

DOI: 10.13376/j.cblls/2014008

文章编号: 1004-0374(2014)01-0050-09

阿尔茨海默病免疫治疗的临床研究进展

杨策策, 王 涛, 肖世富*

(上海交通大学阿尔茨海默病诊治中心, 上海交通大学医学院附属精神卫生中心, 上海 200030)

摘要: 阿尔茨海默病免疫治疗以淀粉样蛋白 A β 或 tau 蛋白为治疗靶点。通过疫苗刺激产生靶标抗体的主动免疫或直接给予抗体的被动免疫, 可减轻 AD 病理改变, 有望延缓或阻止 AD 病程进展。动物研究显示了广阔的治疗前景, 临床免疫治疗的部分药物已完成 III 期试验, 但未达到预期效果。综述近年来免疫治疗 AD 的临床研究进展。

关键词: 阿尔茨海默病; 免疫治疗; 临床试验; 疫苗; 抗体

中图分类号: Q42; R392; R749.16 **文献标志码:** A

New development of clinical trial in immunotherapy for Alzheimer's disease

YANG Ce-Ce, WANG Tao, XIAO Shi-Fu*

(Alzheimer's Disease and Related Disorders Center, Shanghai Jiaotong University; Shanghai Mental Health Center, Shanghai Jiaotong University School of Medicine, Shanghai 200030, China)

Abstract: Immunotherapy for Alzheimer's disease has shown that targeting beta amyloid (A β) or tau protein with vaccines or antibodies can reduce pathology. Active or passive immunotherapy is expected to slow or stop the progress of AD. Significant advances in preclinical studies have shown strong evidence, but several clinical trials primarily targeting A β in phase III have failed. Herein we review primarily the progress of immunotherapy for AD in clinical trials.

Key words: Alzheimer's disease; immunotherapy; clinical trials; vaccines; antibodies

阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD, 俗称老年性痴呆) 已成为老年人的常见病、多发病和高负担疾病。《中国老龄事业发展报告 (2013)》指出, 2013 年我国老年人口数量将达到 2.02 亿。据保守估算, 我国目前至少有 600 万 AD 患者, 到 2020 年将超过 1 000 万, 由 AD 带来的社会、经济、医疗护理和家庭负担会更加严峻。AD 病因仍旧未完全阐明, 目前上市药物主要是对症治疗。1906 年, 德国医生 Alois Alzheimer 首次描述了一例患有严重记忆障碍、行为异常的女患者的脑组织病理剖特征, 表现为大量的老年斑和神经元纤维缠结^[1]。后续研究证实老年斑由淀粉样蛋白 (β -amyloid protein, A β) 在脑中沉积形成, 主要为 A β 42 和 A β 40 两种形式, 由跨膜蛋白质——淀粉样前体蛋白 (amyloid precursor protein, APP) 经过 β 、 γ 分泌酶水解形成, 两种肽段既可聚集成纤维形式沉积于脑组织, 也可

以以可溶性单体、寡聚体、原纤维形式参与 AD 发生发展。遗传基因突变和外界环境易感因素共同作用改变 APP 正常代谢过程, 导致 A β 沉积形成老年斑, 而 tau 蛋白异常磷酸化后聚集形成神经纤维缠结, 导致轴突运输、突触和线粒体功能受损和神经元死亡等神经退行性变, 进而导致认知损害、精神行为异常等痴呆症状发生^[2]。淀粉样蛋白级联假说强调毒性 A β 是 AD 病变的始发因子^[3], 在 AD 病程中发挥关键作用, 而 tau 蛋白与认知损害高度相关。A β 可调节 tau 蛋白, 两者关系密切, 在 AD 病程中发挥交互或协同作用^[4]。因此, 抑制 A β 产生、

收稿日期: 2013-07-12

基金项目: 国家临床重点专科建设(2011-873, OMA-MH); 上海市科委重点课题(10411966400)

*通信作者: E-mail: xiaoshifu@msn.com

聚集或促进其清除, 或改善异常 tau 水平等成为免疫治疗 AD 的靶标。

1 免疫治疗历史

20 世纪 80 年代末, 研究者发现免疫系统在 AD 进展中起重要作用。1993 年, Leszek 等^[5]总结前人相关研究后提出, 需要尽早阐明免疫调节治疗 AD 的作用, 预计这一治疗策略将会不断得以强化。免疫治疗可分主动免疫、被动免疫和免疫抑制治疗。主动免疫是向体内输入具有免疫原性的抗原制剂, 诱导机体产生特异性免疫应答而治疗疾病的方法; 被动免疫是直接输注外源性、具有免疫活性的抗体进行治疗; 免疫抑制治疗通过抑制免疫功能而常用于自身免疫性疾病治疗。随后 Gasiorowski 和 Leszek^[6]提出免疫抑制剂、非甾体类抗炎药有望显著改善并稳定 AD 病程进展, 其实免疫治疗并非以 A β 或 tau 为作用靶标。1996 年, Solomon 等^[7-8]进行体外试验, 直接给予抗 A β 抗体可抑制 A β 聚集、促使斑块解聚、维持其非毒性, 发挥神经保护作用, 可谓最早的被动免疫治疗 AD 尝试。1999 年, Schenk 等^[9]首先进行动物体内试验, 用 A β 42 和免疫增强剂弗氏佐剂分别免疫 6 周龄和 11 月龄 PDAPP 转基因小鼠, 6 周龄小鼠的 A β 斑块形成、神经炎性营养障碍和星形胶质细胞增生受到抑制, 11 月龄小鼠已发生 A β 沉积的 AD 样神经病理进展得以减缓, 首次证实主动免疫 A β 治疗可减轻 AD 病理、改善 AD 认知, 对预防和治疗 AD 可能有益, 为延缓或阻止 AD 病程进展打开了一个全新视角。2000 年, Bard 等^[10]直接通过外周血给予小鼠抗 A β 抗体, 抗体跨越血脑屏障后清除脑中沉积的淀粉样斑块。目前免疫清除机制尚不完全明确, 至少包括六种可能的机制: (1) 外周血降解机制^[11]: 抗体不进入中枢而在外周血结合并清除 A β , 诱导脑中 A β 外流而减少沉积; (2) 抗体介导小胶质细胞激活并吞噬沉积的 A β ^[12]; (3) 抗体介导小胶质细胞激活, 通过生成细胞因子或表达 A β 降解酶增加 A β 清除^[13]; (4) 抗体直接解聚 A β 斑块为无毒性可溶构型^[14]; (5) 抗体中和可溶性毒性寡聚体; (6) 补体系统激活增加 A β 清除。上述机制并不互相排斥, 同一或不同抗体可通过不同方式发挥作用。十余年来, 抗 A β 免疫治疗在多种 AD 动物模型中证实可清除 A β 斑块沉积、减轻或逆转 AD 神经病理改变、减轻认知损害、逆转记忆减退和改善运动迟缓等^[15]。抗 A β 免疫有望成为延缓 AD 病理进展的新疗法。

2 主动免疫治疗

2.1 首次临床试验

2000 年, AN-1792 疫苗首先进入多中心、随机、双盲对照 I 期临床试验, 共纳入 80 例轻中度 AD 患者。试验组 64 例受试者分为四组, 24 周内 4 次肌肉注射 AN-1792 或表面活性皂素佐剂 QS-21, 其后, 再 4 次予以附加注射聚山梨醇酯 80 (PS-80) 至 72 周。试验组 53.1% 受试者产生抗 A β 抗体, 没有发生明显不良反应, 安全、耐受性好, 但临床结局无统计学意义^[16]。2001 年继续进行 372 例轻中度 AD 患者参与的 IIa 期试验, 6% 受试者发生了亚急性无菌性脑膜脑炎, 2002 年研究提前终止。试验组 19.7% 受试者产生抗体, 脑内淀粉样沉积斑块减少。1 年后的随访研究未发现认知和功能的神经心理测试结果有统计学意义^[17], 只有神经心理成套测试提示抗体反应者的记忆功能改善, 影像学显示部分抗体反应者的脑体积减小、脑室增大更显著。脑组织丢失加速并不一定导致神经退行性变化, 可能与 A β 大量清除、局部水容积减少、胶质细胞容积下降等有关。4.6 年后的随访研究发现试验组抗体反应者可持续维持低抗体滴度^[18], 脑脊液 tau 水平降低, 脑体积丢失无统计学意义, 认知功能下降明显减缓, 日常生活能力损害、对照料者的依赖明显减轻, 无新发生脑膜脑炎, 支持免疫 A β 治疗可能对 AD 患者的功能改善有长期性益处。而 I 期试验的 6 年随访研究认为, 无论斑块是否减少, 与对照组相比, 免疫治疗并不能改善认知功能、延迟痴呆进展或死亡^[19]。Boche 等^[20]对此解释是, 虽然抗 A β 免疫治疗可清除 A β 、减低磷酸化 tau 水平, 但缺乏对神经纤维缠结的降解或清除作用。

2.2 主动免疫治疗的不良反应

AN-1792 为 A β 42 完整肽, 包含 1 个 B 淋巴细胞表位 (A β 1-15 N 端) 和 2 个 T 淋巴细胞表位 (A β 17-21 和 A β 29-42 C 端)。A β C 端的 T 细胞表位是发生细胞毒性作用的核心肽段, 可诱导参与细胞免疫的辅助性 T 细胞 1 (helper-inducer T-cell 1, Th1), 促进炎症反应; A β N 端主要诱导 B 细胞效应, 能避免不良反应。AN-1792 在 Th1 细胞诱导剂 QS-21 辅助下, 产生促炎反应并异常激活补体系统, 诱发脑膜脑炎, 增强疫苗稳定性的乳化剂 PS-80 促使更多 T 细胞表位暴露, 更多 Th1 细胞激活, 加剧脑膜脑炎发生。I 期试验中亦有一例受试者在死后诊断为脑膜脑炎, 发生在添加 PS-80 后, 似乎亦提示疫

苗附加成分参与不良反应发生。大部分受试者虽表现为 Th1 细胞反应特征,并未发生脑膜脑炎,估计患者的特异性体质或其他易感因素参与了自身免疫性反应的发生。脑膜脑炎的发生和严重程度与患者血清中抗 A β 抗体滴度无明显相关,尸检显示淀粉样沉积斑块减少^[21]。

2.3 A β 短肽疫苗

理想的 A β 疫苗应去除有害的 T 细胞表位、保留 B 细胞表位,避免激活 Th1 型细胞,提高安全性和免疫应答能力。新型疫苗多为 A β N 端短肽,少有发生严重不良反应,例如 ACC-001, CAD-106, V950, AFFITOPE, UB 311, 可溶 A β 1-30、A β 1-15、ACI-24、A β 3-7 组成的 EFRH 肽,两拷贝 A β 1-11 组成的 PADRE 疫苗肽等,安全性均好,其中部分已进入临床研究。

ACC-001 疫苗由 A β 1-7 短肽共轭变异白喉毒素载体蛋白 CRM197 组成,保留了与 AN-1792 相似的免疫原性,不发生促炎反应,I 期临床研究显示安全性良好^[22]。多中心 II 期试验进展中有一例严重皮肤损害的不良反应该报道,对其血清和活组织切片检测不支持血管炎诊断,也不能确定 A β 1-7、QS-21 或其他物质与皮肤损害有关。研究暂停 1 月后继续进行,于 2013 年 3 月完成,目前尚无可获得的数据资料。另一 II 期试验欲使用 PET 成像测量 ACC-001 清除 A β 能力,正在招募研究对象,预计 2014 年完成研究。CAD-106 由 A β 1-6 耦合病毒样颗粒 Q β 组成,可减低转基因小鼠和恒河猴的脑中 A β ,不激活 T 细胞反应,不增加微出血、炎症等不良反应^[23]。Winblad 等^[24]首先在瑞典实施了两中心、双盲、安慰剂对照 I 期试验,对 58 例轻中度 AD 受试者研究 52 周并随访 2 年。分别于 0、6、18 周或 0、2、6 周皮下注射 50 μ g、150 μ g 两个剂量疫苗或安慰剂,50 μ g 剂量组 67%、150 μ g 剂量组 82% 受试者体内产生抗体。97% 受试者发生了不良反应,最常见为鼻咽炎和注射部位红斑,没有脑膜脑炎,发生的 9 例严重不良反应与疫苗本身无关,总体治疗安全且耐受性好。淀粉样斑块和 A β 寡聚体减低,不过脑脊液 A β 水平、MRI 脑体积成像和临床结局无统计学意义。下述分析可能解释无阳性结果的原因:样本例数少,代表整体痴呆情况的真实性差;疫苗剂量小,产生的抗体持续时间短不利于记录临床结局;两剂量组疫苗接种时间不同,结果不完全具有可比性;没有探索分析试验组和安慰剂组疾病进展差异。因此,需大样本、长时程、

高剂量研究以确证 CAD-106 的安全性及有效性。目前多中心 II 期试验也已完成,尚无研究数据公布。V950 是多价 A β 疫苗,临床前研究显示其免疫后生成的抗 A β 抗体能识别焦谷氨酸基团修饰的 N 末端或 N 末端的短 A β 片段。正在进行多中心、随机、双盲、安慰剂对照 I 期试验,评估安全性、耐受性、免疫原性。86 例轻中度 AD 受试者先后 3 次分别接受不同剂量的 V950 或佐剂 ISCOMATRIX™,2007 年开始入组,2012 年完成入组,目前未公布任何临床研究数据。AFFITOPE 疫苗是含有 6 个氨基酸的短肽,可模拟游离 A β N 端产生抗体并诱导对 A β 42 全肽的交叉反应,同时避免自体反应性 T 细胞激活,不与 APP 发生交叉反应。AD01、AD02、AD03 共 3 个疫苗的 I 期试验已经结束,结果均显示安全性好,但没有发表临床数据^[25]。AFFITOPE AD02 的多中心 II 期试验正在欧洲地区进行,约 300 例轻度 AD 患者参与,评估安全性、耐受性、临床疗效和免疫活动特征。UB 311 疫苗是 A β 1-14 组成的短肽,主要激活参与体液免疫反应的辅助性 T 细胞 2 (Th2),安全性好。用其免疫转基因小鼠、狒狒或猕猴等动物可产生抗 A β N 端抗体,能中和毒性 A β ,促进斑块清除。已完成 I 期临床试验,试验数据尚无法获取。

3 被动免疫治疗

主动免疫发生脑膜脑炎的严重不良反应后,研究者更青睐被动免疫,数个抗 A β 单克隆抗体和免疫球蛋白混合物已进入 III 期试验,少数药品已完成试验。主动免疫需激活人体免疫系统产生抗体,发生的不良反应难以及时控制;AD 患者对外来抗原的免疫能力下降,产生抗体能力低,附加佐剂易诱发异常炎症反应。被动免疫直接给予抗体,可及时控制相关不良反应,很好地弥补了主动免疫的不足,治疗 AD 前景似乎更好,进入临床研究的抗体种类较多。

3.1 抗 A β 单克隆抗体的特点

单克隆抗体可分为四类。(1) 抗 A β 1-16 N 端抗体,可识别 A β 单体、寡聚体、原纤维和纤维等所有结构形式和 APP,进入中枢神经系统抑制 A β 聚集,可能发生脑淀粉样血管病 (congophilic amyloid angiopathy, CAA) 相关的微出血、血管性水肿等不良反应。代表抗体有 Bapineuzumab、10D5、2A11、WO-2 等。(2) 抗 A β 17-32 中央区抗体,仅结合 A β 单体,不进入中枢神经系统,通过外周降解机制发挥作用,安全性好,目前尚无明显不良反应报道。

代表抗体有 Solanezumab、4G8 等。(3) 抗 A β 33-42 C 端抗体, 通过外周和中枢途径促进 A β 清除, 可能发生 CAA。代表抗体有 Ponezumab、1A10、22C4。(4) 抗 A β 寡聚体或原纤维等构象表位抗体, 目前有更多证据支持小型 A β 聚集形式如 A β 寡聚体、原纤维是 AD 病变的主要参与者, 可溶性 A β 寡聚体可能是早期毒性最大片段, 相关抗体可能更有治疗价值。代表抗体有 A β 原纤维抗体 BAN2401, A β 纤维抗体 WO1、A-887755、mAb158。

3.2 单克隆抗体临床试验

Bapineuzumab (AAB-001, 3D6) 是最早用于人体的抗 A β 1-5 人源单克隆抗体, 通过小胶质细胞介导吞噬作用或外周降解机制清除所有 A β 形式。该抗体在早期临床研究中占据重要的优势地位, I 期试验显示安全性好^[26], 并率先进入 III 期研究。II 期试验共纳入 234 例轻中度 AD 患者, 试验组 122 例随机分为 0.15、0.5、1.0、2.0 mg/kg 4 个剂量亚组, 78 周内分别 6 次静脉注射抗体。结果显示 Bapineuzumab 可清除 A β , MRI 成像全脑、脑室体积无明显变化, 初始疗效分析没有发现试验组和对照组之间有统计学意义。探索分析显示, 与 APOE ϵ 4 基因携带者相比, APOE ϵ 4 基因非携带者的认知和功能有潜在改善, 抗体疗效更好, 头颅 MRI 成像全脑体积轻微减小而脑室体积与携带者无统计学差异。APOE ϵ 4 携带者抗体治疗可能无效, 全脑体积无明显变化而脑室扩大更明显。9.7% 受试者发生了可逆的血管性水肿, 多见于高剂量组的 APOE ϵ 4 携带者, 对照组无此不良反应, 提示 APOE ϵ 4 基因多态性可能影响抗体疗效^[27]。影像学回顾性分析也显示, APOE ϵ 4 携带者更易发生血管性水肿, 呈剂量依赖性, 常见于高剂量组^[28]。Blennow 等^[29] 评定受试者的脑脊液生物标记物改变, 首次发现 Bapineuzumab 能降低脑脊液总 tau、磷酸化 tau 水平, 磷酸化 tau 的改变有统计学意义 ($P = 0.03$), CSF A β 水平无显著变化。动物研究已证实, 抗 A β 免疫治疗可能调节 tau 病理改变等 AD 下游病理事件^[30]。可能由于 APOE ϵ 4 基因多态性的影响, 或小样本量的检验效能低, II 期试验没能提供延缓或阻止 AD 进程的证据。随后 III 期试验根据是否携带 APOE ϵ 4 基因进行分组, 以探明 Bapineuzumab 的疗效和 APOE ϵ 4 基因对免疫治疗有效性的影响。令人失望的是, 2012 年早期完成的两个 III 期试验没有显示对认知和行为改善有效, 评估安全与疗效的 III 期试验于 2012 年 8 月先后提前

终止^[31]。II 期试验中高剂量组发生了血管性水肿, 故 III 期减低了用药剂量, 可能不利于产生临床疗效, 在安全范围内提高抗体剂量可能会获得阳性结果。

与 Bapineuzumab 相比, Solanezumab (LY206-2430, m266) 只与可溶性 A β 结合, 不结合脑中或小血管壁沉积 A β 斑块, 很少发生血管性水肿或微出血等不良反应。小剂量就可高度结合 A β 13-28 段序列, 能持续长时间有效降解 A β , 非常有望成为首个延缓 AD 进程的免疫治疗药物。首次人体安慰剂对照研究在 19 例美国白人 AD 患者中开展, 分别单次静脉注射 0.5、1.5、4.0、10.0 mg/kg 4 个剂量抗体, 随访 1 年。结果显示耐受性好, 没有发现脑膜脑炎、微出血或血管性水肿等不良事件; 血浆和脑脊液总 A β 呈剂量依赖性升高, 认知功能无显著改善^[32]。与一项纳入 20 例日本 AD 患者的类似研究进行比较, 发现 Solanezumab 在黄种人和白种人中药动学和药效学相似, 耐受性均良好, 但都没有明显改善认知功能, 可能与研究时间短有关^[33]。一项随机、双盲、安慰剂对照的 II 期试验共 52 例 AD 受试者参与, 每 4 周给予 100 mg、400 mg 抗体或每周 100 mg、400 mg 抗体, 共 12 周。结果显示血浆和脑脊液 A β 40 和 A β 42 呈剂量依赖性升高, 每周 400 mg 最高剂量组的 CSF A β 42 升高、CSF A β 40 减低, 没有发生抗体相关的不良反应, 神经心理学测试没有显示认知功能显著改善^[34]。另一项 II 期试验纳入 33 例亚洲患者, 部分发生了轻中度不良反应, APOE ϵ 4 基因型可能并不影响 Solanezumab 的疗效和不良反应^[35]。两项大型 III 期试验于 2012 年完成, 礼来公司宣布没有达到改善认知的预期目标, 但随后的亚组分析显示, 轻度 AD 的记忆和行为改善有统计学意义^[36]。目前还有 2 项 III 期试验正在进行, 预计 2016 年结束。另一试验正在招募 AD 常染色体显性遗传的突变基因携带者为研究对象, 相关结果将有助于确定 Solanezumab 的临床治疗价值。

Ponezumab (PF-04360365, Rinat RN-1219) 是 IgG Δ 2a 去糖基化单克隆抗体, 与 A β 33-40 结合后清除沉积 A β , 临床前研究显示行为损害有改善, 虽有增加血管性水肿和微出血发生率可能, 但整体安全^[37]。目前已完成 5 项 I 期、2 项 II 期试验, 其中的 2 项 I 期试验分别在 10 min、2 h 内单剂量静脉给药, 结果显示血浆 A β 呈剂量依赖性升高, CSF A β 在最高给药剂量时升高, 部分出现上呼吸道感染、头痛、嗜睡、感觉迟钝等轻度不良反应,

没有发生严重不良反应,安全性和耐受性较好,10 min 短程静脉给药的可操作性更佳^[38-39]。需注意的是,Ponezumab 溶解 A β 会造成 A β 寡聚体大量释放至血液系统,可能增加 CAA 的发生率。2013 年辉瑞公司准备招募疑似 CAA 而无认知损害的受试者进入 II 期试验,通过定期给药和随访观察,评估 Ponezumab 的安全性、耐受性和有效性。

新一代人源性单克隆抗体 Crenezumab (MABT-5102A) 为 IgG4 等位体,与 IgG1 野生亚型有相同的抗原表位,以特异性高亲和力结合单体、寡聚体或纤维 A β 等的中央表位。它降低了传统抗体 Fc γ 区介导小胶质细胞过度激活所诱发的促炎反应,减少了激活小胶质细胞的 p38MAPK 从而减少炎症因子 TNF α 释放,并增加小胶质细胞吞噬 A β 寡聚体^[40]。免疫转基因小鼠可清除 A β , I 期临床试验显示安全,未发生血管性水肿,评估安全性和疗效的 II 期试验正在招募轻中度 AD 患者。阿尔茨海默病预防计划 (the Alzheimer's Prevention Initiative, API) 打算评估 Crenezumab 治疗早老素 1 基因 (presenilin 1, PSEN1) 突变者的疗效^[41]。Genentech 计划 2013 年进行首个 AD 预防性临床试验,治疗认知正常的 AD 常染色体显性遗传突变基因携带者,整个研究将持续 5 年,希望验证淀粉样蛋白假说的正确性。在 AD 症状出现前或刚出现时就给予抗体治疗,理论上可提高成功率,如果抗体安全且能延缓认知损害进展,Crenezumab 将成为第一个成功治疗临床前期 AD 的药物,结果令人期待^[42]。

Gantenerumab (R1450) 可结合 A β 3-12 N 端或 A β 18-27 中段表位,是最早用于 AD 免疫治疗的完全人源单克隆抗体。它通过小胶质细胞激活介导吞噬机制降低脑中沉积 A β ,呈剂量依赖性,可能不影响可溶 A β 清除,也不改变血浆 A β 水平。I 期试验显示能减少斑块,影像学检查发现斑块相关影像异常 (ARIA) 的不良反应^[43]。目前有 4 项临床试验正在招募对象: I 期试验比较健康志愿者对高浓度液体和干粉 Gantenerumab 两种剂型的相对生物利用度、耐受性等;另一 I 期试验在日本进行,给 AD 受试者皮下注射抗体; II/III 期试验使用 Gantenerumab 和 Solanezumab 治疗来自美国 AD 常染色体显性遗传协作组 (DIAN) 的前驱期 AD 突变基因携带者,预计 2016 年完成,也是预防性治疗 AD 的临床研究。III 期试验选择前驱期 AD 患者,经皮给药探讨抗体对认知与生活功能的改善作用,随后两年给予个体化治疗。

BAN2401 是人源 mAb158,以 A β 前体为作用靶标, I 期试验预期 2013 年完成。多中心 II 期试验正招募 800 例轻度 AD 或 AD 所致 MCI 受试者,预计 2016 年完成。SAR228810 是人源性 mAb 13C3,识别低相对分子质量 A β 和 A β 原纤维, I 期试验计划招募 48 例轻中度 AD 患者,预计 2014 年完成^[43]。BIIB037/BART 是完全人源性抗体 IgG1,结合不溶性 A β , I 期试验在前驱期 AD 患者中开展^[43]。GSK-933776 是 Fc 区突变的人源单克隆抗体,作用于 A β N 端,降低了血管性水肿发生率。已完成的两个 I 期试验通过单剂量或多剂量静脉给药,评估 GSK-933776 治疗 MCI 和轻度 AD 患者的安全性、耐受性、药动学、药效学和有效性,目前尚无数据公布,亦未有相关研究新进展^[43]。

3.3 免疫球蛋白混合物

静脉注射免疫球蛋白是自人类血浆提取纯化的免疫球蛋白混合物 IGIV,包括抗 A β 寡聚体、纤维和单体等抗体。IGIV 识别 A β 肽段的多个位点,主要与 A β 中央区或 A β 25-40 C 端结合,通过不同作用机制抑制 A β 聚集。IGIV 不能清除脑中沉积的老年斑,可能与其不能结合 A β N 端有关。IGIV 可增强小胶质细胞对 A β 纤维的吞噬作用,增加神经元细胞对毒性 A β 的耐受性,发挥抑制补体激活、中和炎症因子、调节趋化因子表达与调节 T 细胞亚型的抗炎作用而保护神经元。安全、耐受性好,花费和单克隆抗体相当,已被 FDA 批准用于其他神经系统疾病,治疗 AD 的临床前研究显示有效^[44]。3 项小型临床试验观察了 IVIG 治疗轻中度 AD 患者的疗效: 5 例受试者参与的半年研究,脑脊液总 A β 明显减低,血浆 A β 升高,认知功能改善^[45]; 8 例轻度 AD 受试者参与的 18 个月试验,前 6 个月注射抗体,暂停 3 个月后重新给药 9 个月,耐受性好,没有严重不良反应发生。6 个月时 CSF A β 明显减低,清洗期升高至基线水平,后 9 个月 CSF A β 再次减低,6 个月时简明精神状态量表 (MMSE) 评分的均值升高 2.5,清洗期降至基线水平,后 9 个月保持稳定不变^[46]。另 1 项是 24 例 AD 受试者参与的安慰剂对照 II 期试验,结果显示每两周予以 0.4 g/kg IVIG 治疗的临床结局最佳,认知与生活功能无恶化^[47]。上述 3 个研究均提示 IVIG 可改变 A β 水平、改善 AD 症状,但小样本资料可靠性较差,未提供最佳治疗剂量与治疗方案。因此, Dodel 等^[48] 实施了迄今最大的 IVIG 多中心对照 II 期试验,纳入 58 例美国和德国轻中度 AD 患者,分为 6 个剂量组,每两

周 0.1 g/kg、0.25 g/kg、0.4 g/kg 静脉给予 Octagam 或每 4 周 0.2 g/kg、0.5 g/kg、0.8 g/kg, 对照组给予生理盐水, 共 24 周。结果支持 IVIG 安全, 没有发生脑膜脑炎, 微出血发生率稍高。探索分析未能显示血浆和脑脊液的 A β 变化可影响临床结局, ¹⁸F-FDG PET 显示试验组内侧颞叶糖代谢衰减率减慢, 颞叶和海马的糖代谢衰减呈明显剂量依赖性。总体而言, 此项研究并未发现 IVIG 对轻中度 AD 患者有疗效, 与上述 3 个试验结果不一致。这一探索性研究持续时间较短, 尚不能完全否定 IVIG 的疗效, 还需长时程、大样本研究数据支持。Gammagard 的 III 期试验为每 2 周给予 200 mg 或 400 mg 抗体或安慰剂治疗 390 例 AD 受试者共 18 个月, 认知下降速率没有统计学意义, 2013 年 5 月份公布的试验数据没有显示减缓 AD 进展的证据, 长时程 III 期试验因此提前终止。失败原因可能归结于受试者均处于 AD 痴呆期, 而此时已发生广泛神经元丢失等不可逆性病理改变, 再予干预难以取得疗效。正在进行的 NewGam 10% (Octaphrama) II 期试验选择遗忘型轻度认知障碍 (amnesic mild cognitive impairment, MCI) 患者, MCI 进展为 AD 的风险性高, 提前干预有助于了解 IVIG 减低 MCI 进展为 AD 的价值。在西班牙进行的多中心、随机、对照 III 期试验, 计划纳入 350 例轻中度 AD 患者, 检测静脉注射 Flebogamma 的安全性和改善认知、功能、行为的有效性, 目前正在招募受试者, 预计 2014 年完成。IVIG 是多靶点抗体免疫治疗 AD 的尝试, 目前尚不清楚能否在治疗 AD 方面获得突破性进展, 现在得出 IVIG 是否有效的结论还为时尚早。鉴于 AD 病理改变的多样性, 使用多克隆抗体 IVIG 清除不同形式 A β 优于单一靶点的单克隆抗体。IVIG 存在血栓栓塞、肾功能损害、血液系统损害等不良反应, 使用重组技术研发高浓度、高选择性、抗炎能力强、易通过血脑屏障的特异性高的 IVIG 可能更有价值^[49]。

3.4 被动免疫治疗的不良反应

脑皮质微出血是重要的不良反应。传统抗体的 Fc 区介导免疫细胞因子分泌异常而促发炎症反应, 导致 CAA^[50]。脑皮质微出血可能与 CAA 有关, A β 从脑中清除后转运并沉积于血管壁, 造成血管样淀粉肽增加, 抗 A β 抗体与其发生作用介导 CAA 发生, 这类沉积有的为暂时性, 随时间进展会被完全清除。不与脑中沉积 A β 作用的抗体并未发生微出血^[51]。其他不良反应还有头痛、疲乏、肌无力等, 发生机制尚不明确。

4 新型疫苗或抗体

近 10 年来, 已研发了多种疫苗或抗体, 作用靶点涉及 A β 、tau 和 APP 的 β -分泌酶裂解位点, 其中, 抗 A β 免疫研究最多。新型小片段工程抗体是重组抗体, 保留了传统 IgG 抗体的免疫特异性和亲和力, 去除 IgG 的 Fc 区, 更易透过血脑屏障, 药物代谢动力学和生化特征与传统抗体相异。这类抗体有抗原结合片段 Fab 或 F(ab')₂、单链抗体 scFv、抗体可变区 V-domains、双特异性抗体 (bispecific antibodies) 等。scFv 半衰期很短, 没有调理素作用、抗体依赖的细胞毒性和补体激活作用等, 可避免血管性水肿、微出血等不良反应发生。AD 转基因鼠和灵长类动物模型的初始研究提示, 工程抗体更加安全有效、优势显著^[52]。新一代单克隆抗体 Fc 重组抗体与免疫细胞的 Fc γ 受体亲和力减低, 安全性得以提高, 如 MABT5102A 对 Fc γ 受体的亲和力极低, 安全性好。诱导抗体 Fc 区与 Fc γ 受体的结合位点突变, 亦能提高安全性, 为修饰的 Bapineuzumab、Ponezumab 抗体所采用而用于临床研究。Paul 等^[53] 提出 IgM 类催化抗体 (catalytic antibodies) 用于治疗 AD 可能发挥独特优势作用。与传统 IgG 相比, IgM 随年龄增长而产生, 在老年时合成增加, 催化活性更优, 可大量清除 A β 寡聚体、纤维, 保护神经元免受其毒性作用。近年来 A β 基因疫苗亦为研究热点, DNA A β 疫苗只刺激 Th2 细胞发生体液免疫应答, 安全性好, 辅以组成型异源启动子可弥补 DNA 疫苗免疫原性低的缺点, 产生的抗体可清除动物脑内 A β 、减轻学习和记忆障碍等。A β 基因疫苗制备成本低、给药方便、起效时间长, 很可能作为免疫治疗的新方法用于临床研究^[54]。

AD 病因复杂, 随着病程进展, 仅清除 A β 并不能阻止认知恶化, A β 斑块沉积密度与临床 AD 的严重程度并不完全相关, tau 蛋白与 AD 的临床表现关系更密切, tau 异常聚集可能与 A β 聚集同时发生或较之更早发生, 因此, 直接以 tau 蛋白为靶点可能亦是一种理想的免疫治疗方法^[55]。2006 年, Rosenmann 等^[56] 首先进行了抗 tau 免疫, 使用人类全长重组体 tau 蛋白主动免疫 C57BL/6 野生型雌鼠, 检测到抗 tau 抗体。随后 Asuni 等^[57] 证实主动免疫产生的抗 tau 抗体可识别并清除脑中异常 tau, 减少 tau 磷酸化和神经纤维缠结, 减慢 tau 病理进展。Boutajangout 等^[58] 使用 PHF1 被动免疫亦减缓了

tau 病理进展和功能损害,但没有改善 P301L 突变小鼠的生存率,仍需筛选靶点 tau 抗原表位^[59]。目前抗 tau 免疫只有临床前研究,具体免疫机制和潜在治疗风险等尚未完全阐明。tau 主要存在于神经元细胞内,抗 tau 免疫治疗实施可能存在困难,进入临床试验前尚需进行大量工作。

APP 的 β -分泌酶裂解位点亦成为新型免疫治疗靶标。2007 年,Arbel 和 Solomon^[60] 提出抗 APP 的 β -分泌酶裂解位点抗体通过结合 APP 介导抑制 β -分泌酶的裂解作用,可导致细胞内 A β 降低一半水平。Rakover 等^[61] 长期系统使用抗体 BBS1 腹膜内免疫 Tg2576 转基因鼠,发现认知功能改善、伴发的脑部炎症和微出血的发生率降低,没有观测到脑 A β 水平改变。Rabinovich-Nikitin 等^[62] 直接在脑室内给予表达淀粉样斑块和神经纤维缠结的 3x Tg-AD 转基因鼠抗体 BBS1 处理 1 个月,总 tau 和磷酸化 tau 水平降低,认知改善、脑部炎症减轻,很好地验证了 tau 和 A β 在 AD 进程中的交互或协同作用。抗体 BBS1 不与 A β 结合,从而避免了微出血等不良反应。

5 总结与展望

临床前或动物研究的突破成果很多,但进入临床试验的免疫治疗药物较少,已完成的 III 期试验大多以失败告终,免疫治疗 AD 似乎前途黯淡。失败的原因可能是 AD 动物模型不能概括或阐明人类 AD 复杂的病理特征,清除动物脑中 A β 斑块或 tau 与逆转人类 AD 进程尚存较大差距。目前的免疫治疗机制主要是清除病理改变的下游产物,而不能阻止神经元的凋亡。已完成的临床研究表明,动物研究成果尚不能完全成功复制于临床,A β 斑块、神经退行性变与认知下降等临床结局之间的演变规律尚待进一步阐明。疫苗或抗体尚存药动学、药效学、安全性、免疫原性低等问题。受试对象选择、研究时程、临床结局评估方法和工具等问题尚待解决。选择病变早期或无症状期的 AD 患者为受试对象,延长试验时程,多靶点和预防性免疫治疗是未来临床试验的发展趋势。充分认识 AD 患者免疫过程的复杂性,开发安全有效的免疫治疗药物仍然任重道远。

[参 考 文 献]

[1] Cipriani G, Dolciotti C, Picchi L, et al. Alzheimer and his disease: a brief history. *Neurol Sci*, 2011, 32(2): 275-9

[2] Jack JCR, Knopman DS, Jagust WJ, et al. Hypothetical model of dynamic biomarkers of the Alzheimer's pathological cascade. *Lancet Neurol*, 2010, 91: 119-28

[3] Hardy JA, Higgins GA. Alzheimer's disease: the amyloid cascade hypothesis. *Science*, 1992, 256(5054): 184-5

[4] Serrano-Pozo A, Frosch MP, Masliah E, et al. Neuropathological alterations in Alzheimer disease. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2011, 1(1): a006189

[5] Leszek J, Dobrzanska I, Gasiorowski K. Alzheimer's disease--immunological aspects. *Acta Neurobiol Exp (Wars)*, 1993, 53(1): 351-5

[6] Gasiorowski K, Leszek J. A proposed new strategy of immunotherapy for Alzheimer's disease. *Med Hypotheses*, 1997, 49(4): 319-26

[7] Solomon B, Koppel R, Hanan E, et al. Monoclonal antibodies inhibit *in vitro* fibrillar aggregation of the Alzheimer β -amyloid peptide. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, 93(1): 452-5

[8] Solomon B, Koppel R, Frankel D, et al. Disaggregation of Alzheimer β -amyloid by site-directed mAb. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, 94(8): 4109-12

[9] Schenk D, Barbour R, Dunn W, et al. Immunization with amyloid- β attenuates Alzheimer's disease-like pathology in the PDAPP mouse. *Nature*, 1999, 400(6740): 173-7

[10] Bard F, Cannon C, Barbour R, et al. Peripherally administered antibodies against amyloid β -peptide enter the central nervous system and reduce pathology in a mouse model of Alzheimer disease. *Nat Med*, 2000, 6(8): 916-9

[11] De Mattos RB, Bales KR, Cummins DJ, et al. Peripheral anti-A β antibody alters CNS and plasma A β clearance and decreases brain A β burden in a mouse model of Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98(15): 8850-5

[12] Streit WJ, Mrak RE, Griffin WS. Microglia and neuroinflammation: a pathological perspective. *J Neuroinflammation*, 2004, 1(1): 14

[13] Rogers J, Strohmeier R, Kovelowski CJ, et al. Microglia and inflammatory mechanisms in the clearance of amyloid β peptide. *Glia*, 2002, 40(2): 260-9

[14] Deane R, Bell RD, Sagare A, et al. Clearance of amyloid- β peptide across the blood-brain barrier: implication for therapies in Alzheimer's disease. *CNS Neurol Disord Drug Targets*, 2009, 8(1): 16-30

[15] Weiner HL, Frenkel D. Immunology and immunotherapy of Alzheimer's disease. *Nat Rev Immunol*, 2006, 6(5): 404-16

[16] Bayer AJ, Bullock R, Jones RW, et al. Evaluation of the safety and immunogenicity of synthetic A β 42 (AN1792) in patients with AD. *Neurology*, 2005, 64(1): 94-101

[17] Fox NC, Black RS, Gilman S, et al. Effects of A β immunization (AN1792) on MRI measures of cerebral volume in Alzheimer disease. *Neurology*, 2005, 64(9): 1563-72

[18] Vellas B, Black R, Thal LJ, et al. Long-term follow-up of patients immunized with AN1792: reduced functional decline in antibody responders. *Curr Alzheimer Res*, 2009, 6(2): 144-51

- [19] Holmes C, Boche D, Wilkinson D, et al. Long-term effects of A β 42 immunisation in Alzheimer's disease: follow-up of a randomised, placebo-controlled phase I trial. *Lancet*, 2008, 372(9634): 216-23
- [20] Boche D, Donald J, Love S, et al. Reduction of aggregated tau in neuronal processes but not in the cell bodies after A β 42 immunisation in Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol*, 2010, 120(1): 13-20
- [21] Gilman S, Koller M, Black RS, et al. Clinical effects of A β immunization (AN1792) in patients with AD in an interrupted trial. *Neurology*, 2005, 64(9): 1553-62
- [22] Pride M, Seubert P, Grundman M, et al. Progress in the active immunotherapeutic approach to Alzheimer's disease: clinical investigations into AN1792-associated meningoencephalitis. *Neurodegener Dis*, 2008, 5(3-4): 194-6
- [23] Wiessner C, Wiederhold KH, Tissot AC, et al. The second-generation active A β immunotherapy CAD106 reduces amyloid accumulation in APP transgenic mice while minimizing potential side effects. *J Neurosci*, 2011, 31(25): 9323-31
- [24] Winblad B, Andreasen N, Minthon L, et al. Safety, tolerability, and antibody response of active A β immunotherapy with CAD106 in patients with Alzheimer's disease: randomised, double-blind, placebo-controlled, first-in-human study. *Lancet Neurol*, 2012, 11(7): 597-604
- [25] Schneeberger A, Mandler M, Ottawa O, et al. Development of AFFITOPE vaccines for Alzheimer's disease (AD)--from concept to clinical testing. *J Nutr Health Aging*, 2009, 13(3): 264-7
- [26] Black RS, Sperling RA, Safirstein B, et al. A single ascending dose study of bapineuzumab in patients with Alzheimer disease. *Alzheimer Dis Assoc Disord*, 2010, 24(2): 198-203
- [27] Salloway S, Sperling R, Gilman S, et al. A phase 2 multiple ascending dose trial of bapineuzumab in mild to moderate Alzheimer disease. *Neurology*, 2009, 73(24): 2061-70
- [28] Sperling R, Salloway S, Brooks DJ, et al. Amyloid-related imaging abnormalities in patients with Alzheimer's disease treated with bapineuzumab: a retrospective analysis. *Lancet Neurol*, 2012, 11(3): 241-9
- [29] Blennow K, Zetterberg H, Rinne JO, et al. Effect of immunotherapy with bapineuzumab on cerebrospinal fluid biomarker levels in patients with mild to moderate Alzheimer disease. *Arch Neurol*, 2012, 69(8): 1002-10
- [30] Oddo S, Billings L, Kesslak JP, et al. A β immunotherapy leads to clearance of early, but not late, hyperphosphorylated tau aggregates via the proteasome. *Neuron*, 2004, 43(3): 321-32
- [31] Castellani RJ, Perry G. Pathogenesis and disease-modifying therapy in Alzheimer's disease: the flat line of progress. *Arch Med Res*, 2012, 43(8): 694-8
- [32] Siemers ER, Friedrich S, Dean RA, et al. Safety and changes in plasma and cerebrospinal fluid amyloid β after a single administration of an amyloid β monoclonal antibody in subjects with Alzheimer disease. *Clin Neuropharmacol*, 2010, 33(2): 67-73
- [33] Uenaka K, Nakano M, Willis BA, et al. Comparison of pharmacokinetics, pharmacodynamics, safety, and tolerability of the amyloid β monoclonal antibody solanezumab in Japanese and white patients with mild to moderate Alzheimer disease. *Clin Neuropharmacol*, 2012, 35(1): 25-9
- [34] Farlow M, Arnold SE, van Dyck CH, et al. Safety and biomarker effects of solanezumab in patients with Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement*, 2012, 8(4): 261-71
- [35] Samadi H, Sultzer D. Solanezumab for Alzheimer's disease. *Expert Opin Biol Ther*, 2011, 11(6): 787-98
- [36] Grundman M, Dibernardo A, Raghavan N, et al. 2012: A watershed year for Alzheimer's disease research. *J Nutr Health Aging*, 2013, 17(1): 51-3
- [37] Wilcock DM, Rojiani A, Rosenthal A, et al. Passive amyloid immunotherapy clears amyloid and transiently activates microglia in a transgenic mouse model of amyloid deposition. *J Neurosci*, 2004, 24(27): 6144-51
- [38] Burstein AH, Zhao Q, Ross J, et al. Safety and pharmacology of ponezumab (PF-04360365) after a single 10-minute intravenous infusion in subjects with mild to moderate Alzheimer disease. *Clin Neuropharmacol*, 2013, 36(1): 8-13
- [39] Landen JW, Zhao Q, Cohen S, et al. Safety and pharmacology of a single intravenous dose of ponezumab in subjects with mild-to-moderate Alzheimer disease: a phase I, randomized, placebo-controlled, double-blind, dose-escalation study. *Clin Neuropharmacol*, 2013, 36(1): 14-23
- [40] Adolfsson O, Pihlgren M, Toni N, et al. An effector-reduced anti- β -amyloid (A β) antibody with unique A β binding properties promotes neuroprotection and glial engulfment of A β . *J Neurosci*, 2012, 32(28): 9677-89
- [41] Aisen PS, Vellas B. Editorial: passive immunotherapy for Alzheimer's disease: what have we learned, and where are we headed? *J Nutr Health Aging*, 2013, 17(1): 49-50
- [42] Garber K. Genentech's Alzheimer's antibody trial to study disease prevention. *Nat Biotechnol*, 2012, 30(8): 731-2
- [43] Moreth J, Mavoungou C, Schindowski K. Passive anti-amyloid immunotherapy in Alzheimer's disease: What are the most promising targets? *Immun Ageing*, 2013, 10(1): 18
- [44] Magga J, Puli L, Pihlaja R, et al. Human intravenous immunoglobulin provides protection against A β toxicity by multiple mechanisms in a mouse model of Alzheimer's disease. *J Neuroinflammation*, 2010, 7: 90
- [45] Dodel RC, Du Y, Depboylu C, et al. Intravenous immunoglobulins containing antibodies against β -amyloid for the treatment of Alzheimer's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 2004, 75(10): 1472-4
- [45] Relkin NR, Szabo P, Adamiak B, et al. 18-Month study of intravenous immunoglobulin for treatment of mild Alzheimer disease. *Neurobiol Aging*, 2009, 30(11): 1728-36
- [47] Relkin N, Bettger L, Tsakanikas D, et al. Three-year

- follow-up on the IVIG for Alzheimer's phase II study. *Alzheimers Dement*, 2012, 8 (suppl 4): 589
- [48] Dodel R, Rominger A, Bartenstein P, et al. Intravenous immunoglobulin for treatment of mild-to-moderate Alzheimer's disease: a phase 2, randomised, double-blind, placebo-controlled, dose-finding trial. *Lancet Neurol*, 2013, 12(3): 233-43
- [49] Loeffler DA. Intravenous immunoglobulin and Alzheimer's disease: what now? *J Neuroinflammation*, 2013, 10(1): 70
- [50] Prada CM, Garcia-Alloza M, Betensky RA, et al. Antibody-mediated clearance of amyloid- β peptide from cerebral amyloid angiopathy revealed by quantitative *in vivo* imaging. *J Neurosci*, 2007, 27(8): 1973-80
- [51] Wilcock DM, Jantzen PT, Li Q, et al. Amyloid- β vaccination, but not nitro-nonsteroidal anti-inflammatory drug treatment, increases vascular amyloid and microhemorrhage while both reduce parenchymal amyloid. *Neuroscience*, 2007, 144(3): 950-60
- [52] Robert R, Wark KL. Engineered antibody approaches for Alzheimer's disease immunotherapy. *Arch Biochem Biophys*, 2012, 526(2): 132-8
- [53] Paul S, Planque S, Nishiyama Y. Beneficial catalytic immunity to A β peptide. *Rejuvenation Res*, 2010, 13(2-3): 179-87
- [54] Rosenberg RN, Lambracht-Washington D. DNA A β 42 vaccination as possible alternative immunotherapy for alzheimer disease. *JAMA Neurol*, 2013, 70(6): 772-3
- [55] Götz J, Ittner A, Ittner LM, et al. Tau-targeted treatment strategies in Alzheimer's disease. *Br J Pharmacol*, 2012, 165(5): 1246-59
- [56] Rosenmann H, Grigoriadis N, Karussis D, et al. Tau pathy-like abnormalities and neurologic deficits in mice immunized with neuronal tau protein. *Arch Neurol*, 2006, 63(10): 1459-67
- [57] Asuni AA, Boutajangout A, Quartermain D, et al. Immunotherapy targeting pathological tau conformers in a tangle mouse model reduces brain pathology with associated functional improvements. *J Neurosci*, 2007, 27(34): 9115-29
- [58] Boutajangout A, Ingadottir J, Davies P, et al. Passive immunization targeting pathological phospho-tau protein in a mouse model reduces functional decline and clears tau aggregates from the brain. *J Neurochem*, 2011, 118(4): 658-67
- [59] d'Abramo C, Acker CM, Jimenez HT, et al. Tau passive immunotherapy in mutant P301L mice: antibody affinity versus specificity. *PLoS One*, 2013, 8(4): e62402
- [60] Arbel M, Solomon B. A novel immunotherapy for Alzheimer's disease: antibodies against the β -secretase cleavage site of APP. *Curr Alzheimer Res*, 2007, 4(4): 437-45
- [61] Rakover I, Arbel M, Solomon B. Immunotherapy against APP β -secretase cleavage site improves cognitive function and reduces neuroinflammation in Tg2576 mice without a significant effect on brain a β levels. *Neurodegener Dis*, 2007, 4(5): 392-402
- [62] Rabinovich-Nikitin I, Rakover IS, Becker M, et al. Beneficial effect of antibodies against β -secretase cleavage site of APP on Alzheimer's-like pathology in triple-transgenic mice. *PLoS One*, 2012, 7(10): e46650