

DOI: 10.13376/j.cbbs/2014006

文章编号: 1004-0374(2014)01-0035-09

老年痴呆症的突触和神经环路机制

刘运进^{1,2#}, 潘洪玉^{1,2#}, 孙秉贵^{1,2*}

(1 浙江大学医学院神经科学研究所, 杭州 310058; 2 卫生部医学神经生物学重点实验室, 杭州 310058)

摘要: 老年痴呆症的主要临床表现为认知功能严重受损, 其原因可能是皮层与海马内的突触结构或功能障碍及神经环路活动异常所致。可溶性 A β 尤其是 A β 寡聚体 (而不是沉积在脑组织中的淀粉样斑块) 可能首先选择性地攻击 GABA 能抑制性神经元, 使海马或皮层内兴奋性神经元由于所受抑制减弱而过度兴奋, 进而导致神经环路或网络活动异常。神经网络异常又通过一系列的代偿反应引起突触传递和突触可塑性受损。正常生理水平的 tau 通过不同的机制在介导 A β 的突触及神经环路毒性中扮演重要角色。

关键词: 老年痴呆症; A β 寡聚体; 突触和神经环路; tau 蛋白

中图分类号: Q42; R749.16 **文献标志码:** A

Synaptic and neural circuitry mechanisms of Alzheimer's disease

LIU Yun-Jin^{1,2#}, PAN Hong-Yu^{1,2#}, SUN Bing-Gui^{1,2*}

(1 Institute of Neuroscience, Zhejiang University School of Medicine, Hangzhou 310058, China;

2 Key Laboratory of Medical Neurobiology of Ministry of Health of China, Hangzhou 310058, China)

Abstract: Cognitive dysfunction is one of the major clinical features of Alzheimer's disease (AD). Synaptic failure and aberrant network activity in the cortex and hippocampus may account for the cognitive impairment in AD. Soluble A β , especially A β oligomers, may attack the GABAergic interneurons selectively in the early stage of AD. Impairment of GABAergic interneurons results in hyperactivity of neurons and then aberrant circuitry/network activity in the hippocampus or cortex due to disinhibition. Neural circuitry or network dysfunction may cause the impairment of synaptic transmission and plasticity through compensatory responses. A β -induced synaptic and circuitry/network dysfunction is mediated by normal physiological levels of tau.

Key words: Alzheimer's disease; A β oligomers; synapse and neural circuitry; tau

老年痴呆症又称阿尔茨海默症 (Alzheimer's disease, AD) 是最常见的一种神经退行性疾病, 也是老龄人群中 (>60 岁) 导致痴呆的最主要因素^[1]。截至到 2010 年, 全球 AD 患者约 3 500 万, 其中仅中国就有约 600 万人受到 AD 的影响^[2]。随着人口老龄化的趋势越来越明显, AD 对社会医疗、经济生活等的影响将更趋严重。据估计, 如果没有有效的预防和治疗措施, 到 2050 年全球 AD 患者将达到 11 500 万, 而中国 AD 患者将增加到约 2 200 万^[3]。AD 特征性的病理变化包括聚集在细胞间的淀粉样斑块 (amyloid plaque) 和神经细胞内神经纤维缠结 (neurofibrillary tangles) 的形成等^[1]。早期对 AD 的研究认为, 脑中淀粉样斑块和神经纤维缠结可导致

神经元丢失, 从而引起学习记忆等认知功能缺陷。近来的研究发现, 相比于沉积的斑块, 可溶性的 A β 尤其是 A β 寡聚体毒性作用可能更强^[4]。另外, 动物实验发现, AD 的认知功能障碍在神经元丢失前已经出现, 说明神经元死亡不是 AD 认知症状的主要原因^[4]。越来越多的研究表明, 突触结构及功能障碍和神经环路或网络活动异常是导致认知

收稿日期: 2013-07-11

基金项目: 国家自然科学基金项目(91132713); 浙江省自然科学基金项目(LR13H090001)

同等贡献

*通信作者: E-mail: bsun@zju.edu.cn

功能丧失的重要因素^[4],但其中的机制还不十分清楚。本文主要综述AD致病因子,尤其是A β 过表达引起的突触损伤及神经环路/网络活动异常,讨论其可能的机制,并分析tau蛋白在介导A β 诱导的突触及环路障碍中的作用。

1 A β 寡聚体(A β oligomers)可能是AD的起始因子

AD患者主要的临床表现为学习记忆等认知功能下降,特征性的病理变化则包括脑中细胞外淀粉样斑块的聚集和神经细胞内神经纤维缠结的形成等。虽然Alois Alzheimer在100多年前就对AD患者脑中的淀粉样斑块和神经纤维缠结进行了描述,但直到20世纪80年代中期,人们才对其有了比较清楚的了解。Glennner等首次从CAA(cerebral amyloid angiopathy)及AD和唐氏综合征患者脑中的淀粉样斑块中分离出淀粉样蛋白(amyloid β protein, A β),从而明确了淀粉样斑块主要由A β 组成^[5-6]。神经纤维缠结则主要由tau蛋白,尤其是过度磷酸化的tau组成^[7-9]。随后的研究发现,A β 是其前体蛋白APP(amyloid precursor protein)经 β 和 γ 分泌酶顺序剪切的产物, β 分泌酶在APP的剪切位点比较恒定, γ 分泌酶则在不同位点对APP进行剪切,因而产生29~43个氨基酸组成的不同长度的A β 片段,其中大部分是由40个氨基酸组成的A β 40,A β 42所占比例较小,大约为A β 40含量的5%~10%,但与A β 40相比,A β 42更容易聚合且毒性也更强^[1]。由于唐氏综合征是因为第21对染色体多出一个拷贝而引起,且其脑组织中存在大量由A β 组成的淀粉样斑块沉积,因此,人们推测编码APP的基因定位在第21对染色体上。1987年,三个独立研究组分别克隆出了编码APP的cDNA,发现其确实位于第21对染色体^[10-12],从而证实了这一推测。APP基因突变,尤其是靠近 β 和 γ 分泌酶剪切位点附近的突变可导致AD,这些突变也可使A β 总量生成增加或使A β 42/A β 40比率增加^[13-15],提示A β 在AD发病过程中起重要作用。2012年,Stefansson博士领导的一项在冰岛进行的研究发现,APP基因的一个突变(A673T)可使A β 的产量降低40%,而携带这一基因突变的老人则免受AD的影响^[16]。另外,除了APP基因,早老素1(presenilin 1, PS1)和早老素2(presenilin 2, PS2)基因特定位点的突变也导致AD发生^[17-18];同时,这些突变无论在小鼠模型还是在人都使得A β ,尤其是A β 42的生成增加^[19]。

另一个明显影响AD发病率的遗传因素ApoE也可显著影响A β 在脑中的水平,比如ApoE4的存在可使脑中A β 的含量明显增加^[20]。以上这些研究都强烈提示,A β 是引起AD发病的重要因子。

A β 在脑中以不同的结构形式存在,包括可溶性的单体、寡聚体以及由寡聚体进一步聚合形成的纤维状结构、直至沉积的淀粉样斑块^[4]。早期的研究多认为,脑中大量沉积的淀粉样斑块是导致AD神经元死亡及认知功能障碍的原因。但后来的研究发现,脑中淀粉样斑块沉积的程度与患者的认知功能缺陷并没有很好的相关性^[21]。对过表达突变型人淀粉样前体蛋白(hAPP)的转基因小鼠进行的实验发现,突触结构和功能缺陷及记忆障碍等在淀粉样斑块形成之前已经出现^[4]。利用人工合成的A β 寡聚体、7PA2 CHO细胞(稳定表达携带V717F突变的APP751)自然分泌的A β 寡聚体、从hAPP小鼠脑组织或从AD患者脑组织中分离到的A β 寡聚体处理体外培养的脑片,结果表明A β 寡聚体可导致海马锥体神经元树突脊密度降低,并可显著影响突触传递及突触可塑性变化^[22-26]。将上述A β 寡聚体直接注射到小鼠或大鼠脑脊液,不仅可引起突触结构及功能改变,还可有效地抑制学习记忆等认知功能^[22-26]。以上这些实验证据都强烈提示,相比于沉积在脑组织中的淀粉样斑块,可溶性的A β 寡聚体对AD病程的起始和发展有更重要的作用。然而,我们并不能完全排除沉积的淀粉样斑块在AD中的作用。事实上,A β 单体、寡聚体、纤维及斑块之间很可能保持一个动态平衡,在特定情况下可以相互转化^[4]。

除了沉积在神经元外的A β ,AD患者脑的神经元中有大量的神经纤维缠结,而且神经纤维缠结形成的程度与神经元丢失及认知功能缺陷高度相关^[27]。此外,AD患者脑组织中神经纤维缠结出现在淀粉样斑块形成之前^[27]。据此,有学者提出tau蛋白的过度磷酸化及由此形成的纤维缠结可能是导致AD病变的起始因素^[27]。然而,虽然编码tau蛋白的基因的某些突变可导致额叶-颞叶痴呆(fronto-temporal dementia, FTD),但却不能引发淀粉样斑块出现,也不能导致AD发生^[27]。相反,APP、PS1、PS2(家族性AD相关的三个基因)突变引起的AD患者脑内都可发现tau的过度磷酸化及神经纤维缠结的形成^[27]。在过表达突变型tau的小鼠中注射A β 或引入突变型的hAPP,均可加快加重tau相关病理变化的出现^[28-29];然而,在突变型

hAPP 转基因小鼠中引入突变 tau 对 A β 却没有影响^[27]。此外, 从 AD 患者大脑皮层中分离到的 A β 二聚体可引起 tau 蛋白过度磷酸化^[30]。对脑脊液 (cerebrospinal fluid, CSF) 中生物标记物 (biomarkers) 研究发现, 在症状开始出现的 10~15 年前, AD 患者 CSF 中的 A β 就已经开始升高, 发病前 3~5 年时开始下降 (可能是由于淀粉样斑块的形成), 而 CSF 中 tau 蛋白水平的升高出现较晚, 接近认知功能障碍出现的时候^[27]。最近有研究表明, 在小鼠内嗅皮层 (entorhinal cortex, EC) 的第 II/III 层神经元中特异性表达突变的 hAPP, 足以引发 AD 相关的病理变化^[31]。相同部位特异性表达突变型的 tau 却不足以导致 AD 相关病变的出现^[32]。综合以上 AD 患者遗传分析、AD 实验动物及 CSF 中生物标记分子等的实验数据来看, 很可能是 A β , 尤其是 A β 寡聚体而不是 tau 在 AD 起始过程中发挥重要作用。

2 A β 调控突触传递

大多数针对 A β 的研究主要关注其对神经元的毒性作用。然而, Haass 等^[33]发现, 正常条件下培养的多种细胞 (包括人胚胎脑组织混合培养的细胞) 可合成和分泌 A β ; Seubert 等^[34]不仅从混合培养的脑细胞的培养液中分离到 A β , 而且在正常人的脑脊液中也分离到了 A β ; Cirrito 等^[35]利用在体微透析技术可在人脑脊液中检测到 A β 。A β 能由正常细胞合成和分泌并在正常体液中存在, 提示 A β 具有一定的生理功能。事实上, 在 BACE1、APP 或 PS 缺失的情况下, 突触传递受到了明显的影响, 表现在 LTP (long term potentiation) 受到抑制, 甚至会导致记忆等认知功能障碍^[36-38]。由于 BACE1、APP 或 PS 缺失均会阻止 A β 的生成, 从而提示 A β 可能对突触传递及认知等具有调控作用。但这里需要指出, BACE1、APP 或 PS 缺失除了阻止 A β 生成外, 还有其他效应, 比如影响 APP 剪切产生 AICD、s β APP 等其他片段, 它们也可能对突触传递及认知功能产生影响。为了直接观察 A β 对突触功能的作用, Puzzo 等^[39]在小鼠海马脑片的孵育液中加入不同浓度的 A β 42 (pg-ng), 结果发现皮克级的 A β 42 (接近小鼠脑中内源性 A β 42 的浓度) 可促进海马 CA1 区的 LTP。水迷宫及条件性恐惧记忆等检测表明, 注射 A β 42 (200 pmol/L) 至海马背侧部可增强小鼠的记忆能力, 但超过生理浓度的 A β 42 则显著抑制 CA1 的 LTP。进一步的实验发现, A β 42 的上述功能依赖于 nAChRs (nicotinic acetylcholine receptors)。

Abramov 等^[40]利用 A β 降解酶 neprilysin 的抑制剂处理以提高海马神经元培养液中 A β 的浓度, 结果发现轻微增加 A β (正常对照的约 1.5 倍) 可有效促进突触前神经元 (主要是活性较低的神经元) 突触囊泡的释放, 继续增加 A β 的浓度或将 A β 浓度降至很低都会降低, 甚至阻止突触囊泡的释放。因此, 综合以上分析可以看出, A β 对突触功能及认知等的影响取决于其浓度, 适当生理浓度的 A β 有助于促进突触传递, 而过高或过低浓度的 A β 对突触传递都是不利的, 主要表现为过少的 A β 影响突触前囊泡释放, 过多的 A β 则抑制突触后递质的作用通路。

适当浓度的 A β 可调控突触传递, 突触活动反过来也会影响 A β 的产生和分泌。Kamenetz 等^[41]在体外培养的海马脑片培养液中加入 GABA-A 受体抑制剂 picrotoxin 以增强突触活性, 或加入 TTX 以抑制突触活性, 结果发现突触活性增强可明显提高培养液中 A β 的浓度, 而降低突触活性则使 A β 的浓度显著降低。利用在体微透析结合 ELISA 检测技术, Cirrito 等^[35]发现在体电极刺激海马前穿质通路 (perforant pathway) 可增加脑组织间液的 A β 浓度。此外, 小鼠脑组织间液中 A β 的浓度随着睡眠-觉醒周期变化而升高或降低^[42], 说明正常生理活动中神经元活性也可调控 A β 的产生和分泌。进一步的研究表明, 突触或神经元活性改变可通过影响突触前膜 APP 的内吞或 APP 剪切酶的活性而导致 A β 浓度的变化^[43]。

综合以上分析可知, A β 可以调控突触传递, 而突触或神经元活性又能调节 A β 的生成和分泌。由于 A β 浓度超过一定范围后会抑制神经元或突触的活性, 因此, 正常生理浓度的 A β 可能以负反馈的方式在维持神经活动平衡中起作用。另外, A β 也可能通过正反馈机制调控突触前囊泡释放。

3 过量A β 与突触障碍

相比于神经元丢失及淀粉样斑块负荷, AD 末期突触数量的减少程度与患者的认知功能障碍具有最强的相关性^[44-45]。对发病初期 (2~4 年内) AD 患者的大脑皮层进行检查也发现, 其颞叶和额叶皮层中第 II/III 和第 V 层内的突触密度比正常对照下降了 25%~35%^[46]。因此, 突触障碍可能是导致 AD 患者认知功能下降的重要因素。对 AD 小鼠模型进行的研究发现, 阻止或逆转其突触功能缺失可改善小鼠的认知功能^[47-48], 为上述假说提供了有力的

证据。

突触障碍包括突触数量改变、突触传递及突触可塑性异常等。在不同的 hAPP 转基因小鼠中都发现, 海马神经元树突脊密度显著下降^[4]。由于大部分的兴奋性突触在树突脊形成, 因此树突脊密度下降提示兴奋性突触数量减少, 从而可能导致兴奋性突触传递受到抑制。此外, hAPP 小鼠海马内突触前囊泡蛋白 synaptophysin 等的表达明显减少^[1], 也提示突触数量发生了变化。电生理检测发现, 海马齿状回及 CA1 区的 LTP 明显受到抑制。这些变化在淀粉样斑块形成前就已经出现^[4], 说明可溶性的 A β 在其中起重要作用。Walsh 等^[22] 利用 7P2A 细胞获得自然分泌的可溶性 A β , 然后把含有 A β 的细胞培养液注射到大鼠脑中, 结果发现大鼠海马的 LTP 受到抑制。如果在注射前先用胰岛素降解酶 (insulin degrading enzyme, IDE) 处理含有 A β 的培养液, 其对海马 LTP 的抑制效果不受影响。因为 IDE 只降解单体 A β 而对 A β 寡聚体没有作用, 所以上述培养液中抑制海马 LTP 的应该是 A β 寡聚体。用过滤层析技术把 A β 寡聚体从上述培养液中分离出来, 然后用这些 A β 寡聚体处理培养的大鼠海马脑片, 结果发现海马锥体细胞树突脊的密度显著下降^[23]。在小鼠海马脑片上的实验发现, 同样方法制备的 A β 寡聚体可抑制小鼠海马的 LTP, 如果把它们注射到小鼠海马, 则可导致学习记忆等认知功能异常^[26]。这些结果非常清楚地表明, A β 寡聚体可导致突触减少并抑制突触可塑性, 同时可干扰认知功能。然而, 由于上述 A β 寡聚体是从体外培养的细胞中获得的, 这些结果不一定能反映真实的 AD 患者脑中 A β 的作用。为了回答这一疑问, 哈佛大学医学院 Selkoe 实验室从 AD 患者脑组织中分离到 A β 的寡聚体, 进一步的实验结果表明, 这些 A β 寡聚体可导致小鼠海马神经元树突脊密度下降、抑制 LTP、增强 LTD、并使记忆功能下降^[24]。因此, 利用不同来源的 A β 寡聚体 (7P2A CHO 细胞分泌、人工合成或从 AD 患者大脑皮层中分离而来) 在不同的实验体系 (分离培养的神经元、体外培养的脑片及在体实验等) 均证实, 过量可溶性 A β , 尤其是 A β 的寡聚体可导致突触结构和功能障碍并进而引起认知功能缺失。

过量的 A β 是如何引起突触结构和功能异常的? 已有研究表明, 兴奋性突触传递与分布在突触膜上的 NMDA 受体、AMPA 受体等的数量及功能密切相关。激活 NMDA 受体使大量 Ca²⁺ 进入树突

脊而激活产生 LTP 的通路, 如果只是部分激活 NMDA 受体或突触膜上的 NMDA 受体内陷而使其在突触表面的表达减少, 只能引起低剂量 Ca²⁺ 进入树突脊从而激活产生 LTD (long term depression) 的通路^[49]。研究表明, 过量 A β 可导致突触表面 NMDA 受体或 AMPA 受体发生内吞, 使突触表面相应受体表达减少, 甚至导致整个突触崩溃, 因而使 LTP 产生受到抑制^[50-51]。Snyder 等^[50] 在分离培养的小鼠皮层神经元培养液中加入 A β , 结果就发现 A β 通过与突触后膜上的 α 7-nAChRs 结合, 在蛋白磷酸酶 2B (protein phosphatase 2B, PP2B) 和酪氨酸磷酸酶 STEP 介导下, 导致 NMDA 受体内吞从而抑制 NMDA 受体介导的突触传递。Hsieh 等^[51] 发现过量的 A β 可激活介导 LTD 的 p38、MAPK 及 calcineurin 等通路, 引起 AMPA 受体内陷, 从而导致神经元树突脊丢失和兴奋性传递抑制。除了引起谷氨酸受体内吞外, A β 还可能在一些未知因子的介导下, 部分阻止 NMDA 受体, 使 NMDA 受体介导的信号通路更倾向于诱导 LTD 并导致突触丢失, 从而使 LTP 受到抑制^[23]。A β 也可通过激活分布在突触外的 NR2B-NMDA 受体而诱导 LTD^[26]。虽然上述结果清楚地表明谷氨酸受体介导 A β 的毒性作用, 但 A β 通过什么样的机制影响谷氨酸受体, 目前还不完全清楚。一种可能的机制是过量可溶性的 A β 可导致突触间隙内聚集过高浓度的谷氨酸。Li 等^[25] 发现 A β 寡聚体抑制神经元对谷氨酸重吸收, 导致突触间隙内谷氨酸浓度过高。Talantova 等^[52] 的实验则发现, A β 可以通过结合分布在星形胶质细胞上的 α 7-nAChRs, 促使星形胶质细胞释放谷氨酸, 从而也会导致突触间隙谷氨酸浓度过高。谷氨酸虽然可激活 NMDA 受体, 但过高浓度的谷氨酸有可能引起 NMDA 受体脱敏, 进而抑制突触传递。过高浓度的谷氨酸还可能溢出突触间隙, 与分布在突触外的 NMDA 受体, 尤其是富含 NR2B 的 NMDA 受体结合, 通过使其激活而诱导 LTD 并引起突触丢失, 最终导致突触传递障碍^[25-26,52]。另外, A β 异常聚集可使 tau 过度磷酸化, 过度磷酸化的 tau 容易迁移到神经元树突并在树突脊内聚集, 通过影响谷氨酸受体迁移而干扰正常的突触传递^[53]。A β 还能够与受体酪氨酸激酶 EphB2 结合并导致 EphB2 被降解^[47], 因而使 EphB2 与 NMDA 受体的相互作用受到影响。由于二者的相互作用对维持 NMDA 受体在膜中的稳定性及诱导 LTP 非常重要, A β 与 EphB2 结合不可避免地干扰了突触的正常功

能。最近也有学者提出, $A\beta$ 有可能通过与膜内脂类作用而影响膜的稳定性, 使分布在膜上的谷氨酸受体结构及功能发生改变, 进而影响突触功能^[4]。

4 AD与神经环路及网络活动异常

临床发现 AD 患者的神经症状即使在同一天内也可出现很大的波动^[54], 比如早晨时表现正常, 中午的时候可能就变得不认识家人, 到下午可能又恢复正常。这种症状的波动很难用神经元丢失或重新获得来解释, 因为 AD 中神经元丢失是一个缓慢的过程, 不可能在一天之内突然发生神经元丢失或再生。造成这种现象的原因, 很可能是突触或神经环路/网络活动异常所致。

较早时期利用电生理对海马内 CA3 → Schaffer collateral → CA1 锥体神经元突触和内嗅皮层 → 前穿质通路 → 齿状回颗粒细胞突触进行的研究发现, 过量 $A\beta$ 可抑制谷氨酸能的兴奋性突触传递, 并影响突触可塑性, 表现在 LTD 得到增强, 而 LTP 受到明显抑制^[4]。据此, 人们一般会推测 $A\beta$ 对兴奋性神经元及神经环路或网络活动起抑制效应。然而, 功能性核磁共振 (functional magnetic resonance, fMRI) 检测发现, AD 或轻度认知障碍 (mild cognitive impairment, MCI) 患者海马内神经元的活性要比正常对照的高^[55]。Busche 等^[56-57] 利用双光子钙成像技术, 对 APP23×PS45 小鼠皮层神经元及海马区 CA1 神经元的活性进行了检测。结果发现, 在淀粉样斑块已经形成的情况下, 皮层及海马中过度兴奋或活动低下神经元的比例都高于正常对照。但在淀粉样斑块形成前的年轻小鼠, 只观察到过度兴奋神经元的比例增高, 尤其是在海马 CA1 区。这也有力地说明 $A\beta$ 可导致海马神经元兴奋, 进而可能导致神经环路或网络活动增强, 而后期出现的神经元活动低下可能是补偿效应所导致。另外, 对过表达突变型 hAPP 的转基因小鼠的研究发现, $A\beta$ 异常聚集虽然对兴奋性突触传递有明显抑制效应, 脑电图 (electroencephalogram, EEG) 记录的结果却显示, 皮层及海马神经网络的活动是明显增强的^[58]。在过表达突变型 hAPP 的小鼠中将 tau 基因敲除, 可抑制由 $A\beta$ 诱导的神经网络活动增强效应, 在不影响脑中 $A\beta$ 表达水平的情况下, 明显地改善 hAPP 小鼠的学习和记忆功能^[48,59]。用抗癫痫药物左乙拉西坦 (Levetiracetam) 处理 AD 小鼠模型 (hAPP-J20), 可降低皮层及海马的神经网络异常活动, 而且使认知功能障碍及突触功能得到改善^[60]。fMRI 检测发现,

服用低剂量左乙拉西坦可使 MCI 患者海马内神经元活性降低至正常水平, 并可改善患者的记忆功能^[55]。因此, 过量 $A\beta$ 引起的皮层及海马神经网络活动异常应该是造成认知功能障碍的重要原因。

AD 患者皮层及海马内神经元及神经环路/网络活动异常是怎样产生的? $A\beta$ 或其他因素导致的 GABA (γ -aminobutyric acid) 能中间神经元功能障碍可能是原因之一。GABA 能中间神经元是中枢神经系统中重要的神经元类型^[61], 可抑制皮层及海马中兴奋性神经元的活性, 从而维持正常的神经网络活动。其中, 小清蛋白 (parvalbumin, PV) 阳性神经元约占 GABA 能中间神经元总数的 40% 左右^[61], 由 PV 中间神经元产生的 γ 振荡 (gamma oscillations) 在认知活动及神经网络调控中具有重要作用^[62]。早期有报道认为, GABA 能中间神经元不易受到 $A\beta$ 引起的毒性的攻击, 最近的一些研究结果却强烈提示, 过量的 $A\beta$ 可导致 GABA 能中间神经元功能缺陷及数量改变。利用双光子钙成像技术, Busche 等^[57] 发现 AD 小鼠模型 APP23×PS45 大脑皮层中抑制性神经递质 GABA 的释放比对照组明显减少。电生理记录结果显示, hAPP-J20 小鼠海马中 GABA 能抑制性中间神经元的活性明显降低^[48]。同样在 hAPP-J20 小鼠进行的另一项研究表明, 脑中 $A\beta$ 的过量聚集使 PV 阳性中间神经元中电压门控钠离子通道 Nav1.1 表达下降^[63], 该通道表达下降可能导致 PV 神经元内在兴奋性受到影响而抑制 PV 神经元产生 γ 振荡, 进而引发神经元活动同步化增强, 使得神经环路或网络活动异常, 表现出类似癫痫的特征。另外, AD 小鼠模型 APP/PS1 海马中 GABA 能中间神经元数量较对照小鼠明显减少^[64]。更重要的是, AD 患者海马中 GABA 能抑制性中间神经元的数量也显著下降^[64]。这些结果均提示, 相对于兴奋性锥体神经元, GABA 能中间神经元有可能更易受到 $A\beta$ 的攻击, 因而使其在 $A\beta$ 引发的一系列病变中可能扮演不可或缺的角色。GABA 能中间神经元功能异常可能导致其对兴奋性神经元的抑制功能减弱, 使兴奋性神经元过度兴奋, 进而影响抑制-兴奋平衡状态, 最终引发神经网络层面的活动异常并导致认知功能缺陷。

如上所述, AD 患者及 AD 小鼠动物模型中认知功能缺陷可能由突触功能障碍和神经网络活动异常而引起。那么, 究竟是突触障碍引发网络活动异常, 还是网络活动异常导致突触功能障碍? 虽然目前对此还没有非常清晰的认识, 但抗癫痫药物左乙

拉西坦抑制 hAPP 小鼠海马神经网络活性后, 其中的突触功能异常得到明显改善^[60], 提示神经网络活动异常在先, 而突触功能缺失可能是神经网络异常活动引起的代偿性反应所致。

5 Tau蛋白在AD突触损伤及神经环路/网络异常中的作用

由 tau 组成的神经纤维缠结是 AD 的主要病理特征之一, 但 tau 在 AD 发病过程中究竟有什么样的作用还不太清楚, tau 本身的生理作用也没有完全阐明。Tau 是一个微管相关蛋白, 在神经系统中主要分布在神经元轴突, 但在神经元胞体和树突及少突胶质细胞中也有分布^[65]。近年来的一些研究对 tau 的传统认识包括其生理功能及病理机制提出了挑战。人们普遍认为 tau 和微管结合可稳定微管从而有助于其正常生理功能, 比如调控神经元轴突内的运输。然而, 在原代培养的神经元中发现, 和 tau 结合的微管蛋白其实并不固定在某一种结构状态, 具有很高的转化速率^[65]。利用 siRNA 敲减原代培养神经元中的 tau 不会导致神经元死亡, 也没有因此而减少微管蛋白的数量或改变微管蛋白的聚合状态^[65]。因此, 稳定微管可能不是 tau 蛋白在体内生理状态下的主要功能。另外, 基因敲除 tau 对体外培养神经元或在体神经元的轴突运输并没有影响, 提示调控神经元轴突运输也不是 tau 的主要作用^[66-67]。Tau 过度磷酸化经常被认为是其导致神经元结构和功能异常的原因, 但在正常胎儿发育阶段^[68]以及动物冬眠期间^[69]都发现有 tau 过度磷酸化现象, 提示 tau 磷酸化本身并不具有毒性作用。

具体到 AD, 目前还没有发现 tau 基因突变引起 AD 的报道, 在小鼠内嗅皮层-海马环路中表达人的突变型 tau (P301L) 虽然可导致 tau 在相关脑区聚集, 但并不足以引起 AD 的发生^[32]。综合近几年的研究却发现, 单独的 tau 及其相关变异虽然不能导致 AD, 但 tau 在介导 A β 及其他 AD 相关致病因素的病理机制中发挥重要作用。体外细胞培养实验的结果表明, 正常 tau 对 A β 诱导产生的神经元退行性病变及突触传递障碍是必需的^[70-71]。Roberson 等^[48,59]发现, 基因敲除 hAPP-J20 或 hAPP-J9/Fyn 小鼠中的 tau 可使该小鼠抵御药物诱导的癫痫发作; 进一步研究表明, 在不影响 A β 表达量的前提下, 敲除 tau (即使是半敲除) 可显著改善该小鼠中由 A β 聚集引起的突触传递障碍、神经环路/网络活动异常及认知功能缺陷。Ittner 等^[72]在 APP23 小鼠的

研究中得到了相似的结果。Andrews-Zwilling 等^[73]发现, tau 也介导 ApoE4 诱导的突触及认知功能异常, 虽然其机制可能有所不同^[65]。因此, 正常生理水平的 tau 在 AD 尤其是 A β 诱导的突触及神经环路/网络异常活动中起重要作用。

Tau 蛋白是如何介导由 A β 等引起的突触损伤及神经环路/网络异常的? Ittner 等^[72,74]发现, 正常情况下 tau 在神经元树突中有分布, 并负责把 Src 家族的酪氨酸激酶 FYN 运送到树突脊上, 在此 FYN 可使 NR2B-NADA 受体磷酸化, 从而稳定 NMDA 受体和 PSD95 的相互作用而增强 A β 的兴奋性毒性效应。另外, 过量的 A β 可导致 tau 的过度磷酸化, 并因此使 tau 大量聚集在神经元树突脊, 可能进一步增强 A β 诱导的兴奋性神经毒性作用^[74]。敲除 tau 将导致 FYN 不能被有效运送到突触后膜, 从而降低 A β 诱导的神经毒性作用^[72]。电生理检测发现, tau 影响小鼠海马抑制性神经元的内在兴奋性, 导致其功能不活跃^[48]。降低 tau 的表达则可增加抑制性神经元的活性, 使其输入到海马齿状回颗粒细胞的抑制性电流增强, 从而使 APP 小鼠海马中神经环路的兴奋/抑制失衡状态恢复正常。

6 问题与挑战

自 20 世纪 80 年代中期以来, 针对 AD 的研究取得了很大进展, 人们对 AD 的致病因素及其机制有了比较深入的认识。然而, 目前为止我们没有预防和治疗 AD 的有效措施, 近年来针对 AD 的临床药物试验也均以失败告终, 提示我们需要更深入地理解 AD 的致病机理。虽然大量的实验证据表明可溶性 A β 在 AD 发生过程中起非常关键的作用, 但仍需进一步明确: (1) 淀粉样斑块在 AD 中究竟扮演什么样的角色及其与可溶性 A β 的关系; (2) 可溶性 A β 中哪一类型的寡聚体在起主导作用 (二聚体、三聚体或其他); (3) 不同类型神经元对 A β 毒性的易感性是否有差别; (4) A β 对突触、神经元、神经环路及神经网络不同层次的影响是如何整合的; (5) AD 其他影响因子的作用机制及其与 A β 之间的关系。另外, 目前很多针对 AD 的临床试验是试图降低脑中 A β 的含量。这一策略如果能在早期实施应该是有效的, 但这需要准确可靠的早期诊断, 我们目前还不太做得到。如果在症状已经出现甚至更晚再实施, 有可能效果不显著, 因为 A β 的聚集是一个缓慢的长期的过程, 可能在 AD 症状出现前 15 年甚至更早就已经开始^[75], 在这一过程中, 由于

A β 聚集导致的许多病理变化可能不会因为降低了 A β 的含量而得到逆转。但如果能发现有效改善突触功能及神经网络活动的方法, 即使不改变 A β 的量, 也有可能改善 AD 患者的认知功能。因此, 临床干预的重心应当转移到对突触障碍及神经环路活动异常的改善上来。

[参 考 文 献]

- [1] Holtzman DM, Morris JC, Goate AM. Alzheimer's disease: the challenge of the second century. *Sci Transl Med*, 2011, 3(77): 77sr1
- [2] Chan KY, Wang W, Wu JJ, et al. Epidemiology of Alzheimer's disease and other forms of dementia in China, 1990-2010: a systematic review and analysis. *Lancet*, 2013, 381(9882): 2016-23
- [3] www.alz.co.uk/research/files/WorldAlzheimerReport2010.pdf
- [4] Mucke L, Selkoe DJ. Neurotoxicity of amyloid β -protein: synaptic and network dysfunction. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2012, 2(7): a006338
- [5] Glenner GG, Wong CW. Alzheimer's disease: initial report of the purification and characterization of a novel cerebrovascular amyloid protein. *Biochem Biophys Res Commun*, 1984, 120(3): 885-90
- [6] Masters CL, Simms G, Weinman NA, et al. Amyloid plaque core protein in Alzheimer disease and Down syndrome. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1985, 82(12): 4245-9
- [7] Grundke-Iqbal I, Iqbal K, Quinlan M, et al. Microtubule-associated protein tau. A component of Alzheimer paired helical filaments. *J Biol Chem*, 1986, 261(13): 6084-9
- [8] Nukina N, Ihara Y. One of the antigenic determinants of paired helical filaments is related to tau protein. *J Biochem*, 1986, 99(5): 1541-4
- [9] Wood JG, Mirra SS, Pollock NJ, et al. Neurofibrillary tangles of Alzheimer disease share antigenic determinants with the axonal microtubule-associated protein tau. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1986, 83(11): 4040-3
- [10] Goldgaber D, Lerman MI, McBride OW, et al. Characterization and chromosomal localization of a cDNA encoding brain amyloid of Alzheimer's disease. *Science*, 1987, 235(4791): 877-80
- [11] Kang J, Lemaire HG, Unterbeck A, et al. The precursor of Alzheimer's disease amyloid A4 protein resembles a cell surface receptor. *Nature*, 1987, 325(6106): 733-6
- [12] Tanzi RE, Gusella JF, Watkins PC, et al. Amyloid β protein gene: cDNA, mRNA distribution, and genetic linkage near the Alzheimer locus. *Science*, 1987, 235(4791): 880-4
- [13] Goate A, Chartier-Harlin MC, Mullan M, et al. Segregation of a missense mutation in the amyloid precursor protein gene with familial Alzheimer's disease. *Nature*, 1991, 349(6311): 704-6
- [14] Chartier-Harlin MC, Crawford F, Houlden H, et al. Early-onset Alzheimer's disease caused by mutations at codon 717 of the β -amyloid precursor protein gene. *Nature*, 1991, 353(6347): 844-6
- [15] Murrell J, Farlow M, Ghetti B, et al. A mutation in the amyloid precursor protein associated with hereditary Alzheimer's disease. *Science*, 1991, 254(5028): 97-9
- [16] Jonsson T, Atwal JK, Steinberg S, et al. A mutation in APP protects against Alzheimer's disease and age-related cognitive decline. *Nature*, 2012, 488(7409): 96-9
- [17] Levy-Lahad E, Wasco W, Poorkag P, et al. Candidate gene for the chromosome 1 familial Alzheimer's disease locus. *Science*, 1995, 269(5226): 973-7
- [18] Sherrington R, Rogaev EI, Liang Y, et al. Cloning a gene bearing missense mutations in early-onset familial Alzheimer's disease. *Nature*, 1995, 375(6354): 754-60
- [19] Potter R, Patterson BW, Elbert DL, et al. Increased *in vivo* amyloid- β 42 production, exchange, and loss in presenilin mutation carriers. *Sci Transl Med*, 2013, 5(189): 189ra77
- [20] Huang Y, Mucke L. Alzheimer mechanisms and therapeutic strategies. *Cell*, 2012, 148(6): 1204-22
- [21] Palop JJ, Mucke L. Amyloid- β -induced neuronal dysfunction in Alzheimer's disease: from synapses toward neural networks. *Nat Neurosci*, 2010, 13(7): 812-8
- [22] Walsh DM, Klyubin I, Fadeeva JV, et al. Naturally secreted oligomers of amyloid β protein potently inhibit hippocampal long-term potentiation *in vivo*. *Nature*, 2002, 416(6880): 535-9
- [23] Shankar GM, Bloodgood BL, Townsend M, et al. Natural oligomers of the Alzheimer amyloid- β protein induce reversible synapse loss by modulating an NMDA-type glutamate receptor-dependent signaling pathway. *J Neurosci*, 2007, 27(11): 2866-75
- [24] Shankar GM, Li S, Mehta TH, et al. Amyloid- β protein dimers isolated directly from Alzheimer's brains impair synaptic plasticity and memory. *Nat Med*, 2008, 14(8): 837-42
- [25] Li S, Hong S, Shepardson NE, et al. Soluble oligomers of amyloid β protein facilitate hippocampal long-term depression by disrupting neuronal glutamate uptake. *Neuron*, 2009, 62(6): 788-801
- [26] Li S, Jin M, Koeglspenger T, et al. Soluble A β oligomers inhibit long-term potentiation through a mechanism involving excessive activation of extrasynaptic NR2B-containing NMDA receptors. *J Neurosci*, 2011, 31(18): 6627-38
- [27] Musiek ES, Holtzman DM. Origins of Alzheimer's disease: reconciling cerebrospinal fluid biomarker and neuropathology data regarding the temporal sequence of amyloid- β and tau involvement. *Curr Opin Neurol*, 2012, 25(6): 715-20
- [28] Lewis J, Dickson DW, Lin WL, et al. Enhanced neurofibrillary degeneration in transgenic mice expressing mutant tau and APP. *Science*, 2001, 293(5534): 1487-91
- [29] Götz J, Chen F, van Dorpe J, et al. Formation of neurofibrillary tangles in P3011 tau transgenic mice induced by A β 42 fibrils. *Science*, 2001, 293(5534): 1491-5
- [30] Jin M, Shepardson N, Yang T, et al. Soluble amyloid β -protein dimers isolated from Alzheimer cortex directly

- induce tau hyperphosphorylation and neuritic degeneration. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108(14): 5819-24
- [31] Harris JA, Devidze N, Verret L, et al. Transsynaptic progression of amyloid- β -induced neuronal dysfunction within the entorhinal-hippocampal network. *Neuron*, 2010, 68(3): 428-41
- [32] Harris JA, Koyama A, Maeda S, et al. Human P301L-mutant tau expression in mouse entorhinal-hippocampal network causes tau aggregation and presynaptic pathology but no cognitive deficits. *PLoS One*, 2012, 7(9): e45881
- [33] Haass C, Schlossmacher MJ, Hung AY, et al. Amyloid β -peptide is produced by cultured cells during normal metabolism. *Nature*, 1992, 359(6393): 322-5
- [34] Seubert P, Vigo-Pelfrey C, Esch F, et al. Isolation and quantification of soluble Alzheimer's β -peptide from biological fluids. *Nature*, 1992, 359(6393): 325-7
- [35] Cirrito JR, Yamada KA, Finn MB, et al. Synaptic activity regulates interstitial fluid amyloid- β levels *in vivo*. *Neuron*, 2005, 48(6): 913-22
- [36] Seabrook GR, Smith DW, Bowery BJ, et al. Mechanisms contributing to the deficits in hippocampal synaptic plasticity in mice lacking amyloid precursor protein. *Neuropharmacology*, 1999, 38(3): 349-59
- [37] Saura CA, Choi SY, Beglopoulos V, et al. Loss of presenilin function causes impairments of memory and synaptic plasticity followed by age-dependent neurodegeneration. *Neuron*, 2004, 42(1): 23-36
- [38] Laird FM, Cai H, Savonenko AV, et al. BACE1, a major determinant of selective vulnerability of the brain to amyloid- β amyloidogenesis, is essential for cognitive, emotional, and synaptic functions. *J Neurosci*, 2005, 25(50): 11693-709
- [39] Puzzo D, Privitera L, Leznik E, et al. Picomolar amyloid- β positively modulates synaptic plasticity and memory in hippocampus. *J Neurosci*, 2008, 28(53): 14537-45
- [40] Abramov E, Dolev I, Fogel H, et al. Amyloid- β as a positive endogenous regulator of release probability at hippocampal synapses. *Nat Neurosci*, 2009, 12(12): 1567-76
- [41] Kamenetz F, Tomita T, Hsieh H, et al. APP processing and synaptic function. *Neuron*, 2003, 37(6): 925-37
- [42] Kang JE, Lim MM, Bateman RJ, et al. Amyloid- β dynamics are regulated by orexin and the sleep-wake cycle. *Science*, 2009, 326(5955): 1005-7
- [43] Cirrito JR, Kang JE, Lee J, et al. Endocytosis is required for synaptic activity-dependent release of amyloid- β *in vivo*. *Neuron*, 2008, 58(1): 42-51
- [44] DeKosky ST, Scheff SW. Synapse loss in frontal cortex biopsies in Alzheimer's disease: correlation with cognitive severity. *Ann Neurol*, 1990, 27(5): 457-64
- [45] Terry RD, Masliah E, Salmon DP, et al. Physical basis of cognitive alterations in Alzheimer's disease: synapse loss is the major correlate of cognitive impairment. *Ann Neurol*, 1991, 30(4): 572-80
- [46] Selkoe DJ. Alzheimer's disease is a synaptic failure. *Science*, 2002, 298(5594): 789-91
- [47] Cissé M, Halabisky B, Harris J, et al. Reversing EphB2 depletion rescues cognitive functions in Alzheimer model. *Nature*, 2011, 469(7328): 47-52
- [48] Roberson ED, Halabisky B, Yoo JW, et al. Amyloid- β /Fyn-induced synaptic, network, and cognitive impairments depend on tau levels in multiple mouse models of Alzheimer's disease. *J Neurosci*, 2011, 31(2): 700-11
- [49] Kullmann DM, Lamsa KP. Long-term synaptic plasticity in hippocampal interneurons. *Nat Rev Neurosci*, 2007, 8(9): 687-99
- [50] Snyder EM, Nong Y, Almeida CG, et al. Regulation of NMDA receptor trafficking by amyloid- β . *Nat Neurosci*, 2005, 8(8): 1051-8
- [51] Hsieh H, Boehm J, Sato C, et al. AMPAR removal underlies A β -induced synaptic depression and dendritic spine loss. *Neuron*, 2006, 52(5): 831-43
- [52] Talantova M, Sanz-Blasco S, Zhang X, et al. A β induces astrocytic glutamate release, extrasynaptic NMDA receptor activation, and synaptic loss. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110(27): E2518-27
- [53] Hoover BR, Reed MN, Su J, et al. Tau mislocalization to dendritic spines mediates synaptic dysfunction independently of neurodegeneration. *Neuron*, 2010, 68(6): 1067-81
- [54] Palop JJ, Chin J, Mucke L. A network dysfunction perspective on neurodegenerative diseases. *Nature*, 2006, 443(7113): 768-73
- [55] Bakker A, Krauss GL, Albert MS, et al. Reduction of hippocampal hyperactivity improves cognition in amnesic mild cognitive impairment. *Neuron*, 2012, 74(3): 467-74
- [56] Busche MA, Chen X, Henning HA, et al. Critical role of soluble amyloid- β for early hippocampal hyperactivity in a mouse model of Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109(22): 8740-5
- [57] Busche MA, Eichhoff G, Adelsberger H, et al. Clusters of hyperactive neurons near amyloid plaques in a mouse model of Alzheimer's disease. *Science*, 2008, 321(5896): 1686-9
- [58] Palop JJ, Chin J, Roberson ED, et al. Aberrant excitatory neuronal activity and compensatory remodeling of inhibitory hippocampal circuits in mouse models of Alzheimer's disease. *Neuron*, 2007, 55(5): 697-711
- [59] Roberson ED, Scarce-Levie K, Palop JJ, et al. Reducing endogenous tau ameliorates amyloid β -induced deficits in an Alzheimer's disease mouse model. *Science*, 2007, 316(5825): 750-4
- [60] Sanchez PE, Zhu L, Verret L, et al. Levetiracetam suppresses neuronal network dysfunction and reverses synaptic and cognitive deficits in an Alzheimer's disease model. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109(42): E2895-903
- [61] Freund TF, Katona I. Perisomatic inhibition. *Neuron*, 2007, 56(1): 33-42
- [62] Sohal VS, Zhang F, Yizhar O, et al. Parvalbumin neurons and γ rhythms enhance cortical circuit performance. *Nature*, 2009, 459(7247): 698-702
- [63] Verret L, Mann EO, Hang GB, et al. Inhibitory interneuron deficit links altered network activity and cognitive dysfunction in Alzheimer model. *Cell*, 2012, 149(3): 708-

- 21
- [64] Takahashi H, Brasnjevic I, Rutten BP, et al. Hippocampal interneuron loss in an APP/PS1 double mutant mouse and in Alzheimer's disease. *Brain Struct Funct*, 2010, 214(2-3): 145-60
- [65] Morris M, Maeda S, Vossel K, et al. The many faces of tau. *Neuron*, 2011, 70(3): 410-26
- [66] Vossel KA, Zhang K, Brodbeck J, et al. Tau reduction prevents A β -induced defects in axonal transport. *Science*, 2010, 330(6001): 198
- [67] Yuan A, Kumar A, Peterhoff C, et al. Axonal transport rates *in vivo* are unaffected by tau deletion or overexpression in mice. *J Neurosci*, 2008, 28(7): 1682-7
- [68] Yu Y, Run X, Liang Z, et al. Developmental regulation of tau phosphorylation, tau kinases, and tau phosphatases. *J Neurochem*, 2009, 108(6): 1480-94
- [69] Arendt T, Stieler J, Strijkstra AM, et al. Reversible paired helical filament-like phosphorylation of tau is an adaptive process associated with neuronal plasticity in hibernating animals. *J Neurosci*, 2003, 23(18): 6972-81
- [70] Rapoport M, Dawson HN, Binder LI, et al. Tau is essential to β -amyloid-induced neurotoxicity. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99(9): 6364-9
- [71] Nussbaum JM, Schilling S, Cynis H, et al. Prion-like behaviour and tau-dependent cytotoxicity of pyroglutamy-lated amyloid- β . *Nature*, 2012, 485(7400): 651-5
- [72] Ittner LM, Ke YD, Delerue F, et al. Dendritic function of tau mediates amyloid- β toxicity in Alzheimer's disease mouse models. *Cell*, 2010, 142(3): 387-97
- [73] Andrews-Zwilling Y, Bien-Ly N, Xu Q, et al. Apolipoprotein E4 causes age- and tau-dependent impairment of GABAergic interneurons, leading to learning and memory deficits in mice. *J Neurosci*, 2010, 30(41): 13707-17
- [74] Ittner LM, Götz J. Amyloid- β and tau--a toxic *pas de deux* in Alzheimer's disease. *Nat Rev Neurosci*, 2011, 12(2): 65-72
- [75] Jack CR Jr, Knopman DS, Jagust WJ, et al. Tracking pathophysiological processes in Alzheimer's disease: an updated hypothetical model of dynamic biomarkers. *Lancet Neurol*, 2013, 12(2): 207-16