

学校编码: 10384

分类号_____密级_____

学 号: 30520100153940

UDC _____

厦 门 大 学

博 士 学 位 论 文

人类 M1 Muscarinic 乙酰胆碱受体调控
BACE1 水平的新机制

A new mechanism by which M1 Muscarinic Acetylcholine
Receptor regulates BACE1 level

姜尚彤

指导教师姓名: 许华曦 教授

张云武 教授

专 业 名 称: 化学生物学

论文提交日期: 2013 年 月 日

论文答辩时间: 2013 年 月 日

学位授予日期:

答辩委员会主席:

评 阅 人:

2013 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

阿尔茨海默症 (Alzheimer's disease, AD) 病人的显著病变之一是大脑中的 β 分泌酶 BACE1 切割淀粉样前体蛋白 APP 产生的 $A\beta$ 所形成的具有神经毒性的淀粉样斑。此外 BACE1 也参与精神分裂症 (Schizophrenia) 的发病。由于 BACE1 活性及水平受到细胞内多种蛋白的调控, 因此寻找调控 BACE1 的蛋白在 AD 和精神分裂症的治疗中具有重要意义。

我们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 (M1 Muscarinic Acetylcholine Receptor, M1 mAChR, 以下简称 M1 受体), 并在酵母中通过 β -gal 活性证实了该蛋白可以和 BACE1 在酵母系统中发生相互作用。M1 受体密切调控乙酰胆碱能受体的活性, 而乙酰胆碱能神经元细胞在阿尔茨海默症中受到明显损害。许多研究提示 M1 受体可能成为阿尔茨海默症治疗的新靶点, 这就要求我们深入理解 M1 受体在疾病过程中的参与机制。在此, 我们进一步在过表达人类 Swedish 突变 APP 的 HEK293Swedish 以及过表达 APP695 的 N2a695 等哺乳动物细胞内, 通过免疫生物学技术证实了 M1 受体可以和非成熟形式的 BACE1 在内质网中发生相互作用。有研究提示, M1 受体的激动剂可通过 PKC/MEK 信号通路增加非淀粉源途径的 APP 加工过程, 降低 $A\beta$ 的形成, 抑制 tau 蛋白的过度磷酸化, 从而缓解与阿尔茨海默症相伴的认知障碍等症状, 因此, 特异性的 M1 受体激动剂在治疗 AD 方面具有潜在的应用前景。另有研究表明 M1 受体激动剂 AF267 可以降低 AD 模型小鼠大脑中的 BACE1 水平, 但机制不明, 并且此激动剂可以非特异地激活 M 型乙酰胆碱受体其他的同家族成员。另据一项研究发现, 在 M1 受体及其同家族成员 M3 受体的共同激动剂 talsaclidine 处理下, BACE1 的蛋白水平显著升高, 该过程依赖于 PKC 和 MAPK 信号通路。为了深入理解 M1 受体调控 BACE1 的机制, 解释以往报道中颇具争议的观察结果, 我们从蛋白-蛋白之间相互作用的角度, 开展 M1 受体对 BACE1 调控新机制的研究, 结果发现: (1) 在 HEK293Swedish 细胞中, 瞬时转染 M1 受体可以剂量相关性地降低 BACE1 的蛋白水平, 从而减少 APP 经 BACE1 切割的产物 $A\beta$ 水平, 但并不影响 BACE1 的

mRNA 水平；(2) 用 siRNA 下调细胞内的 M1 受体，可观察到 BACE1 蛋白的累积；(3) 过表达 M1 受体引起的 BACE1 蛋白水平下降，可以通过蛋白酶体的抑制剂处理得以补偿性恢复，但却不能被溶酶体抑制剂补偿恢复；(4) M1 受体的过表达可以引起 BACE1 泛素化的增加；(5) 当使用抑制剂阻断 M1 受体下游的 MAPK、PKC 以及 PI3K-Akt 等信号通路时，并不影响 M1 受体过表达造成的 BACE1 的降解；(6) 过表达丧失信号转导功能的 C 端缺失 M1 受体突变体同样引起 BACE1 减少；(7) 过表达 M1 受体的 HEK-APP Swedish 细胞经 M1 受体激动剂 McN-A-343 处理后，其 M1 受体的分布表现出区室化，其 BACE1 含量进一步降低；(8) 过表达 BACE1 能够引起 M1 受体蛋白和 mRNA 的积累。我们的这些结果表明，M1 受体可以通过与 BACE1 的直接相互作用，介导了 BACE1 蛋白通过蛋白酶体-泛素途径的降解，从而抑制了 A β 的生成和积累。而这一过程不依赖于 M1 受体的信号途径。我们的研究成果拓展了 M1 受体调控 BACE1 的机制，为 AD 以及精神分裂症的治疗和药物开发提供了重要的理论依据。

关键词：阿尔茨海默症； β 分泌酶 BACE1；Muscarinic M1 乙酰胆碱受体；精神分裂症

Abstract

One pronounced pathology of Alzheimer's disease (AD) is the accumulation of neurotoxic peptide β -amyloid ($A\beta$), which is the resultant product of APP upon sequential cleavage 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. Moreover, BACE1 is found to be involved in Schizophrenia. Therefore, identification of proteins that interact with BACE1 and regulate its level/activity is important in AD and Schizophrenia research.

We have identified M1 muscarinic acetylcholine receptor (M1 mAChR) as a potential BACE1-interacting protein by yeast two-hybrid screening of a human fetal brain cDNA library. M1 mAChR is an important G protein-coupled neurotransmitter receptor for acetylcholine and mediates the activity of cholinergic neurons that are impaired in AD. It has been found that M1 mAChR activation leads to increased non-amyloidogenic APP processing, decreased $A\beta$ formation, repressed tau hyperphosphorylation and ameliorated cognitive dysfunction, suggesting that M1 mAChR may be an important therapeutic target for AD treatment. However, the detailed mechanism for the participation of M1 mAChR in AD has yet to be elucidated. Herein, we confirmed the interaction between M1 mAChR and BACE1 by β -gal assay in yeast system and by co-immunoprecipitation assay in mammalian cell culture. We carried out immunofluorescence assays to show that M1 mAChR may interact with the immature form of BACE1 in the endoplasmic reticulum (ER). In addition, we found that transient overexpression of M1 mAChR led to a reduction of BACE1 protein level (but not its mRNA level) in a dose-dependent manner, accompanied by a decreased level of $A\beta$, whereas downregulation of M1 mAChR by siRNA resulted in the accumulation of BACE1. The reduction of BACE1 level induced by M1 mAChR overexpression can be rescued by the proteasome inhibitor

lactacystin, but not by the lysosome inhibitor NH_4Cl . In addition, M1 mAChR overexpression led to enhanced ubiquitination of BACE1. Furthermore, blockage of MAPK, PKC, PI3K-Akt signaling pathways had no effect on rescuing M1 mAChR overexpression-mediated BACE1 degradation. Overexpression of C-terminal truncated mutant M1 mAChR that lacks its transduction function also resulted in a reduced BACE1 level. Moreover, treatments with an M1 mAChR agonist, McN-A-343 altered the subcellular localization of M1 mAChR and further reduced BACE1 level in HEK293Swedish cells that overexpress M1 mAChRs. Finally, BACE1 overexpression also resulted in an up-regulation of both M1 mAChR mRNA and protein levels. Together, our results demonstrate that m1 mAChR can interact with BACE1 and thus mediates BACE1 degradation through the proteasome-ubiquitination pathway, resulting in a reduction in $\text{A}\beta$ generation. This finding identifies a novel mechanism underlying the participation of M1 mAChR in AD and may be helpful for therapeutic development.

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

目录

第一章 前言	1
1 阿尔茨海默症	1
2 BACE1 简介	9
3. α -分泌酶简介	13
4. γ -分泌酶简介	13
5 M1 受体及其在阿尔茨海默症中的作用	14
6.精神分裂症中的 M1 受体和 BACE1	17
7 本文研究的内容和意义	23
第二章 材料与amp;方法	25
1.材料	25
2.方法	34
第三章 结果与分析	51
1. 酵母双杂交筛选到与 BACE1 相互作用的蛋白 M1 mAChR.....	51
2. M1 受体在 HEK293SWEDISH 细胞中被高度糖基化.....	51
3. M1 受体与 BACE1 在真核细胞中发生直接相互作用.....	53
4.免疫荧光鉴定 M1 受体和 BACE1 共定位在内质网中.....	55
5. 过表达 M1 受体降低 BACE1 蛋白水平以及 APP 淀粉源途径水解产物 $A\beta$, 但不影响 BACE1 的 mRNA 水平	56
6.siRNA 下调内源 M1 受体表达引起 BACE1 蛋白积累.....	59
7.M1 受体介导的 BACE1 降解是依赖于蛋白酶体途径的.....	60
8.M1 受体介导的 BACE1 降解不依赖于 MAPK/ERK, PKC 和 PI3K/AKT 信号 通路.....	64
9. 过表达缺失 C 端信号转导功能关键区域的 M1 受体突变体同样引起 BACE1 水平的下降.....	65
10.激动剂对 M1 受体亚细胞定位的影响	67

11.M1 受体激动剂引起 BACE1 下调	68
12.过表达 BACE1 引起 M1 受体蛋白积累和 mRNA 上调.....	68
13.组织内的 M1 受体含量分布情况	70
14.体内实验证明 M1 受体与 BACE1 发生相互作用.....	71
第四章 讨论与展望	72
参考文献	79
附录.....	91
致 谢.....	95

厦门大学博硕士学位论文摘要库

Table of Contents

CHAPTER 1 INTRODUCTION	1
1.ALZHEIMER’S DISEASE OVERVIEW	1
2.BACE1 INTRODUCTION.....	9
3.α-SECRETASE INTRODUCTION	13
4.Γ-SECRETASE INTRODUCTION.....	13
5.M1 MACHR IN AD	14
6.BACE1 AND M1 MACHR IN SCHIZOPHRENIA	17
7.PURPOSES AND SIGNIFICANCE OF THIS RESEARCH	23
CHAPTER 2 MATERIALS AND METHODS	25
1.MATERIALS	25
2. METHODS	34
CHAPTER 3 RESULTS AND ANALYSIS.....	51
1.M1 MACHR IDENTIFIED AS A BACE1-INTERACTING PROTEIN BY YEAST TWO-HYBRID	51
2.M1 MACHR IS HIGHLY GLYCOSYLATED IN HEK293SWEDISH CELLS.....	51
3. M1_MACHR DIRECTLY INTERACTS WITH BACE1 IN EUKARYOCYTE	53
4.M1 MACHR AND BACE1 COLOCALIZE IN THE ENDOPLASMIC RETICULUM	55
5. M1 MACHR OVEREXPRESSION DECREASES PROTEIN LEVELS OF BACE1 AND Aβ BUT NOT MRNA LEVEL OF BACE1	56
6. M1 MACHR KNOCKDOWN LEADS TO BACE1 ACCUMULATION	59
7. M1 MACHR -MEDIATED BACE1 DEGRADATION IS PROTEASOME DEPENDENT	60
8. MEK,PKC AND PI3K SIGNALING PATHWAYS ARE NOT INVOLVED IN M1 MACHR -INDUCED BACE1 DEGRADATION	64
9.OVEREXPRESSION OF MUTANT M1ΔC DECREASES BACE1 LEVEL	65
10.M1 AGONIST TREATMENT AFFECTS M1 MACHR’S SUBCELLULAR LOCALIZATION	67
11. M1 MACHR AGONIST TREATMENT RESULTS IN A REDUCTION IN BACE1 LEVEL ..	68
12.OVEREXPRESSION OF BACE1 LEADS TO INCREASED LEVELS OF M1 MRNA AND	

PROTEIN.....	68
13. M1 MACHR DISTRIBUTION IN MOUSE TISSUES	70
14. IN VIVO EVIDENCE FOR INTERACTION BETWEEN M1MACHR AND BACE1.....	71
CHAPTER 4 DISCUSSION AND PROSPECT.....	72
REFERENCES	79
APPENDICES	91
ACKNOWLEDGEMENTS	95

厦门大学博硕士学位论文摘要

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), 又被称为老年痴呆症, 是一种普遍的神经系统退行性疾病, 在老年人群中呈高发性。临床研究提示, 该病可分少数 (约占 15%~20%) 有家族遗传史的家族性 AD (familial AD, FAD) 和更为多见的、散发的 AD (sporadic AD, SAD)。常见的散发类型影响 65 岁以上的老年人, 其发病率约为 10%, 在 85 岁以上的人群中, 其发病率高达 50%^[1]。据统计, 目前中、美两国的 AD 患者人数皆超过 600 万^{[2][3]}, 全世界范围 AD 病人超过了 2000 万, 并呈现持续上升的态势, 随着世界人口进入老龄化阶段, 预计 2020 年全世界将有逾 4000 万 AD 患者, 2040 年这一数字将成倍飙升至 8100 万^[4]。AD 给社会和国家带来沉重的负担, 其治疗费用惊人, 据悉每年美国支出逾 800 亿美元用于该病治疗。因而全世界正在积极探索该病的起因以及治疗策略。

AD 领域的研究目前主要集中在三个方面: 1) AD 病理特征的研究, 包括神经元内的纤维状缠结和淀粉样斑块。前者由螺旋纤维 (paired-helical filament, PHF), 即成对的 10nm 左右相互缠绕成螺旋的细丝构成。PHF 的主要成分是高度磷酸化的微管相关蛋白 tau (microtubule-associated tau)^[5] 后者主要由 39 至 43 个氨基酸的 A β 肽段组成^[6], 由淀粉样前体蛋白切割而成, 具有神经毒性。2) 潜在的和 AD 发病率密切相关的突变基因的研究。迄今已鉴定出的 AD 遗传因素都同 A β 的产生或沉积有关, 譬如 1 号染色体上 1q31-42 的 Presenilin 2 (PS2) 基因, 14 号染色体上 14q24.3 区域的 Presenilin 1 (PS1) 基因, 以及 21 号染色体上的 APP 基因, 其中 PS1 基因的突变与早发性家族性 AD (FAD) 的相关性高达 70%-80%, 被认为是 FAD 的主要遗传基因, 而 E 载脂蛋白 (apolipoprotein E, ApoE) 的等位基因 $\epsilon 4$ (ApoE4) 则与晚发性 AD 密切相关^[7]。PS1 的突变约有 135 种, 主要发生在 8 号外显子编码的与膜界面临近和接触的区域, 高度保守的跨膜区, 和连接第 7、第 8 跨膜区的大环处^[8]。又如, 17 号染色体上的 MAPT 基因的突变可引发 tau 蛋白的过度磷酸化, 从而加速神经元纤维缠结的形成^[9]。3) 神经递质丢失。1976 年研究

人员发现了胆碱能神经元的缺陷与AD的相关性，即调节胆碱能递质可以缓解患者症状，从而开发出拟胆碱类激动剂药物治疗AD，遗憾的是这些药物无法从根本上治愈AD^[10]，并带有一系列副作用，因此尚未得到FDA的批准。

从阿尔茨海默先生首次报道该病，直到医疗卫生水平高度发展的今天，AD相关研究已逾百年，但科学家们仍旧不能找到其发病机理，更未能找到有效的预防措施和治疗手段。

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) 人格改变 (2) 行为怪异 (2) 认知障碍 (3) 渐进性失语 (4) 记忆损伤 (5) 定向能力障碍^[11]。早期中期主要表现为：自制力和理解力丧失，记忆力减退，个性改变。晚期表现为：记忆力、语言和行为能力丧失，日常生活不能自理，直至病程后期卧床不起。AD的病理改变主要发生在海马、大脑皮层以及前脑基底，其病理特征以神经纤维缠结 (neurofibrillary tangles, NFTs)、淀粉样斑 (amyloid plaques) 和胆碱能神经元缺失为代表。

1.2.1 淀粉样斑

脑外淀粉样沉积较大，形状不定，可以出现在任何器官；其在大脑中的沉积界限明显，沉积成淀粉样斑，它是由 β -淀粉样蛋白 $A\beta$ 聚合形成的多聚体。将 $A\beta$ 注射到老鼠的大脑中会引起神经元死亡，因此 $A\beta$ 的过量生成被认为是导致AD的重要因素，它是由淀粉样前体蛋白 (amyloid precursor protein, APP) 经 β -分泌酶和 γ -分泌酶先后在其第1或11位点和其第40或42位点切割产生的，即 β -分泌酶先切割APP产生 $sAPP\beta$ 和跨膜片段 $\beta CTF(C99)$ ， βCTF 再进一步被 γ -分泌酶在膜双分子层内剪切，产生具有转录活性的片段AICD以及 $A\beta$ 。 $A\beta$ 聚集形成的细胞外斑块，该代谢途径被称为淀粉源途径。此外APP还存在着另一条代谢途径，与上述途径竞争性存在，即先被 α -分泌酶在其胞外区近膜位置切割成可溶性 $sAPP\alpha$ 分子和跨膜片段 $\alpha CTF(C83)$ ， αCTF 再一步被 γ -分泌酶剪切生成3kd的p3片段及AICD，这条途径称为非淀粉源途径，如图1所示。 $A\beta$ 有 $A\beta_{40}$ 和 $A\beta_{42}$ 两种主要存在形式，分别由40和42个氨基酸组成，分子量约4kD。分泌的 $A\beta$ 中， $A\beta_{40}$ 大约占了90%^[12]，但 $A\beta_{42}$ 却是存在于淀粉样斑中的主要形式。 $A\beta_{42}$ 比 $A\beta_{40}$ 多两个疏水氨基酸，即丙氨酸(A)和异亮氨酸(I)，使得 $A\beta_{42}$ 更易聚

合形成沉淀^[13]，从而更具有致病性。

A β 级联假说认为：A β 的积累和沉积能触发一系列复杂的下游级联反应，最终引起 AD 的发生^[14,15]。AD 的形成首先是 A β 的渐进性异常变化，例如早老素蛋白 1 (PS1)、早老素蛋白 2 (PS2)、APP，发生基因突变，引起大脑中 A β 产生的增多，或者 ApoE 的多态性（尤其是 $\epsilon 4$ ）引起 A β 清除的减少，还有 A β_{42} /A β_{40} 比例的升高，加剧了 A β 的寡聚化。疏水性 A β 具有很强的神经毒性，引发了一个缓慢、致命的级联过程：包括诱发以星状胶质细胞增生（astrocytosis）和小胶质细胞增生（microgliosis）为特点的一系列炎症反应，导致正常的可溶性 tau 蛋白被过度磷酸化而形成寡聚的不溶性双螺旋纤维，诱发突触病变，离子失衡，氧化压力增加，细胞膜通透性改变，最终发生渐进性的神经细胞凋亡并伴随着多种神经递质丢失等^[16]。

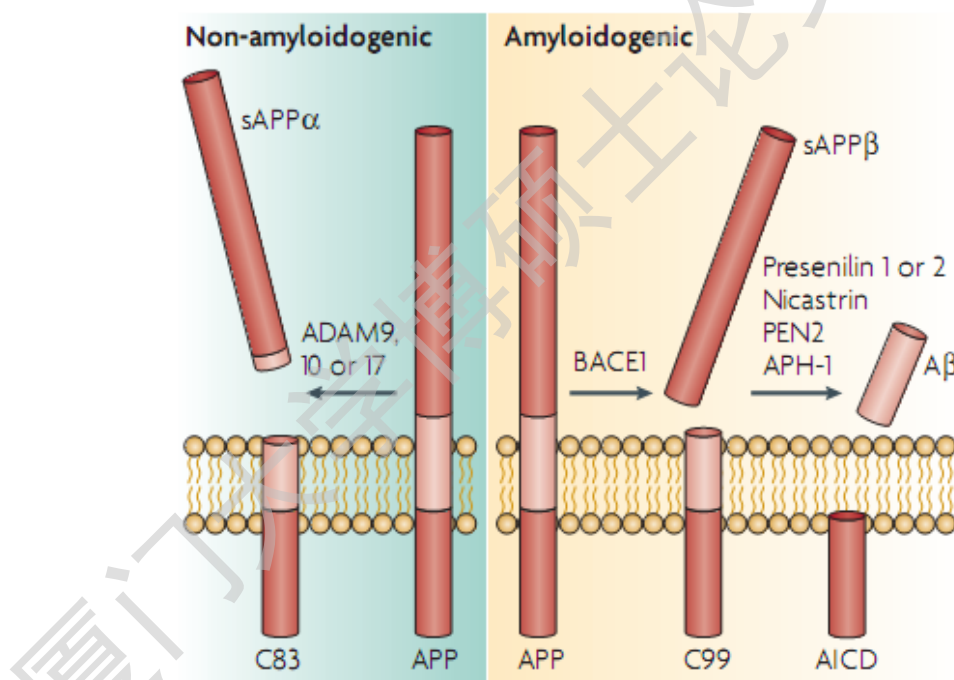


图 1. APP 蛋白水解过程示意图 (摘自摘自 LaFerla FM 等, 2007)

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

1.2.2 神经元纤维缠结

神经元纤维缠结主要由 tau 蛋白过度磷酸化引起^[17]。tau 是微管相关 (microtubule-associated protein, MAP) 蛋白的主要成分，它被过度磷酸化时，会从微管脱落，失去催化微管装配、稳定微管结构的生理功能，而且易于聚集，形成细胞内不溶性配对螺旋纤维 (paired-helical filament, PHF)，造成神经元生

理损伤, tau还可能介导A β 的细胞毒性, 引发退行性病变^[18]。细胞和动物实验均提示, 过度磷酸化的tau单体和寡聚体具有神经毒性^[19,20]; AD病人大脑中, 异常高度磷酸化的tau 蛋白含量显著升高并聚集成PHF, 导致细胞骨架结构异常和神经细胞死亡。

tau 蛋白的磷酸化水平也可以受到蛋白磷酸酯酶和蛋白激酶分子开关的调控。诸如, 蛋白激酶 C、钙调蛋白依赖的蛋白激酶 II、糖原合成酶激酶 GSK-3 β 等是导致 tau 蛋白发生过度磷酸化的关键蛋白激酶^[21]。tau 蛋白主要在中枢神经系统神经元的轴突表达, 亦存在于星形胶质细胞和少突胶质细胞内, 在外周神经系统的神经元轴突也有表达。其亚细胞定位在细胞质, 然而有报道 tau 蛋白也在质膜上存在, tau 的磷酸化结构基础是侧翼的微管结合重复序列和 79 个潜在的 Ser 和 Thr 磷酸化位点。在正常 tau 蛋白上, 大约只有 30 个左右的位点可以被磷酸化。但成人 tau 蛋白分子有 223 个位点被磷酸化, tau 磷酸化程度的增加使 tau 结合微管的能力下降。

1.2.3 胆碱能神经元病变

乙酰胆碱胆^[22]是突触间一种重要的神经递质, 胆碱能神经元通过该递质的释放来实现细胞之间的通讯, 它由乙酰胆碱转移酶合成^[23], 由乙酰胆碱酯酶水解。胆碱能神经元受损或者丢失, 阻碍神经元之间的信息传递, 容易引发神经退行性疾病。据报道在 AD 发病的过程中, 最先受损的是大脑的胆碱能神经系统。

上世纪 70 年代初期, 动物实验提示胆碱能系统和记忆的形成与存储相关^[24]。1976 至 1977 年, 先后有三个独立的研究都发现 AD 病人海马区以及新皮层内乙酰胆碱转移酶^[23]的活性显著降低^[25, 26, 27]。另据报道, AD 病患中枢神经系统 (CNS) 中的乙酰胆碱酯酶异常活跃, 同时 ACh 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^[28]。1988 年借助放射性自显影技术, 科学家发现 AD 病人大脑皮层中的烟碱型乙酰胆碱结合位点数目明显减少^[29], 又有形态学观测显示患者大脑基底核胆碱能神经元严重退化, 皮质神经元明显缺失, 因此学术界一致认为基底核、皮质及其相关区域神经递质胆碱的缺失是导致 AD 患者认知力退化的主要病因^[30], 即“AD 胆碱能神经元损伤假说”由此诞生, 随后 AD 治疗的主要策略转向为提高脑内乙酰胆碱 ACh 水平。增加脑内 ACh 的经典途径包括: (1) 突触前途径。即通过应用 ACh 前体药物和促 ACh 释放剂等方式提高突触前递质的合成与

释放；(2) 突触后途径。即使用突触后 M1 受体的激动剂，增强拟胆碱作用。(3) 突触间隙途径。即依赖有效抑制乙酰胆碱酯酶的活性，提高 ACh 的作用时间。

1.3 阿尔茨海默症的药物治疗

治疗AD的药物大致可分为A β 生成和沉积的抑制剂药物，tau蛋白异常磷酸化抑制剂药物，抗氧化药物，胆碱能系统药物，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，美金刚等，可是至今为止所有的药物只能在一定程度上减轻症状或缓解病情发展。

1.3.1 抑制A β 形成和沉积的药物

新药开发的主要靶点之一是切割APP产生A β 的两个分泌酶。例如 γ 分泌酶抑制剂LY 575, LY 411^[31]，以及BMS 289948^[32]，其效果一般。针对A β 形成的限速酶BACE1的抑制剂，也是一个治疗AD的热门靶点。动物实验发现，敲除BACE1基因的小鼠脑中并没有A β 的产生，能够正常生活，这表明通过抑制A β 的生成来改善或治疗AD是可行的^[33]。但是，分泌酶广泛分布于全身各组织，作用底物很多，长期服用此类药物将引发严重的不良反应；并且确诊为AD时，大多患者大脑中已堆积了大量的A β ，应用此类药物为时已晚。因而将 β 和 γ 分泌酶活性作为靶点的策略将受到很大限制。

利用人工合成的A β 多肽疫苗接种，与弗氏佐剂一起免疫动物或人体的方法，可以在体内产生A β 抗体，穿过血脑屏障结合脑中A β ，募集星形胶质细胞和小胶质细胞对其吞噬，从而避免A β 的沉积和淀粉样斑的生成；也可以直接注入A β 抗体，刺激并招募吞噬细胞来清除抗原抗体复合物，从而达到清除淀粉样斑的目的^[34]。目前，A β 抗体类药物已用于I期临床试验，但多肽类疫苗会引起脑部炎症反应，例如AN 1792 在进入II期临床试验中引起强烈的中枢神经系统炎症反应而被迫终止^[14]。

1.3.2 抑制tau蛋白过度磷酸化的药物

由于GSK-3 β 活性与tau蛋白的磷酸化水平成正相关性，目前针对GSK-3 β 活性治疗AD开发出的一系列药物。葛兰素史克公司开发的SB 415286等^[15]已进入临床前研究阶段。另外，具有选择性竞争性的新分子TDZD很有可能成为靶向GSK-3 β 活性的AD新药^[35]。

1.3.3 美金刚(memantine)

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