专家述评

生物标志物β淀粉样蛋白与颅脑创伤

张赛

作者单位:300162 天津市、武警医学院附属医院脑创伤与神经疾病研究所脑系科中心

随着我国现代化交通、建筑等生产行业的日益繁荣,颅脑创伤(traumatic brain injury, TBI)发生率居高不下,同时也已成为青少年致死致残的首要原因,考虑到TBI所引起的严重社会经济后果,预计在2020年TBI将位居全球疾病第三位[1]。尽管对TBI的发病机理、影像学诊断、手术治疗的基础研究及临床应用均有相当发展,但针对TBI的诊断方法仍有诸多局限。神经生化检测为临床早期诊断和预后判断提供了有效手段,通过测定TBI后血清和/或脑脊液中特异生物标志物的改变可以尽早判断损伤程度、调整治疗方案及评估预后,对于减少后遗症,改善预后有着重要的临床意义。近年来生物标志物β淀粉样蛋白(amyloid β peptide, Aβ)已初步显示出用于判断损害程度、范围及预测预后的前景,在早期可能优于CT及MRI等影像学检查,在TBI中发挥着重要作用,现就其在TBI基础和临床研究中的应用价值和前景予以简要评述和展望。

1 Aβ概述

1.1 Aβ的基本生物学特征 Aβ及其前体—淀粉样前体蛋白(amyloid precursor protein, APP)最早发现于早老性痴呆即阿尔茨海默病(alzheimer disease, AD)患者中。APP为Aβ的前体,是一种具有受体样结构的大分子跨膜糖蛋白,普遍存在于人血清和脑脊液中,APP695、APP751和APP770是其主要的存在形式,在神经元中主要以APP695形式存在,具有促进和维护神经元生长的作用。APP在细胞分泌途径中可被β-和γ-分泌酶依次水解产生Aβ,主要包括Aβ40和Aβ42[2],其中Aβ42是老年斑的主要成分,具有更强聚集性和致病性[3,4]。Aβ是前体蛋白APP剪切后的片段,相对分子质量4.2×10^3,由39-43个氨基酸组成。正常情况下,人和啮齿类动物脑组织和脑脊液中只有微量表达。Aβ的产生需要有β-和γ-分泌酶的活性存在。APP胞外区被β-分泌酶水解,产生的跨膜片段再进一步被γ-分泌酶在Aβ的40或42位置水解,生成Aβ40或Aβ42,后者在神经细胞外极易形成难溶解的沉淀,称为淀粉样斑块。

1.2 Aβ的过度表达及神经毒性 目前发现能促进脑内Aβ增多或沉积增加的基因主要有APP、早老素-1(presenilin-1, PS-1)和载脂蛋白E。除上述基因突变可造成Aβ过量表达外,机体对外界刺激的反应性下降、Aβ自身清除障碍等因素的参与,也可使机体APP/Aβ正常代谢紊乱,导致Aβ异常释放和沉积。大量体内外实验均已证实,Aβ具有神经毒性,Aβ在神经细胞外聚集后可促进神经细胞骨架的改变进而导致细胞损伤(直接损伤),也可增强或放大各种伤害性刺激对细胞的损害效应(间接损伤)[5-7],例如升高胞内Ca^{2+}浓度,诱发氧化应激,刺激中枢神经系统发生炎性反应,增强谷氨酸毒性,导致脑血管机能障碍,诱导神经元凋亡。

2 Aβ与TBI

2.1 TBI是AD发生发展的重要危险因素 Aβ作为AD发生的生物标志物这一事实已被广泛接受,而研究证实Aβ在超过30%的急性TBI患者中也被发现,并且在TBI患者中发现的Aβ沉积与AD早期阶段的沉积高度相似[8]。值得注意的是,AD中的Aβ沉积发展缓慢并且主要发现于老年人,而TBI中的相关沉积却能在损伤后几小时内即出现,并且在包括儿童组在内的所有年龄组中均被发现[9]。因此TBI病史是AD发生发展的重要危险因素之一,但诱发TBI后Aβ沉积形成的机制仍不清楚,近年来才逐渐受到更多关注。

2.2 Aβ变化在TBI中的意义 多项研究表明,TBI后Aβ迅速沉积,其高表达水平与预后密切相关。通过对TBI猪模型免疫组化和免疫印迹研究[10]显示,伤后神经元轴突APP蛋白出现累积,相关APP分泌酶表达上调。另外,损伤后小鼠海马区和大脑皮质均出现β分泌酶(β-APP-cleaving enzyme-1, BACE1)

万方数据

高表达,提示伤后 BACE1 可能也会短暂升高[11]。在后续研究中,通过 ELISA 法检测 29 例重症 TBI 患者(昏迷評分≤8)脑脊液中 Aβ 表达变化,证实在相同时间点 Aβ(平均 4.7 d)出现显著增加,同时 Aβ 表达水平与患者预后间有显著相关性,提示 Aβ 在 TBI 病理进程中扮演重要角色[12]。临床研究证实,不同程度 TBI 患者血清和/或脑脊液中 Aβ 蛋白水平有不同程度的升高,其含量的变化与临床表现及影像学改变密切相关。近来研究已使用侵袭性脑内微透析技术来直接监测人 sTBI 后脑实质间隙的 Aβ 浓度,研究结果显示,大多数患者在伤后数小时至数天脑组织细胞间液中 Aβ 浓度呈现明显上升趋势,伤情稳定期 Aβ 表达也趋于稳定,恢复期或二次损伤时 Aβ 表达下调。虽然没有损伤前数据提供,但研究证实 TBI 后 Aβ 浓度随时间推移稳步增加,脑中 Aβ 浓度改变与机体神经功能状态密切相关,神经细胞活性可调节细胞外 Aβ 浓度,改善神经功能状态后 Aβ 浓度随之下降[13]。

2.3 TBI 后 Aβ 水平增高机制 TBI 的原发损伤可以诱导生化及细胞生物学功能改变,导致神经元持续性损害和死亡。这种持续性损害作为二次损伤,致使多条凋亡和炎症通路被激活。TBI 后不仅 Aβ 蛋白迅速沉积,APP 相关分泌酶诸如 BACE1、PS-1 等蛋白表达也相应升高。尽管 APP 分泌酶在二次损伤中的作用机制仍不清楚,但研究结果表明 APP 分泌酶过表达可激活炎症信号通路,导致神经元细胞丢失和死亡,因此 APP 分泌酶可能是 TBI 的潜在治疗靶点[14]。

TBI 后可能有多种来源促使 Aβ 沉积形成,但其明显的病理特征是轴突肿胀。弥漫性轴突损伤(diffuse axonal injury, DAI)是 TBI 最普遍的病理改变之一,可独立促成显著的发病率和死亡率[15]。DAI 的关键特征是由于细胞骨架瓦解而发生轴突运输的中断,导致轴突内蛋白例如 APP 的累积。由于 TBI 后损伤的轴突内 APP 大量迅速积累,损伤的轴突内储存的大量 APP 可能会被错误切割从而迅速形成大量 Aβ,因此可被用于评估人类 DAI 病理过程。另外,脑脊液中 Aβ 表达上调可能是 TBI 后轴突损伤的重要表型,和血脑屏障的紊乱密切相关[16]。

3 TBI 导致 Aβ 异常代谢的治疗策略

TBI 导致 Aβ 异常代谢的治疗策略可以通过干预 Aβ 生成的各个环节得以实现。减少 Aβ 生成:Aβ 是 APP 通过酶解代谢的产物,据此可以通过抗体封闭或反义技术抑制 APP 基因表达,还可通过抑制 β、γ 分泌酶或激活 α 分泌酶减少 Aβ 生成,使更多 APP 形成具有神经保护作用的 sAPPα,这些 APP 分泌酶将有望成为治疗 TBI 的潜在靶点[17]。抑制 Aβ 聚集:研究表明,Aβ42 作为淀粉样斑块的"种子"首先聚集沉积,随后 Aβ40 和 Aβ42 不断加入,在脑内进一步沉积使核心扩大。因此抑制 Aβ 尤其是 Aβ42 的聚集和淀粉样纤维形成可能是 TBI 治疗的有效靶点。清除已聚集的 Aβ:脑内 Aβ 水平是其合成和酶解两条途径动态变化的表现。正常情况下,两条途径相互平衡从而使机体能够有效清除体内 Aβ,阻止 Aβ 过量聚集。因此可以通过刺激免疫系统来清除脑内过量 Aβ。研究[18]表明,通过对 APP 转基因鼠的 Aβ42 的主动和被动免疫可以降低脑淀粉样沉积,缓解转基因鼠的记忆/行为损害,增强学习记忆能力。降低 Aβ 的神经毒性:Aβ 在脑内的沉积对神经元有直接毒性,胞内离子稳态和能量代谢紊乱,最终导致神经元细胞破坏和凋亡,因此通过阻断 Aβ 作用机制的关键环节,改善 TBI 患者的运动和认知能力,减少由 TBI 所致的细胞死亡,防治 Aβ 毒性和保护神经元可以作为减缓 TBI 病程的策略之一。

4 前景展望

以上研究结果均表明,Aβ 表达水平有可能作为判断 TBI 发展和预后的指标。通过对 Aβ 的定量测定及其含量的动态变化研究,为早期诊断 TBI、进行病情评估及预后估计提供了可靠依据[19]。Aβ 作为一种 TBI 的生物标记物,可能为 TBI 患者在诊断标准的建立,治疗策略的选择以及预后的判断等方面提供帮助。研制出适合临床应用的 Aβ 特异性抑制剂以治疗 TBI,将有望成为治疗 TBI 的新途径。

5 参考文献

1 Hansson GK. Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. New Engl J Med, 2005, 352: 1685-1695.

2 Goedert M, Spillantini MG. A century of Alzheimer's disease. Science, 2006, 314: 777-781.

3 Lindholm D, Wootz H, Korhonen L. ER stress and neurodegenerative diseases. Cell Death Differ, 2006, 13: 385-392.

4 Gasparini L, Ongini E, Wilcock D, et al. Activity of flurbiprofen and chemically related anti-inflammatory drugs in models of Alzheimer's disease. Brain Res Brain Res Rev, 2005, 48: 400-408.

5 Clifford PM, Zarrabi S, Siu G, et al. Amyloid-beta peptides can enter the brain through a defective blood-brain barrier and bind selectively to neurons. Brain Res, 2007, 1142: 223-236.

6 Hossain S, Grande M, Ahmadkhanov G, et al. Binding of the Alzheimer amyloid beta-peptide to neuronal cell membranes by fluorescence cor-

万方数据

relation spectroscopy. Exp Mol Pathol,2007,82:169-174.

7 Resende R, Pereira C, Agostinho P, et al. Susceptibility of hippocampal neurons to amyloid beta peptide toxicity is associated with perturbation of Ca^{2+} homeostasis. Brain Res,2007,1143:11-21.

8 Chen XH, Johnson VE, Uryu K, et al. A lack of amyloid β plaques despite persistent accumulation of amyloid β in axons of long-term survivors of traumatic brain injury. Brian Pathol,2009,19:214-223.

9 Ikonomovic MD, Uryu K, Abrahamson EE, et al. Alzheimer's pathology in human temporal cortex surgically excised after severe brain injury. Exp Neurol,2004,190:192-203.

10 Chen XH, Siman R, Iwata A, et al. Long-term accumulation of amyloid-beta, beta-secretase, presenilin-1, and caspase-3 in damaged axons following brain trauma. Am J Pathol,2004,165:357-371.

11 Blasko I, Beer R, Bigl M, et al. Experimental traumatic brain injury in rats stimulates the expression, production and activity of Alzheimer's disease beta-secretase (BACE-1). J Neural Transm,2004,111:523-536.

12 Franz G, Beer R, Kampfl A, et al. Amyloid beta 1-42 and tau in cerebrospinal fluid after severe traumatic brain injury. Neurology, 2003,60:1457-1461.

13 Loane DJ, Pocivavsek A, Moussa CE, et al. Amyloid precursor protein secretases as therapeutic targets for traumatic brain injury. Nat Med, 2009,15:377-379.

14 Fiala M, Cribbs DH, Rosenthal M, et al. Phagocytosis of amyloid-beta and inflammation: two faces of innate immunity in Alzheimer's disease. J Alzheimers Dis,2007,11:457-463.

15 Reichard PR, White CL 3rd, Hladik CL, et al. Beta-amyloid precursor protein staining of nonaccidental central nervous system injury in pediatric autopsies. J Neurotrauma,2003,20:347-355.

16 Lichtlen P, Mohajeri MH. Antibody-based approaches in Alzheimer's research: safety, pharmacokinetics, metabolism, and analytical tools. J Neurochem,2008,104:859-874.

17 Brody DL, Magnoni S, Schwetye KE, et al. Amyloid-β dynamics correlate with neurological status in the injured human brain. Science, 2008,321:1221-1224.

18 Bard F, Cannon C, Barbour R, et al. Peripherally administered antibodies against amyloid β peptide enter the central nervous system and reduce pathology in a mouse model of Alzheimer disease. Nat Med, 2000,6:916-919.

19 Johnson VE, Stewart W, Smith DH. Traumatic brain injury and amyloid-β pathology: a link to Alzheimer's disease? Nat Rev Neurosci, 2010,11:361-370.

(收稿日期:2010-09-13)

(本文编辑:杨军)

消　息

2011 年第三届中国北京抗体和疫苗大会暨展览会

由中国医药生物技术协会主办,大连百奥泰科技有限公司承办的 2011 第三届抗体大会,将于 2011 年 3 月 23-25 日在北京国家会议中心举行。

开发安全有效的抗体药物,不仅是生物制药领域的崇高使命,也是生物制药领域发展最快的引擎。为推动官、产、学、研在抗体研究创新上的交流合作,已成功举办了两届抗体大会。上届会议中,来自世界 40 多个国家和地区的近 2000 位学术研究机构和制药公司的专家、企业家参会参展,大会取得了圆满成功。

本届抗体大会有幸邀请到的演讲嘉宾主要有:美国辉瑞公司副总裁 Nestor A. Molfino 博士,美国 MedImmune 公司副总裁 Jaume Pons 博士,美国密理博公司副总裁 Paul Chapman 博士,加拿大阿尔伯塔大学医学系教授 Anna Janowska-Wieczorek 博士,瑞典于默奥大学教授 Thomas Grundstr&oumlm 博士等。

第三届抗体大会除主论坛外,将组织抗体研究的突破进展—从发现到技术革新;抗体分子靶向治疗疾病的研究—靶向抗体治疗的发现;治疗性抗体研究及开发—从初期阶段到最新阶段;抗体的医学应用—从诊断到临床实践;抗体的研究应用—抗体作为有力的研究工具;抗体设计、工程和生产—加速抗体工业进程等六大方面 100 多个科技论坛和分会活动,为专家学者、企业精英搭建专题演讲和交流合作的平台。同期,将举办抗体产品和设备展览会。第四届蛋白质和多肽大会、第三届疫苗大会和第三届生软大会将同期同地举办,四会联动更精彩。

我们真诚地邀请相关领域内的专家学者、企业负责人和商务代表参加本次会议。

联系人:杨妮　电话:0411-84795469、13624084306

传真:0411-84796897　邮件:yangni@bitconferences.com

万方数据