

专家述评

DOI: 10.3969/j.issn.0253-3626.2013.01.002

载脂蛋白 E 及其受体在淀粉样前体蛋白代谢过程中的作用

孙晓川, 周 帅

(重庆医科大学附属第一医院神经外科, 重庆 400016)

【中国图书分类法分类号】R322.81

【文献标志码】A

【收稿日期】2012-08-04

随着对载脂蛋白 E (apolipoprotein E, APOE) (APOE 表示其基因, apoE 表示其编码蛋白) 研究的逐渐深入, 研究者发现 APOE 多态性在介导中枢神经系统脂质代谢平衡、突触可塑性、细胞损伤、神经炎症反应、淀粉样前体蛋白 (amyloid precursor protein, APP) 代谢等过程中发挥着重要作用^[1]。本文就 apoE 及其受体在 APP 代谢过程中的作用作一综述。

1 APP 及 APP 的分解代谢

APP 是一种单跨膜的糖蛋白, 其编码基因位于第 21 号染色体, 在全身各组织均可表达。尽管 APP 基因被克隆已有二十多年, 但对于其确切的生物学功能仍知之甚少。一个最主要的原因是敲除 APP 基因后, 小鼠几乎不产生任何表型, 这可能与 APP 基因家族中另一个基因淀粉样前体样蛋白 2 基因 (amyloid precursor-like proteins 2, APLP2) 发挥代偿作用有关^[2]。

APP 在从胞内运送至细胞表面以及由膜表面内吞至胞内的过程中, 均可被分泌酶水解。APP 分解有 2 条独立的途径, 一条是 A β 生成途径, 另一条为非 A β 生成途径。最新研究发现, APP 在分解生成 A β 的过程中, 可水解生成 1 段约 35 kD 大小的氨基端片段, 称为 N-APP, 该片段能与神经元胞膜上的死亡受体 6 (death receptor 6, DR6) 结合, 在神经元生长发育以及某些疾病如阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 的发生发展过程中可能也发挥着重要作用^[3], 但是其具体作用机制目前尚不清楚。APP 的各分解产物中研究得比较深入的 A β , 其确切的生物学功能仍不清楚。由于 A β 在体内存在形式的多样性以及复杂的生物学功能^[4], 并作为 AD 发病原因, 一直以来是研究的热点问题之一。

“A β 级联反应”作为 AD 发病学这一经典假说至今提出已有二十多年, A β 的产生增加和清除减少将导致 AD 的发生是这一假说的本质内容。随着研究的逐渐深入, 有学者发现不溶性的 A β 斑块的沉积不一定是 AD 发病的原因^[5], 甚至有学者提出这可能是一种保护机制^[6]。随后的研究发现, 在 A β 的生成过程中, 由于水解酶酶切位点的不同可产生多种不同长度的 A β , 以 A β 40、A β 42 为主, 认为 A β 42/40 增加是导致 AD 发病的真正原因之一^[7]。近来研究发现, 具有潜在神经毒性作用的 A β 形式是可溶性的 A β 低聚体而非 A β 纤维斑

块。与 A β 纤维样斑块相比, 脑内可溶性 A β 低聚体与 AD 严重程度的相关性更好^[8], 有学者认为这种可溶性 A β 低聚体可以作为 AD 的早期诊断标志物^[9]。

在 AD 治疗手段中, 各种针对 A β 神经毒性以及减少脑内 A β 水平的治疗途径均因改善病情不明显甚至无效而受到了严峻的挑战。近来针对 A β 的 AD 疫苗是基础和临床研究的热点, 虽然在基础研究中获得了重要结果, 但是其临床效果和应用价值仍需进一步研究证实^[10]。由于 A β 在体内同时具有多种不同的结构形式, 并且不同的结构形式可能具有完全不同的生物学活性以及不同个体的遗传学背景不同, 因此 A β 从体内研究到体外研究, 从细胞水平到整个机体的不同阶段, 其毒性机制也可能不同, 这对于淀粉样疾病的研究将是一个重要挑战。

2 apoE 及 apoE 受体

2.1 apoE 及 APOE 基因多态性

apoE 是一分子量约为 34 kD 大小的糖蛋白, 脑是人体合成 apoE 的第 2 大器官。由于人类 APOE 基因具有多态性, 可产生 3 种蛋白亚型: apoE2、apoE3 和 apoE4, 其区别在于第 112 位和 158 位氨基酸残基不同, apoE3 在 112 位是半胱氨酸, 在 158 位是精氨酸; apoE2 在这 2 个位置上都是半胱氨酸, apoE4 却都是精氨酸。相对于 apoE2 和 apoE3, apoE4 在结构上有 2 个自身的特点^[11]: 第一, apoE4 倾向于形成一种“可溶化的小球状态”, 导致 apoE4 结构稳定性减弱; 第二, apoE4 N 端的第 61 位精氨酸与 C 端第 255 位谷氨酸之间可形成 1 个盐键, 这 2 个结构域的相互作用使 apoE4 结合脂质的能力减弱且更容易被分解。

2.2 apoE 受体及低密度脂蛋白受体 (low density lipoprotein receptor, LDLR) 家族

apoE 生物活性的发挥以及将脂质转运至细胞内的过程中均需受体的参与。目前发现的 apoE 受体均是 LDLR 家族中的成员。LDLR 和低密度脂蛋白相关受体 1 (low density lipoprotein receptor-related protein 1, LRP1) 是 apoE 在脑内的主要受体, 尽管两者在 apoE/脂质代谢中发挥着重要作用, 但存在 3 点区别: ① LRP1 在神经元高表达, LDLR 则主要在胶质细胞表达^[12]; ② 敲除小鼠前脑神经元的 LRP1 (编码 LRP1 的基因), 能降低脑内胆固醇水平, 但是敲除 LDLR (编码 LDLR 的基因) 则不会出现该效应^[13]; ③ LDLR 对星形胶质细胞分泌的 apoE 的亲合力高于 LRP1, 而重组 apoE、富含脂质颗粒的

作者介绍: 孙晓川, 教授, Email: sunxch1445@gmail.com,

研究方向: 颅脑创伤与脑血管疾病。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (编号: 30973087)。

apoE 则更倾向于与 LRP1 结合^[14]。这种 apoE 与受体结合差异的原因可能与 apoE 构象及酯化水平有关。

3 APOE 基因多态性及 apoE 受体影响 APP 的代谢

3.1 APOE 基因多态性及 apoE 受体与 APP 的分解代谢

大量研究表明, APOE 基因多态性能影响 APP 的分解代谢^[15-16]。近年来, apoE 蛋白亚型与 apoE 受体的联合作用对 APP 分解过程的影响受到了越来越多的关注。Ulevy 等^[17]运用 LRP1 的受体拮抗剂受体相关蛋白 (receptor associated protein, RAP) 与细胞共孵育后发现, APP 的表达量增加, A β 量产生减少; 同时共转染 APP 与 LRP 基因, 细胞培养基中 A β 的量比仅转染 APP 基因时高出 3 倍。Ye 等^[18]研究发现, 相对于 apoE3, apoE4 能够增加 APP 的胞内吞作用, 促进 APP 的水解过程, 但这种差异能够被 RAP 或 LRP1 的小干扰 RNA 所阻断。He 等^[19]随后也发现 apoE 与 apoE 受体 2 (apoE receptor 2, apoER2) 结合后, 能够促进 APP 的胞内吞作用, apoE4 的作用比 apoE2、apoE3 更明显, 该研究认为出现这种差异的原因可能与 apoE4 结合 apoER2 的能力更强有关。笔者认为 apoE 与其受体相结合呈现出的这种亚特异性与前面所述的 apoE4 独特的结构特点有关。利用生物工程技术将 apoE4 的第 61 位精氨酸置换为苏氨酸或采用生物化学技术将 apoE4 分子内部结构域之间的相互作用打断, apoE4 与 LRP1 结合后对于 APP 分解的效应即与 apoE2、apoE3 相似^[17]。

3.2 apoE 及 apoE 受体与 A β 的脑内清除

APOE 基因多态性不仅与 A β 生成有关, 而且也能影响 A β 在脑内的清除过程。Brodbeck 等^[20]通过微透析方式发现 APOE4 转基因小鼠对脑内 A β 的清除能力明显低于另外两型转基因小鼠。A β 在脑内清除的途径主要有 2 条, 一条是脑实质细胞 (星形胶质细胞、神经元) 受体介导的清除途径, 通过细胞间液或血脑屏障排出; 另一条通过内肽酶 (neprilysin, NEP) 及胰岛素降解酶 (insulin-degrading enzyme, IDE) 介导的蛋白水解降解途径^[21]。

受体介导的清除途径是脑内 A β 清除的主要途径, 因为大部分 A β 是与脑内 apoE 受体相结合, 进而转运至溶酶体降解。有研究表明, A β 与 apoE 结合后, 能减弱 apoE 与脂质的结合, 这是因为 A β 、脂质结合 apoE 的部位相同, 两者存在竞争性抑制^[22]。Jiang 等^[23]发现在细胞外液, 酯化状态的 apoE 结合 A β 的能力存在差异: E2>E3>E4。近来研究表明, A β 与 apoE4 结合后, 其受体由 LRP1 转变为 LDLR, 而这种清除途径的速率明显慢于 LRP1。与之相比, A β -apoE2、A β -apoE3 复合体在血脑屏障 (blood brain barrier, BBB) 处的清除速率明显快于 A β -apoE4 复合体^[24], 但是也有研究发现, 这种差异没有显著性^[25]。尽管如此, BBB 在 A β 清除过程中的确切作用以及在这一过程中, apoE 发挥了怎样的作用, 并且这种作用是否具有亚型特异性, 仍需要进一步研究予以揭示。

A β 也能够通过水解途径从脑中清除。A β 降解酶在神经元、胶质细胞、脑血管内皮细胞中都有表达。NEP 和 IDE 是目前研究最为广泛的 2 种 A β 降解酶。新近研究发现, apoE 能够促进 NEP 和 IDE 对 A β 的降解, 且 apoE3 的作用强于 apoE4^[25]。

进一步研究表明, apoE 促进 A β 水解与 apoE 的酯化状态密切相关, 通过激活肝 X 受体 (liver X receptor, LXR), 提高 apoE 的酯化状态, 能明显加强对 A β 的水解作用。

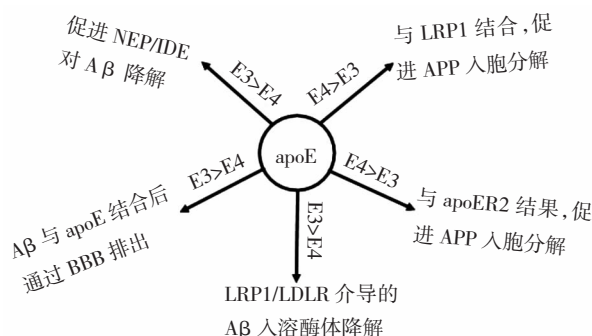


图 1 apoE 及其受体在 APP 代谢过程中的作用示意图

Fig.1 Sketch map of role of apoE and its receptor in metabolism of APP

3.3 apoE 及 apoE 受体作为 AD 治疗的靶标

由于 apoE 及 apoE 受体与 A β 代谢关系密切, 因此调节前两者在体内的表达或功能, 以此减少 A β 的产生、聚集或促进其分解有可能作为 AD 治疗的有效途径之一^[26]。近来有实验研究发现^[27], APOE4 转基因小鼠体内 apoE 蛋白水平低于 APOE3 转基因小鼠, 这提示脑内低水平的 apoE4 可能是 AD 发病原因之一, 可能与 apoE 参与脂质代谢、突触修复、A β 清除能力降低等有关。基于此, 增加脑内 apoE 表达水平, 有利于 AD 的预防或阻止病情的发展。然而增加 apoE 的表达, 尤其是 apoE4, 也可能导致不良的后果, 如减缓 A β 在 BBB 处的清除, 放大 A β 的毒性。因此, 如何干预 apoE 在 AD 病程中的表达, 需考虑患者所处的疾病阶段及其他病理生理等情况。Mahley 等^[28]采用 GIND-25 等化学制剂阻断 apoE4 分子内部结构域之间的相互作用, 将 apoE4 转换为 apoE3 分子样结构, 能明显降低细胞 A β 的产生水平, 但这种化合物在动物体内及人体是否有同样的效应, 目前尚不清楚。Kang 等^[29]发现 AD 患者脑内 LRP1 表达水平降低, 因此增加 LRP1 的表达, 有可能成为 AD 防治的手段。最近研究发现, 他汀类药物如氟伐他汀能够增加脑微血管内皮细胞表面受体 LRP1 的表达, 从而增加 A β 的清除^[30]; 也有研究发现^[31], 洛伐他汀能够抑制淀粉样前体蛋白 β 位点裂解酶的活性, 从而减少 A β 的产生。阻断 APP 与 apoE 相关受体 (如 LRP1) 之间的相互作用, 减少 A β 的生成, 可能将是 AD 的治疗手段之一。

4 问题与展望

随着对 apoE 研究的逐渐深入以及不同的研究结果, 使得大家对 apoE4 的认识不同: apoE4 是代表一种获得性的毒性功能, 还是其神经保护功能减弱, 或者这两种均有? 因此基于 apoE 的治疗策略是减少 apoE4 的毒性效应, 抑或修复 apoE4 的神经保护功能, 以恢复其应具有 apoE 生理学性质? 笔者相信, 随着大家对 apoE 认识的不断加深, 这些研究成果将会不断地转化, 服务于临床。

参 考 文 献

- [1] Jofre-Monseny L, Minihane A M, Rimbach G. Impact of apoE genotype on oxidative stress, inflammation and disease risk[J]. *Mol Nutr Food Res*, 2008, 52(1): 131–145.
- [2] Heber S, Herms J, Gajic V, et al. Mice with combined gene knock-outs reveal essential and partially redundant functions of amyloid precursor protein family members[J]. *J Neurosci*, 2000, 20(21): 7951–7963.
- [3] Nikolaev A, McLaughlin T, O’Leary D D, et al. APP binds DR6 to trigger axon pruning and neuron death via distinct caspases[J]. *Nature*, 2009, 457(7232): 981–989.
- [4] Greenwald J, Riek R. Biology of amyloid: structure, function, and regulation[J]. *Structure*, 2010, 18(10): 1244–1260.
- [5] Nordberg A. Amyloid plaque imaging in vivo: current achievement and future prospects[J]. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 2008, 35(s1): 46–50.
- [6] Caughey B, Lansbury P T. Protofibrils, pores, fibrils, and neurodegeneration: separating the responsible protein aggregates from the innocent bystanders[J]. *Annu Rev Neurosci*, 2003, 26: 267–298.
- [7] Bentahir M, Nyabi O, Verhamme J, et al. Presenilin clinical mutations can affect gamma-secretase activity by different mechanisms[J]. *J Neurochem*, 2006, 96(3): 732–742.
- [8] McDonald J M, Savva G M, Brayne C, et al. The presence of sodium dodecyl sulphate-stable Aβ dimers is strongly associated with Alzheimer-type dementia[J]. *Brain*, 2010, 133(Pt 5): 1328–1341.
- [9] 曾凡, 张吉强, 王延江, 等. 体液生物标记物在阿尔茨海默病早期诊断中的作用与评价[J]. *中国神经精神疾病杂志*, 2011, 37(4): 244–246.
- Zeng F, Zhang J Q, Wang Y J, et al. Role of humoral biomarkers in the early diagnosis of Alzheimer’s disease and its evaluation[J]. *Chin J Nerv Ment Dis*, 2011, 37(4): 244–246.
- [10] 徐宝钢, 吴逊. 淀粉样前体蛋白在阿尔茨海默病分子生物学和临床医学中的研究进展[J]. *中国医学科学院学报*, 2004, 26(2): 201–209.
- Xu B G, Wu X. Advances in molecular biology and clinical study of amyloid precursor protein for Alzheimer’s disease[J]. *Acta Academiae Medicinae Sinicae*, 2004, 26(2): 201–209.
- [11] Huang Y, Weisgraber K H, Mucke L, et al. Apolipoprotein E: diversity of cellular origins, structural and biophysical properties, and effects in Alzheimer’s disease[J]. *J Mol Neurosci*, 2004, 23(3): 189–204.
- [12] Rapp A, Gmeiner B, Hutterer M. Implication of apoE isoforms in cholesterol metabolism by primary rat hippocampal neurons and astrocytes[J]. *Biochimie*, 2006, 88(5): 473–483.
- [13] Liu Q, Zerbinatti C V, Zhang J, et al. Amyloid precursor protein regulates brain apolipoprotein E and cholesterol metabolism through lipoprotein receptor LRP1[J]. *Neuron*, 2007, 56(1): 66–78.
- [14] Narita M, Holtzman D M, Fagan A M, et al. Cellular catabolism of lipid poor apolipoprotein E via cell surface LDL receptor-related protein[J]. *J Biochem*, 2002, 132(5): 743–749.
- [15] Reiman E M, Chen K, Liu X, et al. Fibrillar amyloid-β burden in cognitively normal people at 3 levels of genetic risk for Alzheimer’s disease[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2009, 106(16): 6820–6825.
- [16] Bales K R, Liu F, Wu S, et al. Human APOE isoform-dependent effects on brain beta-amyloid levels in PDAPP transgenic mice[J]. *J Neurosci*, 2009, 29(21): 6771–6779.
- [17] Ulery P G, Beers J, Mikhailenko I, et al. Modulation of beta-amyloid precursor protein processing by the low density lipoprotein receptor-related protein (LRP). Evidence that LRP contributes to the pathogenesis of Alzheimer’s disease[J]. *J Biol Chem*, 2000, 275(10): 7410–7415.
- [18] Ye S, Huang Y, Mullendorff K, et al. Apolipoprotein (apo) E4 enhances amyloid beta peptide production in cultured neuronal cells: apoE structure as a potential therapeutic target[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2005, 102(51): 18700–18705.
- [19] He X, Cooley K, Chung C H, et al. Apolipoprotein receptor 2 and X11 alpha/beta mediate apolipoprotein E-induced endocytosis of amyloid-β precursor protein and beta-secretase, leading to amyloid-β production[J]. *J Neurosci*, 2007, 27(15): 4052–4060.
- [20] Brodbek J, McGuire J, Liu Z, et al. Structure-dependent impairment of intracellular apolipoprotein E4 trafficking and its detrimental effects are rescued by small-molecule structure correctors[J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(19): 17217–17226.
- [21] Fan J, Donkin J, Wellington C. Greasing the wheels of Aβ clearance in Alzheimer’s disease: the role of lipids and apolipoprotein E[J]. *Biofactors*, 2009, 35(3): 239–248.
- [22] Tamamizu-Kato S, Cohen J K, Drake C B, et al. Interaction with amyloid beta peptide compromises the lipid binding function of apolipoprotein E[J]. *Biochemistry*, 2008, 47(18): 5225–5234.
- [23] Jiang Q, Lee C Y, Mandrekar S, et al. ApoE promotes the proteolytic degradation of Aβ[J]. *Neuron*, 2008, 58(5): 681–693.
- [24] Deane R, Sagare A, Hamm K, et al. apoE isoform-specific disruption of amyloid beta peptide clearance from mouse brain[J]. *J Clin Invest*, 2008, 118(12): 4002–4013.
- [25] Ji Y, Permann B, Sigurdsson E M, et al. Amyloid beta40/42 clearance across the blood-brain barrier following intra-ventricular injections in wild-type, apoE knock-out and human apoE3 or E4 expressing transgenic mice[J]. *J Alzheimers Dis*, 2001, 3(1): 23–30.
- [26] Verghese P B, Castellano J M, Holtzman D M. Apolipoprotein E in Alzheimer’s disease and other neurological disorders[J]. *Lancet Neurol*, 2011, 10(3): 241–252.
- [27] Riddell D R, Zhou H, Atchison K, et al. Impact of apolipoprotein E (ApoE) polymorphism on brain ApoE levels[J]. *J Neurosci*, 2008, 28(45): 11445–11453.
- [28] Mahley R W, Weisgraber K H, Huang Y. Apolipoprotein E4: a causative factor and therapeutic target in neuropathology, including Alzheimer’s disease[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2006, 103(15): 5644–5651.
- [29] Kang D E, Pietrzik C U, Baum L, et al. Modulation of amyloid beta-protein clearance and Alzheimer’s disease susceptibility by the LDL receptor-related protein pathway[J]. *J Clin Invest*, 2000, 106(9): 1159–1166.
- [30] Shinohara M, Sato N, Kurinami H, et al. Reduction of brain beta-amyloid (Aβ) by fluvastatin, a hydroxymethylglutaryl-CoA reductase inhibitor, through increase in degradation of amyloid precursor protein C-terminal fragments (APP-CTFs) and Aβ clearance[J]. *J Biol Chem*, 2010, 285(29): 22091–22102.
- [31] 王芬, 潘翠柏, 贾建平, 等. 洛伐他汀对淀粉样前体蛋白 β 位点裂解酶表达和活性的影响[J]. *中国神经精神疾病杂志*, 2010, 36(2): 80–83.
- Wang F, Pan C B, Jia J P, et al. The study on the effect of lovastatin on the expression and activity of β-site APP cleaving enzyme[J]. *Chin J Nerv Ment Dis*, 2010, 36(2): 80–83.

(责任编辑: 冉明会)