J]. Audiology, 1999, 38(4):225 – 234.
[31] Szyfter W, Colletti V, Pruszewicz A, et al. Cochlear implantation through the middle fossa approach[J]. Otolaryngol Pol, 2001, 55(4): 389 – 393.
[32] Hausler R. Cochlear implantation without mastoidectomy: the pericanal electrode insertion technique[J]. Acta Otolaryngol, 2002, 122(7): 715 – 719.
[33] Kiratzidis T. 'Veria operation': cochlear implantation without a mastoidectomy and a posterior tympanotomy[J]. Adv Otorhinolaryngol, 2000, 57:127 – 130.
[34] Kiratzidis T, Arnold W, Iliades T. Veria operation updated. I. The trans-canal wall cochlear implantation[J]. ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec, 2002, 64(6):406 – 412.
[35] Gibson WPR, Fracs MD. Surgical technique for inserting the cochlear multi-electrode arry into ears with total neo-ossification[J]. Ann Otol Rhinol Laryngol, 1995, 104(suppl 166):414.
[36] Ito J, Sakota TH, Hazama M, et al. Surgical considerations regarding cochlear implantation in the congenitally malforomed cochlea[J]. Otolaryngol Head Neck Surg, 1999, 121(4):495 – 498.
[37] Mcelveen JT, Carrasco VN, Miyamoto RT, et al. Cochlear implantation in common cavity malformationgs using a transmatiod labyrinth otomy approach[J]. Laryngoscope, 1997, 107(8):1032 – 1036.
[38] O'Donoghue GM, Nikolopoulos TP. Minimal access surgery for pediatric cochlear implantation[J]. Otol Neurotol, 2002, 23(6):891 – 894.
[39] 李永新,张国平,郑 军,等. 微创人工耳蜗植入技术[J]. 中国医学文摘耳鼻咽喉科学,2011,26(2):78 – 79.

(编辑:魏 源)

$A\beta_{1-42}$ 寡聚体与阿尔茨海默病研究综述

郑衍芳,宋志语,吕文昌,周 袁,张文权,郑丽萍,孙田静 (遵义医学院珠海校区生理学教研室,广东 珠海 519041)

Ab-derived diffusible ligand and research of Alzheimer's disease

ZHENG Yan-fang, SONG Zhi-yu, LYU Wen-chang, ZHOU Yuan, ZHANG Wen-quan, ZHENG Li-ping, SUN Tian-jing
(Department of Physiology, Zhuhai Campus, Zunyi Medical College, Zhuhai Guangdong 519041, China)

[关键词] Aβ 寡聚体;阿尔茨海默病;毒性
[中图分类号] R749.16 [文献标识码] A [文章编号] 1672-5042(2016)02-0142-03

阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)是一种多发于老年人的神经系统退行性疾病。临床上表现为记忆障碍、认知障碍、丧失语言能力、丧失认知能力、不能学习新事物及人格和行为等改变的全面性痴呆。在病理方面以神经细胞内的神经元纤维缠结(neurofibrillary tangles, NFTs)、神经细胞间的神经炎性斑(senile plaque, SP)、神经细胞丧失与突触改变为特征。目前,其发病机制仍不甚明了,大多认为是遗传、老化和环境等多种因素的共同结果。其中以 β-淀粉样蛋白(amyloid β-protein, Aβ)级联假说最受关注,该假说认为大量的 β-淀粉样蛋白在脑内沉积形成老年斑是 AD 最具特征的病理改变,与 AD 的认知功能障碍和病理变化有关。随着世界人口老龄化的加剧,其发病率逐年增高,成功建立 AD 模型无疑是研究该疾病的关键步骤,故选用合适的诱导剂更加重要。Aβ 主要有 $A\beta_{1-40}$、$A\beta_{1-42}$、$A\beta_{1-43}$ 3 种类型,其中 $A\beta_{1-42}$ 寡聚体对神经细胞产生的毒性作用较强,更能促使 Aβ 纤维的聚集,形成老年斑,也更能模拟 AD 的发展过程。

1 Aβ 寡聚体的形成

β-淀粉样蛋白是分子量约为 4 kDa,含 39 ~ 43 个氨基酸的肽段。Aβ 是大脑内的正常产物,是由 β 淀粉样前体蛋白(β-amyloid precursor protein, APP)经 γ-分泌酶和 β-分泌酶的蛋白水解而来的,二者均为跨膜糖蛋白[1]。机体内存在 Aβ 清除体系,脑实质内的蛋白

doi:10.11659/jjssx.03E015057
[基金项目] 国家自然科学基金(31040075)
[收稿日期] 2015-09-28 [修回日期] 2015-10-15

水解酶将其降解或转运到血浆和脑脊液中再降解从而清除,使机体内 Aβ 水平处于相对稳定状态。Aβ 循环于血液、脑间质液和脑脊液中,主要有 $Aβ_{1-40}$、$Aβ_{1-42}$、$Aβ_{1-43}$ 3 种类型,$Aβ_{42/43}$为 β 片层结构,疏水性很强,容易沉积,具有神经毒性。

Aβ 产生后经过各种形式的组装,单体聚集可形成寡聚体,再形成原纤维与纤维,不同形式的 Aβ 对 AD 发病的机制不同。其中聚集状态的 Aβ 毒性最大。Aβ 寡聚体是由 Aβ 蛋白聚集而自发转换形成的,包括 10 聚以下的低分子量的寡聚体和聚合度为 20 ~ 40 的高分子量的寡聚体[2]。不同类型的寡聚体其组成成分与稳定性也不同。Aβ 寡聚体和纤维状聚集物都是 AD 患者脑内重要的病理改变,但 Aβ 的神经毒性主要来源于可溶性的 Aβ 寡聚体。AD 患者的认知状态与大脑内 Aβ 寡聚体浓度有着密切的关系,而与沉积的密度无关[3]。

2 $Aβ_{1-42}$寡聚体的毒性

2.1 $Aβ_{1-42}$寡聚体的毒性机制

Aβ 以寡聚体或纤维体 2 种形式存在于人体,这 2 种形式的聚集物对神经元的损伤程度不同[4]。早期观点认为 APP 经 β 和 γ 水解酶水解后形成的 Aβ 聚集成不溶性的纤维,是老年斑的主要组成成分,是引起神经元死亡并导致 AD 的主要因素。2002 年 Hardy 等[5]提出了不同的假说,即 β-淀粉样蛋白级联假说。该学说认为 AD 患者在早期时出现记忆缺失是由于神经元突触障碍,认为 Aβ 寡聚体在 AD 的发生与发展中占有重要的地位,Aβ 寡聚体较 Aβ 纤维聚集物而言有更大的神经毒性。大量实验表明低浓度的 $Aβ_{1-42}$寡聚体就可以直接导致神经元的损伤[6-7],且随着浓度的升高表现出线性关系[8]。

Aβ 寡聚体的毒性机制:①对氧化应激的影响。Aβ 可以诱发氧化应激,不仅其自身可以作为氧自由基的供体,还可以与特异性受体结合从而激活小胶质细胞,产生大量的自由基,从而对神经元产生氧化应激作用[9-10]。②引起 Ca^{2+}紊乱。Aβ 能破坏细胞膜上 K^+通道或在细胞膜上形成小通道,致使大量的 Ca^{2+}内流,细胞内 Ca^{2+}增加。紊乱的 Ca^{2+}又反过来损伤细胞,使细胞的结构与功能遭到破坏,由此形成了一个恶性循环。③与细胞膜表面受体的相互作用。Aβ 寡聚体可以使兴奋性的天冬氨酸受体 2(NMDA receptors-2,NMDA2Rs)活化,从而使线粒体功能紊乱、神经元死亡、活性氧 ROS 产生。④细胞内的 Aβ 寡聚体。细胞内 Aβ 的聚集也是 AD 的重要病理特征[11],健康人的大脑在神经元活动时可释放 Aβ,且 Aβ 的产生与降解是保持平衡的,但当淀粉样前体蛋白出现过度表达或基因突变时,会引起 Aβ 的异常沉积[12]。⑤打破 Bax 与 Bcl-2 之间的平衡。Bax 与 Bcl-2 是一组功能相反的基因,二者组成一个平衡体系。Bcl-2 过多时可抑制细胞凋亡,Bax 过多加速细胞凋亡,Aβ 寡聚体可以上调 Bax 蛋白水平,下调 Bcl-2 蛋白水平,从而引起细胞凋亡[13]。

2.2 不同聚集态的 Aβ 毒性作用比较

Aβ 的纤维化和寡聚体都是 AD 患者大脑内重要的病理特征,Aβ 在凝集成纤维聚集物时,具有过氧化损伤,可引起炎症反应等,对 AD 的病理过程起重要作用。不同状态的 Aβ 对神经元的损伤作用不同。孔繁军等[14]用单体、寡聚体以及纤维化的 Aβ 来损伤大鼠海马 CA1 区,从而制作 AD 大鼠模型,再用流式细胞术来检测患 AD 的大鼠不同脑区的细胞凋亡情况。Aβ 的毒性与凝集度不呈正相关,不是凝集度越大毒性就越大,Aβ 单体没有毒性,Aβ 寡聚体的毒性最大,在低浓度时即可对细胞产生损伤作用。Aβ 寡聚体可导致神经元的凋亡,并随着浓度的升高其毒性也随之增强。而寡聚体在经过一系列的组装转化为纤维化 Aβ 后毒性反而降低。

3 $Aβ_{1-42}$寡聚体与阿尔茨海默病

3.1 Aβ 寡聚体与阿尔茨海默病

目前,β-淀粉样蛋白级联假说已被广泛接受,认为 Aβ 的聚集是 AD 发病的主要因素。有研究表示,Aβ 参与了 AD 记忆早期的损害,Aβ 可以增加皮质神经细胞 NMDA 受体的内吞作用,持续且快速地抑制由 NMDA 引起的神经元的电活动[15]。Aβ 与 NMDA 受体结合后会引起神经元内的 Ca^{2+}水平异常增高。Aβ 与 AMPAR 结合后,可降低 AMPAR 的活性,刺激 AMPAR 的酶解和胞吞作用,影响长时程增强效应(LTP)的维持,从而导致认知功能障碍[16]。

Aβ 寡聚体有二聚体、三聚体、四聚体、六聚体、九聚体、十二聚体,其中以三聚体为主,以寡聚体的形式在细胞外发挥毒性。淀粉样物质衍生的可扩散性配体(ADDLS)是 Aβ 寡聚体最大的毒性形式,这种毒性物质在较低浓度下即可对胆碱能神经元、海马神经元等神经元产生损伤作用[17]。Aβ 寡聚体在 AD 的发病过程中占有重要地位,不仅可以直接引起细胞凋亡,还能与其他致病因素一起引发细胞凋亡。

3.2 3 种 Aβ 在 AD 建模中的评价

$Aβ_{1-42}$、$Aβ_{1-40}$与 $Aβ_{25-35}$三者均来自 APP,但各自的结构及与 AD 的关系各不同。$Aβ_{1-40}$是脑脊液与脑质膜中的正常产物,但由于 $Aβ_{1-42}$具有较强的疏水性,容易

聚集导致老年斑的形成[18],所以认为 $A\beta_{1-42}$ 是淀粉样斑块形成过程中的重要因素。$A\beta_{1-42}$ 与 $A\beta_{25-35}$ 都能复制 AD 模型,但其所致的病理特点存在差异。王建秀等[19]通过原子力显微镜观察 $A\beta_{1-42}$ 与 $A\beta_{25-35}$ 后发现,用传统方法孵育 7 h 后 $A\beta_{1-42}$ 原纤维聚集量多,单体与寡聚体少,72 h 后原纤维可以变长,生出许多分支,更有利于沉积。而 $A\beta_{25-35}$ 纤维结构短,没有典型的螺旋状态。模型复制成功的关键在于 Aβ 纤维的聚集,$A\beta_{25-35}$ 与 $A\beta_{1-42}$ 相比没有 $A\beta_{1-42}$ 更能促使纤维的聚集,形成老年斑。从预防与淀粉样斑块的聚积发面来说 $A\beta_{1-42}$ 具有疏水性,因此认为 $A\beta_{1-42}$ 更能模拟 AD 的发展过程[20]。同时在 AD 的治疗过程中,有研究表明,通过 $A\beta_{1-42}$ 免疫 APP 转基因小鼠可以有效预防营养不良性神经突、淀粉样斑块的发展[21]。由此可见,$A\beta_{1-42}$ 不仅可以用于 AD 模型的建立,而且对抗 $A\beta_{1-42}$ 的方法也具有预防 AD 发展的作用。

4 展望

最新的研究表明,可溶性的 Aβ 寡聚体有较大的神经毒性,与 AD 的认知功能障碍和病理变化有关[22]。有研究报道,在 Tg2576AD 转基因的小鼠和 AD 患者的大脑组织中可检测到可溶性 Aβ 寡聚体,越来越多的证据显示 Aβ 寡聚体是导致 AD 患者早期记忆缺失、认知功能障碍与病理变化的元凶[23],但其中还有很多未知的领域等待我们去探索,比如寡聚体的形成时间、形成部位与其神经毒性之间的关系等。故对于 Aβ 寡聚体的毒性以及进一步的应用是我们需要积极研究的,这将对 AD 的治疗与诊断起着关键性作用,希望在将来有更多预防甚至治疗 AD 的方法和药物。

[参考文献]

[1] Sondag CM, Dhawan G, Combs CK. Beta amyloid Oligomers and fibrils stimulate differential activation of primary microglia[J]. J Neuroinflammation,2009,6:1.

[2] 张 玮. 可溶性 β 淀粉样蛋白寡聚体对神经突触可塑性及学习记忆的影响[J]. 遵义医学院学报,2012,35(6):543 - 547.

[3] Shankar GM, Li S, Mehta TH, et al. Amyloid-beta protein dimers isolated directly from Alzheimer's brains impair synaptic plasticity and memory[J]. Nat Med,2008,14(8):837 - 842.

[4] Ladiwala AR, Litt J, Kane RS, et al. Conformational differences between two amyloid β oligomers of similar size and dissimilar toxicity[J]. J Biol Chem,2012,287(29):24765 - 24773.

[5] Hardy J, Selkoe DJ. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: progress and problems on the road to therapeutics[J]. Science, 2002, 297(5580):353 - 356.

[6] Haass C, Selkoe DJ. Soluble protein oligomers in neurodegeneration: lessons from the Alzheimer's amyloid beta-peptide[J]. Nat Rev Mol Cell Biol,2007,8(2):101 - 112.

[7] Ferreira ST, Vieira MN, De Felice FG. Soluble protein oligomers as emerging toxins in Alzheimer's and other amyloid diseases[J]. IUBMB Life, 2007,59(4-5):332 - 345.

[8] 张云鹤,张一娜,刘 歆,等. Aβ1-42 诱导原代海马神经细胞建立阿尔茨海默病细胞模型[J]. 中国老年学杂志,2011,31(11):2017 - 2029.

[9] Allaman I, Gavillet M, Bélanger M, et al. Amyloid-beta aggregates cause alterations of astrocytic metabolic phenotype: impact on neuronal viability[J]. J Neurosic, 2010,30(9):3326 - 3338.

[10] Lamoke F, Labazi M, Scarinic F, et al. Implication of the small-G protein Rac-l in amyloid beta induced oxidative stress and retinal cells toxicity[J]. Invest Ophthalmol Vis Sic,2010,51:3503 - 3512.

[11] Gouras GK, Almeida CG, Takahashi RH. Intraneuronal Abeta accumulation and origin of plaques in Alzheimer's disease[J]. Neurobiol Aging, 2005,26(9):1235 - 1244.

[12] 张锦辉,郑琳琳. 淀粉样 β-蛋白在阿尔茨海默病突触可塑性中的作用[J]. 辽东学院学报,2014,21(2):95 - 98.

[13] 王玉香,曾爱源,李清华. β-淀粉样蛋白在阿尔茨海默病中的作用研究进展[J]. 中国老年学杂志,2014,16(12):3495 - 3497.

[14] 孔繁军,陈 强,周 亮,等. 单体、寡聚体及纤维状 Aβ 毒性作用的比较研究[J]. 中国实验诊断学,2012,16(9):1569 - 1571.

[15] Snyder EM, Nong Y, Almeida CG, et al. Regulation of MNDA receptor trafficking by amyloid-beta[J]. Nat Neurosci,2005,8(8):1051 - 1058.

[16] 陈林丽,徐 丽. Aβ 聚集的影响因素和 Aβ 寡聚体的生理功能[J]. 中国老年学杂志,2012,32(17):3848 - 3850.

[17] 孙婧霞,陈 雪,蒋常文. Aβ 寡聚体与阿尔茨海默病的研究进展[J]. 临床医学工程,2012,19(12):2274 - 2276.

[18] Junq SS, Nalbantoglu J, Cashman NR. Alzheimer's beta-amyloid precursor protein is expressed on the surface of immediately ex vivo brain cell: a flow cytometric study[J]. J Neurosci Res,1996,46(3):336 - 348.

[19] 王建秀,王德生,段淑荣,等. 原子力显微镜观察不同 Aβ 聚集状态的研究[J]. 中国现代医学杂志,2008,18(1):33 - 35.

[20] 罗 磊,杜艳军,孙国杰. $A\beta_{1-40}$、$A\beta_{1-42}$ 与 $A\beta_{25-35}$ 在阿尔茨海默病模型复制中的评价[J]. 中国老年学杂志,2014,34(9):2585 - 2587.

[21] Schenk D, Barbour R, Dunn W, et al. Immunization with amyloid-beta attenuates Alzheimer-disease-like pathologyin the PDAPP[J]. Nature, 1999,400(6740):173 - 177.

[22] Nasica-Labouze J, Nguyen PH, Sterpone F, et al. Amyloid β protein and Alzheimer's disease: when computer simulations complement experimental studies[J]. Chem Rev,2015,115(9):3518 - 3563.

[23] Karla SP, Fernando PO. Cellular and network mechanisms underlying memory impairment induced by amyloid β protein[J]. Prot Pept Lett, 2015,22(4):303 - 321.

(编辑:魏 源)