

学校编码: 10384

分类号_____密级_____

学 号: 21620071151912

UDC _____

厦 门 大 学

硕 士 学 位 论 文

人类 M1 Muscarinic 乙酰胆碱受体通过与
BACE1 相互作用介导其蛋白酶体途径降解

Human M1 Muscarinic acetylcholine receptor mediates
proteasomal degradation of BACE1 through their
interaction

姜尚彤

指导教师姓名: 许华曦 教授、博导

张云武 教授

专 业 名 称: 细胞生物学

论文提交日期: 2010 年 月 日

论文答辩时间: 2010 年 月 日

学位授予日期:

答辩委员会主席:

评 阅 人:

2010 年 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

生物体内的蛋白酶 BACE1 能够切割淀粉样前体蛋白 APP，产生 A β ，形成淀粉样斑，导致阿尔茨海默症（Alzheimer's disease, AD）的发病。由于 BACE1 活性以及水平受到细胞内多种蛋白的调控，因此寻找与 BACE1 相互作用的蛋白在 AD 治疗中具有重要意义。

本实验中心前期通过酵母双杂交的实验方法筛选出一种可能与 BACE1 发生相互作用的蛋白，人类 M1 Muscarinic 乙酰胆碱受体。在本研究中，我们进一步在哺乳动物细胞 HEK 293T 以及 N2a 695 等细胞内，通过免疫共沉淀以及免疫荧光技术详细证实了 M1 受体可以和非成熟形式的 BACE1 在内质网中发生相互作用。以往的研究表明，激活 M1 受体可以抑制 tau 蛋白的过度磷酸化，通过 PKC/MEK 信号通路增加非淀粉样斑途径的 APP 加工过程，降低 A β 的形成，从而缓解与老年痴呆症相伴的认知障碍等症状，因此 M1 受体一度成为治疗 AD 的重要靶标。有研究证明在模型小鼠大脑中使用 M1 受体激活剂 AF267B 可以降低 BACE1 蛋白水平，但是其机理尚不清楚，而且此激活剂对 M1 受体其他的同家族成员也有激活作用，特异性有待提高。另外的研究表明，在 M1 受体及其同家族成员 M3 受体共同激活剂 talsaclidine 处理下，细胞可以通过 MAPK 以及 PKC 信号通路上调 BACE1 的蛋白水平。为了揭示 M1 调控 BACE1 的具体机制，解释以往报道中存在着争议的现象，我们通过这两种蛋白之间的直接相互作用，特异性地展开了 M1 受体对 BACE1 的功能研究，发现：瞬时转染 M1 受体可以剂量依赖性地降低 BACE1 的蛋白水平以及 APP 经 BACE1 切割产物 A β 的水平，但并不影响 BACE1 的 mRNA 水平；而这种 BACE1 的减少可以通过蛋白酶体的抑制剂处理得以补偿恢复，却不能通过使用溶酶体抑制剂 NH₄Cl 或 methylamine 而得到补偿，表明 M1 介导的 BACE1 降解是专一性依赖蛋白酶体途径的；用抑制剂将 M1 下游的 MAPK, PKC 以及 PI3K-Akt 信号通路阻断，并不影响 M1 对 BACE1 的降解；过表达丧失信号转导功能的 M1 缺失 C 端突变体同样引起 BACE1 减少。用 siRNA 干扰细胞内 M1 水平，可观察到 BACE1 堆积的现象；更有趣的是过表达 BACE1 能够引起 M1 受体蛋白和 mRNA 积累。这些实验结果都表明，M1 受体与 BACE1 的直接偶联可能引起 BACE1 的蛋白酶体途径降解。

关键词：阿尔茨海默症；BACE1；Muscarinic M1

Abstract

Overproduction and aggregation of β -amyloid ($A\beta$) is crucial for the pathogenesis of Alzheimer's disease (AD). $A\beta$ is derived from its precursor APP through sequential cleavages by β -secretase (BACE1) and γ -secretase. The protein level and activity of BACE1 have been found upregulated in sporadic AD, suggesting that a dysregulation of BACE1 may trigger AD pathogenesis. Therefore, identification of proteins that interact with BACE1 and regulate its level/activity is important in AD research. Using yeast two-hybrid screening of a human fetal brain cDNA library, we have previously identified the M1 muscarinic acetylcholine receptor (M1 mAChR) as a potential BACE1-interacting protein. Here we carried out co-immunoprecipitation and immunofluorescence assays and confirmed that M1 mAChR can interact with immature form of BACE1 in the endoplasmic reticulum (ER).

It has been reported that M1 mAChR activation can increase non-amyloidogenic APP processing via PKC/MEK pathways, decrease $A\beta$ formation, repress tau hyperphosphorylation and ameliorate cognitive dysfunction, suggesting that M1 mAChR may be an important therapeutic target for AD treatment. Previous studies had shown that M1 agonist AF267B treatment resulted in decrease of BACE1 level, but the mechanism remains elusive till now. On the contrary, upregulation of BACE1 by M1/M3-selective agonist talsaclidine via both PKC and MAPK signaling cascades has been reported. Therefore, here we examined the specific role of M1 mAChR in regulating BACE1. Transient overexpression of M1 mAChR results in a reduction of the protein level of BACE1 (but not its mRNA level) in a dose-dependent manner together with a decreased level of $A\beta$, whereas downregulation of M1 mAChR by siRNA results in an accumulation of BACE1. The reduction of BACE1 level induced by M1 mAChR can be rescued by the proteasome inhibitor lactacystin, but not by the lysosome inhibitor NH_4Cl /methylamine, suggesting that M1 mAChR accelerates BACE1 degradation in a proteasome-dependent manner. Moreover, blockage of MAPK, PKC, PI3K-Akt

signaling pathways has no effect on rescuing M1 mAChR -mediated BACE1 degradation, suggesting that BACE1 degradation is independent of these signaling pathways. Overexpression of mutant M1 that is devoided of signaling transduction function also resulted in reduced BACE1 level. Moreover, BACE1 overexpression can also result in accumulation of M1 mAChR protein level and up-regulation of its mRNA level . Together, these findings establish the coupling of M1 and BACE1 and indicate BACE1's degradation through the direct interaction with M1.

Key word: Alzheimer's disease; BACE1; Muscarinic M1

目 录

第一章 前言	错误! 未定义书签。
1 阿尔茨海默症	错误! 未定义书签。
2 BACE1 简介	错误! 未定义书签。
3 M1 Muscarinic 乙酰胆碱受体及其在阿尔茨海默症中的作用	错误! 未定义书签。
4 本文研究的内容和意义	错误! 未定义书签。
第二章 材料与方法	错误! 未定义书签。
1.材料	错误! 未定义书签。
2.方法	错误! 未定义书签。
第三章 结果与分析	错误! 未定义书签。
1. M1 在 HEK 293T,HEK 293swedish 和 N2a695 细胞中被高度糖基化	错误! 未定义书签。
2. M1 与 BACE1 在真核细胞中发生直接相互作用	错误! 未定义书签。
3. 免疫荧光鉴定 M1 和 BACE1 共定位在内质网中	错误! 未定义书签。
4. 过表达 M1 降低 BACE1 蛋白水平以及 APP 淀粉样途径水解产物, 但不影响 BACE1 的 mRNA 水平	错误! 未定义书签。
5. M1 介导的 BACE1 降解是依赖于蛋白酶体途径的	错误! 未定义书签。
6. M1 介导的 BACE1 降解不依赖于 MAPK/ERK, PKC 和 PI3K/Akt 信号通路	错误! 未定义书签。
7. 过表达缺失 C 端信号转导功能关键区域的 M1 突变体仍然引起 BACE1 水平的下降	错误! 未定义书签。
8. siRNA 干扰内源 M1 表达后 BACE1 蛋白积累	错误! 未定义书签。
9. 过表达 BACE1 引起 M1 蛋白积累和 mRNA 水平增多	错误! 未定义书签。
第四章 讨论与展望	错误! 未定义书签。
参考文献	错误! 未定义书签。
附录	- 错

误！未定义书签。 。

Table of Contents

CHAPTER 1 INTRODUCTION	错误！未定义书签。
1.Alzheimer’s disease overview.....	错误！未定义书签。
2.BACE1 brief introduction.....	8
3.M1 Muscarinic acetylcholine receptor and its fuction in Alzheimer’s disease..	10
4.The purposes and significance of this research	13
CHAPTER 2 MATERIALS AND METHODS	15
1.Materials	15
2.Methods.....	20
CHAPTER 3 RESULTS AND ANALYSIS	30
1.M1 is glycosylated in HEK293T,HEK 293swedish and N2a 695 cells.....	30
2.M1 directly interacts with BACE1 in eukaryocyte.....	31
3. M1 and BACE1 colocalize in endoplasmic reticulum	32
4. M1 overexpression decreases protein level of BACE1 and amyloidogenic pathway products but not mRNA level of BACE1	33
5. M1-mediated BACE1 degradation is proteasome dependent.....	35
6. MEK,PKC and PI3K signaling pathways are not involved in M1-induced BACE1 degradation.....	38
7.Overexpression of mutant M1 Δ C decreases BACE1 level	39
8.BACE1 protein accumulates after the down-regulation of M1	40
9.Enhanced BACE1 increases M1 protein level and its mRNA level.....	41
CHAPTER 4 DISCUSSION AND PROSPECT	43
REFERENCES	47
APPENDICES	54

厦门大学博硕士学位论文摘要库

第一章 前言

1 阿尔茨海默症

1.1 阿尔茨海默症概述

阿尔茨海默症 (Alzheimer's disease, AD), 是一种常见的神经系统退行性疾病, 它是以 1907 年首次报道该病的德国医生阿尔茨海默 (Alzheimer) 的名字来命名的疾病, 由于其在老年人群体中的高发性, 通常又被称为老年痴呆症。近年来的统计数据显示, 目前美国、中国的该病患者人数皆超过 600 万^{[1][2]}, 世界范围的 AD 病患数目已经超过了 2000 万, 并且仍有不断上升的趋势, 随着世界人口老龄化问题的凸现, 预计 2020 年全世界将有 4200 万 AD 患者, 2040 年患病人数将进一步攀升至 8100 万^[3]。阿尔茨海默症的治疗费用惊人, 据统计仅美国一年在该病治疗上的支出就超过 800 亿美元。如果不能找到行之有效的方法预防和治疗 AD, 那么这一疾病不仅仅会严重地影响患者及其家属的生活质量, 同时其治疗过程中所耗费的大量人力和财力, 也势必给社会和国家带来沉重的负担。

为此, 世界各国正在积极研究 AD 的病因和治疗方法。目前人们对 AD 的研究主要集中在以下三个方面: 1) 阿尔茨海默症中神经递质的丢失。1976 年人们最早发现了 AD 病人体内胆碱能神经元的缺陷, 随后发现调节胆碱能递质可以缓解病人的症状, 因此基于此方面的研究开发出缓解 AD 的药物, 即拟胆碱类激活剂药物, 但是这种药物只能起到缓解病情的作用, 却不能从根本上治愈 AD^[4], 而且因其具有副作用, 至今未被 FDA 批准广泛应用。2) 淀粉样斑和神经元纤维缠结的研究。神经纤维缠结是由过度磷酸化的 tau 蛋白所引发的, 成对出现的, 螺旋状纤维体, 而淀粉样斑主要由 β 淀粉样蛋白 A β 沉积形成。3) 致使 AD 发病的突变体的研究。目前发现, 可以导致 A β 过量沉积的突变主要发生在 14 号染色体上的 PS1 基因, 1 号染色体上的 PS2 基因以及 21 号染色体上的 APP 基因, 而 17 号染色体上的 MAPT 基因突变则可以直接导致 tau 蛋白的过度磷酸化, 从而加剧神经元纤维缠结的形成^[5]。

尽管对 AD 的研究已逾百年, 但是令人遗憾的是, 从阿尔茨海默医生首次报道该病, 直到医疗卫生水平已经很发达的今天, 专家学者依然未能确切了解其

发病机制，也没找到有效的预防措施和治疗手段控制该病。

1.2 阿尔茨海默症的临床表现以及病理特征

阿尔茨海默症的主要临床症状表现为：（1）渐进性记忆损伤（2）认知障碍（3）渐进性语言功能丧失（4）人格和行为改变（5）定向能力障碍^[6]。早中期主要表现为：记忆力减退、个性改变、自制力和理解力丧失。晚期则为：记忆力完全丧失，语言与行为能力丧失，患者日常生活不能自理，直至病程后期卧床不起。

AD 患者的病理改变主要发生在前脑基底、海马和大脑皮层，其病理特征以淀粉样斑（amyloid plaques）、神经纤维缠结（neurofibrillary tangles, NFTs）以及胆碱神经元的缺失为代表。

1.2.1 淀粉样斑

全身的淀粉样沉积可以出现在任何器官，往往比较大，并且形状不定；而在大脑中的沉积形状往往呈栗子状，界限明显，称为沉积斑。

大脑神经元胞外的淀粉样斑是由 β -淀粉样蛋白 $A\beta$ 聚合形成的多聚体堆积而成。 $A\beta$ 是由淀粉样前体蛋白（amyloid precursor protein, APP）经 β -分泌酶在其第 1 或 11 位点内切产生的跨膜片段 β CTF，再进一步被 γ -分泌酶在其第 40 或 42 位点膜双分子层内剪切，产生 $A\beta_{40}$ 或 $A\beta_{42}$ 并聚集形成的细胞外斑块，形成 $A\beta$ 的 APP 剪切途径被称为淀粉样斑途径。此外 APP 还存在着另外一条与此竞争性存在的代谢途径，即 APP 在其胞外区靠近膜的位置先被 α -分泌酶剪切生成可溶性分子 $sAPP\alpha$ 和跨膜片段 α CTF， α CTF 进一步被 γ -分泌酶剪切生成 p83 片段，这条途径称为非淀粉样斑途径，如图 1 所示。 $A\beta$ 分子量约 4kD，有两种主要存在形式，即 $A\beta_{40}$ 和 $A\beta_{42}$ ，分别由 40 和 42 个氨基酸组成。分泌的 $A\beta$ 中，大约 90% 是 $A\beta_{40}$ ，其它 10% 是 $A\beta_{42}$ ^[7]。其中 $A\beta_{42}$ 更易聚合，能较早地具有选择性地形成沉淀^[8]，因而更具有致病性。

$A\beta$ 级联假说认为：AD 的形成首先经过 $A\beta$ 的代谢改变。这是由于 APP, PS1 和 PS2 基因突变，引起大脑中 $A\beta$ 清除减少或 $A\beta$ 总量产生的增加，特别是 $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ 比例的升高，加剧了 $A\beta$ 的寡聚化。接下来，疏水性小分子肽 $A\beta$ 引发了一个缓慢、致命的级联过程：包括导致正常的可溶性 tau 蛋白被磷酸化修饰而寡聚形成不溶性双螺旋纤维，突触病变，小胶质细胞和星形胶质细胞被激活而引发炎

症反应，细胞膜通透性改变，进程性的神经元损伤伴随着多种神经递质缺乏和认知缺陷等^[9]。

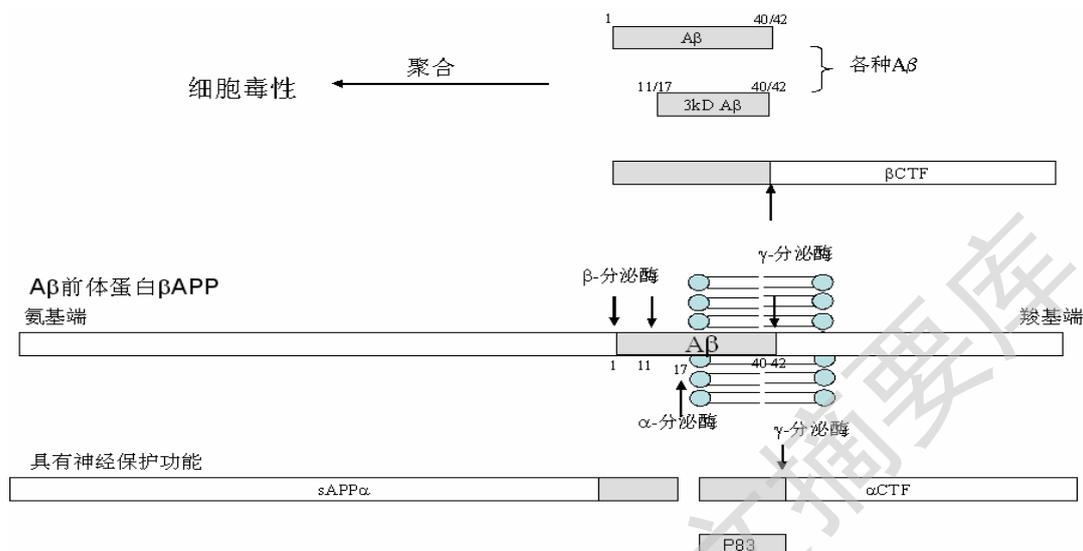


图 1. APP 蛋白水解过程示意图 (摘自 张云武, 许华曦.《蛋白质转运与疾病》, 2006)

Figure 1. The proteolytic processing of β APP by different secretases

注: I 型跨膜蛋白 β APP 可以被 β -分泌酶在 $A\beta$ 的 1 或 11 位点内切水解生成 β CTF。 β CTF 进一步被 γ -分泌酶在 $A\beta$ 的 40 或 42 位点水解生成不同的 $A\beta$ 种类。另一条途径, β APP 可以被 α -分泌酶在 $A\beta$ 的 17 位点水解生成 α CTF 和具有神经保护功能的 $sAPP\alpha$ 。 α CTF 进一步被 γ -分泌酶水解生成 p83 片段。

1.2.2 神经元纤维缠结

神经元纤维缠结主要是 tau 蛋白过度磷酸化引起的^[10]。 AD 患者脑中, 异常过度磷酸化的 tau 蛋白含量显著升高并聚集成双螺旋丝形式, 导致细胞骨架结构异常和神经细胞死亡。

tau 蛋白是微管结合蛋白的主要成分。当 tau 被过度磷酸化时, 无法有效地与微管结合, 丧失了催化微管装配和稳定微管结构的正常功能。过度磷酸化的 tau 易于聚合, 在细胞内形成不溶性的纤维缠结, 从而损害了神经元细胞的正常生理学功能, 引起神经退行性疾病^[11]。 tau 蛋白的磷酸化水平也可以受到蛋白激酶和蛋白磷酸酯酶分子开关的调控。例如, 钙调蛋白依赖的蛋白激酶 II、蛋白激酶 C、糖原合成酶激酶 GSK-3 β , 是 tau 蛋白发生过度磷酸化的关键性蛋白激酶^[12]。

1.2.3 胆碱能神经元病变

胆碱能神经元通过突触间神经递质的释放来实现细胞之间的通讯, 乙酰胆碱 (ACh) 就是其中一种重要的神经递质, 它是由乙酰胆碱转移酶 (ChAT) 合成的, 也能被乙酰胆碱酯酶 (AChE) 水解。当胆碱神经元损伤或者缺失的时候, 由于无法实现正常的神经细胞通讯, 同样容易引发神经退行性疾病。

70年代初期,有学者通过动物实验发现胆碱能系统和记忆的形成与存储相关^[13]。1976~1977年,三个独立研究发现AD患者新皮层以及海马区内乙酰胆碱合成酶,即乙酰胆碱转移酶(ChAT)活性下降^{[14][15][16]}。进一步发现,AD病人中枢神经系统(CNS)中的乙酰胆碱酯酶(AChE)活性异常,乙酰胆碱的合成、释放以及摄取等多种胆碱能系统功能均存在着缺陷^[17]。1988年研究人员用放射性自显影技术发现AD患者大脑皮层烟碱型乙酰胆碱结合位点数量显著减少^[18]。又由于形态学观察到AD患者脑内基底核胆碱能神经元严重退化,大脑皮质神经元明显缺失,因此学者们认为基底核、皮质及其相关区域胆碱神经递质的缺失是AD患者认知能力失常的主要原因^[19]。综上,基于AD患者胆碱能神经元的病变,学术界形成了广为接受的,重要的“AD胆碱能神经元损伤假说”,随即,提高脑内乙酰胆碱ACh水平改善患者症状成为治疗AD的主要策略。

常用的增加脑内ACh的途径包括:(1)突触前途径,通过应用ACh前体药物、促ACh释放剂等方式增加突触前ACh的合成与释放;(2)突触后途径,通过应用针对突触后受体—毒蕈碱型乙酰胆碱M1受体的激活剂,加强拟胆碱作用;(3)突触间隙途径,通过抑制乙酰胆碱酯酶(AChE)的活性,延长ACh的作用时间。

1.3 阿尔茨海默症的药物治疗

AD的治疗药物大体可分为胆碱能系统药物,美金刚,抗氧化药物,抑制A β 生成和沉积的药物,抗炎症药物,神经细胞营养药物,钙离子拮抗剂药物,金属螯合剂药物,抑制tau蛋白异常磷酸化药物等,但是至今为止尚无根治AD的药物或治疗方案,所有的药物只能部分地控制症状或延缓病情发展。

1.3.1 胆碱能系统药物

治疗AD的胆碱能系统药物可分为:(1)ACh前体药物。胆碱是ACh的直接前体,ChAT在的乙酰化作用下,生成ACh。但由于AD病人摄取胆碱的能力以及ChAT的活性均处于饱和态,外源性给予卵磷脂和胆碱来治疗AD已经证明仅有轻微作用甚至无效^{[17][20]}。(2)促ACh释放类药物。例如,卵磷脂和4-氨基吡啶(4-aminopyridine)能够非特异性增强ACh的释放。动物实验表明卵磷脂能够增加大脑皮层对ACh的释放,但作用机理不详^[17];4-氨基吡啶通过阻滞钾离子通道,延长去极化,从而增加ACh的释放。但它们的实际药效并不理想。(3)乙酰胆碱酯酶抑制剂(AChEI)药物。这是目前最主要的AD治疗药物之一,该类药物

通过抑制乙酰胆碱酯酶对ACh在突触间隙的分解，从而提高ACh水平，改善AD症状。目前获得美国FDA 批准用于治疗AD 的5个药物其中4个是AChEI，包括：他克林(tacrine)、多奈哌齐(donepezil, 商品名：安理申)、利斯的明(rivastigmine, 商品名：艾斯能)、加兰他敏(galantamine)^[21]。在多奈哌齐结构基础上又研发出T282、TAK2147，已在日本进入临床研究。特别需要指出的是我国研究人员从石杉科植物千层塔中分离得到的一种新生物碱石杉碱甲，它是一种可逆的选择性AChEI，其作用强度仅次于多奈哌齐，副作用小，可以增强病人的记忆力，但有低血压以及严重心动过缓者不宜使用。(2)胆碱能受体激活剂药物。其优点是能够直接激活突触后的靶受体，包括毒蕈碱型乙酰胆碱受体(muscarinic acetylcholine receptors)以及烟碱型乙酰胆碱受体(nicotinic acetylcholine receptors)。研究最多的此类药物当属M1毒蕈碱型乙酰胆碱受体激活剂药物。AD病人大脑胆碱能神经末梢的突触后毒蕈碱型乙酰胆碱受体未受到损伤，这为毒蕈碱型乙酰胆碱受体激活剂及AChE抑制剂提供了治疗AD的理论基础。随着AChE抑制剂他克林对AD治疗的突出作用，毒蕈碱型乙酰胆碱受体激活剂，尤其是M1受体激活剂药物的研究进展较快。M1受体激活剂可直接作用于突触后膜上的M1受体，加强中枢拟胆碱功能，参与学习、记忆和认知等过程，对神经元还具有营养和保护作用。目前约有9个M1受体激活剂作为治疗AD的药物处于不同期的临床研究阶段。例如，噻唑类衍生物xanomeline，它能透过血脑屏障，是一个较强的M1受体激活剂，II期临床研究表明，它对中轻度的AD病人具有明显的痴呆症状改善作用^[22]。其它研究中的M1受体激活剂包括槟榔碱衍生物米拉美林(milameline)和易达美林(itameline)，西维美林(cevimeline)，沙考美朴(sabcomline)，槟榔碱(arecoline)，匹罗卡平衍生物thiopilocarpine，米那普林(minaprine)类似物SR-46559A，他沙利定(talsclidine)，NGX267等^{[23][24]}。

1.3.2 美金刚(memantine)

美金刚是经过FDA 批准的，在阿尔茨海默氏症和血管性痴呆方面有显著疗效的药物。在生理状态下，谷氨酸是一种在神经细胞间信息传递的重要神经递质，但在病理条件下，谷氨酸作用于谷氨酸受体，导致细胞膜对Ca²⁺通透性增高并能激发氧自由基生成，产生兴奋性毒性，引起神经细胞急性或慢性死亡，这是神经系统缺血、外伤以及其他原因引起的神经退行性病变的主要原因^[25]。

当谷氨酸以病理量释放时，美金刚通过拮抗N-甲基-D-门冬氨酸盐（NMDA）受体，阻止过多谷氨酸盐的释放，缓解谷氨酸的神经毒性；当谷氨酸释放过少时，美金刚胺可以改善记忆过程所需谷氨酸的传递。临床研究表明，美金刚胺用于中度和重度的老年痴呆症患者具有较好的耐受性，对机体正常生理功能影响很小，在行为测定和精神病理学研究中，也被发现具有较好的疗效^[26]。

1.3.3 抑制A β 形成和沉积的药物

A β 形成过程中的分泌酶是新药开发的重要靶点。目前已筛选获得多种 γ 分泌酶抑制剂，例如 LY 411, 575^[27]以及BMS 289948^[28]，这些药物有一定效果。动物实验提示，针对A β 形成的限速酶BACE1的抑制剂，也是一个AD治疗的重要靶点。但是，分泌酶遍布于体内各组织，作用底物也不限于APP，长期服用分泌酶抑制剂将导致严重的不良反应；而且大多患者确诊为AD时脑内已存在大量的A β ，应用酶抑制剂已无能为力。因此抑制 β 和 γ 分泌酶活性作为靶点将受到很大限制。

抑制A β 沉积形成的方法是用人工合成的A β 多肽疫苗接种，与弗氏佐剂一起免疫人体或动物，使体内产生A β 抗体，透过血脑屏障与脑中A β 结合，募集小胶质细胞和星形胶质细胞对其吞噬，从而避免A β 的沉积和老年斑的生成；也可以直接注入A β 抗体，刺激并募集吞噬细胞来清除抗原抗体复合物，从而达到清除淀粉样斑之目的^[29]。目前，可用于直接注射入人体的A β 抗体已用于I期临床试验。多肽类疫苗AN 1792也进入临床试验，但是因其引起强烈的脑部炎症反应被迫终止，A β 引起的炎症是其难以逾越的障碍^[30]。

1.3.4 抑制tau蛋白过度磷酸化的药物

根据GSK-3 β 活性与tau蛋白的磷酸化水平成正关系的理论，目前这类药物主要是针对GSK-3 β 活性的一类药物。已进入临床前研究阶段的有葛兰素史克公司开发的SB 415286等^[31]。

1.3.5 抗炎症药物

流行病学研究认为AD与炎症反应密切相关：在老年斑的周围有大量活化的胶质细胞和大量的炎症因子分泌，神经元纤维缠结也能够刺激机体产生炎症因子，包括白细胞介素IL-1A、IL-1B、 α 2巨球蛋白(A2M)、肿瘤坏死因子(TNF- α)和 α 1抗糜蛋白酶(ACT)等，它们往往是由小胶质细胞和星形细胞产生的，在AD

患者脑组织局部分泌明显增多^[32]，这些炎症反应产物不仅具有神经毒性，又会加剧A β 沉积，引发神经细胞病变，表现出AD症状。

研究显示，由于阿司匹林具有增强脑内血流量，防止血液凝固的作用，小剂量服用阿司匹林可以对AD起到缓解作用，如若经常服用阿司匹林或消炎镇痛药可以明显降AD 认知障碍的危险性，这提示着抗炎药物具有治疗AD的潜在应用价值。最初引起关注的抗炎症药物是传统的非甾体抗炎药(NSAIDs)。例如，特异性的II型环氧脂酶(COX II)抑制剂rofecoxib 和celecoxib 对延缓AD 发展和改善症状无明显疗效；而长期服用NSAIDs对AD发病能起到控制作用^[30]，目前此药物已用于AD的临床研究，其他非甾体抗炎药还包括布洛芬、耐普生等。

1.3.6 抗氧化药物

AD患者脑细胞死亡过程和自由基密切相关，因为自由基可以诱发A β 沉积，并与细胞膜反应，导致细胞氧化性损伤。AD病人脑中内源性物质缺失，耗氧量高，因此中枢神经系统极易发生自由基损伤。抗氧化剂能消除或者阻止活性氧和自由基的形成，保护神经细胞。目前这类药物主要有维生素E、维生素C和褪黑素等^[33]。维生素E能减少脂质过氧化。维生素C具有清除自由基、抗氧化，稳定细胞膜的作用。褪黑素作为还原性抗氧化物，可以减少一些老年性相关疾病的发生^[34]，长期应用褪黑激素可改善转基因小鼠行为障碍，显著抑制A β 的沉积和胶质细胞的异常活化^[35]。值得注意的是，国内的热点抗氧化剂药物银杏叶提取物EGB，它能够直接或间接减少氧自由基的形成，抑制氧自由基所致的神经细胞损伤、衰老、死亡，是颇具研究前景的抗AD天然药物^[33]。

1.3.7 钙离子拮抗剂

正常情况下，膜上离子泵具有将钙离子泵出胞外，维持稳定的胞内钙浓度的作用。钙离子自体平衡失调假说认为，AD患者这一功能受损，细胞内钙离子超载，造成神经细胞的损伤或凋亡。另外，Ach等神经递质的释放也和钙、钾离子通道有直接关系。钙离子拮抗剂可选择性地作用于脑血管，改善脑部血液循环，减轻血管张力，防止血管痉挛，增加脑氧供,调控Ach的释放，从而保护神经元，对AD病情具有缓解作用。近年来，钙离子拮抗剂已经被应用于AD 的治疗^[36]，比如钙离子拮抗剂药物尼莫地平、氟桂利嗪、维拉帕米、奈非西坦等^[33] ^[37]。奈非西坦能够激活电压门钙离子通道，促进Ach的释放^[37]，临床研究表明，该药物

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 for delivery details.

厦门大学博硕士论文摘要库