

- independent predictor of poor outcome and future vascular events after acute stroke. *Stroke*, 2003, 34(8): 1951-1956.
- [24] Kim SY, Guevara JP, Kim KM, et al. Hyperuricemia and risk of stroke: a Systematic review and meta-analysis. *Arthritis Rheum*, 2009, 61(7): 885-892.
- [25] Brouns R, Wauters A, Van De Vijver G, et al. Decrease in uric acid in acute ischemic stroke correlates with stroke severity, evolution and outcome. *Clin Chem Lab Med*, 2010, 48(3): 383-390.
- [26] Chiquete E, Ruiz-Sandoval JL, Murillo-Bonilla LM, et al. Serum uric acid and outcome after acute ischemic stroke: PREMIER study. *Cerebrovasc Dis*, 2013, 35(2): 168-174.
- [27] Seet RC, Kasiman K, Gruber J, et al. Is uric acid protective or deleterious in acute ischemic stroke? A prospective cohort study. *Atherosclerosis*, 2010, 209(1): 215-219.
- [28] Romanos E, Planas AM, Amaro S, et al. Uric acid reduces brain damage and improves the benefits of rt-PA in a rat model of thromboembolic stroke. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2007, 27(1): 14-20.
- [29] Amaro S, Urra X, Gomez-Choco M, et al. Uric acid levels are relevant in patients with stroke treated with thrombolysis. *Stroke*, 2011, 42(1 Suppl): S28-S32.
- [30] Hong JM, Bang OY, Chung CS, et al. Influence of recanalization on uric acid patterns in acute ischemic stroke. *Cerebrovasc Dis*, 2010, 29(5): 431-439.
- [31] Lee SH, Heo SH, Kim JH, et al. Effects of uric acid levels on outcome in severe ischemic stroke patients treated with intravenous recombinant tissue plasminogen activator. *Eur Neurol*, 2014, 71(3-4): 132-139.
- [32] Chamorro A, Amaro S, Castellanos M, et al. Safety and efficacy of uric acid in patients with acute stroke (URICO-IC-TUS): a randomised, double-blind phase 2b/3 trial. *Lancet Neurol*, 2014, 13(5): 453-460.

阿尔茨海默病与氧化应激

宋玉菲 综述 付剑亮 审校

上海交通大学附属第六人民医院神经内科,上海市 200233

摘要: 关于阿尔茨海默病(AD)的病因和病理生理机制有多种假说,其中氧化应激假说认为AD的标志性病变 β -淀粉样蛋白(A β)和磷酸化Tau等,能刺激活性氧簇(ROS)的生成,引起氧化应激,损伤神经元,引起认知功能障碍。氧化应激状态的持续激活进一步促进A β 和磷酸化Tau的聚集和沉积、线粒体损伤,导致AD的发生并加速其病理进程。

关键词: 阿尔茨海默病; 氧化应激; 活性氧簇; β -淀粉样蛋白

阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)是造成痴呆的最常见原因,困扰世界约3500万人口^[1]。AD是以进行性记忆减退为临床特点,病理特征为细胞外 β -淀粉样蛋白(amyloid β -protein, A β)沉积形成神经元斑块(neuritic plaques, NP)和高度磷酸化的Tau蛋白形成神经元纤维缠结(neurofibrillary tangles, NFT)。AD的病因和病理生理机制十分复杂,受基因调控和多种环境因素影响。关于AD发病机制有多种假说,包括胆碱能假说、淀粉样蛋白级联反应假说、氧化应激假说等等,因AD患者脑内过氧化状态的存在^[2],氧化应激假说越来越

引起人们的关注。本文对氧化应激参与AD发病的机制进行综述。

1 氧化应激的概念

氧化应激是指活性氧簇(reactive oxygen species, ROS)的生成和清除失衡,过多ROS,如过氧化氢、一氧化氮、过氧自由基、高活性羟自由基等在体内聚集,造成组织损伤。生理条件下的活性氧物质能够刺激细胞生长,并有抗氧化酶等抗氧化系统与其抗衡,如超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)、过氧化氢酶(CAT)等。但是当氧化还原的平衡状态被破坏,自由基等大量聚

收稿日期:2015-03-18;修回日期:2015-06-09

作者简介:宋玉菲(1990-),女,硕士研究生,研究方向:老年性痴呆和脑血管病的临床及基础研究。

通讯作者:付剑亮(1970-),男,博士,主任医师,硕士研究生导师,主要从事老年性痴呆和脑血管病的研究。E-mail: fujianliang@163.com。

集,引起人体脂质过氧化以及蛋白质等变性,造成各种不良后果。大脑的独特生理功能使其对氧化应激的损伤尤其敏感,ROS对大脑的损伤,常用脂质、蛋白及核糖核酸的变化来衡量^[3]。ROS对于脂质和蛋白质的攻击,导致细胞膜的流动性和通透性发生改变,最终导致细胞结构和功能的改变。

2 氧化应激与AD病理改变的关系

2.1 A β 与氧化应激

根据“A β 沉积假说”,A β 多肽在病人脑内沉积是导致AD病理发生的关键事件。A β 是由39~43个氨基酸组成,相对分子量约为4000,具有 β 折叠构型的多肽。是由淀粉样前体蛋白(amyloid precursor protein, APP)经 β -分泌酶、 γ -分泌酶水解生成。生理状态下,A β 呈现非聚合形式,而在病理条件下,易聚集并产生神经毒作用。体外研究发现,将A β 与培养的细胞一起孵育,会诱导产生以氧化应激为特征的神经毒性作用,导致细胞凋亡、细胞膜损伤、胞浆蛋白以及线粒体DNA等受损^[4]。A β 多肽可诱导不同氧化物质的生成,并加速突触和线粒体的功能障碍和细胞凋亡。在A β 家族中,蛋氨酸35被认为在促进氧化应激过程中有重要作用,当此氨基酸被其他的氨基酸代替,A β 的促氧化能力将大大降低^[5]。有研究认为淀粉样蛋白寡聚物可自身插入脂质双分子层,使脂质过氧化,最终对蛋白质和其他生物分子造成氧化性损伤^[4]。膜脂质双分子层的改变引起大量钙离子内流,破坏了胞内钙离子稳态,引起线粒体功能障碍,最终可致突触丢失,神经元死亡。A β 寡聚物对神经元的损伤作用已被广泛认可^[6],而寡聚物的形成途径多样,可来自细胞外,也可源自细胞内的细胞器,如内质网和线粒体等。

A β 在脑内沉积可以导致氧化应激,而氧化应激也可促进A β 在脑中的积累,加速AD的发病。氧化应激时A β 可被糖基化,使得A β 更易聚集,且对于蛋白酶的水解和巨噬细胞吞噬作用的抵抗也有所增强,加速老年斑的形成。Porcellotti等^[7]以进展性A β 生成为特点的Tg2576小鼠作为AD研究模型,发现小鼠自3月龄开始,神经元中就可发现抗氧化系统的失衡以及由氧化应激引起的核苷酸损伤,至9月龄后,神经元抗氧化功能不可逆丧失,说明过氧化状态在疾病的早期就已经被激活,因而抗氧化也已成为治疗AD的新靶点。Sachdeva等^[8]发现番茄红素作为一种抗氧化剂,能够显著改善脑室内注射A β 1-42大鼠的认知能力。而Gior-

dano等^[9]的研究中也指出抗氧化剂CAT-SKL,能够逆转原代神经元中A β 导致的氧化应激,增加细胞的生存率。

2.2 Tau与氧化应激

Tau是主要的微管相关蛋白,能促进微管的组装和稳定,是神经元轴突运输所必不可少的蛋白质。尽管Tau具有可溶性和高度热稳定性,多维磁共振(nuclear magnetic resonance, NMR)波谱研究指出,存在于第三和第四个重复区域的 β 折叠结构中的8~10个残基有聚集的倾向^[10],在AD中,Tau蛋白经过聚集形成双螺旋纤维并最终发展成为NFT。一些研究发现Tau的初期纤维化过程可能主要与神经元中发生的氧化应激等神经毒性有关^[11,12]。而Tau自身可诱导线粒体功能受损,致使能量代谢异常,使活性氧簇大量生成和聚集,干扰生物膜完整性并引起突触功能障碍^[13]。尽管引起Tau聚集的机制还未明确,但体内和体外试验均表明,这种现象的产生可来自于蛋白翻译后的修饰,如过氧化、磷酸化、硝酸化、泛素化和糖基化^[14]等。在Tau聚集过程中的一些金属离子辅助因子,如Fe³⁺、Al³⁺等具有氧化还原作用,能够催化自由基的产生,潜在性损伤神经元并造成AD的病理结果^[15]。反过来,慢性氧化应激和随之产生的过氧化物如4-羟基壬烯酸(4-HNE),也会造成Tau蛋白的过度磷酸化而致构象改变,致Tau的聚集,最终引起神经元纤维缠结(NFT)^[16]。总之,氧化应激通过诱导构象改变和翻译后修饰促进Tau聚集,而Tau的聚集又可进一步促进氧化应激过程。Spilisbury等^[17]体外实验表明,缺乏端粒酶逆转录酶蛋白TERT(telomerase reverse transcriptase protein)神经元,在引起线粒体功能障碍的基础上,磷酸化Tau蛋白会增加,增多的Tau会进一步引起ROS增多和氧化应激损伤。

3 线粒体与氧化应激

在真核细胞中,线粒体是提供有氧代谢所需能量的必不可少的细胞器。在脑组织中,线粒体含量丰富,与活跃的高级中枢神经活动相适应,是神经递质释放和重摄取的能量来源。神经组织中,线粒体在保障突触神经递质传递中的作用如此关键,因此线粒体的功能异常,被认为是减弱突触和神经可塑性的关键因素,也是导致AD病变的重要原因^[18]。

3.1 线粒体的功能障碍与氧化应激

线粒体的功能障碍是许多神经系统变性疾病

的特征性改变,甚至早于其他已知的典型疾病表现。线粒体的功能缺陷主要通过两方面损伤细胞:一是通过显著增加一系列活性氧簇 ROS 的生成和释放,而这些 ROS 反过来引起细胞损伤^[19]。二是因氧化磷酸化过程的受损而致能量耗竭。近来研究表明, A β 对于线粒体结构和功能的影响可能是神经元死亡和突触丢失的原因。在过表达人类 APP 即 hAPP 的小鼠模型中,线粒体内 A β 积聚,影响线粒体功能的可能原因如下^[20]。

3.1.1 A β 诱导的电子传递链功能障碍 A β 损伤线粒体的一种方法是通过降低电子传递链中的酶的活性。Du 等^[20]发现,在 hAPP 小鼠中,线粒体中复合体 IV (细胞色素 C 氧化酶) 的活性下降,氧化应激强度(以 4-羟基壬烯酸(4-HNE)和过氧化氢等水平反应)相较于野生型小鼠(WT)增加。多个试验已经证实复合体 IV 功能障碍可增加 ROS 的生成增加。近年来研究发现 A β 可直接结合细胞色素 C 氧化酶的亚基-I,二者的相互作用解释了复合体 IV 活性降低的原因,以及因此造成的疾病中的代谢改变。免疫共沉淀实验验证了 A β 与此亚基的相互作用。Bobba 等^[21]也指出,在原生大鼠脑皮质的培养细胞中,用 A β 处理可引起复合体 I (NADH-CoQ 氧化还原酶)和复合体 IV 的功能缺陷。在正常生理条件下,复合体 I 是线粒体中产生 ROS 的主要位点,其功能的改变会造成 ROS 生成增多。与对照组相比,用 A β 处理的神经培养细胞,ROS 和脂质过氧化物含量均增加。在转基因 AD 小鼠中观察到,电子传递链功能障碍引起的能量变化,进一步造成突触损伤,可能通过两种方式:一是因 ATP 供应不足,可干扰神经递质的传递^[22]。二是 ATP 缺乏,使 ATP 依赖酶功能受限,如 Na⁺-K⁺ ATP 酶、Ca⁺ ATP 酶等,最终使细胞内外 Na⁺、Ca⁺ 稳态失衡,而 Na⁺、Ca⁺ 浓度对维持突触膜电位至关重要^[23]。

3.1.2 线粒体通透性转换孔的开放 在 A β 作用下,升高的 ROS 可进一步通过刺激线粒体通透性转换孔 (mitochondrial permeability transition pore, MPTP) 的开放来损伤线粒体。MPTP 是一种蛋白复合物,形成进出线粒体膜的非选择性通道。正常情况下,MPTP 通透性低,但在一些病理情况下,其通透性会大大增加,导致 Ca²⁺ 超载和氧化应激^[24]。A β 可通过降低 Ca²⁺ ATP 酶的活性,增加胞内 Ca²⁺ 浓度而刺激 MPTP 的开放。在 hAPP 小鼠模型中已

证实 MPTP 的一些组成部分的蛋白高表达,如亲环素 D、电压依赖性阴离子通道等。这证明 APP 的过表达,使淀粉样蛋白过多沉积,会导致 MPTP 的通透性增加,并可因此干扰氧化磷酸化过程,ATP 生成减少,最终导致突触数目减少和神经元死亡等一系列相关后果^[20]。

3.2 线粒体自噬与氧化应激

线粒体自噬 (mitophagy) 是指细胞通过自噬的机制选择性地清除损伤或功能障碍的线粒体的过程。损伤的线粒体堆积可使 ROS 水平增加,并引起细胞凋亡,有效清除功能不全的线粒体对线粒体整体功能完整性和细胞生存来说都起着非常关键的作用。线粒体膜电位去极化是线粒体自噬的触发条件,通过 Pink1-Parkin 途径,与线粒体相关蛋白 FUNDC1、Nix、Fis1 等多处作用,使线粒体选择性的被清除。另外线粒体的动态变化即融合与分裂产生的子代中去极化的线粒体也是诱发线粒体自噬的关键因素^[25]。线粒体自噬功能的调节失常会导致神经元的损伤,引起神经退行性病变,如帕金森^[26]、AD 等。Ye 等^[27]研究发现在 hApp 转基因小鼠和 AD 病人脑神经元均发现线粒体自噬水平的增加,且主要是通过 Parkin 通路所引起。然而增加的线粒体自噬并没能有效的清除线粒体,主要原因是由于在 AD 病变中,自噬溶酶体不能被有效的被降解,自噬通路的最后环节发生了障碍,线粒体最终还是堆积在神经元内,并进一步引起神经元的损伤^[28]。

4 结语

氧化应激与 A β 沉积、Tau 磷酸化、线粒体损伤等相互作用,互为因果,加重对神经元的损伤,并最终引起认知功能障碍,导致 AD 的发生。

参 考 文 献

- [1] Querfurth HW, LaFerla FM. Alzheimer's disease. *N Engl J Med*, 2010, 362(4): 329-344.
- [2] Moreira PI, Nunomura A, Nakamura M, et al. Nucleic acid oxidation in Alzheimer disease. *Free Radic Biol Med*, 2008, 44(8): 1493-1505.
- [3] Schrag M, Mueller C, Zabel M, et al. Oxidative stress in blood in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment: a meta-analysis. *Neurobiol Dis*, 2013, 59: 100-110.
- [4] Lee C, Park GH, Lee SR, et al. Attenuation of α -amyloid-induced oxidative cell death by sulforaphane via activation of NF-E2-related factor 2. *Oxid Med Cell Longev*, 2013, 2013: 313510.
- [5] Hou L, Lee H, Han F, et al. Modification of Amyloid- β

- 1-42 Fibril Structure by Methionine-35 Oxidation. *J Alzheimers Dis*, 2013, 37(1): 9-18.
- [6] Tu S, Okamoto S, Lipton SA, et al. Oligomeric A β -induced synaptic dysfunction in Alzheimer's disease. *Mol Neurodegener*, 2014, 9(1): 48.
- [7] Porcellotti S, Fanelli F, Fracassi A, et al. Oxidative Stress during the Progression of β -Amyloid Pathology in the Neocortex of the Tg2576 Mouse Model of Alzheimer's Disease. *Oxid Med Cell Longev*, 2015, 2015: 967203.
- [8] Sachdeva AK, Chopra K. Lycopene abrogates A β (1-42)-mediated neuroinflammatory cascade in an experimental model of Alzheimer's disease. *J Nutr Biochem*, 2015, 26(7): 736-744.
- [9] Giordano CR, Terlecky LJ, Bollig-Fischer A, et al. Amyloid-beta neuroprotection mediated by a targeted antioxidant. *Sci Rep*, 2014, 4: 4983.
- [10] Mukrasch MD, Biernat J, von Bergen M, et al. Sites of tau important for aggregation populate β -structure and bind to microtubules and polyanions. *J Biol Chem*, 2005, 280(26): 24978-24986.
- [11] Lasagna-Reeves CA, Castillo-Carranza DL, Sengupta U, et al. Identification of oligomers at early stages of tau aggregation in Alzheimer's disease. *FASEB J*, 2012, 26(5): 1946-1959.
- [12] Patterson KR, Remmers C, Fu Y, et al. Characterization of prefibrillar Tau oligomers in vitro and in Alzheimer disease. *J Biol Chem*, 2011, 286(26): 23063-23076.
- [13] Lasagna-Reeves CA, Castillo-Carranza DL, Sengupta U, et al. Tau oligomers impair memory and induce synaptic and mitochondrial dysfunction in wild-type mice. *Mol Neurodegener*, 2011, 6(39): 1-14.
- [14] An FM, Chen S, Xu Z, et al. Glucagon-like peptide-1 regulates mitochondrial biogenesis and tau phosphorylation against advanced glycation end product-induced neuronal insult: studies in vivo and in vitro. *Neuroscience*, 2015, 300: 75-84.
- [15] Wan L, Nie G, Zhang J, et al. β -Amyloid peptide increases levels of iron content and oxidative stress in human cell and *Caenorhabditis elegans* models of Alzheimer disease. *Free Radic Biol Med*, 2011, 50(1): 122-129.
- [16] Su B, Wang X, Lee HG, et al. Chronic oxidative stress causes increased tau phosphorylation in M17 neuroblastoma cells. *Neurosci Lett*, 2010, 468(3): 267-271.
- [17] Spilisbury A, Miwa S, Attems J, et al. The role of telomerase protein TERT in Alzheimer's Disease and in Tau-related pathology in vitro. *J Neurosci*, 2015, 35(4): 1659-1674.
- [18] 李玉梅. 阿尔茨海默病的线粒体功能紊乱机制. *国际神经病学神经外科学杂志*, 2013, 14(1): 70-74.
- [19] Wang X, Wang W, Li L, et al. Oxidative stress and mitochondrial dysfunction in Alzheimer's disease. *Biochim Biophys Acta*, 2014, 1842(8): 1240-1247.
- [20] Du H, Guo L, Yan S, et al. Early deficits in synaptic mitochondria in an Alzheimer's disease mouse model. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010, 107(43): 18670-18675.
- [21] Bobba A, Amadoro G, Valenti D, et al. Mitochondrial respiratory chain Complexes I and IV are impaired by β -amyloid via direct interaction and through Complex I-dependent ROS production, respectively. *Mitochondrion*, 2013, 13(4): 298-311.
- [22] Calkins MJ, Manczak M, Mao P, et al. Impaired mitochondrial biogenesis, defective axonal transport of mitochondria, abnormal mitochondrial dynamics and synaptic degeneration in a mouse model of Alzheimer's disease. *Hum Mol Genet*, 2011, 20(23): 4515-4529.
- [23] Tretter L, Sipos I, Adam-Vizi V. Initiation of neuronal damage by complex I deficiency and oxidative stress in Parkinson's disease. *Neurochem Res*, 2004, 29(3): 569-577.
- [24] Singh BK, Tripathi M, Pandey PK, et al. Alteration in mitochondrial thiol enhances calcium ion dependent membrane permeability transition and dysfunction in vitro: a cross-talk between mtThiol, Ca²⁺, and ROS. *Mol Cell Biochem*, 2011, 357(1-2): 373-385.
- [25] Burté F, Carelli V, Chinnery PF, et al. Disturbed mitochondrial dynamics and neurodegenerative disorders. *Nat Rev Neurol*, 2015, 11(1): 11-24.
- [26] 马耀华, 王雪晶, 荆婧, 等. 1-甲基-4-苯基吡啶离子调控线粒体自噬对线粒体氧化应激损伤的影响. *国际神经病学神经外科学杂志*, 2012, 39(6): 489-493.
- [27] Ye X, Sun X, Starovoytov V, et al. Parkin-mediated mitophagy in mutant hAPP neurons and Alzheimer's disease patient brains. *Hum Mol Genet*, 2015, 24(10): 2938-2951.
- [28] Ding WX, Yin XM. Mitophagy: mechanisms, pathophysiological roles, and analysis. *Biol Chem*, 2012, 393(7): 547-564.