

DOI:10.16781/j.0258-879x.2016.10.1261

• 综述 •

## 血管及遗传因素对阿尔茨海默病发生、发展的影响

车皓月<sup>1</sup>, 王 闰<sup>2</sup>, 单 磊<sup>3</sup>, 潘勇华<sup>1</sup>, 高 申<sup>1</sup>, 王忠壮<sup>1</sup>, 傅 芃<sup>1\*</sup>

1. 第二军医大学长海医院药学部, 上海 200433

2. 解放军 85 医院药材科, 上海 200050

3. 第二军医大学药学院药学队, 上海 200433

**[摘要]** 阿尔茨海默病(Alzheimer disease, AD)是一种中枢神经退行性疾病,病因复杂。近年来研究发现,血管病变对AD有较大影响,血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)表达异常在患者病程中承担重要角色;同时AD患者脑内部分miRNA表达水平有明显变化。本文综述了血管病变及遗传因素对AD发生、发展的影响,并对可能的发病机制、相关治疗靶点及策略进行讨论与展望。

**[关键词]** 阿尔茨海默病;神经退行性疾病;血管内皮生长因子类;微RNAs

**[中图分类号]** R 749.16 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2016)10-1261-09

### Role of vascular and genetic factors in Alzheimer disease

CHE Hao-yue<sup>1</sup>, WANG Run<sup>2</sup>, SHAN Lei<sup>3</sup>, PAN Yong-hua<sup>1</sup>, GAO Shen<sup>1</sup>, WANG Zhong-zhuang<sup>1</sup>, FU Peng<sup>1\*</sup>

1. Department of Pharmacy, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

2. Department of Medicine, No. 85 Hospital of PLA, Shanghai 200050, China

3. The Pharmacy Student Team, School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

**[Abstract]** Alzheimer disease (AD) is a neurodegenerative disease of the central nervous system, with complicated etiologies. Recent studies have found that vascular disease has a great impact on AD, and abnormal vascular endothelial growth factor (VEGF) expression is thought to play an important role in the course of AD. MicroRNAs expression has greatly changed in the brain of AD patients. This paper reviewed the latest advance in the effects of vascular and genetic factors on the occurrence and progression of AD, with discussion also on the probable pathogenesis, therapeutic targets and strategies of AD.

**[Key words]** Alzheimer disease; neurodegenerative diseases; vascular endothelial growth factors; microRNAs

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2016, 37(10): 1261-1269]

阿尔茨海默病(Alzheimer disease, AD)是一种中枢神经退行性疾病,通常发生于老年或老年前期,起病隐匿,进展缓慢,以记忆力减退为首发症状,逐渐累及其他认知领域,并影响日常生活和工作能力。老年斑(senile plaque, SP)和神经元纤维缠结(neurofibrillary tangle, NFT)为其主要的两大病理特征,AD患者的脑内大体可见到额、颞和顶叶的萎缩,而颞叶内侧海马旁回的萎缩最为显著<sup>[1]</sup>。该病的发病率随年龄增长而逐渐上升,且基因突变等遗传因素以及脑外伤、感染、吸烟、心理状态变化等外界因素都会增加AD的患病风险。目前针对该病的

发病机制有多种学说,包括淀粉样变级联假说、tau蛋白过度磷酸化学说、神经递质功能障碍、自由基损伤学说、炎症反应等,其中血管和遗传因素在AD发病过程中发挥重要作用,但其具体作用机制并不明确,这已成为当前的研究热点。本文将结合最新文献分别阐述血管病变及遗传因素对于AD和神经退化的影响,并对可能的作用机制进行探讨。

血液是人体重要的营养供源,支持着一切生命活动,如离开血管氧供,任何生命系统都会枯竭,也正是因为这个原因,才有了肿瘤治疗中的“饥饿疗法”,神经系统也不例外<sup>[2]</sup>。血管内皮生长因子

**[收稿日期]** 2016-01-22 **[接受日期]** 2016-03-15

**[基金项目]** 国家自然科学基金(81402819, 81373327),上海市自然科学基金(13ZR1408500),总后勤部卫生部基金面上项目(14ZJ202-3). Supported by National Natural Science Foundation of China (81402819, 81373327), Natural Science Foundation of Shanghai (13ZR1408500), and Project of PLA General Logistics Department (14ZJ202-3).

**[作者简介]** 车皓月,第二军医大学药学专业2012级本科学员. E-mail: mydreamishappy@yeah.net

\*通信作者(Corresponding author). Tel: 021-31162309, E-mail: fucaofan@hotmail.com

(vascular endothelial growth factor, VEGF)是一种高度特异性的生长因子,调控血管的发生与发展,然而随着研究的深入,发现其作用并不仅仅局限于血管的构建,还可能在机体的生理和病理活动中发挥重要作用<sup>[3]</sup>。

## 1 VEGF 在 AD 生理和病理过程中的作用

血管内皮细胞位于循环血液与血管壁内皮下组织之间,是机体代谢和内分泌器官重要的组成部分之一,其生理功能决定了血管内皮细胞参与人体多项生命活动的进行,一旦损伤或者异常,将会造成细胞因子失衡、血管活性物质生成改变、血管张力改变和大量炎性介质释放,从而引发动脉粥样硬化、血栓形成、氧化损伤、炎症反应等许多病理过程。血管新生在人体生长发育和伤口愈合中很常见,而 VEGF 是促进血管新生的主要因子,也是作用最强和特异性最高的血管新生调控因子。VEGF 通过结合血管内皮细胞的血管内皮细胞生长因子受体 1 (vascular endothelial growth factor receptor 1, VEGFR1/Flt-1) 和 VEGFR2 (KDR/Flk-1)、淋巴内皮细胞表面的 VEGFR3 (Flt-4) 以及最新发现的神经菌毛素受体 (neuropilin) 发挥生理功能,作用于血管内皮细胞时,可强烈促进其分裂、增殖、游走、迁移,从而促进血管形成,改善血管通透性<sup>[2]</sup>。VEGF 也可直接作用于其他系统发挥调节作用,例如在神经系统中,VEGF 可通过受体作用促进神经元的再生,对中枢神经的神经元和神经胶质细胞发挥直接的营养和保护作用,并且在神经元的迁移过程中发挥着关键性作用,可通过 Flk-1 信号途径对神经元发挥化学牵引作用从而引导小脑颗粒细胞迁移<sup>[3-4]</sup>。VEGF 的表达受到生理病理条件下诸多因素的制约,例如缺氧条件下 VEGF 表达会明显增加、许多癌基因能够影响 VEGF、细胞因子和炎性因子均可促进或者抑制 VEGF 的表达等。下面将分别通过血液系统与神经系统相关度、血管病变与 AD 相关度以及 VEGF 表达与 AD 相关度 3 个不同方面简述 VEGF、血管与 AD 等神经退行性病变之间的关联。

### 1.1 神经与血管的相互作用

神经和血管的分布极为相似<sup>[5]</sup>,它们都具有传入和传出通路。血管有丝状伪足,引导内皮细胞走向;神经有轴突生长锥,引导轴突生长。神经对血管的发育起到了调配作

用,通过旁分泌支配血管分支和动脉分化,对血管壁和血流有调节作用;而血管则通过以 VEGF 为代表的生长因子给神经提供营养并且维持神经存在的微环境。一旦血管发生病变,神经也会因为环境改变而发生相应变化。美国国立神经病学与卒中研究所 (National Institutes of Neurological Disorders and Stroke, NINDS) 率先提出了神经血管单元 (neurovascular unit, NVU) 的概念,由神经元-胶质细胞-血管构成,将血管和神经的相互作用看作一个整体,更加便于研究神经系统疾病的发病机制<sup>[6]</sup>。

### 1.2 AD 与血管性病变

AD 患者的局部脑血流量和脑反应性明显变化,大部分 AD 患者存在不同程度或不同区域的脑血流量变化,早期 AD 患者存在显著的脑血管反应性 (cerebrovascular reactivity, CVR) 降低<sup>[7]</sup>。同时,有 40%~50% 的 AD 患者易发生脑卒中,目前针对 AD 的治疗措施中有相当一部分与改善脑血流状态有关,说明脑部血管病变在 AD 发病中发挥重要作用<sup>[8]</sup>。在许多中枢神经退行性病变的临床病例中,症状尚未出现时,低 VEGF 引起的中枢神经组织灌注降低就已经出现,提示脑部组织低灌注很可能参与了退行性病变的发生和发展<sup>[3]</sup>。Del Bo 等<sup>[9]</sup> 为了研究 VEGF 可变性与 AD 风险的相关性,针对已发表的相关研究进行荟萃分析,结果显示在意大利人群中,VEGF 基因启动子多态性变异增加了 AD 的患病风险。正常情况下,VEGF 在中枢神经系统 (central nervous system, CNS) 的表达并不高,其主要在神经外胚层的脑室周边区表达,并且由内向外表达程度递减,呈梯度改变。但一旦发生应激损伤,神经元和胶质细胞可能会代偿性大量分泌 VEGF,不但可以调节脑血管状态,而且可以保护受损神经细胞并促进其再生。而 AD 患者血清中 VEGF 含量明显低于正常人群,并与 AD 病程进展呈负相关;已有实验证实 AD 患者的免疫细胞释放的 VEGF 含量较正常情况偏低,并且这种免疫细胞的低 VEGF 释放量会对大脑血管、神经保护以及脑微血管通透性产生负面影响<sup>[10]</sup>。同时,在 AD 病理机制中,VEGF 会与脑内  $\beta$  淀粉样蛋白 ( $\beta$ -amyloid protein, A $\beta$ ) 相互聚集,沉积在淀粉样蛋白斑处缓慢释放,造成病理状态下无法产生足够 VEGF 应对血管和神经病变<sup>[1]</sup>,提示 VEGF 与 AD 等神经退行性病变密切相关。

1.3 VEGF 参与 AD 发病过程 有关 VEGF 参与 AD 病理过程的作用机制尚不明确,但是其参与神经变性的相关发现充分证明了 VEGF 作为 AD 潜在治疗手段的意义<sup>[11]</sup>。鉴于 VEGF 对于神经系统的作用及血管因素对神经退行性病变的影响,可以认为 VEGF 可能对 AD 治疗具有干预作用。

1.3.1 促进血管生长 AD 的主要症状就是大脑皮质弥漫性萎缩、海马组织损伤和学习记忆能力下降;而 VEGF 最重要的生理功能就是通过与 Flk-1、Flt-1 和 NRP1 受体结合促进来源于动脉、静脉、淋巴管的内皮细胞增殖、迁移和发育,同时 VEGF 可通过将新生血管内巨噬细胞运输到受损部位,刺激神经内血管滋养动脉的形成<sup>[12]</sup>,改善缺血组织的血液供应,为损伤神经的恢复提供氧和营养物质,保持神经微环境稳定,从而减轻海马组织的损伤。在缺血性脑损伤病例中发现,外源性的 VEGF 可促使皮质微血管生成,改善神经功能缺损评分<sup>[13]</sup>,因此,VEGF 表达增加血管新生被认为是大脑在特殊环境诱导的代偿性缺血耐受机制。由此,促进血管新生、增加血氧供应、减轻脑部缺血损伤也可能是 VEGF 对神经退行性病变加以干预的方式。

1.3.2 促神经发生及抗细胞凋亡作用 研究表明,在侧脑室注射血管内皮生长因子受体酪氨酸激酶抑制剂之后,大鼠海马齿状回上由短暂缺血诱导的细胞增殖和分化为成熟神经元的过程将会减弱,这表明在再灌注早期,VEGF 作用于神经而非血管<sup>[14]</sup>。一方面,神经发生(neurogenesis)是包括从神经干细胞增殖并经历均衡和不均衡性分裂成为定向祖细胞,并逐渐向功能区域迁移、不断发生可塑性变化并与其他神经元建立突触联系,从而产生神经功能的完整的过程。生理条件下,脑内的一些区域,例如海马 CA1 区锥体层并不存在神经元新生的现象,但是在某些缺血、损伤、萎缩等病理条件下,非神经元再生区也可以发生再生,而 VEGF 对神经发生具有直接或间接的促进作用,在神经的生长分化中具有重要的调控作用,其可能机制主要为以下两点:(1)刺激神经干细胞(NSCs)围绕分支毛细血管形成血管龕,而 VEGF 在此微环境中刺激内皮细胞释放一些诱导神经元前体细胞分化的因子,间接促进神经增殖、分化;(2)作为一种有丝分裂原,通过 VEGFR2 直接刺激海马等神经发生区的 NSCs 生长、存活和

分化<sup>[15]</sup>。另一方面,在神经凋亡过程中,VEGF 则通过 VEGFR2/Flk-1,激活 PI3K/Akt 信号通路,Akt 可抑制 caspase-9 的活性,从而抑制 caspase-9 依赖的细胞凋亡通路,最终减少退行性病变诱导的神经凋亡。

1.3.3 对神经系统直接营养和保护作用 除了作用于神经前体细胞促使神经发生以外,VEGF 同样具有神经营养和神经保护作用。在大脑皮质和黑质中,VEGF 可明显提高神经元存活率以及神经突分支的形成<sup>[16]</sup>。Manoonkitiwongsa 等<sup>[17]</sup>研究发现,分别以低、中、高 3 个剂量为大脑中动脉闭塞 4 h 的大鼠输注 VEGF,发现低、中剂量没有诱导血管生成,但是损伤区神经元存活数量明显增加;高剂量诱导血管生成,但是没有显示神经保护作用。诸多实验证明,VEGF 是一种独立于血管之外的神经保护因子,直接影响施万细胞、神经祖细胞、星形胶质细胞和小胶质细胞,VEGF 可以提高上述细胞的存活率,并促进神经外胚层前体细胞的迁移和增殖<sup>[18]</sup>。有关 VEGF 的神经保护机制,目前认为可能包括以下三方面:(1)降低氧化应激反应,这与其生理功能息息相关。VEGF 可通过还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADPH)氧化酶依赖机制来诱导锰超氧化物歧化酶(Mn superoxide dismutase, MnSOD),清除活性氧(reactive oxygen species, ROS),减轻氧化损伤;同时,VEGF 在内皮细胞的活动状态与内皮细胞的氧化还原状态相关<sup>[19]</sup>。(2)稳定离子通道。VEGF 可以通过神经元上的膜受体 Flt-1 灵敏地抑制海马神经元上的外向延迟整流钾电流(outward delayed rectifier potassium currents,  $I_k$ ),从而调节离子通道,维持膜电位稳定和细胞存活<sup>[20]</sup>。(3)抑制突触传递。在缺血缺氧条件下,神经元会代偿性兴奋,从而产生兴奋毒作用,使其成为神经元死亡的主要机制。当谷氨酸能传入神经被刺激时,VEGF 的存在能够显著降低海马 CA3 区锥体细胞和齿状回颗粒细胞的反应性<sup>[21]</sup>。VEGF 可能会通过抑制神经元的兴奋性降低神经兴奋毒性来发挥神经保护作用。

因此,血管因素中 VEGF 通过调控血管生理状态以及直接作用于神经来影响神经的退化,可能是 AD 发生与发展的新的重要调控因子。而血管发生、



VEGF 的表达以及神经的退化都是通过遗传因素来控制的,复杂的基因调控系统包括 DNA、RNA 以及 microRNA (miRNA) 的精确表达都保证了人类体内生命活动有条不紊地进行。其中,越来越多的研究发现,miRNA 的表达异常与 AD 有明显关联。

## 2 miRNA 对 AD 的调控作用

miRNA 是一类分布十分广泛的内源性非编码的小分子单链 RNA,长度为 18~25 个核苷酸,由 DNA 转录产生,但并不翻译蛋白质,而是与其他蛋白质编码基因的 mRNA 反向互补,降解靶 mRNA 或抑制蛋白质翻译。miRNA 在多种生物的不同生物系统中都起到了关键性的作用,同时也与许多疾病相关。目前主要有 4 种方法来鉴定 miRNA,分别是直接克隆、基因组生物信息学搜索、miRNA 芯片以及人工构建内含子 miRNA<sup>[22]</sup>。真核生物中 miRNA 的潜在应用有很多,包括基因功能的分析、miRNA 功效评价、基因治疗方案设计以及抗病毒疫苗和功能缺失的转基因动物建立等。随着基因组计划的完成,将来主要的挑战是对基因功能和调控的理解,而阐述 miRNA 介导的基因活性调控是揭示基因调控机制的第一步。目前一些已知的疾病例如癌症、神经系统失调等都涉及到 miRNA 调控机制,在强大数据资源支持下,利用 miRNA 特异性地抑制靶基因可以作为一种简单治疗手段<sup>[23]</sup>。

2.1 miRNA 在神经系统中的表达 miRNA 在神经系统中含量丰富,表达具有高度的保守性、时序性和组织特异性,密切参与了神经系统的发育、分化、成熟以及突触可塑性等过程,是中枢神经系统各方面发展的重要的转录后调节器。miRNA 表达异常对于神经系统疾病具有重大意义。miRNA 主要通过 2 条途径对神经系统进行干预,一方面 miRNA 可以与靶 mRNA 分子互补配对直接降解或抑制 mRNA 翻译,进而对神经系统进行调控;另一方面神经元受到刺激进行应答时,可通过 miRNA 来加速某些蛋白质合成<sup>[24]</sup>。Eda 等<sup>[25]</sup>为了探讨 miRNA 与大脑发育的相关性,采用 DNA 微阵列的方式和反转录定量聚合酶链反应测定正常大鼠脑发育过程中的 miRNA 表达谱,发现在大鼠出生后的第 1 周到第 4 周脑内 miRNA 的表达会发生较大变化,其中 miR-29a、miR-29b、miR34a、miR-124a、miR-127、

miR-129、miR-132 以及 let-7 的水平在脑发育过程中逐渐上升,而 miR-18、miR-19b、miR-20a、miR-106a、miR-130a 以及 miR-130b 的水平却逐渐下降。这种时间特异性说明了 miRNA 的表达对于脑发育的调控作用,同时其在小脑、延髓、下丘脑等不同组织的分布特异性和非对称性也表明 miRNA 在神经特定功能中可能扮演了重要角色。目前 miRNA 参与神经系统发育和损伤修复的调控机制并不完全清楚,但是 miRNA 对于胚胎发育、增殖分化、突触塑性、髓鞘发育以及神经再生都有调控作用。

2.1.1 胚胎发育 在早期和晚期的胚胎神经发育中,大量分子在时间和空间上同步工作以确保生物体的发育完整性,多种信号同步参与到胚胎组织结构中,而在众多分子中,miRNA 在神经系统胚胎发育中必不可少。miRNA 的作用是参与调控 CNS 胚层形成,是外胚层形成的主要抑制子,其调控机制尚不明确,有学者认为是 miRNA 可以调控胚胎分裂球对参与这种胚层形成规范的信号的回应机制<sup>[26]</sup>。Dicer 酶是一种将双链 RNA 切割成 19~21 bp 从而负责转录后水平序列特异性的诱导基因沉默的核糖核酸内切酶,Kanellopoulou 等<sup>[27]</sup>研究发现,Dicer 酶基因敲除后,小鼠的胚胎干细胞即失去分化潜能,说明 miRNA 在胚胎发育中可能与细胞全能性息息相关。Kaspi 等<sup>[28]</sup>报道 miR-290~295 可以选择性地在小鼠胚胎干细胞(mouse embryonic stem cells, mESCs)中高表达调节自我更新,根据 miR-290~295 基因缺失小鼠模型显示,miR-290~295 抑制靶点为 *Pax-6* 以及外胚层发育相关基因,因此 *Pax-6* 基因敲除可部分缓解 miR-290~295 缺失导致的胚胎发育缺陷。let-7 和 miR-18 家族则在规范中胚层的发育中也起到了重要作用<sup>[29]</sup>。

2.1.2 神经干细胞分化 神经发育过程中,神经干细胞作为一类有分裂潜能和自我更新能力的母细胞,可在多种信号综合作用下分化成具有特定功能的神经细胞。作为目前研究最多的两种 miRNA,miR-124 和 miR-9 也在神经分化中起到了重要作用。miR-124 可以通过减少 PTBP1 的表达和增加 PTBP2 的表达来促进骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells, BMMSCs)中神经细胞的分化<sup>[26]</sup>。转录因子 ID2 是已知的神经分化

强抑制剂, Annibali 等<sup>[30]</sup>研究发现, miR-9 和 miR-103 可直接通过编码序列以及 3'非翻译区编码 mRNA 抑制转录因子 ID2 的表达。

2.1.3 突触可塑性 对于分化成熟、功能完备的神经元来说,轴突和树突对靶标的准确延伸是神经元发挥功能的基础,突触的反应活性是神经元发挥功能的关键,而 miRNA 在神经元中的表达可能有助于成人突触功能和可塑性的控制。突触相关 miRNA 的主要特点包括它们在突触树突突触间隔局部控制 mRNA 翻译的能力和神经元对其自身表达及功能的调节<sup>[31]</sup>。有研究显示在海马神经元中, miR-125b 和 miR-132 在很大程度上对树突棘形态和突触生理机能具有相反作用,其中 miR-125 作用于 NMDA 受体亚基 N2A,并且在大脑内与脆性 X 智力低下蛋白 (fragile X mental retardation protein, FMRP) 特异性相关,从而影响突触可塑性<sup>[32]</sup>。

2.1.4 髓鞘形成 髓磷脂 (myelin) 是一层包裹在轴突外具有绝缘作用的脂质,与其他生物膜的化学组成不同,其在 CNS 中由少突胶质细胞 (oligodendrocyte, OL) 组成,而 OL 系从祖细胞逐渐发育为少突胶质祖细胞 (oligodendrocyte progenitor cells, OPCs), 进而迁移分化成为具有髓鞘的轴突的 OL<sup>[33]</sup>。Lin 等<sup>[34]</sup>研究表明, miR-23a 的过度表达可以增加小鼠髓鞘的厚度,应用小鼠在体研究模型分析发现, miR23a 可增强 OL 的分化和髓鞘的合成,提示 miR-23a 在生成和保护健康髓鞘中具有重要作用。已知多发性硬化 (multiple sclerosis, MS) 的关键问题就是髓鞘修复能力减弱,研究提示 MS 的一个标志性改变就是血细胞中 miRNA 分布异常,相应的 miRNA 具有髓鞘修复能力,而在体实验证明这种分子的缺少将导致小鼠轴突损伤<sup>[35]</sup>。另一方面, Kornfeld 等<sup>[36]</sup>研究发现 MS 中异常的 miRNA 表达会破坏 OPCs 分化。在正常组织中,无论是早期分化还是晚期分化,只要涉及促进细胞骨架组织以及髓鞘形成过程, miR-145 表达都会显著降低。然而 MS 患者体内 miR-145 表达水平异常增高,最终发现 miR-145 可能通过阻止肌动蛋白组织和髓磷脂基因的表达来破坏髓鞘形成及发展。总之, miRNA 分别参与了髓鞘形成的重要环节,并且对相关疾病有重要影响。

2.1.5 神经再生 神经再生是神经损伤修复的关键。中枢神经轴突再生故障本质即神经元轴突延伸能力丧失,往往是由于相关基因表达故障所致,而 miRNA 和组蛋白修饰则是基因表达最重要的表观遗传监管机构。多数哺乳动物脊髓损伤后都会导致永久性瘫痪,而 Quiroz 等<sup>[37]</sup>发现,蝾螈有较强的神经修复再生能力,甚至可在完全的脊髓横断中全功能恢复,造成此差异的原因可能是蝾螈具有一组保守 miRNA 即 miR-125b,这标志着其与哺乳动物之间的跨物种差异,也体现了 miRNA 的促神经再生能力。亦有研究表明 miR-124 参与抑制小 C 端域磷酸酶 1 (small C-terminal domain phosphatase 1, SCP1) 的表达从而诱导神经发生<sup>[38]</sup>。当然并非所有 miRNA 都具有促进神经再生能力, Liu 等<sup>[39]</sup>研究发现, miR-138 是一种全新的轴突再生抑制剂,其作用靶点为一种 NAD 依赖型组蛋白去乙酰化酶 SIRT1 (sirtuin type 1), 从而抑制神经再生。与此同时,神经系统也能够感应到神经损伤刺激并作出回应,抑制 miR-138, 促进神经再生机制,形成反馈调节回路。

2.2 AD 相关 miRNA 家族 目前对于 AD 相关 miRNA 的研究尚浅,主要集中在建立 AD 患者的 miRNA 表达谱以寻找患者脑内异常表达的 miRNA。2007 年, Lukiw 等<sup>[40]</sup>就已经发现与正常成人脑相比, AD 患者大脑海马区域内部分 miRNA 丰度不同,并且随着大脑老化程度的变化而变化。此后大量相关研究证实, AD 患者脑内 miR-9、miR-124、miR-125、miR-128、miR-132 以及 miR-219 表达量均有所上升,而 miR-181、miR-101、miR-15、miR-29、miR-106 以及 miR-107 等表达活性相对下降<sup>[41-43]</sup>。miRNA 相关靶点也有很多,包括 BACE1、ND、CFH、APP 以及 NAV3 等。有关 AD 的病因方面, miRNA 也分别针对不同学说对 AD 进行调节,例如 AD 患者脑内的 miR-146b 表达水平下降,从而减轻对 Toll 样受体 (Toll-like receptors, TLRs) 信号的翻译抑制,导致 TLR 信号增强而加深固有免疫的破坏,从免疫异常学说方面促发 AD<sup>[44]</sup>; 而另一方面, A $\beta$  毒性学说是 AD 发病的另一重要机制, Patel 等<sup>[45]</sup>研究发现 miR-106a 可以靶向表达,抑制淀粉样前体蛋白 (amyloid precursor protein, APP) 的翻译,而 AD 患者中 APP 的过表达可以导



致 A $\beta$  的积累,加速 AD 进程。

2.3 miR-137 在神经系统疾病中的作用机制研究 miR-137 是一种脑富集的 miRNA,其在神经系统中的发育以及神经退化的疾病进程中的作用并未完全阐明。有研究显示 miR-137 在促进胚胎神经干细胞分化、抑制细胞增殖以及生殖干细胞自我更新方面均起重要作用<sup>[46-47]</sup>。一方面 miR-137 可以靶向抑制 RTVP-1,而 RTVP-1 的沉默则导致生殖干细胞的自我更新以及 CXCR4 的表达抑制,从而促进分化,而 CXCR4 的过表达则反过来抵抗 RTVP-1 的沉默和生殖干细胞的自我更新作用。另一方面,组蛋白赖氨酸特异性脱甲基酶-1(histone lysine-specific demethylase 1, LSD1)是 miR-137 的下游靶标,而 LSD1 是核受体 TLX 的转录共阻遏物,TLX 则是神经干细胞自我更新的重要调节器,miR-137、LSD1 和 TLX 共同形成一个反馈调节通路,在神经发育期间控制神经干细胞的增殖和分化。Smrt 等<sup>[48]</sup>研究发现,过表达的 miR-137 参与了大脑和初级神经元的树突轴突发生、表型成熟以及脊柱发育异常的补救等过程,其机制主要是通过作用于靶蛋白 MIB1,而 MIB1 是诱导神经发育的泛素连接酶,其表达可以挽救由于 MIB1 过表达导致的异常表型,从而构成了一个新的诱导机制,来补救神经发育异常导致的疾病。

miR-137 异常对于神经发育的影响已经明确,然而有关其在神经退行性疾病中的作用机制的报道很少,Geekiyana 等<sup>[49]</sup>发现,血清中 miR-137、miR-181c、miR-9、miR-29a/b 以及转录后的 SPT 水平都与 AD 发病相关。大脑中的神经酰胺可直接介导 A $\beta$  生成,而 A $\beta$  则是构成 AD 老年斑的核心成分,因此神经酰胺水平与 AD 发病具有相关性。丝氨酸棕榈酰转移酶(serine palmitoyltransferase, SPT)是神经酰胺合成过程中的第 1 个限速酶,而 SPT 是一个由丝氨酸棕榈酰长链 1(SPTLC1)与 SPTLC2 或 SPTLC3 构成的异源二聚体。因此,AD 患者大脑中神经酰胺的水平越高,皮质中 SPTLC1 和 SPTLC2 的蛋白表达就越高。同时,miR-137 的表达与 SPTLC 的表达是负相关的,这构成了 miR-137 通过影响 A $\beta$  生成来调控 AD 发病的过程<sup>[50]</sup>。在成人神经干细胞中,miR-137 的转录以及表观遗传是通过 MeCP2 和 Sox2 直接结合 5'端调控区进行负调控

的,MeCP2 是一种甲基化的 CG 序列结合蛋白,Sox 是一种核心转录因子,二者可协同调控 miR-137。通过 miR-137 抑制 SPTLC1 可以有针对性地减少 A $\beta$  形成,从而改善 AD 病程。

miR-137 被认为是 AD 发病的潜在的生物标志物<sup>[51]</sup>,其参与调控的机制尚不清楚。目前,miR-137 的重要调控作用仅在神经生长发育、老化、亨廷顿舞蹈症等神经退行性疾病以及胶质细胞瘤等神经发育异常疾病中有所报道。而负调控相关基因蛋白是 miRNA 最常见的调控模式,miR-137 参与调控 AD 疾病应该是多方面、多靶点的综合作用,SPT 仅是 miR-137 作用的通路之一,而其他作用靶点有待研究。

### 3 小结

AD 是老年人常见的神经系统变性疾病,目前对于 AD 的治疗均是针对 AD 患者大脑病理变化提出的单一治疗方案,强调早期治疗从而改善症状并希望延缓疾病发展而非治愈。因此从 AD 的发病机制出发,开展有目的的新型 AD 治疗药物研究,在基因水平上对疾病相关因素加以干预,成为当前 AD 药物研究和治疗的主要方向。AD 病因非常复杂,当血管内皮细胞功能发生障碍时,血管收缩和舒张平衡被打破,导致内皮细胞渗透性增加、血小板聚集、白细胞粘连、炎症因子生成、缺血、缺氧,最终发展为 AD。因此,对 AD 患者血管危险因素进行干预可能是 AD 预防及治疗的一种新途径;而另一方面,miRNA 几乎参与了每一条遗传学通路,其在神经系统的遗传调控中发挥的直接或间接作用同样不可小觑。miRNA 本身并不能发挥作用,其神经系统功能作用必然是通过对靶分子的负性调控发挥的。VEGF 是 miRNA 的众多靶分子之一,很多相关研究证明 miRNA 既可以作为 VEGF 的潜在监管机构存在,同时也可以通过调控其他的血管生成因子对血管进行干预,例如 miR-16 可以直接作用于 VEGF 的 mRNA,从而在翻译水平上对 VEGF 进行调控<sup>[52]</sup>。

综上所述,血管和遗传因素在 AD 发病机制中的作用不可小觑,同时 VEGF 作为 miRNA 的靶点之一,满足成为 miRNA 调节神经系统作用通路的条件,那么,miRNA 是否可能通过调控 VEGF 的表达影响血管的正常功能,进而导致脑细胞缺血,从而

促发 AD 是应该思考的新问题。进一步探索研究 miRNA-VEGF-AD 之间可能存在的分子调控机制将极大地促进我们对于 AD 发病机制的了解, 对发现新的 AD 治疗药物靶标、有目的地设计新型 AD 治疗药物具有重要的指导意义。

## [参考文献]

- [1] YANG S P, BAE D G, KANG H J, GWAG B J, GHO Y S, CHAE C B. Co-accumulation of vascular endothelial growth factor with  $\beta$ -amyloid in the brain of patients with Alzheimer's disease [J]. *Neurobiol Aging*, 2004, 25: 283-290.
- [2] SHIBUYA M. Vascular endothelial growth factor and its receptor system: physiological functions in angiogenesis and pathological roles in various diseases [J]. *J Biochem*, 2013, 153: 13-19.
- [3] 陈文静, 李瑞玲, 徐高磊, 李雪, 崔占军, 邓锦波. 血管内皮细胞生长因子与神经系统发育及其病理学改变 [J]. *解剖学杂志*, 2013, 36: 841-844.
- [4] RUIZ DE ALMODOVAR C, COULON C, SALIN P A, KNEVELS E, CHOUNLAMOUNTRI N, POESEN K, et al. Matrix-binding vascular endothelial growth factor (VEGF) isoforms guide granule cell migration in the cerebellum via VEGF receptor Flk1 [J]. *J Neurosci*, 2010, 30: 15052-15066.
- [5] 何永志, 林斌. 血管内皮生长因子在神经系统中的作用 [J]. *临床骨科杂志*, 2012, 15: 569-573.
- [6] MOSKOWITZ M A, GROTTA J C, KOROSHETZ W J. The NINDS stroke progress review group final analysis and recommendations [J]. *Stroke*, 2013, 44: 2343-2350.
- [7] YEZHUVATH U S, UH J, CHENG Y, MARTIN-COOK K, WEINER M, DIAZ-ARRASTIA R, et al. Forebrain-dominant deficit in cerebrovascular reactivity in Alzheimer's disease [J]. *Neurobiol Aging*, 2012, 33: 75-82.
- [8] SELKOE D J. Alzheimer's disease: genes, proteins, and therapy [J]. *Physiol Revi*, 2001, 81: 741-766.
- [9] DEL BO R, GHEZZI S, SCARPINI E, BRESOLIN N, COMI G P. VEGF genetic variability is associated with increased risk of developing Alzheimer's disease [J]. *J Neurol Sci*, 2009, 283: 66-68.
- [10] SOLERTE S B, FERRARI E, CUZZONI G, LOCATELLI E, GIUSTINA A, ZAMBONI M, et al. Decreased release of the angiogenic peptide vascular endothelial growth factor in Alzheimer's disease: recovering effect with insulin and DHEA sulfate [J]. *Dement Geriatr Cogn Disord*, 2004, 19: 1-10.
- [11] STORKEBAUM E, CARMELIET P. VEGF: a critical player in neurodegeneration [J]. *J Clin Invest*, 2004, 113: 14-18.
- [12] 宋平平. 综述 VEGF 在外周神经损伤修复的作用 [J]. *中外医疗*, 2013, 32: 191-192.
- [13] LARPTHAVEESARP A, FERRIERO D M, GONZALEZ F F. Growth factors for the treatment of ischemic brain injury (growth factor treatment) [J]. *Brain Sci*, 2015, 5: 165-177.
- [14] ZHANG Z G, ZHANG L, TSANG W, SOLTANIAN-ZADEH H, MORRIS D, ZHANG R, et al. Correlation of VEGF and angiopoietin expression with disruption of blood-brain barrier and angiogenesis after focal cerebral ischemia [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2002, 22: 379-392.
- [15] 董漪, 董强. 血管内皮生长因子与卒中及神经系统退行性疾病 [J]. *中国卒中杂志*, 2009, 4: 152-158.
- [16] ROSENSTEIN J M, KRUM J M, RUHRBERG C. VEGF in the nervous system [J]. *Organogenesis*, 2010, 6: 107-114.
- [17] MANOONKITIWONGSA P S, SCHULTZ R L, MCCREERY D B, WHITTER E F, LYDEN P D. Neuroprotection of ischemic brain by vascular endothelial growth factor is critically dependent on proper dosage and may be compromised by angiogenesis [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2004, 24: 693-702.
- [18] NOWACKA M M, OBUCHOWICZ E. Vascular endothelial growth factor (VEGF) and its role in the central nervous system: a new element in the neurotrophic hypothesis of antidepressant drug action [J]. *Neuropeptides*, 2012, 46: 1-10.
- [19] USHIO-FUKAI M. VEGF signaling through NADPH oxidase-derived ROS [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2007, 9: 731-739.
- [20] SUN G C, MA Y Y. Vascular endothelial growth factor modulates voltage-gated  $\text{Na}^+$  channel properties and depresses action potential firing in cultured rat hippocampal neurons [J]. *Biol Pharm Bull*, 2013, 36: 548-555.
- [21] MCCLOSKEY D P, CROLL S D, SCHARFMAN H

- E. Depression of synaptic transmission by vascular endothelial growth factor in adult rat hippocampus and evidence for increased efficacy after chronic seizures [J]. *J Neurosci*, 2005, 25: 8889-8897.
- [22] BEREZIKOV E, CUPPEN E, PLASTERK R H. Approaches to microRNA discovery [J]. *Nat Genet*, 2006, 38: S2-S7.
- [23] HENRY J C, AZEVEDO-POULY A C, Schmittgen T D. MicroRNA replacement therapy for cancer [J]. *Pharm Res*, 2011, 28: 3030-3042.
- [24] 徐 瑞, 赵吉清. MicroRNA 在神经元发育和可塑性中的作用 [J]. *重庆医学*, 2010, 39: 2379-2381.
- [25] EDA A, TAKAHASHI M, FUKUSHIMA T, HOHJOH H. Alteration of microRNA expression in the process of mouse brain growth [J]. *Gene*, 2011, 485: 46-52.
- [26] ZHAO Y, JIANG H, LIU X W, XIANG L B, ZHOU D P, CHEN J T. MiR-124 promotes bone marrow mesenchymal stem cells differentiation into neurogenic cells for accelerating recovery in the spinal cord injury [J]. *Tissue Cell*, 2015, 47: 140-146.
- [27] KANELLOPOULOU C, MULJO S A, KUNG A L, GANESAN S, DRAPKIN R, JENUWEIN T, et al. Dicer-deficient mouse embryonic stem cells are defective in differentiation and centromeric silencing [J]. *Genes Dev*, 2005, 19: 489-501.
- [28] KASPI H, CHAPNIK E, LEVY M, BECK G, HORNSTEIN E, SOEN Y. Brief report: miR-290-295 regulate embryonic stem cell differentiation propensities by repressing *Pax6* [J]. *Stem Cells*, 2013, 31: 2266-2272.
- [29] COLAS A R, MCKEITHAN W L, CUNNINGHAM T J, BUSHWAY P J, GARMIRE L X, DUESTER G, et al. Whole-genome microRNA screening identifies let-7 and miR-18 as regulators of germ layer formation during early embryogenesis [J]. *Genes Dev*, 2012, 26: 2567-2579.
- [30] ANNIBALI D, GIOIA U, SAVINO M, LANEVE P, CAFFARELLI E, NASI S. A new module in neural differentiation control: two microRNAs upregulated by retinoic acid, miR-9 and -103, target the differentiation inhibitor ID2 [J/OL]. *PLoS One*, 2012, 7: e40269. doi: 10.1371/journal.pone.0040269
- [31] Schrott G. MicroRNAs at the synapse [J]. *Nat Rev Neurosci*, 2009, 10: 842-849.
- [32] EDBAUER D, NEILSON J R, FOSTER K A, WANG C F, SEEBURG D P, BATTERTON M N, et al. Regulation of synaptic structure and function by FMRP-associated microRNAs miR-125b and miR-132 [J]. *Neuron*, 2010, 65: 373-384.
- [33] 曹 婷, 杨丽君, 崔 红. 微小 RNA 在神经系统及髓鞘发生的调节作用 [J]. *首都医科大学学报*, 2012, 33: 414-418.
- [34] LIN S T, HUANG Y, ZHANG L, HENG M Y, PTÁČEK L J, FU Y H, et al. MicroRNA-23a promotes myelination in the central nervous system [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110: 17468-17473.
- [35] JUNKER A, HOHLFELD R, MEINL E. The emerging role of microRNAs in multiple sclerosis [J]. *Nat Rev Neurol*, 2011, 7: 56-59.
- [36] KORNFELD S F. MiR-145 plays a role in oligodendrocyte differentiation by regulating cytoskeleton- and myelin-related gene expression [D]. Ottawa: University of Ottawa, 2014.
- [37] QUIROZ J F D, TSAI E, COYLE M, SEHM T, ECHEVERRI K. Precise control of miR-125b levels is required to create a regeneration-permissive environment after spinal cord injury: a cross-species comparison between salamander and rat [J]. *Dis Model Mech*, 2014, 7: 601-611.
- [38] VISVANATHAN J, LEE S, LEE B, LEE J W, LEE S K. The microRNA miR-124 antagonizes the anti-neural REST/SCP1 pathway during embryonic CNS development [J]. *Genes Dev*, 2007, 21: 744-749.
- [39] LIU C M, WANG R Y, JIAO Z X, ZHANG B Y, ZHOU F Q. MicroRNA-138 and SIRT1 form a mutual negative feedback loop to regulate mammalian axon regeneration [J]. *Genes Dev*, 2013, 27: 1473-1483.
- [40] LUKIW W J. Micro-RNA speciation in fetal, adult and Alzheimer's disease hippocampus [J]. *Neuroreport*, 2007, 18: 297-300.
- [41] SETHI P, LUKIW W J. Micro-RNA abundance and stability in human brain: specific alterations in Alzheimer's disease temporal lobe neocortex [J]. *Neurosci Lett*, 2009, 459: 100-104.
- [42] 朱 浩, 赵 中. MicroRNA 与阿尔茨海默病 [J]. *国际神经病学神经外科学杂志*, 2013, 40: 462-466.
- [43] SATOH J. MicroRNAs and their therapeutic potential for human diseases; aberrant microRNA expression in Alzheimer's disease brains [J]. *J Pharmacol Sci*, 2010,



- 114; 269-275.
- [44] COGSWELL J P, WARD J, TAYLOR I A, WATERS M, SHI Y, CANNON B, et al. Identification of miRNA changes in Alzheimer's disease brain and CSF yields putative biomarkers and insights into disease pathways[J]. *J Alzheimers Dis*, 2008, 14: 27-41.
- [45] PATEL N, HOANG D, MILLER N, ANSALONI S, HUANG Q, ROGERS J T, et al. MicroRNAs can regulate human APP levels[J]. *Mol Neurodegener*, 2008, 3: 470.
- [46] BIER A, GILADI N, KRONFELD N, LEE H K, CAZACU S, FINNISS S, et al. MicroRNA-137 is downregulated in glioblastoma and inhibits the stemness of glioma stem cells by targeting RTVP-1 [J]. *Oncotarget*, 2013, 4: 665-676.
- [47] SUN G Q, YE P, MURAI K, LANG M F, LI S, ZHANG H, et al. miR-137 forms a regulatory loop with nuclear receptor TLX and LSD1 in neural stem cells[J]. *Nat Commun*, 2011, 2: 529.
- [48] SMRT R D, SZULWACH K E, PFEIFFER R L, LI X, GUO W, PATHANIA M, et al. MicroRNA miR-137 regulates neuronal maturation by targeting ubiquitin ligase mind Bomb-1[J]. *Stem cells*, 2010, 28: 1060-1070.
- [49] GEEKIYANAGE H, UPADHYE A, CHAN C. Inhibition of serine palmitoyltransferase reduces A $\beta$  and tau hyperphosphorylation in a murine model: a safe therapeutic strategy for Alzheimer's disease [J]. *Neurobiol Aging*, 2013, 34: 2037-2051.
- [50] GEEKIYANAGE H, CHAN C. MicroRNA-137/181c regulates serine palmitoyltransferase and in turn amyloid  $\beta$ , novel targets in sporadic Alzheimer's disease[J]. *J Neurosci*, 2011, 31: 14820-14830.
- [51] GEEKIYANAGE H, JICHA G A, NELSON P T, CHAN C. Blood serum miRNA: non-invasive biomarkers for Alzheimer's disease[J]. *Exp Neurol*, 2012, 235: 491-496.
- [52] DEJEAN E, RENALIER M H, FOISSEAU M, AGIRRE X, JOSEPH N, DE PAIVA G R, et al. Hypoxia-microRNA-16 downregulation induces VEGF expression in anaplastic lymphoma kinase (ALK)-positive anaplastic large-cell lymphomas [J]. *Leukemia*, 2011, 25: 1882-1890.

[本文编辑] 曾奇峰