

DOI: 10.13376/j.cblls/2014080

文章编号: 1004-0374(2014)06-0550-10



叶玉如, 中国科学院院士及发展中国家科学院院士, 国际著名神经生物学家, 现任香港科技大学生命科学部讲座教授、晨兴生命科学教授、分子神经科学国家重点实验室主任。兼任多种国际知名科学期刊主编或编委, 包括美国神经科学学会 (SfN) 官方刊物 *Journal of Neuroscience* 资深编辑, 以及美国神经科学学会理事和国际神经精神药理学协会理事。在顶尖学术期刊上发表了超过 230 篇论文, 被引用超过 15 000 次, 并拥有 20 多项国际专利。曾获得国家自然科学奖、何梁何利科学与技术进步奖、欧莱雅-联合国教科文组织世界杰出女科学家成就奖等重要学术奖项。该课题组长期以来专注于神经系统, 一方面研究神经发育过程中调控神经回路形成的分子机理, 探索与学习和记忆等认知功能密切相关的信号通路; 另一方面结合遗传学、细胞生物学、分子生物学、生理学和行为学等多种手段解析神经发育疾病和神经退行性疾病的病因。此外, 该课题组还充分结合基础与临床研究的成果, 发展诊断和治疗神经系统疾病的有效方法。

老年痴呆症的分子机制

沈 阳^{1,2,3}, 陈 宇^{1,2,3}, 傅洁瑜^{1,2,3}, 叶玉如^{1,2,3*}

(1 香港科技大学深圳研究院广东省脑科学及疾病与药物研究重点实验室, 深圳 518057;

2 香港科技大学分子神经科学国家重点实验室, 香港; 3 香港科技大学生命科学部和分子神经科学中心, 香港)

摘 要: 老年痴呆症是一种多发于老年人群的神经退行性疾病, 其发病机理十分复杂, 目前主要认为与 β -淀粉样蛋白的神经毒性和微管结合蛋白 tau 的异常修饰相关。将从 β -淀粉样蛋白在神经突触功能失调、神经元凋亡、炎症反应中的作用, 以及 tau 蛋白异常修饰的机理与神经损伤等方面阐述老年痴呆症发病的分子机理, 并对相关诊断和治疗手段进行讨论。

关键词: β -淀粉样蛋白; tau 蛋白; 突触损伤; 神经元凋亡; 炎症反应

中图分类号: Q421; R749.16 **文献标志码:** A

Molecular mechanisms underlying the pathophysiology of Alzheimer's disease

SHEN Yang^{1,2,3}, CHEN Yu^{1,2,3}, FU Amy Kit-Yu^{1,2,3}, IP Nancy Y^{1,2,3*}

(1 Guangdong Key Laboratory of Brain Science, Disease and Drug Development, HKUST Shenzhen Research Institute, Shenzhen 518057, China; 2 State Key Laboratory of Molecular Neuroscience, The Hong Kong University of Science and Technology, Hong Kong, China; 3 Division of Life Science and Molecular Neuroscience Center, The Hong Kong University of Science and Technology, Hong Kong, China)

收稿日期: 2014-04-23

基金项目: 国家重点基础研究发展计划(“973”项目)(2013CB530900); 深圳市海外高层次人才创新创业专项资金(孔雀计划)

*通信作者: E-mail: boip@ust.hk; Tel: 0755-2267 3603

Abstract: Alzheimer's disease (AD) is one of the most common neurodegenerative diseases in the elderly population. It is believed that β -amyloid-induced toxicity and the abnormal modification of the microtubule binding protein tau are two major pathogenic factors that contribute to AD. In this article, we will discuss the molecular mechanisms underlying AD, including the impaired synaptic transmission, neuronal apoptosis and inflammation induced by β -amyloid, and tau hyperphosphorylation-related neuronal dysfunction. Potential diagnostic and therapeutic approaches will also be discussed.

Key words: β -amyloid; tau; synapse impairment; neuronal apoptosis; inflammatory response

1 老年痴呆症

老年痴呆症 (Alzheimer's disease, AD), 又称为阿尔茨海默症, 是一种多发于老年人群的神经退行性疾病。该病由德国医生 Alois Alzheimer 于 1906 年首先记录和描述^[1]。该病早期表现为轻微记忆障碍。随着病情的发展, 患者的认知能力 (如学习、记忆等) 逐渐衰退, 理解力、智力减退, 出现情感以及语言障碍, 最终神经系统功能遭到严重破坏, 导致死亡^[2]。

老年痴呆症的病因复杂, 涉及遗传、环境等多种因素。目前学术界的主流观点认为导致老年痴呆症发生的重要因子之一就是 β -淀粉样蛋白 (β -amyloid, A β)。A β 具有神经毒性, 并可诱发炎症反应, 损伤神经系统。大量研究表明, A β 在老年痴呆症患者脑部过度积累和沉淀, 形成淀粉样蛋白斑 (plaque)^[3]。除了由 A β 形成的淀粉样蛋白斑之外, 老年痴呆症的另一个重要特征就是神经原纤维缠结 (neurofibrillary tangle, NFT)。NFT 也是老年痴呆症患者发生记忆衰退、认知能力减退的关键因素, 并且与 A β 的积聚有密切关系。NFT 由过度磷酸化的微管结合蛋白 tau 构成。Tau 蛋白对微管的聚合以及微管稳定性的维持具有重要作用。如果 tau 蛋白被过度磷酸化, 神经元的轴突运输就受到阻碍, 导致神经元功能缺陷甚至死亡^[1]。

2 A β 毒性假说

A β 相对分子质量约为 4 kDa, 是其前体 β 淀粉样蛋白前体蛋白 (amyloid- β protein precursor, APP) 经由 β - 和 γ - 分泌酶 (secretase) 连续剪切后形成的长度在 39~43 个氨基酸的短肽。APP 的正常生理功能与细胞生长、黏附有关, 并能够调节神经元之间的连接和可塑性^[4]。A β 则是各种细胞 APP 正常加工的产物。神经系统多种类型的细胞均表达 APP 并产生 A β , 而正常的机体中 A β 的产生和降解处于一种平衡。当这种平衡被打破时, 大量 A β 积累和

沉降, 形成淀粉样蛋白斑, 这也被认为是老年痴呆症发病的重要原因之一。目前老年痴呆症的发病机理大致分为家族型和散发型两类, 家族型老年痴呆症是由 APP 及 γ - 分泌酶的编码基因 (主要为活性中心蛋白早老素 presenilin) 突变引起 A β 产生过多和积累导致, 一般发病较早; 而散发型老年痴呆症主要是由于环境和其他遗传因素导致 A β 产生过多或清除减少引发积累所致, 发病年龄一般较晚。随着年龄的增加, 人体对 A β 清理机能下降, 从而导致 A β 积累, 这也解释了老年人中老年痴呆症多发的原因。

研究表明, A β 细胞外沉淀产生的淀粉样蛋白斑与老年痴呆症患者临床发病程度无关, 且在大部分情况下不引起转基因鼠出现学习认知障碍, 所以研究的热点主要集中于可溶性 A β , 尤其是 A β 形成的寡聚物。该寡聚物已被证实具有很强的神经毒性, 可以导致神经传导障碍, 引发炎症反应, 诱导细胞凋亡等等。以下将对此做进一步阐述。

2.1 A β 与神经突触功能障碍

神经系统的功能是通过神经元之间的相互信息传递实现的。突触 (synapse) 就是连接两个神经元的特殊结构, 由传入神经末梢 (轴突) 与目标神经元的细胞体、树突或树突棘形成的连接结构。突触前膜和突触后膜的结构和功能随发育阶段以及内外环境的变化而调整, 构成了学习和记忆等认知活动的结构基础^[5]。

老年痴呆症病变与突触功能失调有密切关系。在老年痴呆症患者脑组织切片中, 海马区 and 大脑皮层的突触数量以及相应的突触标记蛋白含量显著减少, 并且有数据表明突触可塑性 with 老年痴呆症病情有密切关系^[6-7]。这些研究结果也在老年痴呆症相关的各种转基因动物模型中得到进一步证实。在体外实验中, A β 处理可以显著降低大鼠海马神经元的树突棘密度, 从而造成神经连接退化。通过免疫荧光染色, 人们发现突触后膜表面的神经递质谷氨

酸受体 AMPA 受体和 NMDA 受体大量减少^[8-10], 膜片钳记录的微小兴奋性突触后电流 (miniature excitatory postsynaptic currents, mEPSCs) 也反映出突触传导能力的削弱。此外, 体外以及体内实验均证实了 A β 可以降低海马区的长时程增强作用 (long-term potential, LTP), 对突触可塑性产生了影响^[8]。

到目前为止, A β 对于突触的损伤机理还未被完全揭示。目前已知的信号机制主要有以下几种。

2.1.1 NMDA 受体通路

NMDA 受体 (*N*-methyl-D-aspartic acid receptor) 即为 *N*-甲基-D-天冬氨酸受体, 是离子型谷氨酸受体的一个亚型, 由不同亚基构成 (NR1、NR2A、NR2B 等)。在兴奋性神经元中, NMDA 受体主要分布在树突棘一方的突触后膜, 且主要分布在突触后致密区 (postsynaptic density, PSD)。NMDA 受体是一种独特的双重门控通道, 它既受膜电位控制也受其他神经递质控制。NMDA 受体被激活后, 主要对钙离子 (Ca²⁺) 有通透性, 介导持续、缓慢的去极化过程。通过控制钙离子介导的胞内信号通路, NMDA 受体在神经系统发育过程中发挥重要的生理作用, 如调节神经元的存活、神经元的树突和轴突结构发育以及参与突触可塑性等^[11]。

大量研究表明, 钙离子介导的信号通路是调控突触功能的主要通路之一。作为重要的第二信使, 钙离子内流则会激发其下游通路, 在突触后膜则主要有钙/钙调素-依赖性蛋白激酶 II (calcium/calmodulin-dependent protein kinase II, CaMKII) 和钙调神经磷酸酶 (calcineurin, CaN) 两条通路。作为重要的蛋白激酶, CaMKII 可以增加 AMPA 受体的磷酸化程度, 从而可以增强受体活性并且促进 AMPA 受体插入到突触后膜。AMPA 受体是大脑最丰富的谷氨酸受体, 可调节其大部分兴奋活动。通过增加突触中 AMPA 受体的数量并提高效率, 后续的兴奋性刺激就能产生更大的突触后反应, 即 LTP。与此相反, 作为磷酸酶的 CaN, 则可以导致 AMPA 受体的去磷酸化, 降低受体活性, 并导致受体内吞, 从而削弱后续的兴奋性刺激产生的突触后反应, 这也就是长时程抑制作用 (long-term depression, LTD)。NMDA 受体产生的钙离子内流既可以介导 LTP, 也可以介导 LTD。不同的是, 钙离子内流浓度较高时, CaMKII 通路占绝对优势, 产生 LTP; 而低浓度钙离子内流则更倾向于激活 CaN 通路, 导致 LTD^[12]。研究表明, A β 寡聚体可以直接激活 NMDA 受体, 产生低浓度钙离子内流^[13], 从而激活 CaN 介导的

LTD, 削弱突触连接, 降低树突棘密度。同时由于 NMDA 受体水平也大大下调, 机体正常的突触可塑性 (LTP) 也受到抑制^[14]。进一步研究发现, 分布于不同突触部位的含不同亚基的 NMDA 受体在 A β 介导的突触功能障碍中起着不同的作用。其中突触后膜上的 NMDA 受体均被下调 (NR1、NR2A、NR2B 等), 导致正常 NMDA 受体活性降低和 LTP 抑制; 而突触后膜周边的含 NR2B 亚基的 NMDA 受体则被激活, 导致低浓度钙离子内流, 产生 LTD, 削弱突触连接^[15]。此外, A β 寡聚体可以抑制星形胶质细胞中谷氨酸转运体的活性。神经元周围的星形胶质细胞通过其膜上的谷氨酸转运体可以有效地降低突触间隙的谷氨酸浓度, 保证正常神经传导的准确性。当谷氨酸回收遭到阻碍时, 突触间隙谷氨酸浓度上升, 从而激活突触后膜周边的含 NR2B 亚基的 NMDA 受体, 引发 LTD^[16], 这也揭示了胶质细胞在 A β 神经毒性作用中扮演了重要角色。

2.1.2 mGluR5 信号通路

代谢型谷氨酸受体 (metabotropic glutamate receptor, mGluRs) 是另外一大类谷氨酸受体。与 NMDA 受体和 AMPA 受体不同, mGluR 并不偶联离子通道, 而是与 G 蛋白偶联。目前为止, 已经发现 8 种不同的 mGluR, 由于其偶联的 G 蛋白不同, 其下游的信号通路也不尽相同。mGluR 根据下游信号可分为 3 组: I 型 mGluR1、mGluR5, II 型 mGluR2~3, III 型 mGluR4、mGluR6~8。I 型可与磷脂酶 C 途径 (phospholipase C, PLC) 偶联, II、III 组均可与腺苷酸环化酶系统 (adenylate cyclase, AC) 偶联。

近来一些研究表明, mGluR5 也参与 A β 毒性介导的突触功能障碍。mGluR5 在正常神经传导中发挥作用。通过与 Gq 蛋白偶联的 PLC 信号通路, mGluR5 可以提高神经元的活性, 与 NMDA 受体一起参与突触可塑性的调控。然而, 当 A β 寡聚体在神经元突触后膜表面沉积并且流动性逐渐减弱时, mGluR5 在膜上的横向移动能力受到明显阻滞, 从而导致 mGluR5 的聚集和钙离子内流增强, 造成 NMDA 受体功能下调和神经突触功能障碍^[17]。调控这一过程的确切信号通路还未明确。可能是类似于 NMDA 受体介导的神经毒性, mGluR5 通过一定量的钙离子内流, 诱导发生 LTD; 也有研究指出, NMDA 受体介导的 LTD 需要 mGluR 的参与^[14]。

同时, 一些研究还发现, mGluR5 也参与了 PrP/Fyn 介导的 A β 毒性反应。朊蛋白 (prion protein, PrP^c) 由约 250 个氨基酸组成, 在哺乳动物成熟个体

的中枢神经系统中广泛分布,尤其是集中于皮层与海马的神经元、小脑的浦肯野细胞和脊髓的神经元。成熟的朊蛋白位于细胞表面,其功能与细胞黏附、识别和递呈配体以及跨膜信号有关。神经元表面的PrP^c与A β 寡聚体具有很高的结合力。通过结合膜上的PrP^c蛋白,A β 寡聚体可以激活膜内原癌基因酪氨酸蛋白激酶Fyn(proto-oncogene tyrosine-protein kinase)的活性,调节Fyn对底物的磷酸化来参与NMDA受体介导的LTP反应^[18]。实验表明,mGluR5可以与PrP/Fyn形成复合物,并且被A β 寡聚体激活,造成钙离子内流,发生LTD。在老年痴呆症转基因鼠中,mGluR5阻断剂可以有效地降低神经元树突棘的损失,并缓解老年痴呆症鼠记忆的损伤^[19]。

2.1.3 Eph/Ephrin信号通路

Eph受体是目前所知最大的酪氨酸激酶家族,一共发现了16种受体。其中特异性地与ephrin-A类配体结合的受体被称为EphA,而与ephrin-B类配体有很高亲和力的受体则称为EphB。

Eph/ephrin介导的信号通路是双向传导的。在正向信号通路方面,当Eph受体被激活后,可以通过不同的方式向细胞内传递信号。在发育成熟的海马神经元中,EphA4受体的激活会引起树突棘数量降低^[20]。相比之下,激活EphB受体的信号通路将促进树突棘的发育成熟^[21]。在逆向信号通路方面,激活ephrin-B介导的逆向信号通路能够促进神经元树突上丝状伪足的缩短和树突棘的形成^[22-23]。

在早期老年痴呆症患者的脑内就已经发现Eph受体表达量的变化,表明这类受体可能参与了老年痴呆症的发病过程^[24]。有研究表明,A β 对EphB2的细胞外结构域有很强的亲和力,并诱导EphB2进入蛋白酶体降解途径,从而显著降低EphB2的蛋白总量以及在神经元细胞膜表面的表达量,引起树突棘和突触的减少。在老年痴呆症小鼠模型中恢复EphB2表达,能够挽救A β 累积引起的突触可塑性和认知功能障碍^[25]。此外,EphA4的激活可以引起树突棘的回缩以及传导下降,这与A β 引起的突触形态与功能异常类似。加之EphB2与A β 有很强的亲和力,这也让人联想到同一家族中的EphA4是否也与A β 相互亲和,并介导神经突触的退化。这一假设还有待进一步研究证实。

2.1.4 CRE信号通路

环腺苷酸效应元件(cAMP-response element, CRE)是指一段由30 bp左右的DNA片段构成的cAMP应答序列。这段序列含有高度保守的5'-TGAC-

GTCA-3'的8 bp回文结构,主要存在于基因的启动子与增强子上,是重要的转录调控元件,调节下游基因的表达^[26]。许多与神经功能相关的蛋白基因上游都含有CRE序列,例如细胞骨架活性调节蛋白(activity-regulated cytoskeleton-associated protein, ARC)和脑源性神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)等。这些蛋白质大都参与调控突触发育和可塑性。以BDNF为例,BDNF及其受体TrkB在中枢神经系统中广泛表达,激活其信号通路会促进树突棘的形成,增加突触的密度,调节突触可塑性^[27]。而另外一类含CRE序列的为立早基因(immediate early genes),是一组在受到一系列外界刺激后迅速并且短暂激活的基因(*c-fos*、*c-jun*等)。这些基因激活的产物本身即为转录调控因子,可以迅速激活二次转录,继续表达相关蛋白,对神经活动做出调节^[28]。

环腺苷酸效应元件结合蛋白(cAMP-response element binding protein, CREB),顾名思义,可以识别并结合在CRE序列,刺激下游基因转录。CREB的活性主要通过磷酸化控制,133位的苏氨酸是其主要的磷酸化位点。cAMP/PKA、CaMKII、Erk等激酶通路均可以增强133位的磷酸化。在后期LTP中,CREB磷酸化的增加大大促进了CRE下游基因的表达,对LTP的维持起到了至关重要的作用,被认为是长期记忆建立的重要信号通路^[26]。

在A β 的作用下,低浓度钙离子内流提高了CaN活性,从而造成CREB的去磷酸化。实验表明,A β 处理后16 h,体外培养的海马神经元CREB的磷酸化水平显著下降。此外,A β 可以降低腺苷酸环化酶活性^[29],从而降低细胞内cAMP的浓度,从源头上阻断了CREB活性的来源。研究表明,在老年痴呆症患者中,腺苷酸环化酶的活性降低,CREB/CRE信号通路受到影响。另外,BDNF的mRNA水平在老年痴呆症大脑皮层和海马区均有所下调^[30],这一定程度上反映了CRE/CREB通路遭到阻断。由于CRE/CREB通路介导长期记忆的建立,上述发现一定程度上解释了老年痴呆症患者长期记忆丧失的原因。

2.2 A β 毒性的其他损伤机理

除了造成神经突触传导功能障碍,A β 也对神经元其他生理活动造成损伤,导致神经系统的退行性变化。以下列举了其中几个方面。

2.2.1 A β 介导的过氧化损伤

研究表明,老年痴呆症患者脑中超氧化物歧化

酶 (superoxide dismutase, SOD)、葡萄糖-6-磷酸脱氢酶 (glucose-6-phosphate dehydrogenase, G-6-PD) 活性增高, 谷氨酰胺合成酶 (glutamine synthase, GS) 活性降低, 脂质过氧化物增多, 这也表明了自由基和过氧化物损伤与老年痴呆症有着密切联系。A β 可诱导产生自由基, 从而对生物膜造成损害。A β 主要攻击生物膜脂质双层结构的磷脂和不饱和脂肪酸, 生成有细胞毒性的脂质自由基和脂质过氧化物。后者又可以分解为更多自由基, 作用于其他生物膜, 产生新的自由基^[31]。这些自由基可以加速生物膜的破坏, 使膜的通透性、流动性增加, 组织水肿坏死。

2.2.2 A β 介导的神经元凋亡

如前文所述, A β 可以刺激 NMDA 受体, 引起钙离子内流。这种信号能够导致胞内一氧化氮 (nitric oxide, NO) 合成增加, 从而引起细胞凋亡。用 NMDA 受体阻断剂或者去除胞外钙离子都可以有效减少 A β 诱导的 NO 产生以及降低细胞毒性^[32-33]。同时, 由于膜结构的过氧化损伤, 从胞外流入胞内和从线粒体释放的钙离子大量增多, 引发钙超载, 加速线粒体通透性转运孔的开放, 促进细胞色素 C 的释放, 激活凋亡相关酶类家族, 引发细胞凋亡的级联反应^[34]。

2.2.3 A β 介导的炎症反应

炎症反应是老年痴呆症的重要病理机制, 炎症介质促进了老年痴呆症的发生与发展。老年痴呆症患者大脑中存在着明显非特异性免疫炎症反应, 而且在斑块形成的早中期即起作用^[35], 其主要表现为白介素-1 (IL-1)、白介素-6 (IL-6) 和肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 等炎症因子在老年痴呆症脑组织反应区上调。实验表明, A β 能直接激活小胶质细胞, 引发炎症反应^[36]。在老年痴呆症中, 小胶质细胞可以释放过氧化物直接对神经元直接造成伤害, 同时也会释放细胞因子对邻近神经元或内皮细胞造成伤害。这些因子包括 IL-1、TNF- α 、NO 以及多种蛋白溶解酶, 从而导致神经元发生退化性病变^[37]。近年来的研究也表明, 小胶质细胞介导的反应在老年痴呆症中具有双重作用, 在释放炎症因子的同时, 小胶质细胞也可以对 A β 进行吞噬, 促进机体对于 A β 的代谢^[38]。

3 tau蛋白异常修饰假说

tau 蛋白是神经元主要的微管结合蛋白 (microtubule-associated protein, MAP), 相对分子质量为

48~60 kDa。tau 的正常功能是与微管蛋白结合, 并维持微管的稳定性。tau 蛋白可以细分为四个部分: N 末端、脯氨酸丰富区、微管结合区和 C 末端。正常机体中的 tau 蛋白存在许多种类的修饰, 包括磷酸化、乙酰化、谷氨酰胺转移酶介导的交联、糖化、异构化、硝化、泛素化、类泛素化以及 O 位 N-乙酰葡萄糖胺 (O-GlcNAc) 糖基化等一系列修饰。在老年痴呆症中, tau 蛋白发生异常修饰, 并最终导致 NFT 的形成。神经原纤维缠结多见于较大的神经元, 尤以海马、杏仁核、颞叶内侧、额叶皮质的锥体细胞最为多见, 这一变化是神经元趋于死亡的标志。tau 蛋白发生异常修饰以异常磷酸化为主, 同时也包括其他一些异常修饰^[39-40]。

3.1 异常磷酸化

Tau 蛋白含有众多磷酸化位点, 而其磷酸化的异常则反映了老年痴呆症中大量蛋白激酶和蛋白磷酸酶活性的异常。老年痴呆症患者脑中 tau 蛋白总量多于正常人, 且正常 tau 蛋白减少, 而异常过度磷酸化 tau 蛋白大量增加^[41]。

异常磷酸化后的 tau 蛋白对神经系统造成的损伤主要有以下几点。(1) 降低微管蛋白的稳定性, 造成轴突运输障碍。老年痴呆症患者脑中异常过度磷酸化的 tau 蛋白与微管蛋白的结合力仅是正常 tau 蛋白的 1/10, 失去了其促进微管装配形成的生物学功能以及维持微管稳定的作用。此外, 异常磷酸化的 tau 还可以与微管蛋白竞争结合正常 tau 蛋白, 或从已经形成的微管蛋白上夺取正常的 tau 蛋白, 破坏正常的微管系统, 引起神经元的退行性变性^[41]。(2) 充当支架蛋白, 介导突触损伤通路。研究表明, 异常磷酸化的 tau 蛋白, 由于丧失了正常结合微管蛋白的能力, 在神经元中的分布也发生改变, 从轴突逐渐扩散到树突, 并造成树突棘功能障碍^[42]。最新研究也表明, tau 蛋白可以与 Fyn 结合, 并转运 Fyn 进入树突棘, 而 Fyn 将参与 NMDA 受体介导的 LTD, 从而增强 A β 对于突触连接的损伤^[43]。

Tau 蛋白磷酸化一般可分为丝氨酸/苏氨酸磷酸化和酪氨酸磷酸化, 以下分别阐述。

3.1.1 丝氨酸/苏氨酸磷酸化

以蛋白激酶为例, 根据其催化底物磷酸化反应的序列特异性, 又可以将丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶分为两大类: (1) 脯氨酸依赖性蛋白激酶 (proline-directed protein kinase, PDPK), 其特异性靶序列是 X(S/T)P (X 为任意氨基酸, S 为丝氨酸, T 为苏氨酸, P 为脯氨酸); (2) 非脯氨酸依赖的蛋白激酶 (non-

proline-directed protein kinase, non-PDPK)。在已知与老年痴呆症相关的 tau 蛋白异常磷酸化位点中,约有半数 PDPK 位点,另一半为 non-PDPK 位点^[42]。

能使 tau 在 PDPK 位点发生磷酸化的蛋白激酶主要有:细胞外信号相关的蛋白激酶 (extracellular signal-related protein kinase, Erk)、周期蛋白依赖性蛋白激酶-5 (cyclin-dependent kinase-5, Cdk5) 和糖原合成酶激酶-3 (glycogen synthase kinase-3, GSK-3) 等。在神经系统中, Cdk5 是一种十分重要的周期蛋白依赖性蛋白激酶。虽然正常神经元不会再进入细胞周期,但 Cdk5 却一直具有活性,并且参与调节神经系统的发育以及正常的神经活动^[44]。但是在老年痴呆症中, Cdk5 的激活蛋白 p35 被大量剪切为 p25。p25 的代谢周期远远超过 p35,而且细胞内的定位和底物特异性也有所不同,因此不但可以持续激活 Cdk5 活性,还能够造成 tau 蛋白的异常过磷酸化^[45]。GSK-3 则被认为是老年痴呆症中造成 tau 异常磷酸化的主要激酶之一。GSK-3 的亚基 GSK-3 α 和 GSK-3 β 均可磷酸化 tau 蛋白。GSK-3 β 转基因小鼠表现出 tau 蛋白过磷酸化并伴随神经退行性病变,而 GSK-3 β 抑制剂则可以缓解 tau 蛋白过度磷酸化,从而揭示了 GSK-3 在 tau 异常磷酸化过程中的重要地位^[46]。

能使 tau 蛋白发生磷酸化的 non-PDPK 有:蛋白激酶 A (protein kinase A, PKA)、蛋白激酶 C (protein kinase C)、CaMKII、大鼠小脑源性钙/钙调素-依赖性蛋白激酶 (Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase type Gr)、酪蛋白激酶-1 (casein kinase-1, CK-1) 和酪蛋白激酶-2 (CK-2) 等。研究表明, non-PDPK 位点的磷酸化对 PDPK 位点的磷酸化有一定调控作用,某些 non-PDPK 位点的磷酸化可以显著改变 PDPK 位点的磷酸化效果,增加 tau 磷酸化的水平^[42]。以 PKA 为例,PKA 介导的 tau 磷酸化可以促进 GSK-3 β 对 tau 蛋白一系列位点的磷酸化 (Thr181、Ser199、Ser202、Thr205、Thr217、Thr231、Ser396、Ser422),同时也会抑制某些位点的磷酸化 (Thr212、Ser404); 同样,PKA 对 tau 蛋白的磷酸化也会对 Cdk5 介导的磷酸化位点产生促进 (Thr181、Ser199、Thr205、Thr231、Ser396、Ser422) 或抑制 (Ser202、Thr212、Thr217、Ser404) 作用^[47-48]。这也从一方面说明, tau 蛋白异常磷酸化是由多种因素共同导致的,其完整的疾病诱发机制较为复杂,还有待于进一步的研究。

3.1.2 酪氨酸磷酸化

在老年痴呆症中, tau 蛋白丝氨酸/苏氨酸位点的异常磷酸化受到了广泛的关注并得到了大量的研究,近来 tau 酪氨酸磷酸化也逐渐受到关注。Tau 蛋白 18 位点的酪氨酸可以被 Fyn 和 Src 磷酸化^[49]。研究表明,此位点的磷酸化存在于老年痴呆症患者脑组织神经原纤维缠结中^[50]。其功能可能与异常 tau 蛋白积聚和神经原纤维缠结有关。

3.2 其他异常修饰

老年痴呆症异常磷酸化的 tau 蛋白会被甘露糖唾液酸 α -(2-3) 糖苷键末端连接的半乳糖、 β 半乳糖 (1-3)-N-乙酰半乳糖胺和 β -半乳糖 (1-4)-N-乙酰半乳糖胺等修饰。这些修饰可能与老年痴呆症患者神经细胞膜脂和膜异常流动有关^[51-52]。

聚集成双螺旋丝的 tau 蛋白会被泛素化,这种泛素化不存在于正常 tau 蛋白中,可能是机体试图通过水解清除异常修饰的 tau 蛋白^[53]。研究表明,敲除 tau 蛋白的转基因小鼠并未出现轴突传导异常和学习认知行为异常,表明机体对 tau 蛋白的损失具有补充机制。而在老年痴呆症小鼠中敲除 tau 蛋白反而对病情产生了一定的改善作用,表明 tau 蛋白异常介导了老年痴呆症的发病。这很可能是通过介导 Fyn 的信号通路产生的神经毒害作用^[41]。因此,机体通过 tau 蛋白泛素化降低 tau 蛋白水平具有重要保护作用。

在老年痴呆症中 tau 蛋白还可以发生异常切割^[54]。参与切割的酶是细胞凋亡蛋白酶 3 (caspase 3) 和钙蛋白酶 (calpain)^[55]。Tau 蛋白被切割为一系列长度不一的片段,诱导神经元凋亡。在老年痴呆症中, A β 介导的钙离子内流大大提升了 calpain 的活性,切割 tau 蛋白,促进细胞凋亡。在细胞凋亡过程中, caspase-3 被激活,加速 tau 蛋白的切割,进一步诱导凋亡^[56]。这也被认为是一种细胞凋亡的正反馈循环,大大加速了老年痴呆症患者神经系统的损伤^[41]。

4 老年痴呆症的生物标记物和相关治疗药物

对于普通人来说,老年痴呆症早期表现出的轻度认知障碍与一般的健忘很相似,如果不经专业诊断,很容易被忽视。当出现严重的认知障碍时,往往病情已经无法逆转。因此探索老年痴呆症早期发病过程的生物标记物对于老年痴呆症的诊断和治疗都具有重要意义。

目前有许多老年痴呆症生物标记已被确定,一

些已经用于辅助临床诊断,大致可以分为以下几类。

(1) 基因标记物。家族性老年痴呆症(早发性老年痴呆症)已经被证明与遗传因素相关。APP 基因突变会引发早发性老年痴呆症。APP 基因位于 21 号染色体,目前为止已经在基因上发现了 28 个与老年痴呆症相关的突变^[57]。位于 14 号染色体的早老素基因-1(PSI) 突变也可以诱发早发性老年痴呆症^[58]。此外老年痴呆症还存在许多易感因子,与晚发性老年痴呆症密切相关, ApoE 基因就是很好的一个代表。ApoE 的 $\epsilon 4$ 等位基因携带者老年痴呆症发病的风险明显高于其他三个等位基因^[59]。(2) 生化分子标记物。主要可以分为特异性和非特异性两种。特异性标记物主要是指与老年痴呆症发病机理相关的因子,例如导致淀粉样斑块的 A β 和神经原纤维缠结的 tau 蛋白。研究表明,由于在脑组织中沉积产生淀粉样斑块,老年痴呆症患者的脑脊液中 A β_{1-42} 的含量反而减少^[60]。相比之下,老年痴呆症脑脊液中磷酸化的 tau 蛋白浓度上升。因此磷酸化 tau 与 A β_{1-42} 之间的比例(p-tau181/A β_{1-42})是目前比较好的脑脊液生物标记^[61-62]。非特异性标记物则是指与老年痴呆症并发症相关的因子,例如免疫炎症反应、氧化应激反应等。这些都是老年痴呆症发病时机体产生的反应,虽然不是老年痴呆症所特有,但与老年痴呆症发病过程具有很好的相关性,可以作为临床诊断的参考。例如脑脊液中的白蛋白含量和血液中的促炎症细胞因子(IL-1、IL-6 等)可作为老年痴呆症炎症反应的标记物;而血液中某些蛋白的氧化(例如 $\alpha 1$ -抗胰蛋白酶)则可以反映老年痴呆症病理进程中的氧化应激反应^[63]。(3) 脑成像标记物。由于神经突触与神经元的损失导致脑部萎缩,因此,脑结构成像可以反应老年痴呆症的发病情况。正电子发射层析扫描(PET)可以测量脑部不同部位的代谢活性^[64],在临床常被用于老年痴呆症患者的早期检测。硫磺素衍生物类(PIB)可以与 A β 结合,能够用于活体显示脑内 A β 的沉淀情况^[65],对于老年痴呆症诊断具有重大意义。

目前为止,可以用于老年痴呆症治疗的药物或者潜在的药物种类并不多,大致分为以下几类。(1) 改善乙酰胆碱神经传导的药物。因为在老年痴呆症发病过程中,胆碱能神经元丧失,乙酰胆碱运输、合成、传导下降,导致学习记忆力下降^[66]。临床上采用乙酰胆碱酯酶抑制剂(Donepezil、Galantamine、Rivastigmine 等)和乙酰胆碱受体激动剂(Xanomeline)

均可提高乙酰胆碱神经传导活性,改善记忆^[67-69]。(2) NMDA 受体拮抗剂。如前文所述,NMDA 介导的 LTD 和神经元凋亡很大程度上促进了老年痴呆症的发展,抑制其活性则可以达到保护神经系统的目的。Memantine 是一种非竞争性 NMDA 受体抑制剂,具有低度至中度的 NMDA 受体亲和力,可以抑制受体病理活化过程,同时不会造成较大的生理活性变化^[70-71]。(3) 针对 A β 的药物。A β 沉积导致淀粉样斑块,同时 A β 寡聚物也具有较强神经毒性,因此清除 A β 对于老年痴呆症的治疗相当重要。例如 β 和 γ 分泌酶抑制剂类药物,可以阻断降低 A β 的产生^[72]。A β 抗体则可以特异性结合 A β ,阻止 A β 聚合,促进 A β 代谢。虽然这类药物还未能通过临床试验,但依然被认为是治疗老年痴呆症的一种有效途径^[73]。(4) 针对 tau 蛋白的药物。针对异常磷酸化的 tau 蛋白,可以发展降低其磷酸化的药物。锂(lithium)可以抑制 GSK-3 β 的活性,降低 tau 蛋白磷酸化水平,因此锂盐被认为具有作为老年痴呆症药物的潜力^[74]。另外,吩噻嗪亚甲基蓝(phenothiazine methylene blue)通过降低异常 tau 蛋白的积聚,对老年痴呆症起到了一定的缓解作用^[75]。(5) 针对 cAMP/CRE 信号通路的药物。咯利普兰(Rolipram)是磷酸二酯酶 4(phosphodiesterase 4, PDE4)的抑制剂,可以提升神经元内 cAMP 浓度,激活 CRE 下游基因,增强神经突触传导,保护并改善老年痴呆症患者的学习与认知能力^[76]。(6) 神经生长因子类药物。老年痴呆症中神经元大量损伤死亡,而神经生长因子对于神经损伤修复,降低神经元凋亡具有重要作用,可以改善老年痴呆症症状^[77]。(7) 激素类药物。研究表明,雌性激素可以减少 A β 对于机体的损伤,促进神经元修复,阻止神经元凋亡,对于延缓和预防女性老年痴呆症具有一定意义^[78-79]。然而,目前只有 Donepezil、Galantamine、Rivastigmine 和 Memantine 四种经过了美国 FDA 批准用于老年痴呆症治疗,上述药物中的大多数还处于研发或者临床试验阶段。

5 总结和展望

总的来说,老年痴呆症的发病机理十分复杂,是一系列因素共同作用的结果,单一信号通路异常无法解释整个老年痴呆症的发病过程。通过研究多种信号通路以及这些通路之间的交叉作用,有助于筛选特异性药物,对老年痴呆症发病中重要的信号

通路进行干预和修饰,也有助于探索复合给药的可行性,对于老年痴呆症治疗手段的研究具有重要意义。

[参 考 文 献]

- [1] Berchtold NC, Cotman CW. Evolution in the conceptualization of dementia and Alzheimer's disease: Greco-Roman period to the 1960s. *Neurobiol Aging*, 1998, 19(3): 173-89
- [2] Selkoe DJ. Alzheimer's disease: genes, proteins, and therapy. *Physiol Rev*, 2001, 81(2): 741-66
- [3] Serpell LC. Alzheimer's amyloid fibrils: structure and assembly. *Biochim Biophys Acta*, 2000, 1502(1): 16-30
- [4] LaFerla FM, Green KN, Oddo S. Intracellular amyloid- β in Alzheimer's disease. *Nat Rev Neurosci*, 2007, 8(7): 499-509
- [5] Waites CL, Craig AM, Garner CC. Mechanisms of vertebrate synaptogenesis. *Annu Rev Neurosci*, 2005, 28: 251-74
- [6] Masliah E, Mallory M, Alford M, et al. Altered expression of synaptic proteins occurs early during progression of Alzheimer's disease. *Neurology*, 2001, 56(1): 127-9
- [7] Scheff SW, Price DA, Schmitt FA, et al. Synaptic alterations in CA1 in mild Alzheimer disease and mild cognitive impairment. *Neurology*, 2007, 68(18): 1501-8
- [8] Klyubin I, Walsh DM, Lemere CA, et al. Amyloid β protein immunotherapy neutralizes A β oligomers that disrupt synaptic plasticity *in vivo*. *Nat Med*, 2005, 11(5): 556-61
- [9] 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
- [10] Knobloch M, Mansuy IM. Dendritic spine loss and synaptic alterations in Alzheimer's disease. *Mol Neurobiol*, 2008, 37(1): 73-82
- [11] Sanchez-Perez A, Llansola M, Cauli O, et al. Modulation of NMDA receptors in the cerebellum. II. Signaling pathways and physiological modulators regulating NMDA receptor function. *Cerebellum*, 2005, 4(3): 162-70
- [12] Martin SJ, Grimwood PD, Morris RGM. Synaptic plasticity and memory: An evaluation of the hypothesis. *Annu Rev Neurosci*, 2000, 23: 649-711
- [13] Texido L, Martin-Satue M, Alberdi E, et al. Amyloid β peptide oligomers directly activate NMDA receptors. *Cell Calcium*, 2011, 49(3): 184-190
- [14] Harney SC, Rowan M and Anwyl R. Long-term depression of NMDA receptor-mediated synaptic transmission is dependent on activation of metabotropic glutamate receptors and is altered to long-term potentiation by low intracellular calcium buffering. *J Neurosci*, 2006, 26(4): 1128-32
- [15] Li SM, Jin M, Koeglsperger 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
- [16] Talantova M, Sanz-Blasco S, Zhang XF, 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
- [17] Renner M, Lacor PN, Velasco PT, et al. Deleterious effects of amyloid β oligomers acting as an extracellular scaffold for mGluR5. *Neuron*, 2010, 66(5): 739-54
- [18] Um JW, Nygaard HB, Heiss JK, et al. Alzheimer amyloid- β oligomer bound to postsynaptic prion protein activates Fyn to impair neurons. *Nat Neurosci*, 2012, 15(9): 1227-U85
- [19] Um JW, Kaufman AC, Kostylev M, et al. Metabotropic glutamate receptor 5 is a coreceptor for Alzheimer A β oligomer bound to cellular prion protein. *Neuron*, 2013, 79(5): 887-902
- [20] Fu WY, Chen Y, Sahin M, et al. Cdk5 regulates EphA4-mediated dendritic spine retraction through an ephexin1-dependent mechanism. *Nat Neurosci*, 2007, 10(1): 67-76
- [21] Henkemeyer M, Itkis OS, Ngo M, et al. Multiple EphB receptor tyrosine kinases shape dendritic spines in the hippocampus. *J Cell Biol*, 2003, 163(6): 1313-26
- [22] Xu NJ, Sun SY, Gibson JR, et al. A dual shaping mechanism for postsynaptic ephrin-B3 as a receptor that sculpts dendrites and synapses. *Nat Neurosci*, 2011, 14(11): 1421-U92
- [23] Segura I, Essmann CL, Weinges S, et al. Grb4 and GIT1 transduce ephrinB reverse signals modulating spine morphogenesis and synapse formation. *Nat Neurosci*, 2007, 10(3): 301-10
- [24] Simon AM, de Maturana RL, Ricobaraza A, et al. Early changes in hippocampal Eph receptors precede the onset of memory decline in mouse models of Alzheimer's disease. *J Alzheimer's Dis*, 2009, 17(4): 773-86
- [25] Cisse M, Halabisky B, Harris J, et al. Reversing EphB2 depletion rescues cognitive functions in Alzheimer model. *Nature*, 2011, 469(7328): 47-52
- [26] Barco A, Jancic D, Kandel ER. CREB-dependent transcription and synaptic plasticity. *Transcript Regul Neuron Activ*, 2008: 127-54
- [27] Tao X, Finkbeiner S, Arnold DB, et al. Ca²⁺ influx regulates BDNF transcription by a CREB family transcription factor-dependent mechanism. *Neuron*, 1998, 20(4): 709-26
- [28] Abraham WC, Dragunow M, Tate WP. The role of immediate early genes in the stabilization of long-term potentiation. *Mol Neurobiol*, 1991, 5(2-4): 297-314
- [29] Bisel BE, Henkins KM, Parfitt KD. Alzheimer amyloid β -peptide A β (25-35) blocks adenylate cyclase-mediated forms of hippocampal long-term potentiation. *Imaging Aging Brain*, 2007, 1097: 58-63
- [30] Phillips HS, Hains JM, Armanini M, et al. BDNF mRNA is decreased in the hippocampus of individuals with Alzheimer's disease. *Neuron*, 1991, 7(5): 695-702
- [31] Cai ZY, Zhao B, Ratka A. Oxidative stress and β -amyloid protein in Alzheimer's disease. *Neuromol Med*, 2011, 13(4): 223-50
- [32] Keil U, Bonert A, Marques CA, et al. Amyloid β -induced changes in nitric oxide production and mitochondrial

- activity lead to apoptosis. *J Biol Chem*, 2004, 279(48): 50310-20
- [33] Calabrese V, Mancuso C, Calvani M, et al. Nitric oxide in the central nervous system: neuroprotection versus neurotoxicity. *Nat Rev Neurosci*, 2007, 8(10): 766-75
- [34] LaFerla FM. Calcium dyshomeostasis and intracellular signalling in Alzheimer's disease. *Nat Rev Neurosci*, 2002, 3(11): 862-72
- [35] Combs CK, Johnson DE, Karlo JC, et al. Inflammatory mechanisms in Alzheimer's disease: Inhibition of beta-amyloid-stimulated proinflammatory responses and neurotoxicity by PPAR gamma agonists. *J Neurosci*, 2000, 20(2): 558-67
- [36] Klegeris A, Walker DG, McGeer PL. Activation of macrophages by Alzheimer β -amyloid peptide. *Biochem Biophys Res Commun*, 1994, 199(2): 984-91
- [37] Elmore S. Apoptosis: A review of programmed cell death. *Toxicol Pathol*, 2007, 35(4): 495-516
- [38] Zhang L, Fiala M, Cashman J, et al. Curcuminoids enhance amyloid- β uptake by macrophages of Alzheimer's disease patients. *J Alzheimers Dis*, 2006, 10(1): 1-7
- [39] Gong CX, Grundke-Iqbal I, Iqbal K. Targeting tau protein in Alzheimer's disease. *Drug Aging*, 2010, 27(5): 351-65
- [40] Lee HG, Perry G, Moreira PI, et al. Tau phosphorylation in Alzheimer's disease: pathogen or protector? *Trends Mol Med*, 2005, 11(4): 164-9
- [41] Morris M, Maeda S, Vossel K, et al. The many faces of tau. *Neuron*, 2011, 70(3): 410-26
- [42] Avila J, Santa-Maria I, Perez M, et al. Tau phosphorylation, aggregation, and cell toxicity. *J Biomed Biotechnol*, 2006, 2006(3): 74539
- [43] 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
- [44] Su SC, Tsai LH. Cyclin-dependent kinases in brain development and disease. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2011, 27: 465-91
- [45] Otth C, Concha II, Arendt T, et al. A β PP induces cdk5-dependent tau hyperphosphorylation in transgenic mice Tg2576. *J Alzheimers Dis*, 2002, 4(5): 417-30
- [46] Rankin CA, Sun Q, Gamblin TC. Tau phosphorylation by GSK-3 β promotes tangle-like filament morphology. *Mol Neurodegener*, 2007, 2: 12
- [47] Liu F, Liang Z, Shi J, et al. PKA modulates GSK-3 β - and cdk5-catalyzed phosphorylation of tau in site- and kinase-specific manners. *FEBS Lett*, 2006, 580(26): 6269-74
- [48] Andorfer CA, Davies P. PKA phosphorylations on tau: developmental studies in the mouse. *Dev Neurosci*, 2000, 22(4): 303-9
- [49] Bhaskar K, Hobbs GA, Yen SH, et al. Tyrosine phosphorylation of tau accompanies disease progression in transgenic mouse models of tauopathy. *Neuropathol Appl Neurobiol*, 2010, 36(6): 462-77
- [50] Lee G, Thangavel R, Sharma VM, et al. Phosphorylation of tau by fyn: implications for Alzheimer's disease. *J Neurosci*, 2004, 24(9): 2304-12
- [51] Liu F, Zaidi T, Iqbal K, et al. Aberrant glycosylation modulates phosphorylation of tau by protein kinase A and dephosphorylation of tau by protein phosphatase 2A and 5. *Neuroscience*, 2002, 115(3): 829-37
- [52] Robertson LA, Moya KL and Breen KC. The potential role of tau protein O-glycosylation in Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*, 2004, 6(5): 489-95
- [53] Petrucelli L, Dickson D, Kehoe K, et al. CHIP and Hsp70 regulate tau ubiquitination, degradation and aggregation. *Hum Mol Genet*, 2004, 13(7): 703-14
- [54] Hanger DP, Wray S. Tau cleavage and tau aggregation in neurodegenerative disease. *Biochem Soc Trans*, 2010, 38(4): 1016-20
- [55] Mondragon-Rodriguez S, Basurto-Islas G, Santa-Maria I, et al. Cleavage and conformational changes of tau protein follow phosphorylation during Alzheimer's disease. *Int J Exp Pathol*, 2008, 89(2): 81-90
- [56] Rissman RA, Poon WW, Blurton-Jones M, et al. Caspase-cleavage of tau is an early event in Alzheimer disease tangle pathology. *J Clin Invest*, 2004, 114(1): 121-30
- [57] Wakutani Y. Gene symbol: APP. Disease: Familial Alzheimer's disease. *Hum Genet*, 2005, 117(2-3): 299
- [58] Park HK, Na DL, Lee JH, et al. Identification of PSEN1 and APP gene mutations in Korean patients with early-onset Alzheimer's disease. *J Korean Med Sci*, 2008, 23(2): 213-7
- [59] Namboori PK, Vineeth KV, Rohith V, et al. The ApoE gene of Alzheimer's disease (AD). *Funct Integr Genomics*, 2011, 11(4): 519-22
- [60] Blennow K, Hampel H. CSF markers for incipient Alzheimer's disease. *Lancet Neurol*, 2003, 2(10): 605-13
- [61] Mitchell AJ. CSF phosphorylated tau in the diagnosis and prognosis of mild cognitive impairment and Alzheimer's disease: a meta-analysis of 51 studies. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 2009, 80(9): 966-75
- [62] Formichi P, Parnetti L, Radi E, et al. CSF levels of β -amyloid 1-42, tau and phosphorylated tau protein in CADA-SIL. *Eur J Neurol*, 2008, 15(11): 1252-5
- [63] Guo LH, Alexopoulos P, Wagenpfeil S, et al. Plasma proteomics for the identification of Alzheimer disease. *Alzheimer Dis Assoc Disord*, 2013, 27(4): 337-42
- [64] Nordberg A, Rinne JO, Kadir A, et al. The use of PET in Alzheimer disease. *Nat Rev Neurol*, 2010, 6(2): 78-87
- [65] Campbell MC, Markham J, Flores H, et al. Principal component analysis of PiB distribution in Parkinson and Alzheimer diseases. *Neurology*, 2013, 81(6): 520-7
- [66] Giacobini E. The cholinergic system in Alzheimer disease. *Prog Brain Res*, 1990, 84: 321-32
- [67] Perry E. Cholinergic signaling in Alzheimer disease: therapeutic strategies. *Alzheimer Dis Assoc Disord*, 1995, 9 Suppl 2: 1-2
- [68] Whitehouse PJ, Price DL, Clark AW, et al. Alzheimer disease: evidence for selective loss of cholinergic neurons in the nucleus basalis. *Ann Neurol*, 1981, 10(2): 122-6
- [69] Desmarais JE, Gauthier S. Alzheimer disease: clinical use of cholinergic drugs in Alzheimer disease. *Nat Rev Neurol*, 2010, 6(8): 418-20
- [70] Smith M, Wells J, Borrie M. Treatment effect size of

- memantine therapy in Alzheimer disease and vascular dementia. *Alzheimer Dis Assoc Disord*, 2006, 20(3): 133-7
- [71] Lopez OL, Becker JT, Wahed AS, et al. Long-term effects of the concomitant use of memantine with cholinesterase inhibition in Alzheimer disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 2009, 80(6): 600-7
- [72] Pollack SJ, Lewis H. Secretase inhibitors for Alzheimer's disease: challenges of a promiscuous protease. *Curr Opin Investig Drugs*, 2005, 6(1): 35-47
- [73] Aguzzi A, Gitler AD. A template for new drugs against Alzheimer's disease. *Cell*, 2013, 154(6): 1182-4
- [74] Noble W, Planel E, Zehr C, et al. Inhibition of glycogen synthase kinase-3 by lithium correlates with reduced tauopathy and degeneration *in vivo*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102(19): 6990-5
- [75] Gura T. Hope in Alzheimer's fight emerges from unexpected places. *Nat Med*, 2008, 14(9): 894
- [76] Gong B, Vitolo OV, Trinchese F, et al. Persistent improvement in synaptic and cognitive functions in an Alzheimer mouse model after rolipram treatment. *J Clin Invest*, 2004, 114(11): 1624-34
- [77] Li LY, Li JT, Wu QY, et al. Transplantation of NGF-gene-modified bone marrow stromal cells into a rat model of Alzheimer' disease. *J Mol Neurosci*, 2008, 34(2): 157-63
- [78] Xu H, Gouras GK, Greenfield JP, et al. Estrogen reduces neuronal generation of Alzheimer β -amyloid peptides. *Nat Med*, 1998, 4(4): 447-51
- [79] Blanc F, Poisbeau P, Sellal F, et al. Alzheimer disease, memory and estrogen. *Rev Neurol (Paris)*, 2010, 166(4): 377-88