

文章编号: 1004-0374(2009)04-0504-04

β 淀粉样蛋白对线粒体作用的研究进展

陈 林¹, 黄汉昌², 姜招峰^{2*}

(1 首都师范大学生命科学院, 北京 100048; 2 北京联合大学应用文理学院, 北京 100191)

摘 要: 阿尔茨海默病的一个重要病理特征是胞外 β 淀粉样蛋白沉积形成的老年斑, β 淀粉样蛋白可以引起氧化损伤以及神经细胞凋亡等。随着研究的深入,在细胞内也发现了 β 淀粉样蛋白的存在。线粒体是细胞内ATP和活性氧自由基产生的主要部位,在氧化损伤和细胞凋亡过程中起到重要的作用。近年的研究表明, β 淀粉样蛋白对线粒体有很重要的作用。该文主要针对这一领域的进展,介绍了阿尔茨海默病中 β 淀粉样蛋白对线粒体多个生理过程的作用以及这些作用在阿尔茨海默病中产生的影响。

关键词: β 淀粉样蛋白; 线粒体; 阿尔茨海默病

中图分类号: Q51; R749.1 **文献标识码:** A

Advances in understanding the effect of amyloid- β on mitochondrial

CHEN Lin¹, HUANG Han-chang², JIANG Zhao-feng^{2*}

(1 College of Life Sciences, Capital Normal University, Beijing 100048, China;

2 College of Arts and Science of Beijing Union University, Beijing 100191, China)

Abstract: Alzheimer's disease (AD) is characterized by the impairment of cognitive functions and changes in behavior and personality. Mitochondrial oxidative damage and synaptic pathology have recently been reported as early events in AD progression. Increasing evidence suggests that amyloid- β might be the causal factor of mitochondrial oxidative damage and synaptic pathology in AD and the effect of amyloid- β on mitochondrial might be an upstream event in the pathogenesis of AD. In this review we made a summary of the effect of amyloid- β on mitochondrial in Alzheimer's disease.

Key words: amyloid- β ; mitochondrial; Alzheimer's disease

阿尔茨海默病是以智力衰退为主要表现的神经退行性疾病,其临床表现为记忆和认知功能的退化,主要病理特征是大脑中胞外 β 淀粉样蛋白沉积和胞内神经纤维缠结以及神经元凋亡。阿尔茨海默病的致病机理尚未明确,但是 β 淀粉样蛋白一直受到研究者的关注,目前比较流行的 β 淀粉样蛋白级联假说认为 β 淀粉样蛋白是阿尔茨海默病的始发因素,其可以引起神经元的氧化损伤以及微管相关蛋白(Tau)的过度磷酸化,继而引起神经纤维缠结的发生,最终引起细胞凋亡,我们实验室已对此作了系统的探讨^[1],但是具体机制尚不明确。在这一过程中线粒体处于重要的位置,一方面,线粒体是细胞内ATP和活性氧自由基(reactive oxygen species, ROS)产生的主要部位,这和神经元的氧化损伤有重

要的关系;另一方面,目前已有研究显示线粒体的功能损伤能引起Tau蛋白的过度磷酸化^[2]。因此, β 淀粉样蛋白引起的线粒体损伤很可能是阿尔茨海默病发病上游的重要因素,探讨 β 淀粉样蛋白对线粒体的作用,这对阿尔茨海默病研究有重要的意义。

1 β 淀粉样蛋白在线粒体中的积累

β 淀粉样蛋白是淀粉样前体蛋白(amyloid- β protein precursor, APP)在 β 和 γ 裂解酶的作用下裂解形成的多肽片段, β 淀粉样蛋白的神经毒性在阿尔茨

收稿日期: 2009-06-03; 修回日期: 2009-06-17

基金项目: 北京市属高等学校人才强教计划资助项目 (PHR20090513)

*通讯作者 E-mail: zhaofeng@buu.edu.cn

海默病中的重要性已得到广泛认可, 但是 β 淀粉样蛋白损伤神经元的机制尚不明确。越来越多的研究显示, β 淀粉样蛋白除了在胞外形成老年斑以外, 其在胞内特别是线粒体内的神经毒性很可能是阿尔茨海默病发病的一个重要原因^[3]。一方面, 对阿尔茨海默病患者的尸检和过量表达 APP 的转基因小鼠神经元的线粒体内均发现有大量 β 淀粉样蛋白的存在^[4]; 另一方面, Falkevall 等^[5]在阿尔茨海默病患者神经元线粒体中发现了一种特异降解 β 淀粉样蛋白的前序肽酶, 这就从侧面证明了线粒体中 β 淀粉样蛋白积累的事实。此外, 在阿尔茨海默病患者和过量表达 APP 的转基因小鼠线粒体中还发现有大量 APP 的存在, 所以线粒体中 β 淀粉样蛋白的来源可能存在两种途径: 一种是 APP 运送到线粒体内后裂解产生 β 淀粉样蛋白; 另外一种是在线粒体外产生, 然后通过线粒体膜运送到线粒体内。Hansson Petersen 等^[6]最近研究了 β 淀粉样蛋白通过线粒体膜运送到线粒体内的机制, 他们发现 β 淀粉样蛋白可以通过线粒体上外膜转位酶复合体 (TOM) 运送到线粒体内, 并且在线粒体内膜的嵴上积累。 β 淀粉样蛋白在线粒体中的积累很可能是 β 淀粉样蛋白神经毒性的重要起始因素, 这一积累影响了线粒体的结构, 改变了线粒体的正常生理功能。比如有研究发现 β 淀粉样蛋白在线粒体内膜中积累影响了核编码蛋白质向线粒体的运输^[7], 这很可能是神经元损伤, 甚至凋亡的重要因素。

2 β 淀粉样蛋白对线粒体结构的影响

正常的线粒体都处于融合和分裂的动态平衡中以应对细胞动态能量需求变化。在哺乳动物细胞中, 融合过程需要视神经萎缩蛋白 1 (optic atrophy 1, OPA1)、线粒体融合蛋白 1 (mitofusin1, Mfn1) 和线粒体融合蛋白 2 (mitofusin2, Mfn2) 的介导, 分裂过程需要分裂蛋白 1 (Fis1) 和动力相关蛋白 Dlp/Drp1 的介导^[8]。线粒体过度的融合会导致线粒体连接过多, 而过度的分裂则会导致线粒体的破碎, 两者都会引起线粒体活动性的降低、能量产生的减少, 最终引起细胞损伤和凋亡^[9]。 β 淀粉样蛋白对这一过程有重要的影响, Wang 等^[10]在最近的研究中利用了转染 APP cDNA 的人神经母细胞瘤 M17 细胞过量表达 APP 以及 β 淀粉样蛋白, 通过激光共聚焦显微镜发现, 与对照组相比, 转染了 APP cDNA 的细胞中线粒体的形态和分布都发生了重要变化, 形态上呈分裂状的线粒体占总线粒体的比重大大上

升, 而且与对照组线粒体散布状态相比, 过量表达 APP 的细胞中线粒体大都集中到了核周区。进一步的研究发现, 当加入不影响 APP 产生却影响 β 淀粉样蛋白产生的 β 裂解酶抑制剂 IV 后, 上述形态和分布异常的线粒体得到了有效缓解, 这说明了过量产生的 β 淀粉样蛋白而不是过量产生的 APP 在线粒体结构异常中起主要作用。Wang 等^[10]还研究了过量表达 APP 的细胞中融合/分裂相关蛋白的表达水平, 研究显示 Dlp/Drp1 和 OPA1 的表达量明显减少而 Fis1 蛋白的表达量急剧上升。综上所述, 过量表达的 β 淀粉样蛋白可以通过影响线粒体融合/分裂相关蛋白的表达水平影响线粒体融合/分裂的动态平衡, 进而改变了线粒体的结构造成线粒体的损伤。而针对这一过程的具体机制, 动力相关蛋白 Dlp/Drp1 与 β 淀粉样蛋白的关系受到了更多的关注, 最近 Cho 等^[11]发现, 在 β 淀粉样蛋白寡聚体的作用下, 小鼠大脑皮层神经元中形成了大量 S-亚硝基化形式的 Drp1, 这一发现与阿尔茨海默病患者大脑组织研究结果一致, 进一步的研究显示了 β 淀粉样蛋白寡聚体通过一系列的氧化还原反应使 Drp1 发生 S-亚硝基化, 产生了大量的 S-亚硝基化形式的 Drp1 (SNO-Drp1), 而 SNO-Drp1 引起了 GTP 酶区域构象变化并增加了其活性, 这一过程加剧了线粒体的破碎并引起突触损伤和神经细胞凋亡, 在这一过程中 Drp1 上的半胱氨酸 644 位点起了重要作用, 该位点的突变缓解了 Drp1 的 S-亚硝基化, 所以 Drp1 很可能是阿尔茨海默病的潜在治疗位点。值得注意的是, 在这一过程中 Drp1 的 GTP 酶区域构象发生了变化并引起活性变化, 这与阿尔茨海默病中线粒体 ATP 代谢变化是否相关, 值得进一步的探索。

3 β 淀粉样蛋白对线粒体 ATP 产生的影响

能量代谢功能的减弱是阿尔茨海默病中一个重要的早期症状, 而在神经细胞中绝大多数能量都由线粒体供应, 所以阿尔茨海默病中线粒体产能过程的变化一直深受研究者的关注。正常的线粒体的内膜上有氧化呼吸链系统, 可以将代谢物脱下的 H^+ 或电子经过一系列的传递体 (复合体 I-V) 的传递最终传递给分子氧形成水, 同时产生 ATP。对阿尔茨海默病患者的尸检显示细胞色素 C 氧化酶 (复合体 IV) 的活性缺失。越来越多的证据显示, β 淀粉样蛋白对线粒体 ATP 生成的影响可能是 β 淀粉样蛋白增加了神经元易损性, 使其更易受到氧化损伤的影响, 损伤了氧化呼吸链, 导致能量代谢功能的减弱^[12]。越

来越多的研究显示, 相对于胞外 β 淀粉样蛋白聚集体, 胞内可溶的 β 淀粉样蛋白寡聚体对阿尔茨海默病的发病起了更主要的作用, 而且对线粒体产能的影响也更显著^[13]。根据这一观点, Rhein等^[14]利用转染过量表达APP的人神经母细胞瘤SH-SY5Y细胞研究了胞内 β 淀粉样蛋白对呼吸链以及ATP产生的影响, 发现内源性可溶的 β 淀粉样蛋白对呼吸链中复合体I和II的活性没有明显影响, 但明显减少了复合体IV——细胞色素C氧化酶的活性; 值得注意的是复合体III的活性却增加了, Rhein等^[14]认为这可能是线粒体对复合体IV受到 β 淀粉样蛋白作用抑制后发生的一种补偿效应, 尽管这一效应并不能有效缓解呼吸链已经受到的损伤。此外, 在过量表达APP的细胞中ATP的产生量明显下降, 这就说明内源性可溶的 β 淀粉样蛋白对线粒体ATP的产生有明显抑制作用, 这很可能是阿尔茨海默病上游发病机制之一。

4 β 淀粉样蛋白对线粒体氧自由基产生的影响

氧化损伤和突触功能缺失也是阿尔茨海默病的重要特征。在阿尔茨海默病患者中, 氧化损伤主要是由于体内的ROS产量过高, 从而造成包括蛋白质、脂质体、DNA和RNA在内的多种底物发生氧化应激, 影响细胞的正常功能。而在细胞中线粒体是产生ROS的主要部位。ROS的产生与ATP的代谢密切相关, 在线粒体的产能过程中, 只有少量的电子通过了电子传递链, 剩余的大部分电子都在线粒体的复合体I和复合体III中与氧分子发生反应, 产生超氧阴离子自由基, 并转化为活性氧自由基^[15]。我们实验室早些时候已经证明了 β 淀粉样蛋白可以提高体外培养神经元ROS的产生水平^[16], β 淀粉样蛋白对线粒体氧自由基产生主要有两方面的影响。一方面, 大量的实验采用不同的方法均表明 β 淀粉样蛋白可以通过损伤呼吸链复合体IV引起胞内ROS过量产生^[17], 产生这一过程的可能机制有^[18]: (1) β 淀粉样蛋白可以在线粒体膜上阻断核编码的复合体IV亚基向线粒体内的运输; (2) β 淀粉样蛋白与亚铁血红素的螯合物具有过氧化物酶的活性, 可以引起胞内多种分子的过氧化反应; (3) β 淀粉样蛋白与线粒体内乙醇脱氢酶(amyloid- β binding alcohol dehydrogenase, ABAD)的相互作用, 促使ROS的释放和线粒体的功能失活。另一方面, β 淀粉样蛋白可以损伤线粒体的抗氧化系统, 减弱细胞清除氧自由基的能力, 正常的细胞内有强大的抗氧化系统

可以有效清除细胞内的ROS, 但是当体内的ROS产生量超过正常的抗氧化系统清除能力的时候, 便发生了氧化应激。大脑中由于含有高浓度的氧分子和大量的多不饱和脂肪酸, 并且相对其他器官而言其中的抗氧化剂含量较低, 所以它更易受氧化应激的影响。 β 淀粉样蛋白可以损伤线粒体的抗氧化系统特别是超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD), 最近, Dumont等^[19]从另外一个角度建立了线粒体抗氧化酶MnSOD与 β 淀粉样蛋白的关系, 通过可以过量表达APP的Tg19959转基因小鼠与过量表达MnSOD小鼠的杂交实验, 发现在杂交小鼠后代中具有过量表达MnSOD基因的小鼠中出现了氧化应激水平的减少、 β 淀粉样蛋白沉积和记忆缺失程度的缓解症状。这是首次在体内证明了在转基因小鼠中通过遗传增强线粒体抗氧化系统可以保护突触以及缓解阿尔茨海默病的症状。

5 β 淀粉样蛋白对线粒体钙离子浓度的影响

β 淀粉样蛋白诱导ROS过量产生的机制有许多, 除了上文讲到的可能与线粒体产能过程相关外, 线粒体钙离子的稳态失调很可能也是一种重要因素。钙离子是细胞内一种重要的离子, 它作为二级信使在多种神经细胞的生理功能中发挥作用。在正常的细胞中, 钙离子的浓度维持在一个相对稳定的水平, 保持一种动态平衡, 但是研究发现在阿尔茨海默病的神经细胞中这种平衡发生了严重改变。许多实验显示, β 淀粉样蛋白在这一过程中起到了重要作用^[20], 但是其具体机制尚不明确, 而且就不同结构的 β 淀粉样蛋白对这一动态平衡的影响尚存争议。Sanz-Blasco等^[21]最近研究了 β 淀粉样蛋白1-42对神经细胞及线粒体钙离子浓度的影响, 通过光子计数成像仪观察发现, β 淀粉样蛋白可以强烈促进细胞外的钙离子向细胞内和线粒体内流动, 引起线粒体中钙离子浓度超过正常水平, 但是只有寡聚体形式的 β 淀粉样蛋白才有此作用, 而纤维状的 β 淀粉样蛋白则无此作用。这一改变影响了线粒体膜的通透性, 导致细胞色素C的释放和ROS水平上升, 继而引起细胞凋亡。而利用抑制剂抑制线粒体中钙离子浓度的升高则会降低ROS的水平并缓解这些损伤过程。继而研究者发现一系列的非甾体类消炎药(NSAIDs), 比如水杨酸盐、舒林酸硫化物、布洛芬和R-弗比洛芬等可以使神经细胞线粒体去极化, 这将有效缓解 β 淀粉样蛋白引起的线粒体钙离子浓度过高的情况, 并且可以保护神经细胞免受损伤。

自从阿尔茨海默病被发现一百多年来, 关于其致病机制的研究一直没有停止过, β 淀粉样蛋白受到非常多的关注, 而研究发现其对线粒体的多个生理过程均有重要作用。值得注意的是, β 淀粉样蛋白对线粒体的作用很可能是阿尔茨海默病一系列病理特征的上游条件, 深入而明确地了解这一作用很可能解决下游一系列问题, 比如氧化应激、神经纤维缠结的形成以及细胞凋亡等等, 这一作用的研究将对阿尔茨海默病的治疗产生重要的意义。

[参 考 文 献]

- [1] Huang HC, Jiang ZF. Accumulated amyloid- β peptide and hyperphosphorylated tau protein: relationship and links in Alzheimer's Disease. *J Alzheimers Dis*, 2009, 16(1):15-27
- [2] Melov S, Adlard PA, Hinerfeld D, et al. Mitochondrial oxidative stress causes hyperphosphorylation of tau. *PLoS ONE*, 2007, 2(6):e536
- [3] Reddy PH. Amyloid β , mitochondrial structural and functional dynamics in Alzheimer's disease. *Exp Neurol*, 2009, 218(2):286-92
- [4] Wang XL, Su B, Zhu X, et al. Insights into amyloid- β -induced mitochondrial dysfunction in Alzheimer disease. *Free Radic Biol Med*, 2007, 43(12):1569-73
- [5] Falkevall A, Alikhani N, Johnson KA, et al. Degradation of the amyloid β -protein by the novel mitochondrial peptidase, PreP. *J Biol Chem*, 2006, 281(39):29096-104
- [6] Hansson Petersen CA, Alafuzoff I, Leinonen V, et al. The amyloid β -peptide is imported into mitochondria via the TOM import machinery and localized to mitochondrial cristae. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105(35):13145-50
- [7] Sirk D, Zhu Z, Fong J, et al. Chronic exposure to sub-lethal β -amyloid (A β) inhibits the import of nuclear-encoded proteins to mitochondria in differentiated PC12 cells. *J Neurochem*, 2007, 103(5):1989-2003
- [8] Wang XL, Su B, Zheng L, et al. The role of abnormal mitochondrial dynamics in the pathogenesis of Alzheimer's disease. *J Neurochem*, 2009, 109:153-9
- [9] Knott AB, Bossy-Wetzel E. Impairing the mitochondrial fission and fusion balance: a new mechanism of neurodegeneration. *Ann N Y Acad Sci*, 2008, 1147:283-92
- [10] Wang XL, Su B, Siedlak SL, et al. Amyloid- β overproduction causes abnormal mitochondrial dynamics via differential modulation of mitochondrial fission/fusion proteins. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105(49):19318-23
- [11] Cho DH, Nakamura T, Gu Z, et al. S-nitrosylation of Drp1 mediates β -amyloid-related mitochondrial fission and neuronal injury. *Science*, 2009, 324(5923):102-5
- [12] Reddy PH, Beal MF. Amyloid β , mitochondrial dysfunction and synaptic damage: implications for cognitive decline in aging and Alzheimer's disease. *Trends Mol Med*, 2008, 14(2):45-53
- [13] Eckert A, Hauptmann S, Drose S, et al. Oligomeric and fibrillar species of β -amyloid (A β 42) both impair mitochondrial function in P301L tau transgenic mice. *J Mol Med*, 2008, 86(11):1255-67
- [14] Rhein V, Baysang G, Muller-Spahn F, et al. Amyloid- β leads to impaired cellular respiration, energy production and mitochondrial electron chain complex activities in human neuroblastoma cells. *Cell Mol Neurobiol*, 2009, 29(6-7):1063-71
- [15] Balaban RS, Nemoto S, Finkel T. Mitochondria, oxidants, and aging. *Cell*, 2005, 120(4):483-95
- [16] Dai XL, Sun YX, Jiang ZF. Cu(II) potentiation of Alzheimer A β 1-40 cytotoxicity and transition on its secondary structure. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*, 2006, 38(11):765-72
- [17] Pensalfini A, Zampagni M, Fiorillo C, et al. Membrane cholesterol enrichment prevents A β -induced oxidative stress in Alzheimer's fibroblasts. *Neurobiol Aging*, 2009 (Epub ahead of print)
- [18] Fukui H, Moraes CT. The mitochondrial impairment, oxidative stress and neurodegeneration connection: reality or just an attractive hypothesis? *Trends Neurosci*, 2008, 31(5):251-6
- [19] Dumont M, Wille E, Stack C, et al. Reduction of oxidative stress, amyloid deposition, and memory deficit by manganese superoxide dismutase overexpression in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *FASEB J*, 2009, 23:2459-66
- [20] Celsi F, Pizzo P, Pinton P, et al. Mitochondria, calcium and cell death: A deadly triad in neurodegeneration. *Biochim Biophys Acta*, 2009, 1787(5):335-44
- [21] Sanz-Blasco S, Valero RA, Nunez L, et al. Mitochondrial Ca²⁺ overload underlies A β oligomers neurotoxicity providing an unexpected mechanism of neuroprotection by NSAIDs. *PLoS ONE*, 2008, 3(7):e2718