以 γ 分泌酶为靶点治疗阿尔茨海默病的 中药单体及组分研究进展

刘美霞 刘剑刚 李 浩

中国随着人口的老齡化,阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)的发病率呈逐年上升^[1],老年斑(senile plaque, SP)是 AD 的主要病理学特征之一,由 β 淀粉样蛋白(amyloid β -protein, A β)的大量产生和聚集而形成^[2]。研究已证实, γ 分泌酶是 A β 产生的决定性酶,对其进行有效抑制能够减少 A β 的产生,该酶已成为目前 AD 研究领域的一个重要靶点^[3]。AD 是一种与年龄密切相关的进展性神经系统退行性疾病,以进行性认知功能障碍和记忆损害为主要临床特征,关于 AD 的治疗目前尚无特效药物,已开发的部分缓解药物只能减轻症状或延缓其发展,并不能从根本上遏制 AD 的发生和发展^[4]。中医药的防治具有一定特色和优势,随着对 γ 分泌酶的研究逐渐深入, γ 分泌酶抑制剂的研发日趋受到重视,该研究领域的学者也开始尝试以 γ 分泌酶为靶点进行中药单体及组分治疗 AD 的研究,以期中医药有效防治 AD 开辟一条新的途径。

1 γ 分泌酶概述

γ 分泌酶是膜内切割蛋白酶家族的成员,一种大分子量的复合体,目前发现至少由四个亚单位组成,包括早老蛋白(presenilin, PS)、单过性跨膜蛋白(nicastrin, NCT)、前咽缺陷蛋白-1(anterior pharynx defective-1, Aph-1)及早老蛋白增强子-2(presenilin enhancer-2, Pen-2)^[5]。 γ 分泌酶主要参与 β 淀粉样蛋白前体(amyloid precursor protein, APP)和 Notch 等重要跨膜蛋白的切割和水解过程。研究表明,由这四部分组成的复合物具有 γ 分泌酶活性,单独改变其中每一蛋白组成的构成和含量均会影响到各部分的稳定性,涉及其蛋白质的成熟、糖基化及其他部分细胞的表面运输,并导致 γ 分泌酶的活性改变^[6]。因此, γ 分泌酶各成分的变化对于 γ 分泌酶发挥正常功能都具有不容忽视的作用。

2 AD 的生理病理与 γ 分泌酶的作用

与 AD 密切相关的重要病理性代谢产物 A β 来源于其前体物质 APP。APP 是一种跨膜蛋白质,在体内各种组织广泛存在,而在脑组织的含量最高,它有两条代谢途径:一条是不产生 A β 途径,即 APP 由 γ 分泌酶裂解成可溶性的 APP 肽,APP 肽再进一步由 γ 分泌酶裂解产生 P3,生理条件下的调节主要经此途径代谢,这是对细胞有益的细胞外片段(sAPP α);另一条是产生 A β 途径,即 APP 在 N 端经 β 分泌酶酶切后生成可溶性的 sAPP β 和仍结合在膜上的 C99,后者在跨膜区经 γ 分泌酶水解产生完整的 A β ,A β 包括 A β 40 和 A β 42,分泌的 A β 大多是 A β 40,约占分泌总量的 90%;而 A β 42 约占 10%,但后者有更强的疏水性和更强的神经毒性,比 A β 40 更容易发生聚积,是与 AD 发生最相关的物质蛋白。实验证明当体内 A β 总量降低,A β 42 降低,但 A β 42/A β 40 升高时,仍然可以导致 A β 的沉积,对脑神经元产生一系列的毒害,造成脑神经元的损伤,这是目前公认的导致 AD 发生、发展的起始原因和共同通路^[7],在机体某些病理条件下的调节主要经此途径代谢。

γ 分泌酶切割 Notch 产生的膜内片段可以参与核内信号转导,进而调节生长发育;切割 APP 产生的 A β 与 AD 发病密切相关,APP 的加工过程是系统膜内蛋白酶解(regulated intramembrane proteolysis, RIP)的标准过程,系统膜内蛋白酶解描述的是对单次跨膜蛋白顺次切割的过程,这个过程往往同核内信号转导相偶联^[8], γ 分泌酶在其中发挥重要作用。由此可见, γ 分泌酶处于 APP 代谢中催化 A β 生成的终末阶段及决定性阶段,不仅是导致 AD 的关键因素之一,也是预防 AD 发生的关键靶点。

3 以 γ 分泌酶为靶点的中药单体及组分研究

γ 分泌酶各成分的变化影响着 γ 分泌酶的活性,而 γ 分泌酶的活性又与 AD 的发生密切相关,因此, γ 分泌酶及其各成分成为 AD 治疗的潜在靶点,为药物干预 AD 开辟了新的途径。以 γ 分泌酶及其各成分为靶点进行中药单体及组分的干预研究也成为中医药防治 AD 方面的一个热点。

基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.81173383);国家“重大新药创制”科技重大专项基金资助项目(No. 2009ZX09103-391)

作者单位:中国中医科学院西苑医院老年科(北京 100091)

通讯作者:刘剑刚, Tel: 010-62835630, E-mail: liujiangang2002@sina.com

DOI: 10.7661/CJIM.2014.03.0376

3.1 五味子乙素 对海风藤化学成分的相关研究发现,其脂溶性有效成分主要包括挥发油、联苯环辛烯类木脂素等,联苯环辛烯类木脂素中五味子乙素(Schizandrin B; Schisandrin BAS, 分子式: $C_{23}H_{28}O_6$) 含量为 $>2\%$ ^[9]; 对其生物活性研究发现,五味子乙素能够抑制体外培养高效表达 A β 42 的 M146L 细胞(转染 AD 患者 APP 基因和 PS1 基因的中华仓鼠卵巢巢细胞)分泌 A β 42 及 γ 分泌酶的活性^[10],故认为海风藤中的五味子乙素对 γ 分泌酶具有抑制作用,其降低 A β 42 是通过抑制 γ 分泌酶的活性来实现的。

3.2 淫羊藿苷 淫羊藿具有补肾阳、强筋骨、祛风湿的功效。淫羊藿苷(Icariin, 分子式: $C_{33}H_{40}O_{15}$) 为淫羊藿中黄酮类物质,是淫羊藿的主要活性成分,具有预防神经损伤^[11],保护神经元及其线粒体的作用^[12,13]。实验研究以淫羊藿苷对 6 月龄快速老化小鼠(SAMP8) 干预 4 周,结果发现小鼠海马中 PS1 基因的表达明显下调,淫羊藿苷可能通过抑制 γ 分泌酶活性,下调 PS1 基因的表达,进而达到治疗 AD 的作用^[14]。

3.3 齐墩果酸 齐墩果酸(oleanic acid, 分子式: $C_{30}H_{48}O_3$) 是女贞子中有效成分,属于不饱和五环三萜类化合物,具有护肝、解毒、降糖、降脂、调节免疫和抗氧化的作用^[15],对谷氨酸诱导的海马神经元损伤有一定的保护作用^[16]。研究齐墩果酸对小鼠海马中 PS1 基因的干预实验,发现其具有下调 PS1 基因表达进而抑制 AD 发展的作用^[17]。

3.4 二苯乙烯苷 何首乌具有补肝肾、收敛精气等功效。二苯乙烯苷(tetrahydroxy stilbene-2-O- β -D-glucoside, 分子式: $C_{20}H_{22}O_9$) 是何首乌的水溶性主要有效成分,属多羟基芪类化合物,具有降低胆固醇、保肝、防治动脉硬化、抗衰老及提高免疫功能等作用^[18]。有研究报道对 4 月龄 APP 转基因小鼠开始灌胃给予二苯乙烯苷 6 个月,发现小鼠海马区 PS1 表达较模型小鼠明显减少,同时发现二苯乙烯苷可明显减少模型小鼠脑内的 APP 和 A β 生成,而且能够改善模型小鼠的学习记忆能力,提示二苯乙烯苷能够通过下调 PS1 的表达,进而抑制 γ 分泌酶活性达到防治 AD 的作用,具有良好的应用前景和开发价值^[19]。

3.5 人参皂甙 人参是传统的益智药物,具有大补元气、补脾益肺、安神益智等功效。人参皂苷(ginsenoside, GS) 是人参的主要有效成分,现已明确知道的 GS 单体约有 40 余种,人参皂苷 Rb₁ (Ginsenoside Rb₁, 分子式: $C_{54}H_{92}O_{23}$) 是人参的主要有效成分之一,具有改善记忆、促进神经元突起再生、增强神经元抗损伤与凋亡的能力^[20-22]。研究表明,采

用氯化铝联合 D-半乳糖的方法建立 AD 动物模型,观察人参皂甙 Rb₁ 对顶叶皮层 β 分泌酶及 PS1 的影响,结果显示,应用人参皂甙 Rb₁ 后,AD 大鼠皮层神经元中 β 分泌酶与 PS1 水平明显下降,A β 的异常表达明显减少,AD 大鼠学习记忆能力明显提高,提示人参皂甙 Rb₁ 可能通过同时抑制 β 分泌酶和 γ 分泌酶的表达而达到减少 A β 的产生^[23]。

3.6 姜黄素 姜黄素(curcumin, 分子式: $C_{21}H_{20}O_6$) 是一种从姜科植物姜黄等的根茎中提取得到的黄色色素,具有抗炎、抗氧化、抗癌等药理作用^[24]。近年来研究发现,姜黄素对 AD 等神经变性病产生很强的神经保护作用^[25]。有研究报道,姜黄素对 3 月龄 APP/PS1 双转基因小鼠 AD 模型干预 3 个月,结果显示姜黄素干预后的小鼠海马 CA1 区 PS2 阳性细胞数较模型组明显减少,提示姜黄素能够通过减少 PS2 表达,使 γ 分泌酶活性下降,降低 A β 蛋白的表达进而改善 APP/PS1 双转基因小鼠的学习记忆能力^[26]。

3.7 银杏叶提取物 银杏叶制剂在欧美市场得到广泛应用,具有敛肺平喘、活血化瘀、止痛的功效。银杏叶提取物是从银杏叶中提取的有效组分,主要包括银杏黄酮(含量约为 24%) 和萜内酯(含量约为 6%),具有提高神经元可塑性,抗炎,抑制凋亡等作用,临床上主要用于促进缺血和脑创伤等脑损伤后的修复,以及改善 AD 患者的认知功能,抗帕金森病等^[27,28]。以谷氨酸诱导海马神经元兴奋毒性的研究过程中发现,银杏叶提取物预处理给药可以明显干预 APP、PS1 表达水平的变化,表明银杏叶抗兴奋毒性作用机制与下调 PS1 表达、降低 γ 分泌酶活性,进而抑制 APP 代谢途径密切相关^[29]。

3.8 龙眼参多糖 龙眼参具有补气、补血、提高免疫力、抗衰老、抗应激等作用^[30,31]。龙眼参多糖是龙眼参的主要活性成分之一。研究报道,龙眼参多糖对 SAMP8 小鼠脑组织 AD 相关基因表达具有影响,实验结果发现龙眼参多糖对 SAMP8 小鼠脑组织 APP、PS1、PS2 基因的表达有明显的抑制作用,提示龙眼参多糖抗 AD 的作用机制与抑制 PS 基因表达而影响 γ 分泌酶活性有关^[32]。

4 展望

查阅近 10 年的文献,以 γ 分泌酶为靶点进行中药单体及组分干预 AD 的研究还比较少,处于刚刚起步阶段,已有的研究其靶标基本上集中于 γ 分泌酶活性和 PS 的表达上,对于 γ 分泌酶其他组分如 NCT、Aph-1 及 Pen-2 的干预均未见相关报道。随着科学研究的逐渐深入, γ 分泌酶结构和功能的阐明,将为利

用 γ 分泌酶作为 AD 治疗和预防的新靶点提供理论基础,继续深入挖掘并开发对 γ 分泌酶各成分表达有明显干预效果的中药单体及组分将是今后研究的一个主要方向。

中药具有辨证施治的特性和取材方便、毒性较小的优点,但由于中药的药效物质基础不够明确、作用机制尚不十分清楚、药物制剂质量可控性差等缺点,至今难以走入国际市场^[33]。鉴于此,在明确中药疗效和药理作用的基础上,从中药分离药效物质清楚的有效单体和药效物质基本清楚并体现中药整合作用特点的组分配伍,确定其主要作用机制和靶点,有可能为 AD 的治疗带来新的希望。

参 考 文 献

- [1] 张洪. 老年痴呆症的识别和实用诊断指南[J]. 中华脑科疾病与康复杂志(电子版), 2012, 2(2): 81-83.
- [2] Souder E, Beck C. Overview of Alzheimer's disease [J]. Nurs Clin North Am, 2004, 39(3): 545-559.
- [3] 尹肖雯, 刘厚奇. γ 分泌酶结构和功能的研究进展[J]. 生命科学, 2010, 22(9): 913-918.
- [4] Mccollom P. Alzheimer's disease: an overview [J]. Case Manager, 2004, 15(5): 42-45.
- [5] Kimberly WT, LaVoie MJ, Ostaszewski BL, et al. γ -secretase is a membrane protein complex comprised of presenilin, nicastrin, Aph-1, and Pen-2 [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2003, 100(11): 6382-6387.
- [6] Periz G, Fortini ME. Functional reconstitution of γ -secretase through coordinated expression of presenilin, nicastrin, aph-1 and pen-2 [J]. J Neurosci Res, 2004, 77(3): 309-322.
- [7] Morishima-Kawashima M, Ihara Y. Alzheimer's disease: β -amyloid protein and Tau [J]. J Neurosci Res, 2002, 70(3): 392-401.
- [8] Cole SL, Vassar R. The role of amyloid precursor protein processing by BACE1, the β -secretase, in Alzheimer's disease pathophysiology [J]. J Biol Chem, 2008, 283(44): 29621-29625.
- [9] 李晓光, 高勤, 翁文, 等. 广东海风藤中木脂素和五味子乙素的含量测定[J]. 中国医院药学杂志, 2007, 27(6): 726-729.
- [10] 刘薇, 余锐, 吴家华. 五味子乙素抑制 M146L 细胞 A β 25 生成的机制研究[J]. 药学学报, 2006, 41(12): 1136-1140.
- [11] 杨斌. 淫羊藿苷药理研究概况[J]. 中国药房, 2009, 20(24): 1915-1917.
- [12] 肖幸丰, 郑明, 瞿林海, 等. 淫羊藿苷伍用三七总皂苷对 A β 1-25 侧脑室注射所致大鼠行为异常及脑组织 AChE 活性的影响[J]. 中国现代应用药学杂志, 2005, 22(3): 178-181.
- [13] 吴满刚, 贺晓丽, 强桂芬, 等. 淫羊藿苷对快速老化小鼠 SAMP8 脑线粒体的保护作用[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2010, 20(7): 721-726.
- [14] 张玉莲, 刘爽, 张琳琳, 等. 补肾中药有效成分对 SAMP8 小鼠海马 APP 及 PS1 基因表达的影响[J]. 天津中医药, 2012, 29(1): 59-61.
- [15] 陈志辉, 徐良梅, 李建平. 齐墩果酸研究进展[J]. 饲料博览, 2010, 10(6): 7-8.
- [16] 宋小丹, 马海明, 韩思莹, 等. 齐墩果酸对谷氨酸诱导神经细胞损伤的影响[J]. 哈尔滨医科大学学报, 2007, 57(1): 13-15.
- [17] 张玉莲, 刘爽, 张琳琳, 等. 补肾中药有效成分对 SAMP8 小鼠海马 APP 及 PS1 基因表达的影响[J]. 天津中医药, 2012, 29(1): 59-61.
- [18] Liao HM, Hu ZH. Progress in studies on biology and constituents of *Polygonum multiflorum* [J]. China Tradit Herb Drugs, 2005, 36(2): 311-314.
- [19] 邢颖, 张兰, 李林. 二苯乙烯苷对 APP 转基因小鼠学习记忆能力和脑内 B-淀粉样肽表达的影响[J]. 中国新药杂志, 2006, 15(7): 510-513.
- [20] Benishin CG, Lee R, Wang LC, et al. Effects of ginsenoside Rb₁ on central cholinergic metabolism [J]. Pharmacology, 1991, 42(4): 223-229.
- [21] Liao B, Newmark H, Zhou R. Neuroprotective effects of ginseng total saponin and ginsenosides Rb₁ and Rg₁ on spinal cord neurons *in vitro* [J]. Exp Neurol, 2002, 173(2): 224-234.
- [22] Rudakewich M, Ba F, Benishin CG. Neurotrophic and neuroprotective actions of ginsenosides Rb₁ and Rg₁ [J]. Planta Med, 2001, 67(6): 533-537.
- [23] 方欣, 杨吉平, 赖红. 人参皂甙 Rb₁ 对老年性痴呆模型大鼠顶叶皮质 β -分泌酶及早老蛋白-1 表达的影响[J]. 解剖学杂志, 2008, 31(6): 812-815.
- [24] Aggarwal BB, Harikumar KB. Potential therapeutic effects of curcumin, the anti-inflammatory agent, against neurodegenerative, cardiovascular, pulmonary, metabolic, autoimmune and neoplastic diseases [J]. Int J Biochem Cell Biol, 2009, 41(1): 40-59.
- [25] Aynun N, Begum AN, Jones MR, et al. Curcumin structure-function, bioavailability, and efficacy in models of neuroinflammation and Alzheimer's disease [J]. J Pharmacol Exp Ther, 2008, 326(1): 196-208.
- [26] 王蓬文, 李瑞晟, 王虹, 等. 姜黄素对 APP^{swE}/PS1^{dE9} 双转基因小鼠 A β 生成和降解的影响[J]. 中国实验动物学杂志, 2010, 18(5): 367-371.
- [27] Smith JV, Luo Y. Studies on molecular mechanisms of *Ginkgo biloba* extract [J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2004, 64(4): 465-472.
- [28] Ahlemeyer B, Kriegelstein J. Neuroprotective effects of *Ginkgo biloba* extract [J]. Cell Mol Life Sci, 2003, 60(9): 1779-1792.
- [29] 娄伟. 银杏叶提取物抗兴奋毒性作用与淀粉样蛋白前体蛋白、早老素 1 表达水平的相关性研究[J]. 辽宁大连医科大学神经病学专业硕士学位论文, 2007.
- [30] 孔晓龙, 蒋伟哲, 林自中. 龙眼参提取物对环磷酸胺所致

- 小鼠免疫功能低下的影响[J]. 中国药房, 2004, 15(6): 335-336.
- [31] 蒋伟哲, 孔晓龙, 黄仁彬, 等. 龙眼参对小鼠化学性肝损伤的保护作用及其机制研究[J]. 中国药房, 2004, 15(7): 398-400.
- [32] 黄忠仕, 焦杨, 张士军, 等. 龙眼参多糖对 SAMP8 鼠脑组
- 织痴呆相关基因表达的影响[J]. 中国药理学通报, 2008, 24(4): 509-512.
- [33] 赵敬望, 王德生. 中药与中药有效成分治疗阿尔茨海默病的研究进展[J]. 中国中西医结合杂志, 2008, 28(2): 177-181.

(收稿:2013-03-18 修回:2013-11-05)

沉痛悼念本刊编委廖家桢教授

我国著名的中西医结合医学家,首都国医名师,享受国务院政府特殊津贴专家,本刊编委廖家桢教授因病医治无效于2014年2月7日在美国逝世,享年83岁。

廖家桢教授出生于1930年7月13日,福建省长汀县人,1955年7月毕业于山西医学院(现山西医科大学)医疗系。毕业后分配至山西医学院附属医院任住院医师。根据国家“派好的西医学习中医”的指示,1955年底被选派参加卫生部首届西学中研究班,师从蒲辅周、岳美中、秦伯未、赵锡武等中医大家,打下了坚实的中医基础。1958年分配至东直门医院工作,历任东直门医院大内科支委、支部书记、副院长、党委委员。1991年受组织委托,赴德国创建欧洲第一家中医医院——德国魁茨汀中医医院,并担任中方院长。

廖家桢教授从事中西医结合工作50余年,率先应用中医气血理论指导心血管疾病的治疗,他提出冠心病心绞痛的基本病机是“气虚血瘀”,气虚为本,血瘀为标,治疗应益气活血化瘀。他带领的研究团队30年来对心血管疾病心气虚证进行了系统深入的临床及基础研究,以心气虚证实质为证候研究的切入点,开展心气虚证的现代生物学基础研究,取得了公认的研究成果,“心血管疾病心气虚证的基础研究”2013年获中国中西医结合学会一等奖。

廖家桢教授是中国中西医结合事业的开拓者之一,曾任中国中西医结合学会副会长兼秘书长,共同创建了中西医结合心血管专业委员会和虚证专业委员会。廖家桢教授1981年7月于《中医杂志》发表《浅谈以“证”为纲,开展中西医结合研究》一文,将“证候”和“疾病”比喻为“纲”和“目”的关系,以“纲”提领“目”,以证候研究带动疾病的研究,倡导将中医的“证”和现代疾病相结合的病证结合研究思维模式,受到全国广泛重视。他将毕生的精力都奉献给了中西医结合事业,在担任本刊编委期间,他给予我们无私的帮助和支持,至今仍让人难忘。

20世纪70年代初廖家桢教授创建了东直门医院心血管内科,1985年创建了专门从事中医气血理论研究的“气血研究室”,1999年北京中医药大学东方医院成立后,又创建了东方医院心血管内科。廖家桢教授一直主张中西医结合研究一定要理论与实践结合、临床与基础结合、宏观与微观结合、病证结合,在他的指导下围绕气血理论在心血管疾病防治应用,他带领的研究团队历经3代人,近30年来承担省部级以上科研课题80余项,荣获省部级科技奖励数10项,发表专业论文400余篇。

廖家桢教授1991年受组织委派与德国合作,创建了德国魁茨汀(KOETZTING)中医医院,医院拥有80张住院病床,他深厚的中医功底及融汇中西的能力赢得德国医生的尊重,针对纷沓而至的各种西医无法解决的疑难顽症,采用中药、针灸、推拿按摩、气功、穴位离子导入等中医综合治疗的方法,在短时间内取得让德国西医同行惊叹的临床疗效,不但赢得了德国西医同行的认可,也使医院成为唯一获得德国医疗保险认可的中医医院,并深受德国患者的欢迎。德国魁茨汀中医医院建院至今已20余年,仍是欧洲乃至世界唯一一家拥有住院病房的真正意义的中医医院,是中医药走向世界的成功典范,也因此获得世界中医药学会联合会中医药走向世界“突出贡献奖”,他被德国人称为“魁茨汀中医医院之父”。

廖家桢教授虽然离开了我们,但他对理想不懈追求、对事业执着热爱、对工作精益求精、对学问孜孜以求的精神以及求真务实、治学严谨、开朗直率、为人师表的优秀品质将永远激励我们为中西医结合事业的创新发展而努力奋斗,我们永远怀念他!

(林 谦供稿)