

文献研究

阿尔茨海默病发病中的 Tau 蛋白磷酸化机制
与中医药防治研究进展

高彦斌 王芳 唐学成 指导:第五永长

(陕西中医药大学,陕西 咸阳 712046)

摘要:阿尔茨海默病是老年病中危害较大的一种中枢神经退行性疾病,而 Tau 蛋白磷酸化是近年来研究较多的发病机制之一。通过了解 Tau 蛋白的生理功能及其磷酸化机制,为进一步发挥中医药整体思维及辨证论治的优势,促进在阿尔茨海默病的防治,提高患者生存质量方面提供可能。

关键词:阿尔茨海默病(AD);Tau 蛋白磷酸化;机制;治疗方法

中图分类号: R 259 **文献标识码:** A **文章编号:** 1672-0571(2015)05-0191-04

DOI: 10.13424/j.cnki.mtcm.2015.05.070

1 引言

随着社会人口老龄化进程的加剧,老年期痴呆患者日益增多,成为世界范围内广泛关注的患病群体。痴呆分为血管性痴呆和原发性痴呆,后者又被命名为阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)。AD 是发生于老年期、以进行性认知功能障碍和行为损害为特征的中枢神经系统退行性病变。其起病隐匿,呈进行性加重,一般起病 2~3 年后症状明显加重,病程 5~10 年。临床上表现为记忆障碍、失语、失用、失认、视空间能力损害、抽象思维和计算力损害、人格和行为的改变等,并伴有躁动、失眠、谵妄、被害妄想等精神行为异常。患者生活质量严重下降,给家庭带来了沉重的经济负担。AD 发病的确切机制目前尚不明确,各种学说所执的观点较多,而 tau 蛋白的过度磷酸化是 AD 的发病机制中重要环节之一,也是基础研究的热点。

2 Tau 蛋白的生理功能

Tau 蛋白主要集中在胞体和轴突,是构成细胞骨架的主要成分之一,可以诱导和促进微管蛋白的聚合形成微管。而微管是构成细胞骨架部分的重要系统,参与维持神经元形态“轴索形成和树突状进程,是轴突和树突中细胞物质运输的通道^[1]。并且 Tau 蛋白通过与微管的结合,从而加速微管聚

合速度,降低解聚速度,以此保持微管间距,维持其稳定性。Tau 蛋白还可以通过维持微管系统的稳定性,为轴突生长延伸创造条件。再者,由微管结合区介导,在附近的脯氨酸富含区辅助下,Tau 蛋白发挥连接微管与肌动蛋白丝网络的作用以及 Tau 蛋白能够发挥调节驱动蛋白与微管的结合,调节驱动蛋白在突触前末端与其运输物质的分离,提高轴浆运输的效率的作用。同时,Tau 蛋白在联系其他细胞骨架成分,参与限定微管活动度,联系 Tau 蛋白与线粒体等方面也有一定作用。在大脑内,Tau 蛋白本身也可以通过神经环路从一个神经元传播到另一个神经元。Liu L 等发现,Tau 蛋白可以穿过突触播散到与嗅皮层联络的海马脑区并进一步传播到与海马联系的脑区^[2]。Tau 蛋白也可能参与细胞内信号通路的调节,通过与信号分子及多种激酶的结合从而影响信号传递^[3]。例如:Tau 可以调节 Src 激酶家族的活性^[4]。Tau 蛋白可以通过调节 Src 家族酪氨酸激酶 Fyn 来介导 A β 的毒性。有研究表明,Tau 蛋白的减少可以阻止过表达 A β 的 AD 转基因模型小鼠的认知障碍,而 Fyn 过表达则可以加强这种 AD 鼠的认知障碍。

3 Tau 蛋白异常磷酸化机制

Tau 蛋白的磷酸化与去磷酸化是机体生长发

育过程中维持其正常生理功能的主要环节。胎儿脑中的 Tau 蛋白磷酸化程度较高,但之后会逐渐降低。但是,发育成熟的脑内 Tau 蛋白磷酸化位点很少,目前研究发现的高度磷酸化 Tau 蛋白位点大约 21 个。其中这些位点大多位于丝氨酸与苏氨酸残基上,在蛋白激酶(催化磷酸化反应)与蛋白磷脂酶(催化去磷酸化反应)的催化作用下,参与 Tau 的磷酸化与去磷酸化反应过程。因此,当激酶活性升高,酯酶活性下降时, Tau 蛋白出现过度磷酸化状态^[5]。同样,脑内脂酶含量不足也可导致 tau 蛋白过度磷酸化。

尽管引起 tau 的 AD 相关位点磷酸化的蛋白激酶有很多,而细胞周期蛋白依赖性蛋白激酶 5 (cdk-5),是主要在(或仅在)神经系统起作用的蛋白激酶。陈娟等研究表明,cdk-5 基因在细胞水平的过量表达会导致 cdk-5 活性增高,与此同时,cdk-5 的过度表达所致酶活性增高引起 tau 蛋白过度磷酸化^[6]。从这个角度讲,抑制 cdk-5 的过度表达,为抑制 Tau 蛋白的过度磷酸化提供可能。

GSK-3 β (糖原合成酶激酶 3 β 的一种亚型)是在哺乳动物中脑组织中广泛存在的蛋白,其在海马区域的神经细胞胞体和树突有较高的表达。GSK-3 β 可以干预 APP 裂解过程,诱导淀粉样途径的进行,从而促进 A β 的生成。而且,GSK-3 β 可以直接调节 Tau 蛋白的磷酸化。Gandy 等^[7]对 AD 模型鼠的特定脑部区域以及神经元进行光镜及电镜学观察研究发现,年老的 AD 模型鼠与同年龄正常鼠相比,神经元中 GSK-3 β 表达量更高,且在 AD 模型鼠脑部神经原纤维缠结中检测出 GSK-3 β 蛋白。因此,GSK-3 β 参与了 tau 蛋白异常磷酸化的进程,在 AD 的病理形成过程中扮中演不可忽视的角色。

引起 Tau 蛋白的高度磷酸化因素较多,包括神经元细胞内 A β 沉积,星形胶质细胞 A β 寡聚物及凋亡蛋白酶活化,慢性氧化应激反应。而 β 淀粉样蛋白在触发这种失衡状态起关键作用^[8],它们之间往往相互影响。因此,抑制 tau 蛋白异常磷酸化及 β 淀粉样蛋白沉积在 AD 治疗中显得同样重要。

4 针对 Tau 蛋白磷酸化机制的中医药认识及治疗方法

AD 属于中医“痴呆”的范畴,一般认为由髓减脑消或痰瘀痹阻脑络,神机失用而引起的在无意识障碍状态下,以影响生活和社交能力等为主要临床表现的一种脑功能减退性疾病。轻者可有寡言少语,反应迟钝,善忘等表现;重者闭门独居,口中喃喃,言辞颠倒,或忽笑忽哭,或不欲食,数日不知饥饿等。《灵枢·海论》篇曰:“髓海不足,脑转耳鸣,腔酸按胃,目无所见,懈怠安卧。”清代医家王清任明确指出:“脑为元神之府,灵机记忆在脑不在心。”“年老无记忆者,脑髓渐空。”肾藏精,主骨生髓,脑为髓海,各代中医医家对痴呆病因病机有不同理解,但总括而论,不离病本在肾,病位在脑,心、肝、脾等脏器,与痰火瘀血等病理产物胶着于体内密切相关。

4.1 补肾化痰法 AD 是以本虚标实为特征的老年性疾病,其本虚主要在于肾精不足,髓海亏虚,清阳不升,五神失用;其标实在于痰浊蒙蔽脑窍,闭阻脑络。临床研究表明,补肾化痰法可以明显减少异常磷酸化的 Tau 蛋白以及 β -淀粉样蛋白对神经元的毒性作用,从而延缓 AD 的发展进程。胡慧等^[9]应用脑立体定向技术给大鼠基底核注射凝聚态 A β ₂₅₋₃₅+IBO 构建 AD 模型,以补肾化痰方治疗后发现大鼠海马组织 Tau 蛋白异常磷酸化水平下降,表明补肾化痰法可以通过此种机制发挥其抗 AD 的作用。

4.2 温脾通络开窍法 心主神志,主人的精神、思维、意识及情感活动,包括现代医学中大部分中枢神经系统的疾病。痴呆,其病位脑,与心、肝、脾、肾功能失调有关。脾主运化水湿,脾失健运,则痰浊内生,上蒙心窍,而后心神昏聩发为痴呆。有研究表明,温脾通络开窍法对 AD 患者记忆障碍具有明显的改善作用,并且可降低大海马蛋白异常磷酸化水平。吴林等^[10]采用温脾通络开窍法探讨其对 AD 模型大鼠学习记忆及海马 Tau 蛋白磷酸化表达的影响,结果显示中药组模型大鼠海马组织磷酸化蛋白总量均有不同程度的下降,其中以中药高、中剂量组作用明显。可见,一定剂量的温

脾通络开窍方对磷酸化的 Tau 蛋白的抑制作用显著。

4.3 补肾健脾法 肾为先天之本,肾藏精生髓,髓充脑;肾精不足,则髓海失充,灵机失运,固见反应迟钝,记忆模糊,失认失算;脾为后天之本,气血生化之源;气血亏虚,神明失养,固见呆滞善忘,神思恍惚;同时,肾精也要依赖于脾胃所化生的气血不断充养。因此,补肾健脾法对 AD 患者预防、康复、治疗也有显著疗效。张洪等^[11]研究补肾健脾方对 AD 模型大鼠胰岛素和 GSK-3 β 水平的影响,结果表明:药物干预组大鼠脑组织中 GSK-3 β 的表达显著下降。本实验行为学检测提示,补肾健脾方可显著改善 AD 模型大鼠的学习和记忆能力,这一治法对抑制阿尔茨海默病中 GSK-3 β 表达有意义。

4.4 清热解毒法 AD 患者常由于外感或情志等诱因,在短期内出现症状加重,病情不稳定,甚至呈急性下滑趋势,常以心烦不安,夜间谵妄,言词颠倒或狂躁不宁,声高气粗,口气秽臭等表现为主,属内毒蕴积、热伤脑络之证。因此,清热解毒法在此类患者病情波动阶段使用显得尤为重要。伍文彬等^[12]研究黄连解毒汤对 A β 25-35 诱导的 AD 大鼠学习记忆能力及相关蛋白激酶表达的影响,结果表明,黄连解毒汤可有效抑制大鼠脑内 GSK-3 β 及 CDK-5 蛋白的表达,同时缩短 AD 大鼠平均逃避潜伏期,增加经过逃逸平台次数、延长有效区停留时间及有效区游泳路程,其机制可能与通过抑制 GSK-3 β 及 CDK-5 的活性,从而调控 tau 蛋白磷酸化水平有关。

4.5 疏肝理气法 AD 患者处于一种渐进性的智力衰退,行为改变,以及情绪障碍,患者在发病早期或发病过程中有过情绪刺激,从而加重病情。情志不舒而引起脏腑气机不畅,肝气郁滞,疏泄功能失调,治以疏肝泻气为主。部分实验研究表明,疏肝理气方能调节记忆,认知方面的障碍。赵唯贤等^[13]通过研究柴胡疏肝散对 AD 大鼠记忆功能的影响,得出一个结论:柴胡疏肝散通过抑制动物海马 GSK-3 β 表达而增强 PP-2A 的表达,可以逆转 A β 诱导的 Tau 蛋白过度磷酸化,从而对记

忆、认知障碍起到积极的调节作用。

4.6 健脾化痰 豁痰开窍法 脾主运化,若脾失健运,则水湿内停,聚湿生痰,上扰清窍,脑髓失聪,发为痴呆。治以健脾化痰开窍。有实验表明洗心汤方对痰浊蒙窍类 DA 患者有较好的疗效。通过研究洗心汤颗粒对散发性老年性痴呆 (Sporadic Alzheimer disease, SAD) 模型大鼠脑内 Tau 蛋白毒性的影响,结果显示,与 SAD 模型组相比,洗心汤颗粒组显著减少 SAD 模型大鼠海马组织 Thr231、Ser422 的表达,而 Thr231、Ser422 为 SAD 脑内促 Tau 蛋白毒性形成的重要位点。由此表明,洗心汤颗粒抑制 Tau 蛋白重要位点的过度磷酸化及其 Tau 蛋白毒性,进而遏制 SAD 的病理进展^[14]。

还脑益聪方(由制首乌、人参、石菖蒲、黄连、川芎组成),以补肾益气、活血通络、化痰祛瘀、清热解毒为基本治法,能够抑制脑组织海马 CA1 区 AP 的沉积和 tau 蛋白过度酸化,改善海马 CA1 区的病理结构,提高锥体细胞层神经元数目;调心方^[15](由党参、茯苓、甘草、石菖蒲、远志组成),可抑制 tau 蛋白与早老蛋白-1 的结合,这或许是调心方调节 tau 蛋白磷酸化的方式之一。单味中药组分在控制 tau 蛋白过度磷酸化方面同样具有较好的效果和应用前景。人参皂苷 Rb1 可通过抑制 GSK-3P 减轻 A β 25-35 诱导的皮层神经元 tau 蛋白过度酸化^[16]。马齿苋多糖可以抑制 GSK 激酶对 Tau 蛋白的磷酸化,对神经细胞微管骨架起到保护作用^[17];远志通过抑制 CDK-5 和 GSIC-3 P 激活及活性的作用从而减少 tau 蛋白的过度磷酸化^[18]。现代药理研究初步表明,远志含有皂苷等多种药理成分,在益智 L 抗衰老 L 抗氧化等方面具有广泛的生物活性,对大鼠海马 CA1 区神经细胞内 Tau 蛋白过度磷酸化有明显改善作用。还有更多的单味中药提取成分能够影响 AD 中 Tau 蛋白磷酸化进程,这里就不一一介绍。

5 展望

综上所述:补肾化痰法、温脾通络开窍法、补肾健脾法、清热解毒法、健脾化痰、豁痰开窍法等方法一定程度上能够抑制 Tau 蛋白重要位点的过

度磷酸化及其 Tau 蛋白毒性,并且能够明显改变大鼠学习和记忆能力,在 AD 的预防、治疗及预后方面具有广阔的前景。

鉴于西医在 AD 治疗中存在一定局限性,充分利用复方中药以及单味中药制剂。一方面,若能有效抑制血液及脑内蛋白激酶的浓度,则能相应控制 Tau 等的磷酸化进程。另一方面,若能刺激机体分泌与 Tau 蛋白去磷酸化相关的蛋白磷脂酶,或增加血液及脑内蛋白磷脂酶的浓度,进而发挥去磷酸化的进程。而 GSK-3 β 和 cdk-5 作为 Tau 蛋白磷酸化的主要激酶,与 AD 的发生发展密切相关,抑制 GSK-3 β 和 cdk-5 的活性和表达可以有效地降低 A β 以及 tau 蛋白磷酸化造成的神经毒性作用。由此 GSK-3 β 和 cdk-5 是 AD 治疗的一个潜在靶点。最近,有人对小鼠进行的独立研究发现 AD 似乎能像感染一样从一个神经元扩散到另一个神经元,但是扩散的不是病毒或细菌,而是 tau 蛋白^[19]。这说明阻断异常磷酸化的 tau 蛋白在细胞之间的传播对 AD 的治疗也有一定的意义。

参考文献

[1] Ram D, Jennifer LR, Yale EG, et al. Differential regulation of dynein and kinesin in motor proteins by tau [J]. *Science*, 2008, 319(5866):1086-1089.

[2] Liu L, Drouet V, Wu JW, et al. Trans-synaptic spread of tau pathology in vivo [J]. *PLoS One*, 2012, 7(2):e31302.

[3] Reynolds CH, Garwood CJ, Wray S, et al. Phosphorylation regulates tau in interactions with Src homology 3 domains of phosphatidylinositol 3-kinase, phospholipase C γ , Grb2, and Src family kinase [J]. *Biol Chem*, 2008, 283(26):18177-18186.

[4] Miao Y, Chen J, Zhang Q, et al. Deletion of tau attenuates heat shock-induced injury in cultured cortical neurons [J]. *Neurosci Res*, 2010, 88:102-101.

[5] 张晓洁, 杨雁, 张木勋. 1 型糖尿病大鼠海马 Alzheimer 样磷酸酯酶 2A 活性降低导致 Tau 蛋白过度磷酸化 [J]. *华中科技大学学报(医学版)*, 2009, 38(1):31-35.

[6] 陈娟, 李宏莲, 王建枝, 等. Cdk-5 过度表达对 Tau 蛋白磷酸化的影响 [J]. *中国组织化学与细胞化学杂志*, 2004, 13(2):45.

[7] Gandy JC, Melendez-Ferro M, Bijur GN, et al. Glycogen synthase kinase-3(GSK3 β) expression in a mouse model of Alzheimer's disease: a light and electron microscopy study [J]. *Synapse*, 2013, 67:313-327.

[8] Medeiros R, Baglietto Vargas D, LaFerla FM. The role of tau in Alzheimer's disease and related disorders [J]. *CNS neuroscience therapeutics*, 2011, 17(5):514-524.

[9] 胡慧, 王平, 孔明望, 等. 阿尔茨海默病模型大鼠 Tau 蛋白异常磷酸化表达及补肾化痰法的干预作用 [J]. *时珍国医国药*, 2010, 21(10):94.

[10] 吴林, 杨进平, 温惠娟, 等. 温脾通络开窍法对阿尔茨海默病大鼠学习记忆及海马 Tau 蛋白磷酸化表达的影响 [J]. *中西医结合心血管杂志*, 2013, 11(10):60.

[11] 张洪, 许旌, 杨帆, 等. 补肾健脾方对阿尔茨海默病模型大鼠胰岛素和 GSK-3 β 水平的影响 [J]. *山东中医药大学学报*, 2011, 35(1):98.

[12] 伍文彬, 李斌, 王飞等. 黄连解毒汤对 A β 25-35 诱导 AD 大鼠学习记忆能力及相关蛋白激酶表达的影响 [J]. *中华中医药杂志*, 2014, 29(5):104.

[13] 赵唯贤, 李高中, 范新六, 等. 柴胡疏肝散对阿尔茨海默病大鼠记忆功能的相关研究 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2012, 18(10):42-43.

[14] 第五永长, 田金洲, 时晶. 洗心汤颗粒对散发性老年性痴呆模型大鼠脑内 Tau 蛋白毒性的影响 [J]. *中草药*, 2013, 44(10):63-65.

[15] 朱粹青, 曹小定. 调心方药物血清对动物阿尔茨海默病相关的 tau 蛋白磷酸化的调节作用 [J]. *中国中西医结合杂志*, 2001, 21(11):71-72.

[16] 曾育琦, 陈晓春, 朱元贵, 等. 人参皂苷 Rb1 抑制 A β 25-35 诱导的皮质神经元 tau 蛋白的过度磷酸化 [J]. *中国药理通讯*, 2004, 21(2):57-59.

[17] 康洁. 马齿苋多糖对 Tau 蛋白磷酸化影响的研究 [J]. *中国农学报*, 2010, 26(14):113-116.

[18] 穆俊霞, 郭峰, 崔丽霞, 等. 远志对阿尔茨海默病大鼠海马神经元 Tau 蛋白磷酸化的影响 [J]. *实验中医药学*, 2013, 14(1):83.

[19] Liu L, Drouet V, Wu JW, et al. Trans-synaptic spread of tau pathology in vivo [J]. *PLoS One*, 2012, 7(2):e31302.