

DOI: 10.13376/j.cbls/2018002

文章编号: 1004-0374(2018)01-0009-11

神经营养因子在阿尔茨海默病中的作用及应用现状

乌汉其木格*, 敖登其木格, 张 文, 奥东塔娜, 斯琴塔娜

(内蒙古自治区国际蒙医医院, 呼和浩特 010065)

摘 要: 神经营养因子是一类机体内分泌的, 为神经元发育、生长及分化所必需的蛋白质。在整个生命过程中, 神经营养因子对中枢及周围神经系统中神经元功能特性的表达、维持突触的生长及可塑性、防止神经元受损及凋亡及改善已受损神经元修复均具有重要的调控作用。结合神经生长因子与脑源性神经生长因子研究现状, 主要介绍神经生长因子与脑源性神经生长因子在阿尔茨海默病中的作用及机理研究进展, 总结神经营养因子在阿尔茨海默病临床应用的现状, 最后分析预防和治疗阿尔茨海默病新手段的研究方向。

关键词: 神经营养因子; 阿尔茨海默病; 机理; 应用

中图分类号: R741 文献标志码: A

Implications of neurotrophins in the pathogenesis and therapy for Alzheimer's disease

Wuhanqimuge*, Aodengqimuge, ZHANG Wen, Aodongtana, Siqintana

(Inner Mongolia International Mongolian Hospital, Hohhot 010065, China)

Abstract: Neurotrophins are a family of secreted proteins necessary for the growth, survival and differentiation of neurons. They play essential roles in the central and peripheral nervous system by regulating diverse physiological functions of neurons, supporting the growth of axon and plasticity of neurons, protecting neurons from damage and apoptosis and improving the repair of damaged neurons throughout the entire life. Here, we first focused on the recent advances of the roles and mechanisms of nerve growth factor (NGF) and brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in Alzheimer's disease (AD), then summarized the status quo of clinical applications of neurotrophins in AD, finally discussed the future directions for the development of new therapies for AD.

Key words: neurotrophins; Alzheimer's disease; mechanism; application

阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 好发于 65 岁以上的老人, 然而也有少许的 AD 患者会提早发病。预计到 2050 年, 全球每 85 人就有一人罹患 AD, 尤其是脑缺血缺氧和长期睡眠不足的人, 会出现早老性痴呆, 其初期主要症状为记忆力、分析思维能力下降以及性情改变。除了 AD 之外, 精神分裂症、帕金森病、抑郁、亨廷顿病等也均伴有记忆减退症状。衰老引起的学习记忆障碍已经成为威胁全球公共卫生最大问题之一。目前, 衰老引起的学习记忆能力减退的分子机理仍不明确。但众多研究证明, 衰老主要引起大脑皮层和海马体内神经元功能的减退, 并伴随大量神经细胞死亡, 导致认知能力减退和学习记忆能力的下降。

神经营养因子是一类神经细胞发育、存活及增殖所必需的蛋白质, 在机体神经系统中, 促进神经元突触的生长、信号的传递、神经元修复、阻止神经细胞凋亡, 对机体认知能力、学习记忆能力及行为能力均起着重要作用。

为此, 深入研究神经营养因子在 AD 中的作用机理, 探索可抑制神经细胞凋亡、预防神经元受损、

收稿日期: 2017-05-22; 修回日期: 2017-09-13

基金项目: 内蒙古自治区自然科学基金项目(2015BS-0322); “草原英才”工程“蒙药新药研发及产业化创新团队”项目(内组通字【2015】56号); 蒙药新药研发及药物实验室的建设项目(2016YJS19)

*通信作者: E-mail: 939839367@qq.com

和改善已受损神经元功能的方法,将对研发预防、控制和治疗 AD 带来重要的社会价值和意义^[1-4]。

1 神经营养因子

神经营养因子是一组机体内分泌的生长因子,它们通过诱导不同信号通路调控中枢神经及周围神经系统大量神经元的发育、存活、分化、修复及其功能。最早发现的神经生长因子是神经生长因子(nerve growth factor, NGF),由意大利神经生物学家 Rita Levi-Montalcini 于 1952 年在美国华盛顿大学 Victor Hamburger 实验室从癌变组织中发现并分离。1986 年,她和合作伙伴美国生物化学家 Stanley Cohen 分享了诺贝尔生理学或医学奖。NGF 是一种由 α 、 β 、 γ 三个亚单位,以 2:1:2 比例组成的复合蛋白。其中主要活性区为 β 亚单位,是 2 条由 118 个氨基酸组成的单链通过非共价键结合而成的二聚体。7S NGF 相对分子质量为 140 kDa, 2.5S NGF 分子量为 13~14 kDa。机体中很多免疫器官和组织均分泌 NGF,如脾、淋巴结、胸腺、骨髓、大脑、神经节、虹膜及心脏。除了神经细胞,神经胶质细胞,如小胶质细胞、嗅鞘细胞、星形胶质细胞和少突胶质细胞也表达 NGF^[5]。除此之外,表达 NGF 的细胞还有肥大细胞、B 细胞、T 细胞、嗜碱细胞、嗜酸细胞、成纤维细胞、平滑肌细胞、骨骼肌细胞、胶质细胞及雪旺氏细胞^[6-11]。

神经营养因子起初均以其前体形式在细胞内分泌,如 NGF 以 NGF 前体(proNGF)的形式在胞内分泌,之后首先经历信号肽断裂,再被弗林蛋白酶和其他转化酶剪切成 NGF 成熟体释放到胞外。因 NGF 在胞外周转速度很快,体内存在的 NGF 主要是 proNGF^[2,8-9]。

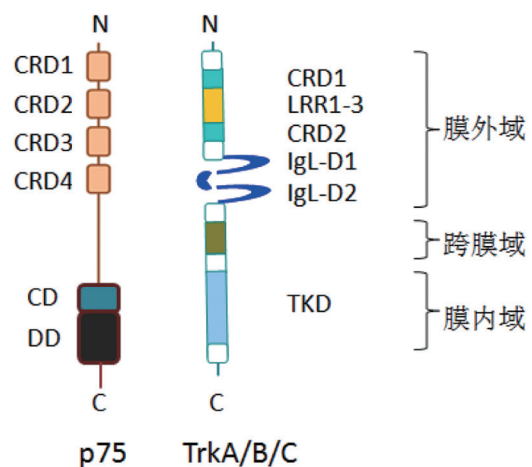
第二个主要神经营养因子是脑源性神经营养因子(brain derived neurotrophic factor, BDNF),主要分布于未成年与成年哺乳动物脑部,尤其是海马组织、杏仁核及几乎整个皮质区和骨髓区域均有大量表达,以支持海马神经元细胞、小脑颗粒细胞及其他神经元细胞的存活和发育。BDNF 对神经元生长、分化、再生进行调控的同时,对学习记忆也起着重要作用。在纹状体、基底前脑、下丘脑、脑干、小脑、血管内皮细胞、单核细胞、T 细胞、B 细胞、周围神经组织、心脏、肺、肾脏、卵巢及骨骼肌均有 BDNF 表达。据报道,血小板具有存储 BDNF 的功能。因此,血清中 BDNF 含量远远高于血浆。在神经元受损时,存储在血小板中的 BDNF 会被释放出

来参与神经元的修复。与 NGF 类似,proBDNF 在胞内经过信号肽断裂及酶切后被输送到胞外。但也有研究发现,BDNF 的存在形式除了 BDNF 的前体和成熟体,还有断裂的 BDNF^[12-14]。

神经营养因子家族成员还有神经营养素 3 (NT-3)、神经营养素 4/5 (NT-4/5)、神经营养素 6 (NT-6)^[15]和神经营养素 7 (NT-7)^[16]。神经营养因子之间的序列以及结构都高度保守,约有 50% 的相似性。神经营养因子在溶液和组织中主要是以同型二聚体的形式存在,如 NGF-NGF、BDNF-BDNF 等。但研究发现,也有很多神经营养因子以异二聚体的形式存在,如 BDNF-NT-3、BDNF-NT-4 和 NGF-BDNF。其中,NGF 和 BDNF 是研究最为广泛的神经营养因子^[17-18]。

1.1 神经营养因子受体

神经营养因子的受体主要分两大类,一类是酪氨酸激酶受体(tyrosine kinase receptor, Trk 受体),与神经营养因子结合后主要参与细胞生存、增殖、分化等信号通路,促进神经元存活、再生或修复;另一类是 p75 受体,与神经营养因子结合后主要诱导细胞凋亡,抑制神经元细胞过量增殖,或神经细胞受损而无法修复时也会诱导其凋亡。Trk 受体有 TrkA、TrkB、TrkC,它们主要含半胱氨酸富集区域、亮氨酸富集重复区域、免疫球蛋白样功能区及酪氨酸激酶区域。p75 受体主要由半胱氨酸富集区域、被剪切区域和诱导凋亡信号的死亡区域组成(图 1)。



CRD1-CRD4:半胱氨酸群1-4; CD:被剪切区域; DD:死亡区域; LRR1-3:亮氨酸富集重复片断, 3个重复; IgL-D1:免疫球蛋白样功能区1; IgL-D2:免疫球蛋白样功能区2; TKD:酪氨酸激酶区域

图1 受体p75、TrkA、TrkB和TrkC的化学结构示意图

神经营养因子的前体均与 p75 受体有很高的亲和力。它们结合后可以诱导依赖 JNK 的内在凋亡信号, 但不与 Trk 家族受体结合^[13,19-20]。神经营养因子可以与 Trk 受体高亲和力结合, 结合能是 10^{-11} M^[21], 而与 p75 的结合力却相对较弱, 其结合能是 10^{-9} M^[22-23]。

神经生长因子能够与 Trk 受体特异性结合。NGF 可以具体识别 TrkA, BDNF 和 NT-4 与 TrkB 结合, 而 NT-3 只识别 TrkC。另外, NT-3 还能够与 TrkA/B 结合, 但结合能比较低。然而, 对 p75 受体而言, 神经营养因子都以相近的结合能与其结合 (图 2)。

1.2 神经营养因子与Trk受体结合后介导的信号通路

当 NGF 与 TrkA 结合后, 首先, 它们的复合体通过内吞作用进入到神经元末端轴突, 然后通过内涵体运送的形式从轴突末梢长距离逆行运送到靶细胞核, 从而诱导各种信号通路, 调节基因和蛋白质的表达以及细胞的反应。这也被称为远程逆行信号转导。神经营养因子与 TrkA 受体的结合会诱导胞内结构域的酪氨酸残基 490、670、674、675、785 的磷酸化。其中, 酪氨酸 490 和 785 是主要的两个磷酸化位点。酪氨酸 490 的磷酸化会通过 SH2 来诱导信号分子 Shc 及 Grb2, 再招募额外的配体蛋白 Sos 和 Gab-1, 接着活化小 G 蛋白 Ras, 诱发促分裂素原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 信号级联反应的激活。NGF 和 TrkA 结合还可以激活磷脂酰肌醇 3 激酶 (phosphatidylinositol

3-kinase, PI3K)-AKT 信号通路。其次, TrkA 酪氨酸 785 位点的磷酸化会诱导磷脂酶 C- γ 1 (PLC- γ 1) 信号通路的激活。最终, 这些被激活的信号通路促进神经元的存活、分化、增殖及修复 (图 3)^[8,19,23]。最新研究发现, 单唾液酸四己糖神经节苷脂 (monosialotetrahexosylganglioside, GM1) 参与神经营养因子诱导的信号通路。除上述信号通路, 发现 NGF 还通过与 GM1 的相互作用对 NGF-TrkA 信号通路进行调节^[5]。

近期研究发现, TrkA 和 TrkB 均形成二聚体才与 NGF 或 BDNF 结合^[24-25]。另有研究报道, TrkA 和 p75 都是通过细胞内区域和 NGF 结合, 并且 TrkA 和 p75 共同表达时, p75 胞内区的 29 个氨基酸与 TrkA 的胞内区相互作用, 增强 TrkA 和 NGF 的特异性结合。如果没有 p75 表达, 只有 TrkA 表达时, TrkA 与 NGF 特异性结合就很弱, 并且 NT-3、NT-4 及 NT-5 都会使 TrkA 自动磷酸化^[8]。因此, p75 虽然能诱导细胞凋亡, 但对神经保护的作用也不可忽视, 尤其当 NGF 表达量很低的时候。

与 NGF 相似, BDNF 的活性通过与 TrkB 和 p75 两种受体结合实现。与 BDNF 结合后, 受体 TrkB 在酪氨酸 515 位置上的磷酸化激活 Ras-MAPK 信号通路, 从而诱导 CREB 和很多下游信号通路, 促进细胞存活。当 BDNF 与受体 TrkB 结合并磷酸化酪氨酸 515 位点时, 还会激活 PI3K-Akt 通路, 进而抑制凋亡通路的启动。磷酸化的酪氨酸 816 可吸引并磷酸化磷脂酶 C- γ 1 (phospholipase C- γ 1, PLC- γ -

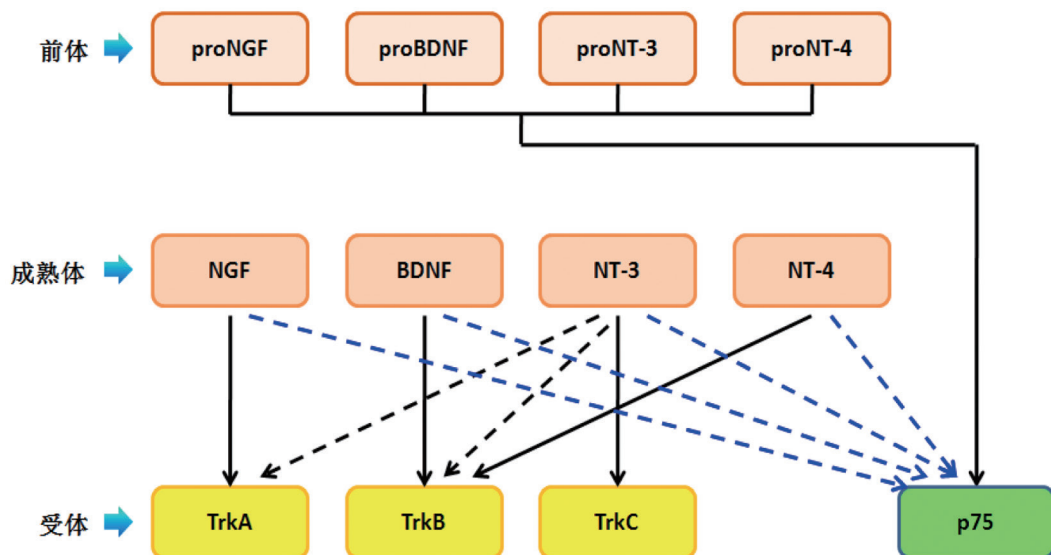


图2 神经营养因子前体、成熟体及其受体

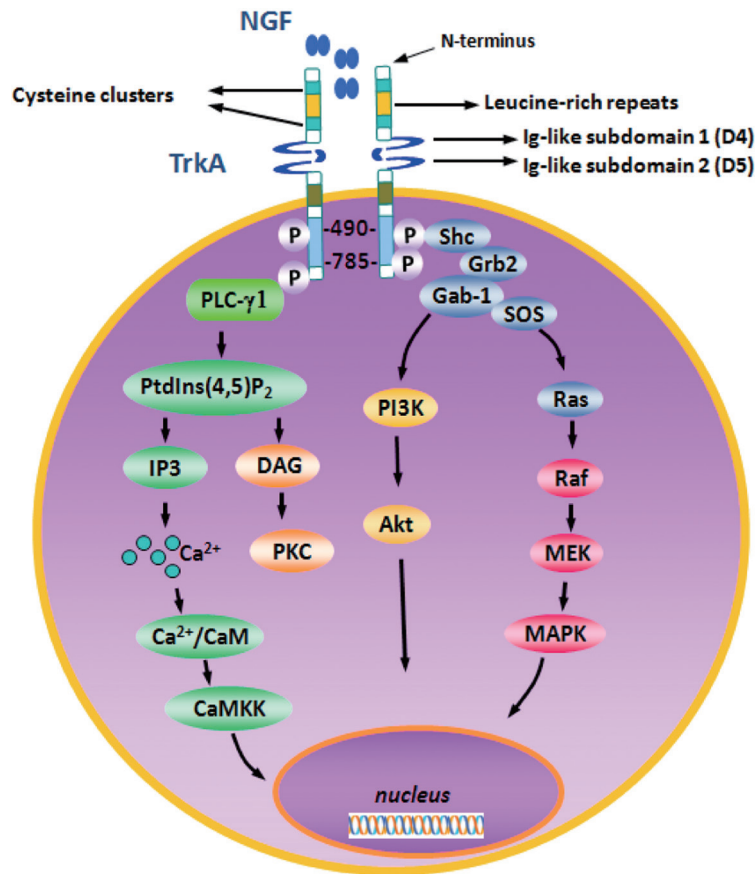


图3 NGF与受体TrkA结合诱导的主要信号通路

1), 激活蛋白激酶 C (protein kinase C, PKC), 调控突触可塑性。磷酸化的 PLC γ -1 增强 Ca²⁺ 从细胞储存库向细胞质的释放, 激活钙离子 / 钙调素依赖性蛋白激酶 (Ca²⁺/CaM), 最终促进细胞存活^[13,26-27]。

1.3 神经营养因子与 p75 受体结合后介导的信号通路

神经营养因子与 p75 受体在不同的条件下结合后可以激活生存和凋亡不同途径。p75 受体介导的细胞生存路径主要是神经营养因子与其结合后通过核因子 κ B 和 Akt 信号通路。然而, p75 受体介导凋亡的通路主要是通过酸性鞘磷脂产生的神经酰胺或调节蛋白激活的含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶 NRAGE 和 NADE 来激活依赖 c-Jun 氨基末端激酶 (c-Jun N-terminal kinase, JNK) 的通路。这些凋亡相关通路的激活可以有效地抑制细胞生存的信号, 刺激凋亡相关基因的表达, 或直接导致细胞周期阻滞从而最终导致细胞凋亡^[23]。近期研究发现, p75 同时也是 A β 的受体, p75 与 A β 结合后促进 A β 的生成, 并参与 A β 的沉积和毒性, 所以 p75 在 AD 中扮演着不可忽略的角色^[5,28]。

2 阿尔茨海默病(AD)

AD 是最常见的, 多发于 65 岁以上老人的一类痴呆。据最新报道, 全球有 0.468 亿人正承受着痴呆的困扰, 并且发病率在未来 20 年将以每年 2 倍的速度增长^[29]。AD 患病率呈上升趋势并年轻化, 全球报告 AD 患者数为 0.266 亿, 预计 2050 年, 将上升到 1.062 亿^[30]。

AD 一般从轻微的认知能力和近期记忆能力减退开始, 逐步加重, 最终失去自理能力。早中期通常伴随的症状有容易混淆, 语言出现障碍, 言语变少, 情感变冷淡, 判断能力变差, 有时急躁不安, 出现幻觉; 重度期会出现失禁, 无节制, 记忆严重丧失, 生活不能自理及其他并发症, 如癫痫、帕金森病、肌肉紧张度增加、肌阵挛、沉默不言等; 最终由于营养失调、感染等并发症导致死亡。临床上以 β -淀粉样蛋白 (amyloid-beta, A β) 异常沉积形成老年斑及过度磷酸化的 Tau 形成神经纤维缠结为诊断依据^[3,31-33]。AD 属于进行性神经退行性病变, 虽然相关研究很多, 但其机理仍不明确。目前获美国

食品药品监督管理局批准的 AD 治疗药物只有五种而且这些药对 AD 只有改善症状、延缓病情的功效, 至今没有治愈 AD 的药物和方法^[29]。

AD 发病过程中除了神经营养因子, 还有很多其他因素参与, 如环磷腺苷效应元件结合蛋白 (cAMP-response element-binding protein, CREB) 和糖原合成酶激酶-3 β (glycogen synthase kinase-3 β , GSK-3 β)。CREB 是一种调节基因转录的核蛋白, 它在长期记忆形成时不可缺少, 当 CREB 蛋白处于活跃状态时, 人的大脑就能形成良好的, 能保存几年的长期记忆; 反之, 形成的记忆特别短暂, 难以记住。CREB 能与 DNA 结合调控基因表达, 其中包括 BDNF 的表达。CREB 的表达量下降或活性受到抑制也会导致 BDNF 表达水平降低。而 GSK-3 β 参与神经元的凋亡, 并促进 A β 的形成^[2]。因此, CREB 和 GSK-3 β 在 AD 发病中的作用不可忽略。最新的研究发现, AD 早期形成的淀粉样前体蛋白 (amyloid precursor protein, APP) 及其代谢产物会增强小 G 蛋白 Rab5 的活性, 导致细胞内体的异常融合及体积变大, 从而阻碍 NGF 与 TrkA 结合及在神经元中的逆向输送, 最终导致神经元生存通路被阻断而走向凋亡。AD 早期患者基底前脑胆碱能神经元出现了萎缩及死亡。那么, NGF 是在基底前脑胆碱能神经元中起着重要作用的神经营养因子。这一发现表明, NGF 信号异常很可能就是由异常激活的 Rab5 蛋白引起^[34]。在 AD 的发展过程中具有不可忽略的作用, 有望成为新的治疗 AD 的靶点的还有 p75。王叶冉^[28]等研究证实了 AD 患者脑内 p75 比健康组表达上升, 发现海马部位有变粗并变性的表达 p75 的神经纤维末梢, 而且恰好位于老年斑的中心。p75 不仅是 NGF、BDNF、NT-3 的受体, 同时也是 A β 的受体, p75 胞外域与 A β 特异性结合, 调控 A β 的生成、沉积、降解及毒性。而 A β 正是通过沉积, 导致毒性, 损伤邻近神经元的物质。可见 p75 在 AD 中的重要性。老年人血清普遍缺乏维生素 D, 这也可能与老年痴呆有一定关系。近期研究报道, 维生素 D 在 AD 发病过程中也具有一定的神经保护作用, 其机制可能是通过抗氧化应激, 减少 A β 的沉积, 抑制炎症反应^[35]。此外, 文献报道合理适当运动也有助于预防和延缓 AD 的发生与发展^[36]。

3 NGF和BDNF在阿尔茨海默病中的作用机理研究进展

在阿尔茨海默病发病过程中, NGF 和 BDNF

对神经元的存活和凋亡起着重要调控作用。NGF 不仅能与 TrkA 结合, 诱导 MAPK、PLC γ 及 PI3K 信号通路, 促进和维持神经元的存活及分化, 保持神经元的正常功能, 还能调节细胞内 Ca²⁺ 浓度, 防止钙超载引起神经元损伤; 抑制参与凋亡的蛋白的活性, 阻止神经元凋亡; 还可增加过氧化氢酶、超氧化物歧化酶等的活性, 清除过多的过氧化物, 以及降低一氧化氮 (NO) 合成酶的活性, 降低过氧化物和 NO 对神经元的毒性^[9]。

许多研究结果表明, 神经营养因子的表达水平对神经退行性疾病具有一定的影响。AD 患者体内 NGF 表达水平不仅具有个体差异, 体内不同部位也不一样。研究发现在 AD 患者血清、大脑、脑脊髓、血浆中的 NGF 没有明显变化, 在大脑海马齿状回区 NGF 却有所增加。最新研究却报道, AD 患者脑脊髓液 NGF 有所增加。另有研究报道, AD 中度患者体内血浆中 NGF 上升, 同时单核细胞表达的受体 TrkA 也提高。相反, 在患有重度 AD 的患者体内检测到 NGF 和 TrkA 均下降, proNGF 增加。所以, 关于 AD 患者体内不同阶段的 NGF 表达水平尚无定论。很多研究都报道过长期 NGF 的缺乏会引发胆碱能缺陷、神经细胞凋亡、突触受损、A β 沉积、神经纤维缠结、记忆能力减退^[37]。近期的研究更加证实了之前的报道, 发现当小鼠体内缺乏 NGF 时出现了 AD-样病理症状, 如 A β 聚集、tau 蛋白过度磷酸化及轴突功能障碍。NGF 治疗则能改善 AD 模型小鼠体内 A β 病理状态, 并能阻止记忆能力衰退^[5]。另有新的研究也证实, 在 AD 发病期 NGF 诱导的信号减弱, 并与 A β 堆积和认知能力减退具有相关性。体内和体外实验结果都表明, 用 NGF 能刺激原代胆碱能隔膜神经元, 促进 TrkA 与 APP 的结合和 APP 向高尔基体的运输, 有效抑制 APP 片段和 A β 的产生^[38-39]。

AD 患者体内的 NGF、proNGF、TrkA 及 p75 的表达水平目前仍不明确。研究表明, 在部分老年人周围及中枢神经细胞 proNGF 的表达会相对增加, 而 proNGF 会与 p75 结合诱导神经细胞凋亡。依据目前的研究结果可推测, AD 患者 proNGF 量增加, TrkA 无明显变化或下降, 增加的 proNGF 与 p75 结合诱导神经细胞的凋亡, 而 NGF 虽然在有些患者体内发现上升, 但受体 TrkA 的表达量没有上调或由于其他原因 NGF 与 TrkA 结合诱导细胞存活的通路受到抑制。此外, AD 患者体内均发现 A β 蛋白沉积, A β 也能与 p75 结合引发神经细胞的凋亡^[2-3,8]。

最近有研究发现, CD2 相关蛋白 (CD2AP) 在细胞内与 TrkA 及 p75 等形成蛋白复合体促进轴突的生长, 还通过 Akt 来调节 NGF 信号。CD2AP 的 mRNA 及蛋白水平在神经元轴突生长期升高, 而神经元受损时其水平降低, 表明 CD2AP 作为一个胞内重要的蛋白, 通过参与 NGF 信号通路, 调节神经元结构可塑性和侧枝生长^[40]。

大多研究表明, AD 患者大脑功能因 BDNF 的减少而受到损伤。AD 模型小鼠体内成熟型 BDNF 大量减少, 反而未成熟型 BDNF 明显增加。然而, BDNF 与 proBDNF 的含量在 AD 中却都显著减少^[35]。有神经纤维缠结 AD 患者海马齿状回部位和神经细胞的 BDNF 表达量均有明显下降^[41-44]。体外培养的海马神经元细胞缺乏 BDNF 时, 细胞中调控轴突可塑性、膜泡运输、胞内体功能及 MAPK 信号通路的相关基因表达量均明显下降。这些基因的变化与 AD 及老年人体内 BDNF 下降及其他相关基因表达量下降密切相关。对比分析 AD 患者和缺乏 BDNF 的海马神经元中基因表达量的变化, 发现两者在膜泡运输及轴突可塑性调控基因的变化方面具有很高的相似性。

许多研究证明, 在 AD、帕金森病、亨廷顿病患者体内的 BDNF 及其 mRNA 或 TrkB 表达量均有不同程度的减少。因此, 认为提高 BDNF 表达水平可延缓 AD 发展及改善神经元功能。Ferer 等也发现大脑皮层和海马体 BDNF 和 TrkB 水平均有所降低。另有几篇报道也均发现 AD 患者 BDNF 减少。proBDNF 在具有认知障碍的患者体内也降低^[3]。

众多研究表明, 并不是在所有 AD 患者体内 BDNF 都降低。轻微认知功能障碍者和健康组相比, 前者 BDNF 水平有所提高; 另有一项研究也发现, 轻微认知功能障碍者和 AD 患者 BDNF 水平均有上升。AD 早期患者海马体内 TrkB 表达也有增加。而有趣的是, AD 患者尸检结果表明海马体 BDNF 水平并未发生变化, 但 TrkB 表达有所增加^[45-47]。根据众多研究报道, 也许 BDNF 及其受体 TrkB 水平的变化随着 AD 发展具有不同的变化, 如 AD 早期, BDNF 水平会增加, 但到了晚期, BDNF 水平又下降。最近报道, Furin 蛋白不仅能促进 BDNF 对神经元树突的生长作用和学习记忆作用, 还能通过 IRE1 α -自噬途径, 减轻 A β 的沉积, 改善 AD 的认知功能^[48]。还发现 microRNA-613 在 AD 患者及动物模型血清、脑脊髓液及海马体内的表达量均明显增强, 同时 microRNA-613 能与 BDNF 的 3'UTR 直接结合。这

一发现表明 microRNA-613 很有作为一种新的 AD 发展过程的生物标志的潜在特性^[49]。最近发现, 用 α -氨基-3-羟基-5-甲基-4-异恶唑丙酸受体 (AMPA 受体) S47445 治疗老龄大鼠两周后, 体内神经营养因子 BDNF、NGF 及 NT-3 的 mRNA 和蛋白水平都显著提高, 有效改善了神经营养因子因老龄导致的下降, 表现出很好的治疗 AD 的潜力^[50]。还有研究表明, 在 BDNF 基因密码子 66 的位置上的一个基因的多态性直接影响 BDNF 在大脑中的正常作用。这个基因是 rs6265, 也称 Valine66methionine、val66met 或 G196A。在密码子 66 位置上, 一部分人携带的是 valine, 另一部分人携带的则是 methionine。观察了 BDNFval 和 BDNFmet 患者之后, 数据显示携带 BDNFmet 的老年人比携带 BDNFval 的老年人记忆力减退更加严重, 而且他们的体内 BDNF 表达水平和轴突可塑性都较低。研究者从睡眠的角度也进行了深入研究, 证明睡眠质量直接影响人第二天的学习和记忆能力, 而实验结果显示睡眠及记忆在携带 BDNFval 的人中均比 BDNFmet 的好^[51]。这一发现也为揭示老年人、老年痴呆患者及 AD 患者记忆力衰退的机理提供了重要的依据。另一项研究数据证明, proBDNF 携带 val66 序列可通过 GSK-3 β -Tau 信号通路启动神经元突触减弱的反应^[52]。可见 AD 发病过程及发展过程极其复杂, 除了 NGF、BDNF 及上述蛋白, 还有其他蛋白参与发病过程, 需要深入研究揭示所有参与的蛋白才能找到有效的预防和治疗 AD 的手段。

4 神经营养因子及其他活性物质的临床应用

神经营养因子, 如 NGF 和 BDNF 能有效阻止神经元受损, 抑制胆碱能神经元的凋亡和淀粉样蛋白在细胞外的异常缠结, 从而改善认知和记忆障碍, 有效缓解 AD 的症状, 控制 AD 的进程。由于 NGF 和 BDNF 都在神经退行性疾病中发挥着重要的作用, 它们在相关疾病治疗应用方面已经得到了广泛的研究。然而, 由于它们的药代动力学特性相对较差, 如在组织中容易水解, 很难通过血脑屏障到达所需区域, 在组织中被输送扩散的能力相对较弱, 导致它们在临床上治疗 AD 的应用受到了很多限制, 至今还没有一种疗效好、副作用低、技术成熟、费用也低, 多数 AD 患者能接受的方法。

4.1 外源 NGF 的导入疗法

NGF 在临床上的应用研究在不断发展, 相关研究也不断地在深入。早在 20 世纪 80 年代就发现

脑室注射 NGF 能修复老龄动物基底前脑损伤的胆碱能神经元。最早用 NGF 治疗人 AD 的例子是把来源于小鼠的 NGF 对 AD 女性患者侧脑室直接注射。用同样方法进行临床试验, 用 NGF 继续治疗, 发现明显改善了神经元受损, 但长期治疗之后患者出现了体重下降和腰疼等症状, 因此终止了治疗。这说明了准确的输送 NGF 的方法对 NGF 在临床上的应用非常重要^[53-54]。神经营养因子参与调节长时增强效应、树突的复杂性及轴突的分支、增强轴突的可塑性, 进而提高学习记忆能力, 不足之处是具有一定的副作用。

根据嗅觉和三叉神经与鼻黏膜和中枢神经系统 (central nervous system, CNS) 相连的解剖学特性, NGF 也可通过鼻腔和眼部给药。鼻内给药使 NGF 可绕过血脑屏障进入大脑实质、脊髓、脑脊液, 并且因为鼻腔内丰富的血管可使 NGF 在几分钟内迅速进入大脑, 同时可适当避免 NGF 在全身的系统性暴露而减少其损失。但如果长期以这种方式给药会对鼻黏膜有一定损伤。动物试验已证实通过眼部局部给药, NGF 可到达视网膜及 CNS。但由于眼部的动态障碍及流出泵的原因, 输送 NGF 的效果相比之下不如鼻内给药^[53-54]。

最新的一项研究为了减少外源性 NGF 诱发的副作用——疼痛, 制备了人无痛 NGF (hNGFp), 在表达人 APP 的 AD (5xFAD) 模型小鼠中研究了 hNGFp 的作用。结果显示 hNGFp 促进了受损神经元的恢复, 改善了轴突可塑性、行为功能障碍及 A β 引起的神经元凋亡。进一步的研究表明, hNGFp 的神经保护作用受趋化因子 CXCL12 的调节。他们进一步证实了神经胶质细胞调节 hNGFp 对受损神经元进行修复也是通过调节因子 CXCL12。这使 CXCL12 成为防治 AD 的新的靶点, 而 hNGFp 也给 AD 治疗带来了新的希望^[55]。

4.2 NGF的基因导入疗法

除上述方法, 很多研究者研究分析了 NGF 的基因导入疗法及其治疗 AD 的临床应用。已有报道利用腺相关病毒 (adeno associated virus, AAV) 载体和艾滋病病毒慢病毒载体将重组神经营养因子导入体内之后能诱发神经营养因子持续表达。目前对表达人 NGF 的血清-2 型 AAV 载体 (AAV2), 又称 CERE-110 的研究比较多。通过立体成像定位注射法将 CERE-110 直接注射到患者 Meynert 基底核内, 使其持续性表达具有神经营养活性的 NGF。CERE-110 的疗效及毒性试验, 即临床前研究已经完成,

所用动物为大鼠和猴。不仅如此, CERE-110 治疗 AD 患者的临床试验第一期也已结束, 结果证实了 CERE-110 的临床疗效, 为正在进行的二期临床试验提供了很好的基础。即便如此, 利用病毒载体仍存在一定的风险。虽然病毒自我复制的遗传基因序列已被删除, 但在体内仍具有一定毒性、免疫原性, 费用也较高。因此, 人工合成的非病毒载体可能更适合用于 NGF 的基因导入, 例如阳离子脂质体、阳离子聚合物能高效结合阴离子 DNA, 与病毒载体相比, 虽转染效率较低, 但安全、费用低。除此之外, *Ex vivo* 体外转基因疗法也被视为一种安全有效, 副作用低的方法, 是指在体外对相关细胞进行基因的修饰及转基因, 再把细胞移植到体内所需部位。*Ex vivo* 体外转基因疗法表达 NGF 的临床试验研究在 2001 至 2012 年期间进行。研究结果显示, *Ex vivo* 体外转基因疗法治疗 10 年之后, 患者大脑内被诱发的 NGF 的表达仍在持续, 表明具有进一步开发利用的价值^[53-54]。

4.3 干细胞移植疗法

近年来, 通过干细胞移植治疗 AD 患者神经元损伤及增强神经营养因子神经保护作用的研究越来越多。目前研究较多的有胚胎干细胞 (embryonic stem cell, ESCs)、神经干细胞 (neural stem cell, NSCs)、间充质干细胞 (mesenchymal stem cell, MSCs)、造血干细胞 (hematopoietic stem cell, HSCs)。ESCs 是从早期胚胎或原始性腺中分离的一种全能性细胞系。因为 ESCs 具有分化为各种神经细胞的能力, 并能通过核移植方法建立 ES 细胞系, 还可进行基因改造, 可避免移植治疗带来的免疫排斥反应, 所以目前被视为神经移植材料的理想来源和基因治疗的理想载体细胞。而 NSCs 是一类具有分裂潜能和自我更新能力的母细胞, 存在于成体脑组织, 可以通过不对等的分裂方式产生神经组织的各类细胞。MSCs 和 HSCs, 与 ESCs 和 NSCs 相似, 具有多向分化的潜能, 与神经营养因子也有着密切的关系, 也是干细胞移植治疗 AD 中的研究热点^[53]。刘菲菲^[56]利用 NGF 和 BDNF 联合诱导 NSCs, 移植到 AD 模型动物大脑后, 明显改善了其学习记忆能力, 增加了胆碱能神经元数量。据文献报道, 将骨髓间充质干细胞 (bone marrow mesenchymal stem cell, BMSC) 移植到 AD 模型大鼠海马中具有显著的神经元保护作用, 提高海马中 NGF 的 mRNA 表达, 而人参皂苷 Rg1 对植入后的干细胞具有促进存活的功效^[57]。此外, 众所周知, 人脐带间充质干细胞 (human umbilical

cord mesenchymal stem cells, hUCMSCs) 主要存在于脐带华通氏胶中, 其采集方便, 来源丰富, 免疫原性大, 分化潜能大。研究发现, hUCMSCs 能分化为胆碱能样神经元, 也能分泌神经营养因子, 还具有提高学习记忆能力的作用。将 hUCMSCs 用 NGF 和 BDNF 联合诱导之后移植到 AD 样学习记忆障碍模型大鼠海马区域进行进一步分析后发现, hUCMSCs 上调了海马 NGF 和 BDNF 的水平, 减少了 A β 引起的损伤, 同时也改善了模型大鼠的空间学习记忆能力^[58]。

4.4 具有神经保护作用的活性物质

研究者模拟制备了 NGF 与 TrkA 结合部位结构的小分子。这种小分子能够与 TrkA 很好地结合, 并能激活下游信号通路^[59]。笔者前期研究发现, 溶血磷脂胆碱 (lysophosphatidylcholine, LPC) 具有神经营养因子样作用, 如促进 PC12 细胞生长及分化, 抑制小鼠小脑颗粒细胞的凋亡^[60-63]。具有神经保护作用的新活性物质不断地被发现。表皮生长因子家族成员之一的神经调节蛋白 1 (neuregulin-1, Nrg1) 在神经系统和大脑中均有表达, 与 ErbB 受体结合后对神经系统的发育和修复都起着重要作用。近期的研究显示, 在 AD 患者额叶 Nrg1 表达量增加, 而 ErbB 受体表达量降低。同时, 诱导氧化应激和神经元损伤的 H₂O₂ 及 A β 随着 Nrg1 的增加而减少, 并有剂量依赖性。后期实验结果表明, 前脑皮层中的 Nrg1 在 AD 病理状态下对神经元起着不可忽视的保护作用。Nrg1 信号在 AD 患者前脑皮层发挥作用, 可能参与 AD 的发病进程^[64]。进一步的研究发现, Nrg1 有效延缓了转基因 AD 模型小鼠认知能力的减退、在原代海马细胞中因 A β ₁₋₄₂ 导致的细胞分化衰退、在小鼠胚胎神经干细胞中因低聚 A β ₁₋₄₂ 诱发的神经元分化减退, 更加表明了 Nrg1 在预防和治疗 AD 中的潜在功效和进一步开发的意义^[65]。

除化学合成活性物质之外, 天然植物中提取的活性成分也越来越因毒副作用低而备受青睐。文献报道, 一种绿茶活性成分, 表没食子儿茶素没食子酸酯 (epigallocatechin gallate, EGCG) 具有抗氧化应激、抗炎及抗癌等作用。最近发现, EGCG 可上调小鼠 NGF/proNGF 的比例, 激活 TrkA 诱导的信号通路以及 CREB, 对神经元起保护作用, 提高学习记忆能力, 并能抑制 APP 的表达^[66]。另外, 从柑橘皮中分离提取的蜜桔黄素可显著改善不同的记忆减退的动物模型的症状, 还在 PC12 细胞中激发了环磷酸腺苷反应元件结合蛋白 (CREB) 的转录, 而

NGF 又进一步强化了蜜桔黄素的这种作用。还有 GPR40 受体, 一种 G-蛋白偶联受体, 在大脑的多个部位均有表达, 能激发 CREB 的磷酸化, 增强神经营养因子, 如 BDNF、NGF、NT-3 等的表达水平, 从而发挥显著的神经保护作用^[67-68]。另外, 临床实验及动物实验结果表明, NGF 和 BDNF 可分别与其他药物联合用于治疗 AD, 如 BDNF 与基础疾病药物联合, NGF 与盐酸多奈哌齐联合得到的效果更佳^[69-72]。此外, 很多研究发现多种天然植物成分, 如蜜蜂花^[73]、人参^[74]、银杏^[75] 等植物活性成分具有类似 NGF 或 BDNF 的作用, 从而起到神经保护作用。植物雌激素也被报道具有抑制神经细胞凋亡、促进神经营养因子分泌、保护神经元受损等作用, 并且副反应少^[76]。最新的研究还发现, 肉豆蔻提取物有效抑制了低灌注诱导的大鼠海马组织 NGF 和 mTOR 表达的降低, 在促进神经元发育方面表现出色^[77]。

5 总结与展望

关于 AD 的研究很多, 但至今其机制不明确, 没有可治愈的药物。AD 是一种不可逆性疾病, 因此, 揭示 NGF 和 BDNF 参与 AD 的机理, 找到 AD 靶点, 对 AD 进行早期筛查, 早期预防显得尤为重要。根据目前的研究报道, 不仅 NGF 和 BDNF 及其受体与 AD 密切相关, 其他很多蛋白也参与 AD 的发展过程。如近期研究发现, p75、CREB、GPR40、GSK3 β 、Rab5、维生素 D、Furin 等蛋白通过调控 NGF 或 BDNF 等在 A β 的形成与沉积、氧化应激、神经元损伤及凋亡等进程中均发挥着重要作用, 均有可能成为治疗 AD 的新靶点。最近的研究发现, MicroRNAs 在治疗阿尔茨海默病的发展过程中具有不可忽略的作用, 有望成为阿尔茨海默病新的生物标志物^[78-80]。

其次, 进一步探索 NGF 和 BDNF 治疗 AD 的临床应用方法。外源性 NGF 难以通过血脑屏障, 因此口服给药无法达到预期效果。将 NGF 直接注入大脑所需区域, 虽然能使 NGF 直接进入大脑, 但因患者的体重下降和腰痛等副作用受到了限制。NGF 的基因的导入疗法和干细胞移植疗法可持续性提高 NGF 的表达, 改善神经元功能, 避免血脑屏障及疼痛等副作用, 似乎提供了安全有效的疗法, 如 CERE-110 在进行临床试验。虽然这种疗法可持续性地提高 NGF 表达, 但能否控制 NGF 释放量, 以及其安全性目前尚未得到完全验证。另一方面,

这种疗法需要患者住院接受治疗, 对技术要求高, 且治疗费用昂贵, 多数患者不能接受。通过鼻腔给药是一种既无创伤, 又能使 NGF 到达大脑所需区域的方法。将来对这种方法进行进一步改善也许是得到安全、有效、经济的治疗 AD 的优选方法之一。

因为大脑血脑屏障使很多大分子药物难以通过, 探索开发具有神经保护作用的小分子活性物质也是将来研究的方向之一。有关活性肽、人工合成的具有与神经营养因子活性部位相同结构的化学小分子方面的最新报道不断^[81-84]。

随着人们生活水平的提高和意识的改变, 绿色天然药物也越来越受欢迎。从天然药物中探索具有神经保护作用, 预防 AD 功能的活性小分子, 因其安全性高、副作用小及成本低而也将成为今后研究的热点。

[参 考 文 献]

- [1] Kljajevic V. Overestimating the effects of healthy aging. *Front Aging Neurosci*, 2015, 7: 164
- [2] Budni J, Bellettini-Santos T, Mina F, et al. The involvement of BDNF, NGF and GDNF in aging and Alzheimer's disease. *Aging Dis*, 2015, 6: 331-41
- [3] Sampaio TB, Savall AS, Gutierrez MEZ, et al. Neurotrophic factors in Alzheimer's and Parkinson's diseases: implications for pathogenesis and therapy. *Neural Regen Res*, 2017, 12: 549-57
- [4] Gkikas I, Petratos D, Tavernarakis N, et al. Longevity pathways and memory aging. *Front Genet*, 2014, 5: 155
- [5] Xu CJ, Wang JL, Jin WL. The emerging therapeutic role of NGF in Alzheimer's disease. *Neurochem Res*, 2016, 41: 1211-8
- [6] Levi-Montalcini R. The nerve growth factor: thirty-five years later. *Science*, 1987, 37: 1154-62
- [7] Cowan WM. Viktor Hamburger and Rita Levi-Montalcini: The path to the discovery of nerve growth factor. *Annu Rev Neurosci*, 2001, 24: 551-600
- [8] 彭凤玲, 莫中成, 郑翔, 等. 神经生长因子及其受体相关信号传导通路的研究进展. *现代生物医学进展*, 2015, 31: 6190-3
- [9] 徐如祥. 神经生长因子的神经损伤修复机制及作用. *中华神经创伤外科电子杂志*, 2016, 2: 1-4
- [10] 莫正昌, 刘芸. 神经营养因子研究进展. *凯里学院学报*, 2015, 33: 95-7
- [11] 李少兵, 韩卉. 神经营养因子与周围神经再生. *解剖科学进展*, 2001, 7: 265-70
- [12] 王尊, 王磊, 王彤. 血液中脑源性神经生长因子与疾病和运动的关系. *中国康复医学杂志*, 2014, 29: 291-4
- [13] Allen SJ, Watson JJ, Dawbarn D. The neurotrophins and their role in Alzheimer's disease. *Curr Neuropharmacol*, 2011, 9: 559-73
- [14] Nagahara AH, Tuszynski MH. Potential therapeutic uses of BDNF in neurological and psychiatric disorders. *Nat Rev Drug Discov*, 2011, 10: 209-19
- [15] Götz R, Köster R, Winkler C, et al. Neurotrophin-6 is a new member of the nerve growth factor family. *Nature*, 1994, 372: 266-9
- [16] Nilsson AS, Fainzilber M, Falck P, et al. Neurotrophin-7: a novel member of the neurotrophin family from the zebrafish. *FEBS Lett*, 1998, 424: 285-90
- [17] Wiesmann C, de Vos AM. Nerve growth factor: structure and function. *Cell Mol Life Sci*, 2001, 58: 748-59
- [18] Arakawa T, Haniu M, Narhi LO, et al. Formation of heterodimers from three neurotrophins, nerve growth factor. *J Biol Chem*, 1994, 269: 27833-9
- [19] Segal RA. Selectivity in neurotrophin signaling: theme and variations. *Annu Rev Neurosci*, 2003, 26: 299-330
- [20] Ichim G, Tauszig-Delamasure S, Mehlen P. Neurotrophins and cell death. *Exp Cell Res*, 2012, 318: 1221-8
- [21] Reichardt LF. Neurotrophin-regulated signalling pathways. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 2006, 361: 1545-64
- [22] Sofroniew MV, Howe CL, Mobley WC. Nerve growth factor signaling, neuroprotection, and neural repair. *Annu Rev Neurosci*, 2001, 24: 1217-81
- [23] Huang EJ, Reichardt LF. Trk receptors: roles in neuronal signal transduction. *Annu Rev Biochem*, 2003, 72: 609-42
- [24] Shen J, Maruyama IN. Nerve growth factor receptor TrkA exists as a preformed, yet inactive, dimer in living cells. *FEBS Lett*, 2011, 585: 295-9
- [25] Shen J, Maruyama IN. Brain-derived neurotrophic factor receptor TrkB exists as a preformed dimer in living cells. *J Mol Signal*, 2012, 7: 2
- [26] Minichiello L. TrkB signalling pathways in LTP and learning. *Nat Rev Neurosci*, 2009, 10: 850-60
- [27] Numakawa T, Suzuki S, Kumamaru E, et al. BDNF function and intracellular signaling in neurons. *Histol Histopathol*, 2010, 25: 237-58
- [28] 王叶冉, 刘雨辉, 梁春荣, 等. 阿尔茨海默病患者脑内 p75神经营养因子受体(p75NTR)的表达及与老年斑位置关系的研究. *解放军医学杂志*, 2014, 39: 379-82
- [29] Prince M, Wimo A, Guerchet M, et al. Alzheimer's disease international. 2015: the global impact of dementia[R]. *World Alzheimer Report 2015*.
- [30] Brookmeyer R, Johnson E, Ziegler-Graham K, et al. Forecasting the global burden of Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement*, 2007, 3:186-91
- [31] Bird TD, Pagon RA, Adam MP, Dolan CR, eds. Alzheimer disease overview [M] *Gene Reviews*®. Seattle (WA): University of Washington, 2010
- [32] 程喆喆, 梁庆成, 吴云, 等. 阿尔茨海默病的发病机制及药物治疗的研究进展. *现代生物医学进展*, 2017, 17: 1981-5
- [33] Epelbaum S, Genthon R, Cavado E, et al. Preclinical Alzheimer's disease: a systematic review of the cohorts underlying the concept. *Alzheimers Dement*, 2017, 13: 454-67
- [34] Xu W, Weissmiller AM, White JA 2nd, et al. Amyloid precursor protein-mediated endocytic pathway disruption induces axonal dysfunction and neurodegeneration. *J Clin Invest*, 2016, 126: 1815-33

- [35] 范晓雪, 王乐, 王春燕, 等. 维生素P与阿尔茨海默病的关系. 现代生物医学进展, 2015, 15: 2780-2
- [36] Campos C, Rocha NB, Lattari E, et al. Exercise-induced neuroprotective effects on neurodegenerative diseases: the key role of trophic factors. *Expert Rev Neurother*, 2016, 16: 723-34
- [37] Isaev NK, Stelmashook EV, Genrikhs EE. Role of nerve growth factor in plasticity of forebrain cholinergic neurons. *Biochemistry: Mosc*, 2017, 82: 291-300
- [38] Triaca V, Calissano P. Impairment of the nerve growth factor pathway driving amyloid accumulation in cholinergic neurons: the incipit of the Alzheimer's disease story? *Neural Regen Res*, 2016, 11: 1553-6
- [39] Triaca V, Sposato V, Bolasco G, et al. NGF controls APP cleavage by downregulating APP phosphorylation at Thr668: relevance for Alzheimer's disease. *Aging Cell*, 2016, 15: 661-72
- [40] Harrison BJ, Venkat G, Lamb JL, et al. The adaptor protein CD2AP is a coordinator of neurotrophin signaling-mediated axon arbor plasticity. *J Neurosci*, 2016, 36: 4259-75
- [41] Zuccato C, Cattaneo E. Brain-derived neurotrophic factor in neurodegenerative diseases. *Nat Rev Neurol*, 2009, 5: 311-22
- [42] Narisawa-Saito M, Wakabayashi K, Tsuji S, et al. Regional specificity of alterations in NGF, BDNF and NT-3 levels in Alzheimer's disease. *Neuroreport*, 1996, 7: 2925-8
- [43] Murer MG, Boissiere F, Yan Q, et al. An immunohistochemical study of the distribution of brain-derived neurotrophic factor in the adult human brain with particular reference to Alzheimer's disease. *Neuroscience*, 1999, 88: 1015-32
- [44] Benedetti E, D'Angelo B, Cristiano L, et al. Involvement of peroxisome proliferator-activated receptor β/δ (PPAR β/δ) in BDNF signaling during aging and in Alzheimer disease: possible role of 4-hydroxynonenal (4-HNE). *Cell Cycle*, 2014, 13: 1335-44
- [45] Mariga A, Zavadij J, Ginsberg SD, et al. Withdrawal of BDNF from hippocampal cultures leads to changes in genes involved in synaptic function. *Dev Neurobiol*, 2015, 75: 173-92
- [46] Berchtold NC, Coleman PD, Cribbs DH, et al. Synaptic genes are extensively downregulated across multiple brain regions in normal human aging and Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*, 2013, 34: 1653-61
- [47] Adachi N, Numakawa T, Richards M, et al. New insight in expression, transport, and secretion of brain-derived neurotrophic factor: Implications in brain related diseases. *World J Biol Chem*, 2014, 5: 409-28
- [48] 范文辉. Furin和NPAS4 对阿尔茨海默病的神经保护作用及机制研究[D]. 重庆: 重庆医科大学博士学位论文, 2016
- [49] Li W, Li X, Xin X, et al. MicroRNA-613 regulates the expression of brain-derived neurotrophic factor in Alzheimer's disease. *Biosci Trends*, 2016, 10: 372-7
- [50] Calabrese F, Savino E, Mocaer E, et al. Upregulation of neurotrophins by S 47445, a novel positive allosteric modulator of AMPA receptors in aged rats. *Pharmacol Res*, 2017, 121: 59-69
- [51] Gosselin N, De Beaumont L, Gagnon K, et al. BDNF Val66Met polymorphism interacts with sleep consolidation to predict ability to create new declarative memories. *J Neurosci*, 2016, 36: 8390-8
- [52] Kailainathan S, Piers TM, Yi JH, et al. Activation of a synapse weakening pathway by human Val66 but not Met66 pro-brain-derived neurotrophic factor (proBDNF). *Pharmacol Res*, 2016, 104: 97-107
- [53] Pramanik S, Sulistio YA, Heese K. Neurotrophin signaling and stem cells-implications for neurodegenerative diseases and stem cell therapy. *Mol Neurobiol*, 2016, [Epub ahead of print].
- [54] Faustino C, Rijo P, Reis CP. Nanotechnological strategies for nerve growth factor delivery: therapeutic implications in Alzheimer's disease. *Pharmacol Res*, 2017, 120: 68-87
- [55] Capsoni S, Malerba F, Carucci NM, et al. The chemokine CXCL12 mediates the anti-amyloidogenic action of painless human nerve growth factor. *Brain*, 2017, 140: 201-17
- [56] 刘菲菲. NGF和BDNF联合诱导NSC分化及其在192-IgG-saporin致阿尔茨海默病模型鼠中的应用[D]. 广州: 广州医科大学博士研究生学位论文, 2014
- [57] 郭伟, 陈晓红, 杨景全, 等. 人参皂苷 Rg1对植入痴呆大鼠海马中BMSCs存活、分化的影响及其机制. *温州医科大学学报*, 2014, 44: 637-40
- [58] 刘莎, 吴明, 施兵奇, 等. 脐带间充质干细胞通过上调神经营养因子表达改善A β 损伤大鼠的学习记忆能力. *中国药理学通报*, 2016, 32: 980-5
- [59] 徐巴奕, 包映晖, 江基尧. 神经营养因子与血脑屏障的研究进展. *中华神经医学杂志*, 2005, 4: 92-4
- [60] Ikeno Y, Konno N, Cheon SH, et al. Secretory phospholipases A(2) induce neurite outgrowth in PC12 cells through lysophosphatidylcholine generation and activation of G2A receptor. *J Biol Chem*, 2005, 280: 28044-52
- [61] Ikeno Y, Cheon SH, Konno N, et al. Lysophosphatidylcholine protects cerebellar granule neurons from apoptotic cell death. *J Neurosci Res*, 2009, 87: 190-9
- [62] Wuhanqimuge, Itakura A, Matsuki Y, et al. Lysophosphatidylcholine enhances NGF-induced MAPK and Akt signals through the extracellular domain of TrkA in PC12 cells. *FEBS Open Bio*, 2013, 3: 243-51
- [63] Wuhanqimuge, Arioka M. Lysophosphatidylcholine potentiates BDNF-induced TrkB phosphorylation and downstream signals in cerebellar granule neurons. *Biosci Biotech Biochem*, 2013, 77: 2510-3
- [64] Jiang Q, Chen S, Hu C, et al. Neuregulin-1 (Nrg1) signaling has a preventive role and is altered in the frontal cortex under the pathological conditions of Alzheimer's disease. *Mol Med Rep*, 2016, 14: 2614-24
- [65] Ryu J, Hong BH, Kim YJ, et al. Neuregulin-1 attenuates cognitive function impairments in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *Cell Death Dis*, 2016, 7: e2117,
- [66] 钟欣, 刘明妍, 姚维凡, 等. EGCG通过NGF/TrkA/通路影

- 响APP/PS1小鼠脑内A β 沉积的研究. 中国神经免疫学和神经病学杂志, 2016, 23: 104-8
- [67] Khan MZ, Zhuang X, He L. GPR40 receptor activation leads to CREB phosphorylation and improves cognitive performance in an Alzheimer's disease mouse model. *Neurobiol Learn Mem*, 2016, 131: 46-55
- [68] Takito J, Kimura J, Kajima K, et al. Nerve growth factor enhances the CRE-dependent transcriptional activity activated by nobiletin in PC12 cells. *Can J Physiol Pharmacol*, 2016, 94: 728-33
- [69] 安永平, 任常胜. 脑源性神经营养因子联合用药缓解阿尔茨海默的临床疗效观察. 内蒙古医科大学学报, 2015, 37: 228-31
- [70] 郭健飞, 牛桂芬, 李健, 等. 鼠神经生长因子对2型糖尿病相关阿尔茨海默病的治疗探索. 中国医药生物技术, 2015, 10: 366-9
- [71] 李晴, 秦琴保. 多奈哌齐联合鼠神经生长因子治疗阿尔茨海默病48例临床观察. 中国实用神经疾病杂志, 2014, 17: 22-24
- [72] 杨青. 神经生长因子联合盐酸多奈哌齐治疗阿尔茨海默病的疗效及对血清炎症因子水平的影响. 中国实用神经疾病杂志, 2016, 19: 8-10
- [73] Yoo DY, Choi JH, Kim W, et al. Effects of *Melissa officinalis* L. (Lemon Balm) extract on neurogenesis associated with serum corticosterone and GABA in the mouse dentate gyrus. *Neurochem Res*, 2011, 36: 250-7
- [74] Joo SS, Yoo YM, Ahn BW, et al. Prevention of inflammation-mediated neurotoxicity by Rg3 and its role in microglial activation. *Biol Pharm Bull*, 2008, 31: 1392-6
- [75] Zhang C, Tian X, Luo Y, et al. Ginkgolide B attenuates ethanol-induced neurotoxicity through regulating NADPH oxidases. *Toxicology*, 2011, 287: 124-30
- [76] 王利贤, 洪铭范. 植物雌激素防治多发性硬化、阿尔茨海默病和帕金森病的研究进展. 国际神经病学神经外科学杂志, 2016, 43: 578-82
- [77] 杨光, 李美子, 崔春爱. 肉豆蔻提取物对慢性血管性痴呆大鼠脑组织NGF和mTOR表达的影响. 广东医学, 2017, 38: 194-6
- [78] Femminella GD, Ferrara N, Rengo G. The emerging role of microRNAs in Alzheimer's disease. *Front Physiol*, 2015, 6: 40
- [79] Lauzon MA, Daviau A, Marcos B, et al. Growth factor treatment to overcome Alzheimer's dysfunctional signaling. *Cell Signal*, 2015, 27: 1025-38
- [80] 凡复, 陈建国, 任宏. 帕金森病和阿尔茨海默氏病的基因治疗研究进展. 中国生物杂志, 2013, 33: 129-35
- [81] 侯焕博, 姚洪波. 神经生长因子对老年性痴呆的研究展望. 齐齐哈尔医学院学报, 2013, 34: 1808-9
- [82] Rinaldi S, Calzà L, Giardino L, et al. Radio electric asymmetric conveyer: a novel neuromodulation technology in Alzheimer's and other neurodegenerative diseases. *Front Psychiatry*, 2015, 17: 22
- [83] Kumar A, Singh A, Ekavali. A review on Alzheimer's disease pathophysiology and its management: an update. *Pharmacol Rep*, 2015, 67: 195-203
- [84] Joshi YB, Giannopoulos PF, Praticò D. The 12/15-lipoxygenase as an emerging therapeutic target for Alzheimer's disease. *Trends Pharmacol Sci*, 2015, 36: 181-6