

学校编码: 10384

分类号\_\_\_\_\_密级\_\_\_\_\_

学 号: 20120051301992

UDC \_\_\_\_\_

厦 门 大 学

硕 士 学 位 论 文

pp6068 克隆蛋白与 BACE1 的相互作用

Interaction between pp6068 clone protein and BACE1

林 群

指导教师姓名: 许华曦 教授、博导

专 业 名 称: 动物生物学

论文提交日期: 2008 年 6 月 30 日

论文答辩时间: 2008 年 10 月 25 日

学位授予日期:

答辩委员会主席: 郑立谋 教授、博导

评 阅 人:

2008 年 6 月

## 厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下,独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果,均在文中以适当方式明确标明,并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范(试行)》。

另外,该学位论文为( )课题(组)的研究成果,获得( )课题(组)经费或实验室的资助,在( )实验室完成。(请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称,未有此项声明内容的,可以不作特别声明。)

声明人(签名):

年 月 日

## 厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

1. 经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，  
于 年 月 日解密，解密后适用上述授权。

2. 不保密，适用上述授权。

（请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。）

声明人（签名）：

年 月 日

## 摘 要

阿尔茨海默氏病(Alzheimer's disease, AD)是一种以渐进性记忆力丧失和认知障碍为主要症状的神经退行性疾病,在患者脑部出现两个明显的病理组织学特征:即细胞内神经原纤维缠结(neurofibrillary tangle, NFT) 和细胞外形成淀粉样斑(senile plaque, SP)。研究表明 SPs 中含有大量的  $\beta$ -淀粉样蛋白(beta-Amyloid protein, A $\beta$ ), BACE1 ( $\beta$ -site APP-cleaving enzyme;APP, amyloid precursor protein) 被认为是 A $\beta$  形成的关键酶,已经成为目前阿尔茨海默症研究的热点之一。但目前对于 BACE1 的生理功能和作用机制仍然缺乏全面的了解。

为了更清楚地认识和了解 BACE1 在阿尔茨海默症发病过程中的作用,我们实验室以 BACE1 的胞内端第 473 位至第 501 位氨基酸构建诱饵蛋白,利用酵母双杂交的方法在人胎脑 cDNA 文库进行筛选,得到一个能与 BACE1 相互作用的蛋白: pp6068 克隆蛋白。

我们构建了 pp6068 克隆蛋白在哺乳动物细胞中的稳定表达的载体,免疫共沉淀实验证明外源性的 pp6068 克隆蛋白和 BACE1 在 HEK293T 细胞中能够发生相互作用。在 N2a/APP695 细胞中,pp6068 克隆蛋白的过表达能够上调 BACE1 的水解产物 APP/ $\beta$ CTF 和 A $\beta$  的蛋白水平,同时,还能够下调  $\alpha$ -分泌酶的水解产物 sAPP $\alpha$  的蛋白水平。

这些研究说明, pp6068 克隆蛋白可能参与了 BACE1 活性的调节,影响 APP 的降解和 A $\beta$  的形成。同时也可能对  $\alpha$ -分泌酶对 APP 的水解过程产生了影响。对于与 BACE1 相互作用的蛋白的研究不仅有利于揭示 pp6068 克隆蛋白在哺乳动物中的生物学功能,还可能为研究 BACE1 生理功能和 AD 的治疗开辟新的途径。

关键词: 阿尔茨海默症; BACE1; A $\beta$ ; pp6068 克隆蛋白

## Abstract

Alzheimer's disease (AD) is a neurodegenerative disorder which is characterized clinically by progressive loss of memory and impairment of cognitive abilities. Neurofibrillary tangle (NFT) and senile plaque (SP) are the two histological characters found in the brain of AD patients. Recent researches have showed that the major component of SPs is A $\beta$  ( $\beta$ -amyloid peptides). BACE1 ( $\beta$ -site APP cleaving enzyme; APP, amyloid precursor protein), identified as a key enzyme during the A $\beta$  formation, has become one of the hotspots of Alzheimer's disease research. However, some pathophysiological functions of BACE1 and the underlying mechanisms still remain unclear.

To further elucidate the role of BACE1 during the development of Alzheimer Disease, we utilized yeast two-hybrid system to identify BACE1-interacting proteins. Using the BACE1 carboxyl terminus (C<sub>473-501</sub>) as the bait protein, we screened the human fetal brain cDNA library and acquired one novel protein: pp6068 clone protein.

We constructed a pp6068 clone protein expression vector and expressed it in mammalian cells. Co-immunoprecipitation in HEK 293T cells confirmed the interaction between pp6068 clone protein and BACE1. The overexpression of pp6068 clone protein in N2a/APP695 dramatically increases protein level of APP/ $\beta$ CTF and A $\beta$ , both of which are hydrolysis products of BACE1. On the other hand, the increased expression of pp6068 clone protein decrease  $\alpha$ -secretase cleavage product of APP, sAPP $\alpha$ .

Our data suggests that pp6068 clone protein may play a potential role in the regulation of BACE1 activity and affect the APP processing and A $\beta$  generation. Our research may contribute to further comprehension of proteins interacting with BACE1, and facilitate developments in Alzheimer's disease treatment.

**Key word:** Alzheimer's disease; BACE1; A $\beta$ ; pp6068 clone protein

## 目 录

第一章 前言	1
第一节 阿尔茨海默症	1
1.1 阿尔茨海默氏症的病理特征	2
1.2 与阿尔茨海默氏症相关的基因	5
第二节 AD 的发病机制	8
2.1 淀粉样蛋白级联假说	8
2.2 离子通道假说	8
2.3 自由氧基损伤假说	9
第三节 $\beta$ -分泌酶的研究现状	11
3.1 $\beta$ -分泌酶的发现	11
3.2 BACE1 的结构特征	11
3.3 BACE 的转运和代谢	13
3.4 BACE 的生物学功能	15
第四节 本文研究的内容和意义	18
第二章 材料与方法	19
2.1 材料、仪器	19
2.2 实验方法	25
第三章 结果与分析	34
3.1 含 pp6068 clone 基因全长的真核表达载体构建	34
3.2 pcDNA3.1- pp6068-myc 表达载体在哺乳动物细胞中的表达	39
3.3 通过免疫共沉淀在 HEK 293T 验证 pp6068 clone 蛋白与 BACE1 存在相互作用	40
3.4 pp6068 蛋白的过度表达能够增加 A $\beta$ 的蛋白水平	42
3.5 pp6068 clone protein 的过度表达能够影响细胞内 $\beta$ CTF 的蛋白水平	44

第四章讨论与展望.....	47
参考文献 .....	50
附录 .....	60

厦门大学博硕士论文摘要库

## Table of Contexts

<b>Chapter 1 Introduction</b> .....	1
<b>Part I Alzheimer's disease</b> .....	1
1.1 Pathological character of Alzheimer's disease .....	2
1.2 Genes involved in Alzheimer's disease .....	5
<b>Part II Pathogenesis of Alzheimer's disease</b> .....	8
2.1 $\beta$ -amyloid cascades hypothesis .....	8
2.2 Ion channel hypothesis .....	8
2.3 Free radical impairment hypothesis .....	9
<b>Part III Advancements in BACE research</b> .....	11
3.1 Discovery of $\beta$ -secretase .....	11
3.2 Structure character of BACE .....	11
3.3 Trafficking and metabolism of BACE .....	13
3.4 Biological function of BACE .....	15
<b>Part IV Purposes and significance of our research</b> .....	18
<b>Chapter 2 Materials and methods</b> .....	19
2.1 Materials and equipments .....	19
2.2 Methods .....	25
<b>Chapter 3 Results and analysis</b> .....	34
3.1 The expression construct encoding full length of pp6068 .....	34
3.2 The expression of pp6068 in mammalian cell .....	39
3.3 Identification of interaction between pp6068 and BACE1 in HEK	

293T cell.....	40
3.4 The level of A $\beta$ is increased when pp6068 is overexpressed.....	42
3.5 The overexpression of pp6068 effects $\beta$ CTF level .....	44
<b>Chapter 4 Discussion and prospect.....</b>	<b>47</b>
<b>References.....</b>	<b>50</b>
<b>Appendices.....</b>	<b>60</b>

厦门大学博硕士学位论文摘要库

## 第一章 前言

### 第一节 阿尔茨海默症

阿尔茨海默症 (Alzheimer's disease, AD), 是一种与年龄相关的神经系统退行性疾病。1907 年, 德国医生阿尔茨海默 (Alzheimer) 第一个对该疾病进行了报道。到了 1910 年, 人们为纪念他对阿尔茨海默症的贡献, 以他的名字命名了该疾病。

阿尔茨海默症是老年人群中最常见的一种痴呆类型, 同时, 研究表明其发病率随年龄增加而呈指数增长。65 岁人群中发病率大约为 10%, 而 85 岁以上人群中这一比例可高达 50%<sup>[1]</sup>, 因此, 阿尔茨海默症又被称为老年痴呆症。该疾病的主要临床症状表现为: (1) 渐进性的记忆损伤, 发病初期主要表现为近期记忆障碍, 以后逐渐对往事也发生遗忘, 严重时出现完全性遗忘; (2) 认知障碍, 多数以精细思考困难开始, 发展到对日常生活和常识的理解和判断的思维活动也发生障碍; (3) 人格和行为改变, 例如妄想, 幻想; (4) 进行性语言功能的丧失, 可表现为各种失语, 如遗忘失语、命名性失语等; (5) 定向力障碍, 患者对时间、人物等的定向发生障碍<sup>[2]</sup>。

根据美国老年痴呆协会 (Alzheimer Association) 2007 年的统计数据显示, 现在美国大约有 600 万的 AD 患者, 65 岁以上人口中 AD 患病率为 13%, 85 岁以上患病率高达 42%<sup>[3]</sup>; 2005 年我国学者关于中国老年痴呆病的一项研究报告表明, 中国人 AD 患病率、痴呆亚型分布比率与国际无差异, 中国至少有 600 万痴呆患者, 65 岁以上人口中 AD 患病率为 4.8%, 80 岁以上老人的患病率约为 20%<sup>[4]</sup>。随着世界人口老龄化问题的加剧, AD 的病患数目已经超过了 2000 万, 并且仍有不断上升的趋势, 预计到 2020 年全世界将有 4200 万人患上这种疾病, 2040 年患病人数将进一步攀升至 8100 万<sup>[5]</sup>。阿尔茨海默病病人的治疗费用非常惊人; 美国每年在对该病的治疗上的支出共计 839 亿美元。如果不能有很好的方法对 AD 进行预防和治疗, 那么这一疾病不但会严重的影响患者及其家属的生活质量和水平, 同时其治疗过程中耗费的大量的人力和财力, 也会给国家和社会带来沉重的负担。因此, 世界各国正在积极研究 AD 的病因和治疗措施, 然而遗憾的是, 到

目前为止,人们还没有确切了解其发病机制,也没有行之有效的预防措施和治疗手段。

## 1.1 阿尔茨海默氏症的病理特征

阿尔茨海默在其报道中详细地描述了该病的特征:在神经元内外有斑点、神经纤维成团化等。1960年,英国的 Michael K 和美国的 Robert T 描述了与 AD 有关的两个主要的病理改变,即:老年斑 (senile or neuritic plaques, SP) 和神经纤维缠结 (neurofibrillary tangles, NFTs) [6]。目前研究人员普遍认为,SP 和 NFTs 的形成能够损伤细胞、树突和轴突,从而引起神经传递的削弱,导致认知能力下降。而其它病理学特征还包括脑皮质普遍萎缩,神经细胞内颗粒空泡样变性,淀粉样物质在脑血管沉积等[7]。

### 1.1.1 老年斑

AD 病人的一个病理学特征是大脑内认知和记忆相关的区域,特别是在海马、大脑皮层和脑脊膜血管中出现老年斑 (senile plaques, SPs)。大量的研究表明 SPs 中含有  $\beta$  淀粉样蛋白 (beta-Amyloid protein,  $A\beta$ )、tau 蛋白、载脂蛋白 E (ApoE) 等[8],其中  $A\beta$  起了重要的病理作用。 $A\beta$  是由淀粉样前体蛋白 (amyloid precursor protein, APP) 经蛋白酶水解产生的。APP 在体内有两条代谢途径,如图 1-1 所示,第一条途径中,APP 在其胞外区靠近膜的位置可以被  $\alpha$ -分泌酶剪切生成可溶性分子 sAPP $\alpha$  和跨膜片段  $\alpha$ CTF,  $\alpha$ CTF 进一步被  $\gamma$ -分泌酶剪切生成 p3 片段,该途径不产生  $A\beta$  分子。另一途径中,APP 的胞外区首先被  $\beta$ -分泌酶 (在  $A\beta$  分子的第 1 位或者 11 位) 剪切,所产生的跨膜片段  $\beta$ CTF 再进一步被  $\gamma$ -分泌酶在膜双分子层内剪切,从而生成不同  $A\beta$  的种类。

几乎所有表达 APP 蛋白的神经细胞和非神经细胞都有  $A\beta$  的组成性分泌。分泌的  $A\beta$  中,大约 90% 是  $A\beta$  40,其它 10% 是  $A\beta$  42[9]。其中,  $A\beta$  42 极易纤维化,较早地有选择性地形成沉淀[10]。纤维化的  $A\beta$  暴露在生物脂类的环境中可以很快的转化为低聚体的、具有毒性的  $A\beta$  聚合物[11]。体外实验显示用  $A\beta$  处理细胞,以及将  $A\beta$  注射到老鼠的大脑中都会引起细胞死亡。因此  $A\beta$  的过量生成,不溶性  $A\beta$  的沉积是 AD 的中心环节,很可能启动了难以逆转的神经变性,从而引发 AD[12]。

同时也有相关报道显示可溶性的  $A\beta$  低聚物也有可能具有神经毒性[13]。近

期,更有体内实验表明 A $\beta$  的沉积过程非常迅速,淀粉样斑可能在 24 小时甚至更短的时间内形成,其可以通过影响神经突触地卷曲度,从而导致脑内的微架构的改变,以产生神经毒性<sup>[14]</sup>。另外 Diego 等人也报导,A $\beta$  可以降低神经元的 Pptdns (4, 5) P<sub>2</sub> 的水平,可能由此影响神经元功能的调控<sup>[15]</sup>。细胞可以通过低密度的受体相关蛋白-1 (LRP) 介导对 A $\beta$  的清除,实验表明重组 LRP IV 簇可以结合血浆 A $\beta$ , 并且降低 A $\beta$  相关的代谢过程和紊乱<sup>[16]</sup>。

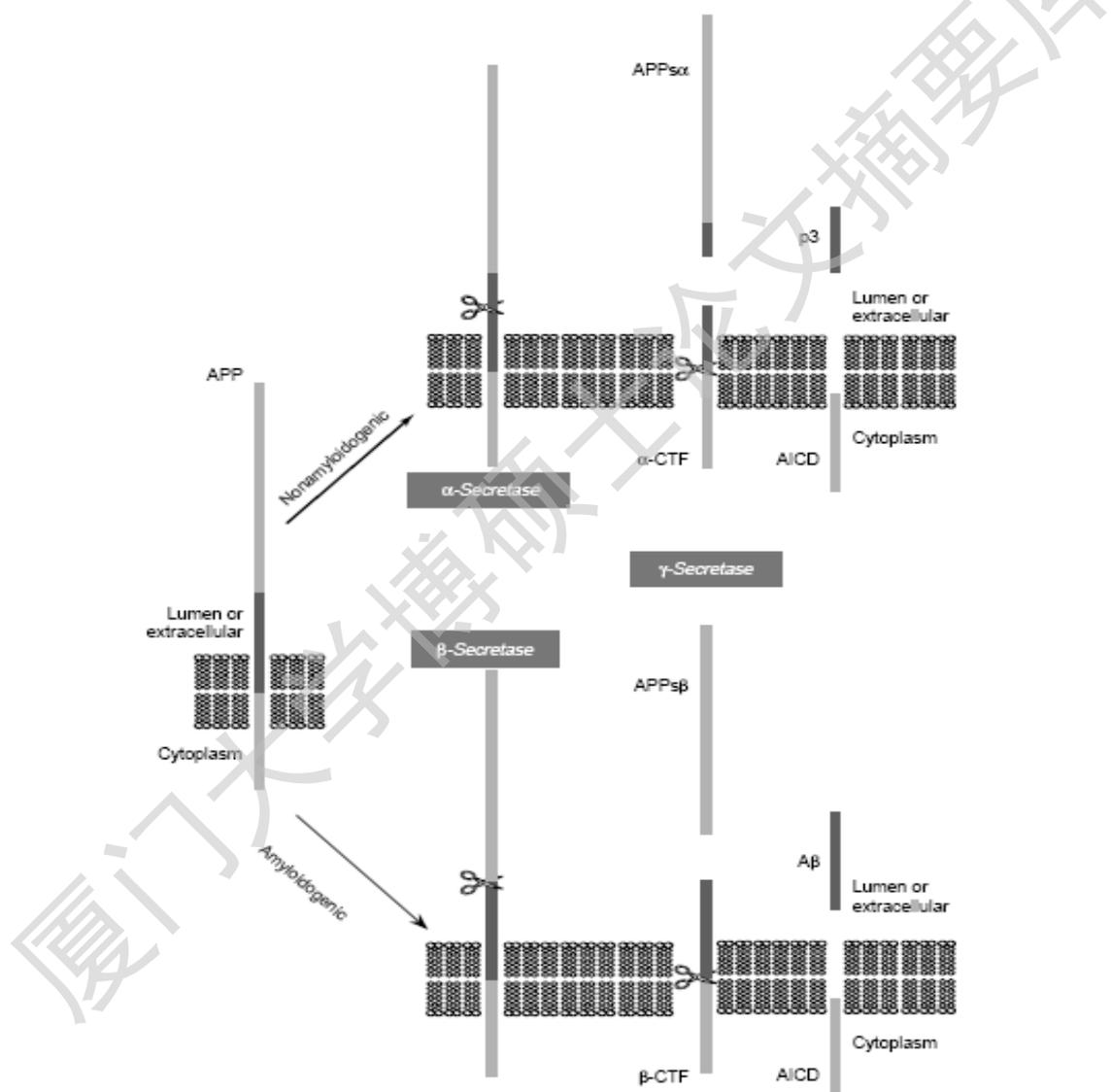


图 1-1 分泌酶介导的 APP 蛋白水解过程示意图(摘自 Current Opinion in Neurobiology 2004, 14:583[17])

Figure 1-1 Protein processing of amyloid precursor protein (APP) by the secretases

$\alpha$ -分泌酶在 A $\beta$  区的内部酶切 APP 形成 sAPP  $\alpha$ , 细胞膜上的  $\alpha$ -CTF 接着被  $\gamma$ -分泌酶水解, 形成 p3 和 AICD; 另一方面, APP 首先被  $\beta$ -分泌酶水解, 形成的  $\beta$  CTF 再被  $\gamma$ -分泌酶水解, 形成 A $\beta$  单体。

### 1.1.2 神经纤维缠结

AD 的另外一个重要的病理学特征是神经纤维缠结 (NFT) 的形成。电子显微镜揭示, 这些纤维是由成对的 10nm 左右的细丝相互缠绕成螺旋。进一步的研究表明, NFT 主要是由微管相关蛋白 tau (microtubule-associated tau) 形成的。微管是神经细胞中参与胞体与轴突营养输送的通道, 是细胞骨架的重要组分, 由微管蛋白和微管相关蛋白 (MAP) 组成, tau 蛋白是 MAP 的主要成分。

正常的 tau 磷酸化是细胞所必需的。但当 tau 被过度磷酸化时便丧失了催化微管装配和稳定微管结构的正常功能。一方面, 这些过度磷酸化的 tau 可以被降解。另一方面, 过度磷酸化的 tau 更易于聚合, 在细胞内形成不可溶的纤维缠结, 从而损害了神经元细胞的正常生理学功能, 造成神经疾病<sup>[18]</sup>。从 AD 患者脑中提取 tau 的磷酸化水平比正常的 tau 明显升高, 其含磷量与后者相比高达 3 至四倍。用 A $\beta$  处理细胞可以引起 tau 过度磷酸化, 并具有神经细胞毒性; 但 A $\beta$  对 tau 基因敲除的细胞无毒性<sup>[19]</sup>。在神经退行性疾病和动物模型脑中, 所有细胞内沉积的 tau 均以异常过度磷酸化的形式存在; 并且过度磷酸化的发生早于其聚集成 NFT<sup>[20]</sup>。早期的过度磷酸化的 tau 蛋白沉积导致神经元活性受抑制, 可能影响记忆功能<sup>[21]</sup>。这些研究表明, tau 的异常过度磷酸化在 AD 形成中可能发挥重要作用。同时 Tau 蛋白的磷酸化水平是受蛋白激酶和蛋白磷酸化酯酶调控的。蛋白激酶 C、钙调蛋白依赖的蛋白激酶 II, 糖原合成酶激酶可能是 tau 蛋白发生过度磷酸化的关键性蛋白激酶<sup>[22]</sup>(图 1-2)。

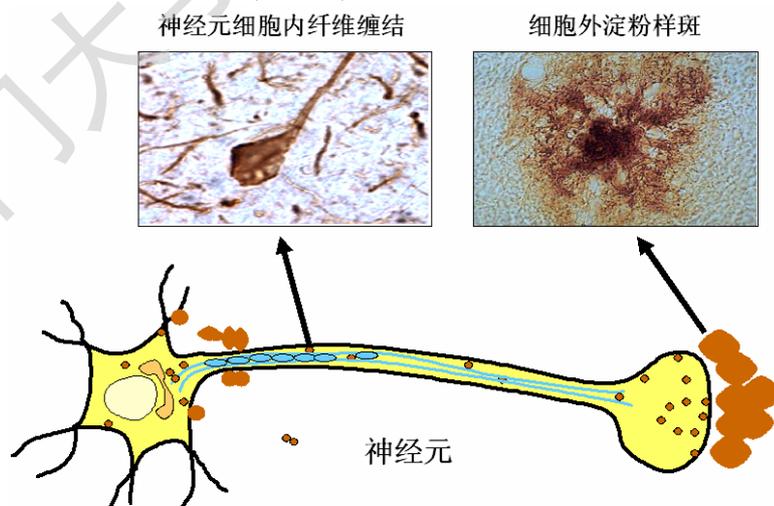


图 1-2. AD 的两个重要病理学特征 (摘自分子细胞生物学, 张云武等著)

Figure 1-2. Two pathologic characteristics of AD

## 1.2 与阿尔茨海默氏症相关的基因

根据阿尔茨海默氏症与遗传的关系, AD 可分为有家族遗传史的家族性 AD (familial AD, FAD), 和多见的、散发性 AD (sporadic AD, SAD)。家族性 AD 在老年痴呆中所占的比例较小(7%), 以 65 岁为界线, FAD 被分为早发性 AD (early onset AD) 和迟发性 AD (lately onset AD)。FAD 通常是由基因突变引起的。与早发性 AD 相关的三个基因是: APP 基因, 位于 21 号染色体上; Presenilin-1 (PS-1) 基因, 位于 14 号染色体上; Presenilin-2 (PS-2) 基因, 位于 1 号染色体上。而位于 19 号染色体上的 Apolipoprotein E (ApoE) 与迟发性 AD 相关, ApoE 有三个不同构型的等位基因: ApoE2、ApoE3、ApoE4。

### 1.2.1 APP 基因

1987年, Robakis NK等从人脑cDNA文库中分离到一个APP相关基因, 其编码的蛋白C末端包含A $\beta$ 的28个氨基酸<sup>[23]</sup>。同年, Kang J等分离得到了全长cDNA, 并将这个基因编码的蛋白质称为 $\beta$ -淀粉样前体蛋白 (amyloid precursor protein, APP) <sup>[24]</sup>。APP基因是第一个被发现与FAD相关的基因, 该基因突变诱发的老年痴呆症约占FAD的10%。APP基因位于21号染色体的长臂上 (21q21), 在其5' 端序列附近已发现数个重要蛋白, 如热休克蛋白 (Hsp)、白介素-1 (IL-1)、神经生长因子 (NGF) 等<sup>[25]</sup>。该基因包含19个外显子, 即: 外显子1-13, 13a, 14-18。转录后通过不同剪接方式可以产生六个转录产物: APP365, APP563, APP695, APP714, APP751, APP770。其中APP695, APP751, APP770是主要的表达形式, 其差别是: APP770包含Kunitz蛋白酶抑制功能区和OX-2抗原功能区, APP751只具有Kunitz蛋白酶抑制功能区, 而APP695没有Kunitz蛋白酶抑制功能区和OX-2抗原功能区<sup>[26]</sup>。

APP 蛋白的相对分子量为 110~135kD, 在大多数的细胞中都能表达。它是典型的 I 型跨膜蛋白: N 端是由 17 个残基组成的信号肽, 一个胞外结构域, 单个跨膜螺旋区 (700~723) 和一个短的胞内区组成。A $\beta$  区域一部分位于 APP 的膜外区, 一部分位于跨膜区。与 FAD 相关的 APP 突变主要发生在 A $\beta$  区域 (APP670-724), 位于  $\beta$ -分泌酶和  $\gamma$ -分泌酶的水解位点或其附近。一系列的相关突变已经得到确认, 例如 APP 第 717 位 V 被 I, L, F 或 G 替代, 第 693 位 E 被 Q, K 或 G 替代, 第 670、671 位的 KM 被 NL 替代等<sup>[17]</sup>。APP 基因的突变能够引起 APP 蛋白代谢途径的改变, 导致 A $\beta$  蛋白产物增加, 或者提高 A $\beta$  42 的比例。A $\beta$

包括 A $\beta$  40 和 A $\beta$  42, A $\beta$  43 等, 其中 A $\beta$  42, A $\beta$  43 更易聚合, 也更具有致病性<sup>[27]</sup>。A $\beta$  42 形成淀粉样蛋白的核心, 并与其它蛋白 (如 A $\beta$  40、ApoE 蛋白等) 结合, 在细胞外形成淀粉样斑。

### 1.2.2 Presenilin 基因

Presenilin 基因包括 Presenilin-1 (PS-1) 和 Presenilin-2 (PS-2) 基因, 主要与早发性 AD 有关, 在多数 FAD 患者脑中均发现 PS-1 和 PS-2 基因的突变。PS-1 基因位于 14 号染色体上 (14q24), 被认为是诱发 FAD 的主要原因, PS-1 突变占早发性 FAD 病例的 60% 以上; 发病期多在 40 岁至 50 岁之间, 有的病例甚至在 30 岁以前<sup>[8]</sup>。PS-1 基因的突变多为点突变, 目前已发现 140 种以上的错义突变和一个缺失突变<sup>[28]</sup>。错义突变主要发生在 PS-1 的五个疏水跨膜区和三个亲水环上。PS-2 基因位于 1 号染色体上, 是 PS-2 的等位基因, 两者具有高度同源性。至少有 10 种以上的 PS-2 突变与早发性 AD 相关<sup>[12,29]</sup>。

Presenilin 蛋白在大脑及许多其它类型细胞中都有内切酶活性, 但不是以全蛋白的形式, 而是其 N-末端片断和 C-末端片断以二聚体形式存在的<sup>[30]</sup>。Presenilin 全蛋白在细胞内表达后, 在内质网小泡中被迅速水解, 在高尔基体中形成稳定的功能片断。其蛋白水解活性位点可能位于第六和第七跨膜区间胞质 loop 的疏水区<sup>[31]</sup>。目前研究表明, PS 是  $\gamma$ -分泌酶的必要组分, 它与 Nicastrin, APH-1 和 PEN-2 结合形成有生物活性的  $\gamma$ -分泌酶<sup>[32]</sup>。PS 异二聚体能在隔离的小泡中产生 A $\beta$ 。许多研究表明, PS 复合物在  $\gamma$ -分泌酶进行膜内裂解 I 型膜蛋白 (包括  $\beta$  APP 和信号受体 Notch-1) 中起着重要作用<sup>[33,34]</sup>。敲除 PS1 和 PS2 或 PS 复合体的其它组分可以显著地削弱细胞内 A $\beta$  的分泌和 Notch 衍生物 S3/NICD 的生成。PS1 中保守的跨膜天冬氨酸残基的突变引起的 PS1 功能缺失也可导致 A $\beta$  分泌的减少<sup>[35]</sup>。目前, 关于 PS 在 APP 水解过程中的作用还存在争议, PS 可能直接参与 APP 的水解, 也可能只是参与蛋白的转运。

### 1.2.3 易患基因

AD 患者的病例中, 由遗传性的常染色体显性突变引起 AD (即 FAD) 发病几率只占很小的比例 (10%)。大多数的病例都是迟发性的, 并且具有明显的散发性, 偶发性的特点。这可能是由非显性因子和环境共同作用引起的。

ApoE 基因位于 19 号染色体上 (19q13.2), 有三个不同构型的等位基因, ApoE2, ApoE3 和 ApoE4; 其表达产物是一个 34kDa 的糖蛋白。在迟发性 AD 中,

载脂蛋白 (Apolipoprotein E, ApoE) E4 等位基因 ( $\epsilon 4$  allele) 是主要的遗传危险因子<sup>[12]</sup>。研究发现, ApoE4  $\epsilon 4$  allele 在 AD 尤其是 FAD 患者的出现频率要高于正常人。携带一个或两个  $\epsilon 4$  等位基因能够提高患 AD 的可能性, 与携带  $\epsilon 2$  和/或  $\epsilon 3$  等位基因相比, 其平均发病年龄更早<sup>[36]</sup>。据统计, 携带两个  $\epsilon 4$  等位基因的患病率是携带两个  $\epsilon 2$  等位基因的 8 倍以上。ApoE4 阿朴脂蛋白是 ApoE  $\epsilon 4$  等位基因的表达产物, 体外试验发现其能与 A $\beta$  快速、紧密地结合, 并形成不可溶物; 体内试验证明 ApoE 蛋白能增加 A $\beta$  的  $\beta$  折叠成分, 使其更易聚集沉淀<sup>[37]</sup>。需要注意的一点是, 虽然 ApoE 基因是 AD 的危险因子, 但绝不是患 AD 的必要条件。有些携带  $\epsilon 4$  纯合子的人, 在 90 岁时也没有出现 AD 症状; 有些患 AD 的人并没有携带  $\epsilon 4$  等位基因。

除了前述的四种基因, 还有其它能够诱发 AD 的基因危险因子存在。VLDL-R (very low density lipoprotein receptor) 基因, 位于 9 号染色体上。VLDL-R 能够影响 ApoE 在大脑中的代谢, 提高  $\epsilon 4$  携带者的 AD 患病率。除了 VLDL-R, 其它的脂蛋白受体可能也与 AD 有关。位于 12 号染色体上的  $\alpha 2$  巨球蛋白 (A2M) 基因也被证明和 AD 相关, A2M 是一种蛋白酶抑制剂。在老年斑中发现有 A2M 的存在, A2M 能与 A $\beta$  结合<sup>[38]</sup>。其它危险因子还有转铁蛋白基因 (TF), 血色素沉积基因 (HFE) 等。

Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to [etd@xmu.edu.cn](mailto:etd@xmu.edu.cn) for delivery details.

厦门大学博硕士论文摘要库