

综述

胰高血糖素样肽 1: 阿尔茨海默病治疗新策略

王晓晖, 杨威, 祁金顺*

山西医科大学生理学系, 细胞生理学省部共建教育部重点实验室, 太原 030001

摘要: 2型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)与阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)的病理生理过程具有密切的相关性。人们正在逐步深入研究治疗 T2DM 的最新药物——胰高血糖素样肽 1 (glucagon-like peptide 1, GLP-1)的神经保护作用, 并大胆地提出了利用 GLP-1 治疗 AD 的设想。本文对 T2DM 与 AD 的发病相关性、GLP-1 的合成与分泌、GLP-1 受体的中枢分布及其生理效应, 特别是 GLP-1 与 AD 治疗策略相关的研究进展作一综述。

关键词: 胰高血糖素样肽 1; 神经保护; 阿尔茨海默病; 2 型糖尿病; β -淀粉样蛋白

中图分类号: R338.64

Glucagon-like peptide 1: a novel therapeutic strategy for Alzheimer's disease

WANG Xiao-Hui, YANG Wei, QI Jin-Shun*

Department of Physiology, Key Laboratory for Cellular Physiology of Ministry of Education, Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China

Abstract: There is a close correlation between type 2 diabetes mellitus (T2DM) and Alzheimer's disease (AD) in the course of pathophysiological processes. The neuroprotective action of glucagon-like peptide 1 (GLP-1), a latest drug for clinical treatment of T2DM, is being more deeply investigated at present, and a novel therapeutic strategy for AD with GLP-1 has been proposed boldly. This review mainly discussed the correlation of pathogenesis between T2DM and AD, the synthesis and secretion of GLP-1, the distribution and physiological effects of GLP-1 receptor in the brain, and the progresses on the study of GLP-1 in the treatment of AD.

Key words: glucagon-like peptide 1; neuroprotection; Alzheimer's disease; type 2 diabetes mellitus; amyloid- β peptide

阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)是一种慢性、原发性、神经退行性疾病, 主要表现为进行性学习、记忆能力的丧失和认知功能障碍, 晚期出现严重痴呆。AD 不仅给病人带来痛苦, 也给家庭和社会带来巨大负担, 已被视为严重威胁人类健康和寿命的“第四大杀手”。AD 的主要病理学特征是脑内出现由淀粉样 β 蛋白(amyloid- β protein, A β) 聚集形成的高密度老年斑(senile plaques, SPs)和细胞内过度磷酸化 Tau 蛋白形成的神经原纤维缠结

(neurofibrillary tangles, NFTs)^[1,2], 并因此导致大量神经元和突触的丢失以至脑萎缩。研究表明, 脑内可溶性的 A β 低聚体、A β 多聚体以及纤维性 A β 都具有广泛的神经毒性作用^[3,4]。以往我们实验室的研究也证实: A β 能引起培养的大脑皮层神经元凋亡^[5], 可在海马神经元上形成新的跨膜离子通道^[6], 还可伤害大鼠海马突触传递可塑性和损害空间学习、记忆行为^[7-9]。这些研究提示, 减少 A β 的产生、聚集和拮抗 A β 神经毒性作用可能是治疗 AD 的有效手

Received 2010-07-14 Accepted 2010-08-03

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 30840085), the Open Research Fund of the Key Laboratory of Shanxi Province, China (No. 2009011059-8), the Natural Science Foundation of Shanxi Province, China (No. 2010011049-3), the Dean's Fund of the Co-constructing Key Laboratory of Cellular Physiology, Ministry of Education, Shanxi Medical University (2010-07) and the Science and Technology Fund of Taiyuan City, China (No. 100115168).

*Corresponding author. Tel: +86-351-4135091; Fax: +86-351-4135091; E-mail: jinshunqi2006@yahoo.com

段之一。然而, 迄今为止针对 $A\beta$ 的 AD 治疗尤其是有效拮抗 $A\beta$ 神经毒性作用的药物研究仍然没有突破性进展。

最近研究表明, 2 型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)与 AD 在临床表现、病理生理改变乃至预防治疗上具有密切的相关性^[10, 11]。治疗糖尿病的最新药物胰高血糖素样肽 1 (glucagon-like peptide 1, GLP-1)的神经保护作用已被确认, 利用 GLP-1 治疗 AD 的设想已被大胆地提出。本文就近年来 GLP-1 与 AD 治疗策略相关的研究进展作一综述。

1 T2DM 与 AD 的相关性

流行病学调查资料显示, T2DM 与 AD 均为与年龄相关的退行性变疾病。T2DM 患者大部分为 60 岁以上人群, AD 也主要发生于 60 岁或 65 岁以上的老年人, 两者的患病率与发病年龄具有明显的相关性。另外, T2DM 增加了发生 AD 的危险性。2004 年 Logroscino 等对 16 596 名 70~81 岁老年女性 T2DM 患者进行了 2 年的随访性研究, 发现未采取治疗措施的 T2DM 患者认知功能和行为能力与正常老年组相比明显下降, 而给予口服降糖药物治疗的 T2DM 患者其认知功能与正常对照组基本一致^[12]。脑内注射链脲菌素(streptozotocin, STZ)形成的实验性糖尿病动物模型也出现了 AD 的许多特征, 包括认知功能的损伤和乙酰胆碱功能的失衡^[13]。Biessels 等认为, T2DM 发生时由于高血糖的持续存在, 引起了诸多继发性病变, 包括糖尿病肾病、视网膜病变和周围神经病变, 由此增加了进一步发生 AD 的风险^[14]。有趣的是, Janson 等选取典型的 AD 患者和非 AD 人群进行研究, 结果显示, 超过 80% 的 AD 患者伴有 T2DM 或血糖升高; 通过尸体解剖也观察到, AD 患者的脑和胰腺内淀粉样蛋白明显升高^[15]; 并且, AD 的发生总是伴有进行性脑内胰岛素抵抗和胰岛素的功能缺失, 而应用糖尿病治疗性药物胰岛素增敏剂或鼻内给予胰岛素的治疗总是能显著提高 AD 患者的认知功能^[13]。此外, 有研究显示, 胰腺和脑存在一些相同的参与神经递质合成的酶, 如谷氨酸脱羧酶、酪氨酸羟化酶和多巴脱羧酶等, 还有许多相同的生长因子和激素, 如促甲状腺激素释放激素、神经生长因子受体和 GLP-1 等^[16]。这些化学信号的相似性及其病理改变可能构成了 T2DM 与 AD 发病共患风险的基础。

除了以上相关性外, T2DM 和 AD 发病还具有

许多类似的病理特征和生理功能改变。例如, 两者在发病过程中均伴有淀粉样物质的出现、tau 蛋白的过度磷酸化、胰岛素信号的异常、海马长时程增强(long term potentiation, LTP)效应的降低等。

1.1 T2DM 与 AD 都有淀粉样蛋白的聚集

SPs 以及沉积在 SPs 中的淀粉样蛋白 $A\beta$ 是 AD 的显著性病理特征之一。 $A\beta$ 是在 β 和 γ 分泌酶作用下, 由淀粉样前体蛋白(amyloid precursor protein, APP)水解生成的, 其在脑内的主要分子形式为 $A\beta_{1-40}$ 和 $A\beta_{1-42}$ 。有证据显示, 聚集在神经炎症斑块中的纤维状 $A\beta$ 以及在 AD 脑内呈弥散性分布的寡聚体 $A\beta$ 都具有神经毒性作用, 并与 AD 的临床症状密切相关。例如, Holscher 等人将 10 nmol $A\beta_{25-35}$ 每天一次、连续三天注入动物侧脑室后发现, 动物在放射迷宫行为学测试中的空间学习能力明显下降; 同步进行的场电位记录结果也显示, 海马 CA1 区 LTP 水平明显受损^[17]。类似地, T2DM 发生时, 胰岛 β 细胞的破坏和丢失主要是胰岛聚集了具有细胞毒性作用的淀粉样蛋白 Amylin 所致。Amylin 类似于 AD 发生时的 $A\beta$, 也是由前体蛋白即胰岛淀粉样多肽(islet amyloid polypeptide, IAPP)生成的。可见, IAPP 具有潜在的毒性作用。有实验表明, IAPP 基因缺失的小鼠具有正常或基本正常的基础胰岛素和葡萄糖循环, 注射葡萄糖后, 与对照野生型小鼠相比, 还可表现出快速葡萄糖水平下降, 雄性小鼠还出现明显胰岛素反应增强^[18]。更有趣的是, 与 T2DM 和 AD 发病相关的两种淀粉样蛋白即 Amylin 和 $A\beta$ 引起细胞损伤具有类似的毒性机制参与。研究表明, 聚集状态的 Amylin 和 $A\beta$ 均可增强氧化应激和导致线粒体功能降低。其中, 线粒体功能降低在 APP 转基因鼠和 IAPP 转基因鼠的研究中都被证实; 氧化应激的完成, 胰岛 β 细胞往往需要细胞内未折叠蛋白质反应的参与, 而在具有 $A\beta$ 病理特征的 AD 模型鼠的研究中也表明, 未折叠蛋白质反应参与了相关的生化反应。另外, AD 时, 低聚体的 $A\beta$ 被证明是主要的淀粉样蛋白类型, 而越来越多的证据也表明, T2DM 时低聚体状态的 Amylin 也参与了 β 细胞的凋亡过程。可见淀粉样蛋白 $A\beta$ 和 Amylin 的聚集及其生物功能的发挥是 AD 和 T2DM 病理过程的一个重要特征^[11]。

1.2 T2DM 与 AD 都有 tau 蛋白的异常磷酸化

AD 的另一个重要病理特征是细胞内出现 NFTs。NFTs 的病理本质是细胞骨架蛋白即 tau 蛋白的异常

磷酸化^[19]。令人惊奇的是, T2DM 发病过程中也出现了 tau 蛋白异常磷酸化。对 T2DM 的动物模型进行研究发现, T2DM 动物大脑皮层和海马出现了与胰岛素功能下降和高血糖相关的 tau 蛋白磷酸化水平明显升高, 这可能是糖尿病导致 AD 发生率增加的原因之一^[20]。为了明确 T2DM 患者的胰腺组织中是否有磷酸化 tau 蛋白的出现, Miklossy 等对 21 例死亡 T2DM 患者进行了尸体解剖, 采用 RT-PCR 和 Western blot 方法进行鉴定, 结果显示, 与对照组相比, T2DM 患者胰腺组织中存在高磷酸化的 tau 蛋白^[21]。另外的研究显示, 通过注射胰岛素使外周胰岛素水平明显增加, 可提高脑内 tau 蛋白磷酸化水平; 而缺乏胰岛素受体 (insulin receptor, IR) 的小鼠, 脑内 IR 信号和 tau 蛋白磷酸化被完全阻断^[22]。此外, AD 和 T2DM 的 tau 蛋白磷酸化过程具有相当程度的一致性, 其关键步骤为与 Cdk5/p35/p25 信号轴相关的糖原合酶激酶-3 β (glycogen synthase kinase-3 β , GSK-3 β) 的激活。p25/p35 比率出现异常, Cdk5 激活 GSK-3 β 后导致 tau 蛋白磷酸化而致病^[23]。

1.3 T2DM 与 AD 都有胰岛素信号的异常

胰岛素信号异常与 T2DM 发病密切相关。T2DM 的发生主要是由于胰岛分泌胰岛素减少、胰岛素作用缺陷, IR 数目减少和亲和力降低以及靶组织 (主要是肌肉和肝脏) 胰岛素抵抗导致^[24, 25]。RT-PCR 研究表明, T2DM 动物模型出现 tau 蛋白和 APP 基因表达升高, 这些改变与编码胰岛素、IR 等基因的表达下降有关^[26]。胰岛素信号异常也是造成 AD 认知功能障碍的主要原因之一。胰岛素可以透过血脑屏障, 通过与脑内的 IR 结合发挥生理作用。除调节新陈代谢、影响摄食、促进神经组织生长发育、参与神经递质释放外, 胰岛素还在学习和记忆等高级智能活动中发挥重要作用。IR 主要存在于嗅球、大脑皮层、海马、下丘脑、扁桃体核和隔膜等部位。类似于 T2DM, AD 发生时脑内 IR 也出现脱敏, 即出现脑胰岛素抵抗状态, 这可能加重了 A β 的沉积和 tau 蛋白异常磷酸化^[27]。Xie 等人的研究显示, A β ₁₋₄₀ 干扰了胰岛素与其受体的亲和, 其反序列 A β ₄₀₋₁ 却没有改变胰岛素与其受体的结合能力。这表明, A β 可能是胰岛素直接的竞争性抑制剂。利用培养海马细胞进行的研究同样证明了这点, A β 分子直接与神经元树突上的 IR 相结合并导致了大量 IR 快速丢失, 从而扰乱了胰岛素信号, 并影响了中枢神经系统的突触功能^[28, 29]。由于 AD 的发生与胰岛素信号异常密切

相关, 而且 AD 的许多特征可以通过损伤胰岛素信号通路和氧化应激所形成, 因此一些学者将 AD 称为“3 型糖尿病”^[26]。

1.4 T2DM 与 AD 都有海马 LTP 效应的改变

LTP 是突触前传入纤维受到强直刺激后突触传递出现的长时间增强现象, 是神经系统发生突触可塑性进而存贮信息的最基本机制。海马 LTP 已被视为研究学习和记忆功能活动的经典电生理细胞模型。T2DM 和 AD 均可影响到脑内突触传递的可塑性。研究表明, 各种 A β 片段均能压抑在体或离体大鼠海马 CA1 区强直刺激引发的 LTP^[7, 30, 31]。我们实验室早先和最近的结果显示, 侧脑室注射 50 nmol A β ₃₁₋₃₅ 或 50 nmol A β ₂₅₋₃₅ 后, 早期时相 LTP (early-phase LTP, E-LTP) 可从对照组的 190% 下降到 125% 左右^[7]; 晚期时相 LTP (late-phase LTP, L-LTP) 也从对照组的 160% 下降到 110% 左右, 显示了类似的结果^[8]。对 17~18 月龄的 APP/PS1 双转基因 AD 模型动物进行的 LTP 研究也表明, 小鼠海马场兴奋性突触后电位 (field excitatory postsynaptic potential, fEPSP) 幅度下降到 LTP 诱导成功起初的 77%, 而对照组仍可以维持在 96%, 作者认为 A β 的聚集可能干预了巩固记忆的信号转导途径^[32]。有趣的是, STZ 诱导的糖尿病大鼠也出现了海马 CA1 区和齿状回 LTP 损伤以及学习记忆的伤害^[33-35]; 随着糖尿病病程的进展, 海马 LTP 也逐渐减弱; 老龄糖尿病大鼠学习记忆的减退和 LTP 的损害较低龄大鼠更为明显; 应用胰岛素治疗则可部分逆转糖尿病引起的 LTP 损伤^[36]; 应用 T2DM 治疗性药物 GLP-1 类似物也能有效阻止 A β 诱导的 LTP 损伤^[37]。以上这些关于 LTP 的研究结果, 为 AD 和 T2DM 时认知功能的下降提供了一定程度的解释。

1.5 AD 和 T2DM 动物模型均可由 STZ 所制备

如果说 T2DM 和 AD 发病过程具有相当的一致性, 则两种疾病应具有相同或类似的动物模型。如上所述, STZ 作为一种致糖尿病物质, 可选择性破坏胰岛 β 细胞, 导致葡萄糖和能量代谢损伤而诱导动物糖尿病样症状, 因此已被广泛用于糖尿病动物模型的制备。无独有偶, 将 STZ 直接注入大鼠脑内也可形成 AD 实验性动物模型 (3 型糖尿病)。Sharma 和 Gupta 等人将 STZ (3 mg/kg) 注入成年雄性 Wistar 大鼠侧脑室, 给药后第 17、18 和 19 天进行被动逃避实验、高架十字迷宫实验和闭场实验以分析动物的学习和记忆等行为功能。结果表明, 实

验组大鼠出现了明显的学习记忆和认知功能障碍^[38]。另外, Lester-Coll 等人观察到, 脑内注射 STZ 并不影响胰岛的胰岛素分泌, 注射后的大鼠并没有出现血糖升高、胰岛结构改建和胰岛素的免疫反应性, 而只是损害了大脑的葡萄糖和能量代谢, 使大鼠出现神经退行性改变, 如脑萎缩、神经元数量减少、tau 蛋白磷酸化以及 A β 水平的升高等。这些结果表明, AD 的神经退行性变性可以被实验性诱导糖尿病模型的 STZ 所产生^[26], AD 和 T2DM 具有共同的动物模型。

2 GLP-1 的合成与分泌

GLP-1 是由小肠 L 细胞分泌的一种肠促胰岛素, 由胰高血糖素原基因表达形成。如图 1 所示, 在肠和脑, 胰高血糖素原基因表达形成胰高血糖素原 (proglucagon, PG), 经过剪切加工形成肠高血糖素、GLP-1、中间肽-2 (intervening peptide-2, IP-2) 和 GLP-2 等片段^[39], 其中 GLP-1 与胰高血糖素具有 50% 的同源性。GLP-1 生成后, 在细胞内的结构形式为 GLP-1(1-37), 一般认为, 这种全肽形式没有生物活性。GLP-1(1-37) 由细胞分泌后经加工修

饰, 切掉 N 端 6 个氨基酸形成主要的两种天然结构形式: GLP-1(7-37) 和 GLP-1(7-36) 酰胺 (GLP-1(7-36)amide), 以 GLP-1(7-36)amide 为主, 大约占 80%。然而, GLP-1 在体内可被二肽基肽酶 IV (dipeptidyl peptidase IV, DPP-IV) 从 GLP-1 N 末端倒数第二个氨基酸位点 Ala⁸ 处迅速裂解形成 GLP-1(9-36)amide 或 GLP-1(9-37) 而失活, 使其半衰期缩短至 1~2 min。肠道 L 细胞分泌的生理性 GLP-1 大部分在肠道毛细血管被 DPP-IV 灭活, 只有 25% 以完整形式进入门脉循环, 在肝脏中保存活性的 GLP-1 又有 40%~50% 进一步被灭活, 最终只有 10%~15% 进入体循环, 并且可以高效地通过血脑屏障, 进入相应脑区发挥作用。幸运的是, 已经发现很多 GLP-1 类似物都拥有较长的半衰期, 例如, 一种从美洲毒蜥蜴的唾液中分离得到的 GLP-1 的类似物 exendin-4 (Ex-4) 和 GLP-1 受体 (GLP-1R) 的亲力和生物活性都远高于 GLP-1, 而且可抵抗 DPP-IV 的降解作用, 故半衰期延长达 60~90 min^[40]。另一种 GLP-1 类似物 liraglutide 抵抗 DPP-IV 的降解作用能力明显增强, 血清半衰期可以达到 12 h, 甚至 24 h 仍然发挥与 GLP-1 相同的作用^[41]。迄今为

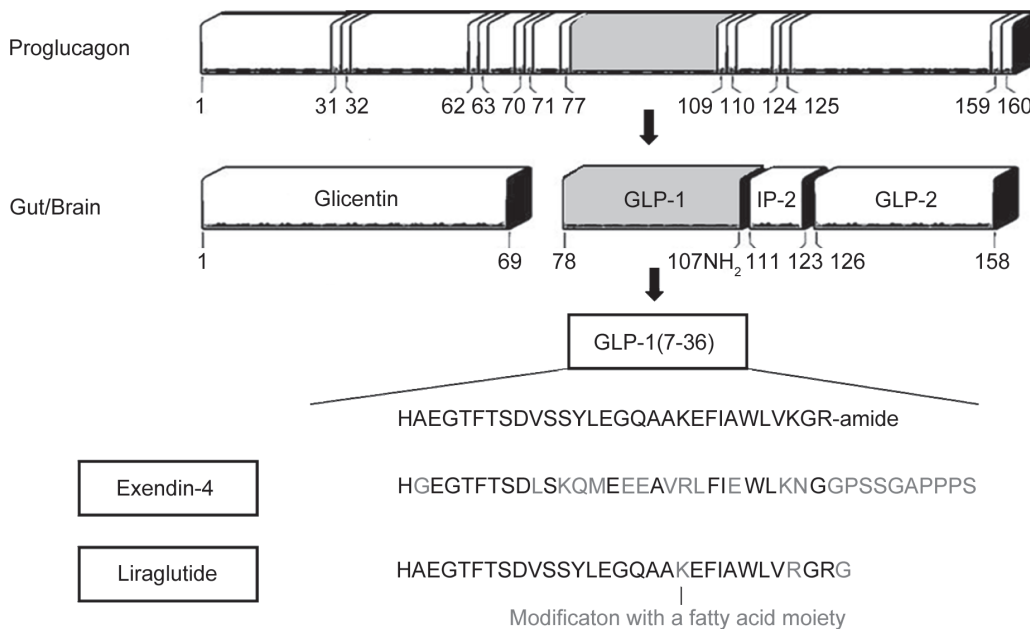


图 1. 肠和脑内高血糖素原的转录后过程及 GLP-1 类似物结构

Fig. 1. Posttranslational processing of proglucagon in the gut and brain (reproduced from Holst *et al.* ^[39]) and the structure of GLP-1 analogs. The numbers indicate amino acid positions in the 160-amino acid proglucagon sequence, and the proglucagon contains glicentin, GLP-1, IP-2 (intervening peptide-2), and GLP-2. Exendin-4, a GLP-1R agonist, has a 53% amino acid homology with GLP-1(7-36)amide, with an important substitution of Gly⁸ for Ala⁸. Liraglutide is a long-acting GLP-1 analog with an important substitution of Arg³⁴ for Lys³⁴ and a Lys²⁶ modification.

止, 在脑内发挥作用的 GLP-1 是否可以由脑内神经元产生还没有直接的证据, 但外周 GLP-1 可以通过血脑屏障并发挥中枢效应的事实无疑已为 GLP-1 治疗 AD 奠定了基础。

3 GLP-1R 的分布及其生物学效应

3.1 GLP-1R 的外周分布及其生理作用

GLP-1 是一种肠促胰岛素, 通过与 GLP-1R 结合完成相应功能。GLP-1R 属于 G 蛋白耦联的七次跨膜胰高血糖素受体家族, 分布于脑、肺、胰腺胰岛、胃、下丘脑、心脏、肠和肾等组织。目前, GLP-1 是 T2DM 重要的治疗性药物, 这是因为, GLP-1 与胰岛 β 细胞膜 GLP-1R 结合并激活受体后, 可促进葡萄糖依赖性胰岛素分泌^[42], 而基本不会引起低血糖; 还可以发挥抑制胰高血糖素释放、抑制摄食和胃排空、促进胰岛 β 细胞增殖和分化、保护细胞免受凋亡等作用。Zander 等进行的临床试验发现, 给 T2DM 患者连续 6 周皮下注射 GLP-1, 患者空腹血糖浓度降低为 4.3 mmol/L, 游离脂肪酸水平也明显降低, 胰岛素分泌能力则显著增强^[43]。另一方面, GLP-1 通过 cAMP/PKA 依赖的翻译调控机制调节诱导了胰岛素样生长因子-1 受体(insulin-like growth factor-1 receptor, IGF-1R)表达的升高, 使胰岛 β 细胞数目增多, 功能增强^[44]。因此, GLP-1 的这些特性使其成为当今最有希望遏制 T2DM 的药物。其中, 人工合成的 GLP-1R 激动剂 Ex-4 —— exenatide 于 2005 年已经被美国 FDA 批准上市, 用于双胍类、噻唑烷二酮类、磺脲类或上述三者中两种联用后血糖仍不达标的 T2DM 的辅助治疗。此外, 目前研发的 GLP-1 类似物 liraglutide 正在临床试验中, 已有报道, T2DM 患者单独使用 liraglutide 后, 血糖控制能力明显提高的同时, 并没有引起低血糖的发生^[45]。

3.2 GLP-1R 的中枢分布及其生理效应

在中枢神经系统, GLP-1R 在啮齿类动物及人脑内分布广泛^[46, 47], 丘脑、脑干、外侧膈核、穹窿、后区、尾壳、大脑皮层、海马和小脑均有表达。如上所述, GLP-1 可以通过血脑屏障在相应脑区与其受体结合发挥作用。神经细胞的多种生理过程可接受 GLP-1 的调节, 包括神经元轴突的生长、海马神经元回路的调节以及细胞的存活。有实验证实, GLP-1 和 Ex-4 与 GLP-1R 结合可以降低内源性 A β 水平以及神经元 APP 水平^[48]; 而 *GLP-1R* 基因

缺失的小鼠可表现出学习能力缺陷; 海马区转染 *GLP-1R* 基因后, 使其学习功能有所恢复, 并且海马区高表达 GLP-1R 的大鼠表现出学习记忆能力的增强^[49]。还有证据表明, GLP-1 能够诱导体外培养神经细胞的分化, 保护海马神经元抵御多种凋亡性刺激^[50, 51]。事实上, 在中枢神经系统, GLP-1 也同样能够发挥激素和生长因子样作用, 调节细胞的有丝分裂、生长、分化和凋亡等过程。鉴于 GLP-1R 在中枢广泛分布且具有明显的生理效应, GLP-1 极有可能成为一种新的 AD 预防和治疗的有効手段。

4 GLP-1 与 AD

目前, AD 的预防和治疗还缺乏行之有效的药物和措施。鉴于 AD 患者往往伴有脑内胆碱能系统功能障碍, 包括胆碱能神经元的丢失、乙酰胆碱合成和释放减少、以及胆碱能受体功能的下调, 临床上治疗 AD 广泛使用胆碱酯酶抑制剂(cholinesterase inhibitors, ChEIs), 通过阻止乙酰胆碱的灭活, 提高乙酰胆碱的活性而发挥治疗作用。然而, ChEIs 的疗效十分有限, 并且存在一些不良反应, 长期使用甚至可引起 NFTs 中的主要成分磷酸化 Tau 蛋白水平的升高^[52]。近年来, A β 免疫疗法尽管给人们看到了治疗 AD 的一线希望, 但免疫治疗过程中出现的严重副作用如脑出血和脑炎, 已使得 AD 免疫治疗的临床实验暂时停止。

基于 T2DM 与 AD 的相似性以及 GLP-1 的中枢作用, 近年来提出的一个治疗 AD 的新策略就是: 利用控制 T2DM 的手段如胰岛素和 GLP-1 干预 AD, 以减少 A β 的产生和聚集、拮抗 A β 的神经毒性、增强 A β 的降解和清除, 同时促进神经元生长发育, 防止 A β 引起的细胞凋亡。目前, 这方面的研究已经显现出一定成效。例如, 有报道表明, 胰岛素对维持 AD 患者记忆能力至关重要^[53]; 胰岛素在脑内可以调节 A β 与 APP 的活性, 抑制脑内 A β 的形成, 保护培养的海马神经元免受 A β 引起的损伤, 增强突触可塑性, 并参与 A β 从脑内的清除, 有效阻止突触传递和认知功能的损伤^[54, 55]。还有报道证实, 胰岛素样生长因子 1 (insulin-like growth factor-1, IGF-1) 可以抑制 tau 蛋白磷酸化、NFTs 的形成和 A β 的神经毒性, 并纠正胆碱能功能障碍^[56]。然而, 由于胰岛素与 A β 具有一个共同的能够被胰岛素降解酶 (insulin-degrading enzyme, IDE) 识别的结构域, 因此胰岛素的应用在一定程度上竞争了 IDE, 使 IDE

与 A β 的结合减少, 从而抑制了 A β 的降解, 加强了 A β 的聚集而使其毒性增强^[57], 故胰岛素应用于 AD 的治疗并非理想。近几年兴起的 T2DM 治疗性药物 GLP-1 在 AD 治疗中的应用越来越引人瞩目, GLP-1R 有可能成为 AD 治疗中一个重要的药物作用靶点。事实上, 已经有证据表明, GLP-1 可以使脑内内源性的 A β 水平明显降低, 使培养神经元 APP 水平下降^[51], 并且能够改善 AD 转基因动物的突触传递可塑性和减少淀粉样斑块的形成^[58]。GLP-1 及其类似物对抗 A β 的神经保护作用 and 可能的机制如下:

4.1 GLP-1 减少 A β 产生

研究表明, A β 在脑内的沉积和神经毒性作用的发挥是导致胆碱能信号和神经元损伤的原因之一, 而 GLP-1 和其稳定的受体激动剂 Ex-4 能够改善前胆碱能功能^[50]。直接观察 GLP-1 和 Ex-4 对 A β 产生的实验发现, 将 GLP-1 或 Ex-4 缓慢注入正常小鼠侧脑室, 能显著降低内源性 A β 蛋白水平, 侧脑室注射 3.3 ng 或 6.6 ng GLP-1 或 0.2 ng Ex-4 均导致了内源性 A β 水平降低, 尤其是 6.6 ng GLP-1 的作用更加明显^[51]; 并且, 二者均抑制了培养神经元 APP 蛋白的加工, 使 APP 水平下降, 从而引起 A β 蛋白水平的下降。已经清楚, AD 患者脑内的腺苷酸环化酶(adenylate cyclase, AC)活性有显著降低, 而且主要发生在与兴奋性 Gs 蛋白耦联的环节。GLP-1 与 GLP-1R 结合后, 经 Gs 蛋白耦联, 激活 AC, 随后激活蛋白激酶 A (protein kinase A, PKA), 使 APP α 分泌酶活性增加, 将 A β 片段从中间切断, 从而使 A β 的形成减少。可见, GLP-1R 的激活可能是通过活化 PKA 通路降低 A β 的沉积而实现。另外, APP 羧基末端是特异的结合和激活 GTP 结合蛋白的位点, 表明 APP 扮演了 G 蛋白耦联信号受体的作用。已经证明, GLP-1 通过与 G 蛋白耦联受体即 GLP-1R 结合而发挥作用, GLP-1 有可能结合到 APP 羧基端完成细胞内信号转导功能, 降低 APP 的合成; 或者 GLP-1/APP 相互作用加快了 APP 从细胞表面的消失, 导致了 A β 生成减少; 另一方面, GLP-1 也可能与 IDE 相互作用, 从而增强了 A β 从脑内清除而发挥神经营养作用。

4.2 GLP-1 抵御兴奋毒和氧化应激

GLP-1 在抵御兴奋毒性和氧化应激所致损伤方面发挥着重要的作用。Perry 等人的研究表明, GLP-1 可以保护培养神经元免受谷氨酸兴奋毒、A β 、Fe²⁺ 和氧化应激等损伤所诱导的细胞死亡^[50]。他们发现

GLP-1 与其受体结合还可降低在体动物脑内 A β 水平以及培养神经元的 APP 水平。然而, GLP-1 如何抵抗兴奋毒和氧化损伤的机制仍不十分清楚。有实验证实, 铁离子调节 APP 基因表达, AD 脑内变性的神经元中 Fe²⁺ 水平增加, A β 聚集形成的淀粉样斑块中 Fe²⁺ 储存蛋白——铁蛋白也明显增多, 铁反应元件(iron responsive element, IRE)也被证明存在于 APP 的 mRNA 编码区, 而此位点可上调 A β 蛋白的形成^[59]。GLP-1 是否通过调节 Fe²⁺ 水平保护神经元免受兴奋毒和氧化损伤值得进一步研究。GLP-1 抵御兴奋毒和氧化应激所致损伤的另一个机制是激活 cAMP 和丝裂原激活的蛋白激酶(mitogen-activated protein kinases, MAPK)。因为 cAMP 和 MAPK 在 GLP-1 调节细胞增殖和分化方面是非常重要的信号分子, GLP-1 与细胞膜上 GLP-1R 结合后, 经 G 蛋白 α 亚单位(G α)刺激 AC, 可导致细胞内 cAMP 和 PKA 升高, 其神经保护作用的实现与 cAMP 和下游的 PKA 以及转录因子的参与有关, 也可通过 MAPK 途径和 cAMP 反应元素结合蛋白(cAMP response element-binding protein, CREB)所致; 经 G 蛋白 $\beta\gamma$ 二聚体激活 PI3K, 随后通过蛋白激酶 C 依赖或非依赖机制激活 MAPK, 以及 PI3K 诱导 Akt 磷酸化并激活, 导致 CREB 刺激核基因表达, 影响了 APP 裂解过程和 A β 的合成, 从而实现 GLP-1 的保护作用; 应用 PI3K 抑制剂(LY294002)或 MAPK 抑制剂(PD98059)都可导致 GLP-1 刺激神经树突的生长受限^[48]。当然, 除了 MAPK 和 CREB 核转换途径以外, GLP-1 刺激细胞内基因的表达、促进细胞的存活还可能有其它转录因子的参与。

4.3 GLP-1 调节细胞内钙稳态

钙离子可以介导神经元对生理性刺激产生的多种反应, 如钙离子通过谷氨酸受体和 / 或电压门控通道内流可促进神经突起的生长和突触形成、促进神经递质从突触前释放和调节突触可塑性。与 GLP-1 在胰岛 β 细胞促进胰岛素释放的作用机制^[39]类似地, GLP-1 在中枢与神经元 GLP-1R 结合后, 最终使神经递质释放到突触间隙而发挥作用。GLP-1 与神经元细胞膜上的 GLP-1R 结合后经 G 蛋白耦联激活 AC, 导致细胞内 cAMP 水平升高、PKA 激活, 由此引起 ATP 敏感 K⁺ 通道和延迟整流 K⁺ 通道关闭、L 型钙通道开放, 内流入细胞的 Ca²⁺ 通过 Ryanodine 受体(RyR)以及三磷酸肌醇(inositol triphosphate, IP3)使肌质网内储存的 Ca²⁺ 释放, 从而使细胞内 Ca²⁺ 水

平升高, 囊泡释放活动增加, 神经递质被释放到细胞外。这种 cAMP/Ca²⁺ 信号神经保护机制至今还没有完全阐明。在 GLP-1 保护海马神经元抵御谷氨酸诱导的细胞死亡中^[50], 钙内流的减少起重要作用, 此过程很可能是由 cAMP 以及下游蛋白激酶和转录因子的激活所介导。以往的实验已证明 GLP-1 介导的 MAPK 和 CREB 在胰岛 β 细胞以 Ca²⁺ 和 cAMP 依赖的方式活化。GLP-1 预处理后, 培养大鼠海马神经元谷氨酸诱导的电流和电压依赖性钙通道电流显著降低, 而急性给予 GLP-1 却导致细胞内钙水平短暂升高^[60]。由于细胞内适量的 Ca²⁺ 增高参与正常神经功能的维持, 而过量的 Ca²⁺ 即钙超载又是导致细胞变性坏死的主要原因, 所以 Ca²⁺ 稳态的维持对于细胞功能的正常发挥才是至关重要的。GLP-1 的神经保护作用很可能正是得益于它对神经细胞内钙稳态的调节。因此, 阐明 GLP-1 调节细胞内 Ca²⁺ 水平的信号转导机制、建立一个关于 GLP-1 在钙信号参与的多种生理过程中作用机制的模型是非常重要的。

5 结语与展望

由于 AD 和 T2DM 具有相当类似的病理特征和发病分子机制, 将治疗 T2DM 的药物用于 AD 的预防和治疗已经激起人们的广泛兴趣。作为目前 T2DM 最重要和最有希望的治疗性药物, GLP-1 不仅在外周也可在脑内通过与 GLP-1R 结合, 发挥激素、生长因子、神经调制物等作用, 对抗 Aβ 神经毒性, 调节包括胰岛 β 细胞和神经元在内的各种细胞有丝分裂、生长、分化和凋亡, 以及参与细胞损伤修复过程。尽管 GLP-1 的中枢作用及其机制尚有许多问题等待解答, 但 GLP-1 容易通过血脑屏障、脑内存在 GLP-1R 以及 GLP-1 改善 AD 转基因动物认知功能已成为不争的事实。可以推测, 随着 AD 发病机制的深入研究和用于中枢神经保护的 GLP-1 类似物的不断发现, GLP-1 极有可能从目前潜在的应用价值走向将来的 AD 临床治疗。

参考文献

- Goedert M. Tau protein and the neurofibrillary pathology of Alzheimer's disease. *Trends Neurosci* 1993; 16(11): 460-465.
- Hardy J, Selkoe DJ. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: progress and problems on the road to therapeutics. *Science* 2002; 297(5580): 353-356.
- Walsh DM, Klyubin I, Fadeeva JV, Cullen WK, Anwyl R, Wolfe MS, Rowan MJ, Selkoe DJ. Naturally secreted oligomers of amyloid beta protein potently inhibit hippocampal long-term potentiation *in vivo*. *Nature* 2002; 416(6880): 535-539.
- Yoshiike Y, Chui DH, Akagi T, Tanaka N, Takashima A. Specific compositions of amyloid-beta peptides as the determinant of toxic beta-aggregation. *J Biol Chem* 2003; 278(26): 23648-23655.
- Yan XZ, Qiao JT, Dou Y, Qiao ZD. Beta-amyloid peptide fragment 31-35 induces apoptosis in cultured cortical neurons. *Neuroscience* 1999; 92(1): 177-184.
- Qi JS, Qiao JT. Amyloid beta-protein fragment 31-35 forms ion channels in membrane patches excised from rat hippocampal neurons. *Neuroscience* 2001; 105(4): 845-852.
- Zhang JM, Wu MN, Qi JS, Qiao JT. Amyloid beta-protein fragment 31-35 suppresses long-term potentiation in hippocampal CA1 region of rats *in vivo*. *Synapse* 2006; 60(4): 307-313.
- Zhang JF, Qi JS, Qiao JT. Protein kinase C mediates amyloid beta-protein fragment 31-35-induced suppression of hippocampal late-phase long-term potentiation *in vivo*. *Neurobiol Learn Mem* 2009; 91(3): 226-234.
- Pan YF, Chen XR, Wu MN, Ma CG, Qi JS. Arginine vasopressin prevents against Aβ(25-35)-induced impairment of spatial learning and memory in rats. *Horm Behav* 2010; 57(4-5): 448-454.
- Haan MN. Therapy Insight: type 2 diabetes mellitus and the risk of late-onset Alzheimer's disease. *Nat Clin Pract Neurol* 2006; 2(3): 159-166.
- Gotz J, Ittner LM, Lim YA. Common features between diabetes mellitus and Alzheimer's disease. *Cell Mol Life Sci* 2009; 66(8): 1321-1325.
- Logroscino G, Kang JH, Grodstein F. Prospective study of type 2 diabetes and cognitive decline in women aged 70-81 years. *BMJ* 2004; 328(7439): 548.
- de la Monte SM, Wands JR. Alzheimer's disease is type 3 diabetes-evidence reviewed. *J Diabetes Sci Technol* 2008; 2(6): 1101-1113.
- Biessels GJ, Staekenborg S, Brunner E, Brayne C, Scheltens P. Risk of dementia in diabetes mellitus: a systematic review. *Lancet Neurol* 2006; 5(1): 64-74.
- Janson J, Laedtke T, Parisi JE, O'Brien P, Petersen RC, Butler PC. Increased risk of type 2 diabetes in Alzheimer disease. *Diabetes* 2004; 53(2): 474-481.
- Li L, Holscher C. Common pathological processes in Alzheimer disease and type 2 diabetes: a review. *Brain Res Rev* 2007; 56(2): 384-402.
- Holscher C, Gengler S, Gault VA, Harriott P, Mallot HA. Soluble beta-amyloid[25-35] reversibly impairs hippocampal

- synaptic plasticity and spatial learning. *Eur J Pharmacol* 2007; 561(1-3): 85-90.
- 18 Gebre-Medhin S, Mulder H, Pekny M, Westermark G, Tornell J, Westermark P, Sundler F, Ahren B, Betsholtz C. Increased insulin secretion and glucose tolerance in mice lacking islet amyloid polypeptide (amylin). *Biochem Biophys Res Commun* 1998; 250(2): 271-277.
- 19 Alonso AC, Zaidi T, Grundke-Iqbal I, Iqbal K. Role of abnormally phosphorylated tau in the breakdown of microtubules in Alzheimer disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994; 91(12): 5562-5566.
- 20 Kim B, Backus C, Oh S, Hayes JM, Feldman EL. Increased tau phosphorylation and cleavage in mouse models of type 1 and type 2 diabetes. *Endocrinology* 2009; 150(12): 5294-5301.
- 21 Miklossy J, Qing H, Radenovic A, Kis A, Vilen B, Laszlo F, Miller L, Martins RN, Waeber G, Mooser V, Bosman F, Khalili K, Darbinian N, McGeer PL. Beta amyloid and hyperphosphorylated tau deposits in the pancreas in type 2 diabetes. *Neurobiol Aging* 2010; 31(9): 1503-1515.
- 22 Freude S, Plum L, Schnitker J, Leiser U, Udelhoven M, Krone W, Bruning JC, Schubert M. Peripheral hyperinsulinemia promotes tau phosphorylation *in vivo*. *Diabetes* 2005; 54(12): 3343-3348.
- 23 Wang JZ, Grundke-Iqbal I, Iqbal K. Kinases and phosphatases and tau sites involved in Alzheimer neurofibrillary degeneration. *Eur J Neurosci* 2007; 25(1): 59-68.
- 24 Zierath JR, Krook A, Wallberg-Henriksson H. Insulin action and insulin resistance in human skeletal muscle. *Diabetologia* 2000; 43(7): 821-835.
- 25 Fletcher B, Gulanick M, Lamendola C. Risk factors for type 2 diabetes mellitus. *J Cardiovasc Nurs* 2002; 16(2): 17-23.
- 26 Lester-Coll N, Rivera EJ, Soscia SJ, Doiron K, Wands JR, de la Monte SM. Intracerebral streptozotocin model of type 3 diabetes: relevance to sporadic Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis* 2006; 9(1): 13-33.
- 27 Plaschke K, Kopitz J, Siegelin M, Schliebs R, Salkovic-Petrisic M, Riederer P, Hoyer S. Insulin-resistant brain state after intracerebroventricular streptozotocin injection exacerbates Alzheimer-like changes in Tg2576 AbetaPP-overexpressing mice. *J Alzheimers Dis* 2010; 19(2): 691-704.
- 28 Xie L, Helmerhorst E, Taddei K, Plewright B, Van Bronswijk W, Martins R. Alzheimer's beta-amyloid peptides compete for insulin binding to the insulin receptor. *J Neurosci* 2002; 22(10): RC221.
- 29 Zhao WQ, De Felice FG, Fernandez S, Chen H, Lambert MP, Quon MJ, Krafft GA, Klein WL. Amyloid beta oligomers induce impairment of neuronal insulin receptors. *FASEB J* 2008; 22(1): 246-260.
- 30 Schmid AW, Freir DB, Herron CE. Inhibition of LTP *in vivo* by beta-amyloid peptide in different conformational states. *Brain Res* 2008; 1197: 135-142.
- 31 Freir DB, Costello DA, Herron CE. A beta 25-35-induced depression of long-term potentiation in area CA1 *in vivo* and *in vitro* is attenuated by verapamil. *J Neurophysiol* 2003; 89(6): 3061-3069.
- 32 Gureviciene I, Ikonen S, Gurevicius K, Sarkaki A, van Groen T, Pussinen R, Ylinen A, Tanila H. Normal induction but accelerated decay of LTP in APP + PS1 transgenic mice. *Neurobiol Dis* 2004; 15(2): 188-195.
- 33 Reisi P, Babri S, Alaei H, Sharifi MR, Mohaddes G, Noorbakhsh SM, Lashgari R. Treadmill running improves long-term potentiation (LTP) defects in streptozotocin-induced diabetes at dentate gyrus in rats. *Pathophysiology* 2009; 17(1): 33-38.
- 34 Biessels GJ, Kamal A, Ramakers GM, Urban JJ, Spruijt BM, Erkelens DW, Gispen WH. Place learning and hippocampal synaptic plasticity in streptozotocin-induced diabetic rats. *Diabetes* 1996; 45(9): 1259-1266.
- 35 Kamal A, Biessels GJ, Urban JJ, Gispen WH. Hippocampal synaptic plasticity in streptozotocin-diabetic rats: impairment of long-term potentiation and facilitation of long-term depression. *Neuroscience* 1999; 90(3): 737-745.
- 36 Biessels GJ, Kamal A, Urban JJ, Spruijt BM, Erkelens DW, Gispen WH. Water maze learning and hippocampal synaptic plasticity in streptozotocin-diabetic rats: effects of insulin treatment. *Brain Res* 1998; 800(1): 125-135.
- 37 Gault VA, Holscher C. GLP-1 agonists facilitate hippocampal LTP and reverse the impairment of LTP induced by beta-amyloid. *Eur J Pharmacol* 2008; 587(1-3): 112-117.
- 38 Sharma M, Gupta YK. Intracerebroventricular injection of streptozotocin in rats produces both oxidative stress in the brain and cognitive impairment. *Life Sci* 2001; 68(9): 1021-1029.
- 39 Holst JJ. The physiology of glucagon-like peptide 1. *Physiol Rev* 2007; 87(4): 1409-1439.
- 40 Timmers L, Henriques JP, de Kleijn DP, Devries JH, Kemperman H, Steendijk P, Verlaan CW, Kerver M, Piek JJ, Doevendans PA, Pasterkamp G, Hofer IE. Exenatide reduces infarct size and improves cardiac function in a porcine model of ischemia and reperfusion injury. *J Am Coll Cardiol* 2009; 53(6): 501-510.
- 41 Degn KB, Juhl CB, Sturis J, Jakobsen G, Brock B, Chandramouli V, Rungby J, Landau BR, Schmitz O. One week's treatment with the long-acting glucagon-like peptide 1 derivative liraglutide (NN2211) markedly improves 24-h gly-

- cemia and alpha- and beta-cell function and reduces endogenous glucose release in patients with type 2 diabetes. *Diabetes* 2004; 53(5): 1187-1194.
- 42 Nagakura T, Yasuda N, Yamazaki K, Ikuta H, Yoshikawa S, Asano O, Tanaka I. Improved glucose tolerance via enhanced glucose-dependent insulin secretion in dipeptidyl peptidase IV-deficient Fischer rats. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; 284(2): 501-506.
- 43 Zander M, Madsbad S, Madsen JL, Holst JJ. Effect of 6-week course of glucagon-like peptide 1 on glycaemic control, insulin sensitivity, and beta-cell function in type 2 diabetes: a parallel-group study. *Lancet* 2002; 359(9309): 824-830.
- 44 Cornu M, Modi H, Kawamori D, Kulkarni RN, Joffraud M, Thorens B. Glucagon-like peptide-1 increases beta-cell glucose competence and proliferation by translational induction of insulin-like growth factor-1 receptor expression. *J Biol Chem* 2010; 285(14): 10538-10545.
- 45 Vilsboll T, Zdravkovic M, Le-Thi T, Krarup T, Schmitz O, Courreges JP, Verhoeven R, Buganova I, Madsbad S. Liraglutide, a long-acting human glucagon-like peptide-1 analog, given as monotherapy significantly improves glycemic control and lowers body weight without risk of hypoglycemia in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2007; 30(6): 1608-1610.
- 46 Wei Y, Mojsov S. Tissue-specific expression of the human receptor for glucagon-like peptide-I: brain, heart and pancreatic forms have the same deduced amino acid sequences. *FEBS Lett* 1995; 358(3): 219-224.
- 47 Goke R, Larsen PJ, Mikkelsen JD, Sheikh SP. Distribution of GLP-1 binding sites in the rat brain: evidence that exendin-4 is a ligand of brain GLP-1 binding sites. *Eur J Neurosci* 1995; 7(11): 2294-2300.
- 48 Perry TA, Greig NH. A new Alzheimer's disease interventive strategy: GLP-1. *Curr Drug Targets* 2004; 5(6): 565-571.
- 49 During MJ, Cao L, Zuzga DS, Francis JS, Fitzsimons HL, Jiao X, Bland RJ, Klugmann M, Banks WA, Drucker DJ, Haile CN. Glucagon-like peptide-1 receptor is involved in learning and neuroprotection. *Nat Med* 2003; 9(9): 1173-1179.
- 50 Perry T, Haughey NJ, Mattson MP, Egan JM, Greig NH. Protection and reversal of excitotoxic neuronal damage by glucagon-like peptide-1 and exendin-4. *J Pharmacol Exp Ther* 2002; 302(3): 881-888.
- 51 Perry T, Lahiri DK, Sambamurti K, Chen D, Mattson MP, Egan JM, Greig NH. Glucagon-like peptide-1 decreases endogenous amyloid-beta peptide (Abeta) levels and protects hippocampal neurons from death induced by Abeta and iron. *J Neurosci Res* 2003; 72(5): 603-612.
- 52 Chalmers KA, Wilcock GK, Vinters HV, Perry EK, Perry R, Ballard CG, Love S. Cholinesterase inhibitors may increase phosphorylated tau in Alzheimer's disease. *J Neurol* 2009; 256(5): 717-720.
- 53 Craft S, Asthana S, Newcomer JW, Wilkinson CW, Matos IT, Baker LD, Cherrier M, Lofgreen C, Latendresse S, Petrova A, Plymate S, Raskind M, Grimwood K, Veith RC. Enhancement of memory in Alzheimer disease with insulin and somatostatin, but not glucose. *Arch Gen Psychiatry* 1999; 56(12): 1135-1140.
- 54 Rensink AA, Otte-Holler I, de Boer R, Bosch RR, ten Donkelaar HJ, de Waal RM, Verbeek MM, Kremer B. Insulin inhibits amyloid beta-induced cell death in cultured human brain pericytes. *Neurobiol Aging* 2004; 25(1): 93-103.
- 55 Lee CC, Kuo YM, Huang CC, Hsu KS. Insulin rescues amyloid beta-induced impairment of hippocampal long-term potentiation. *Neurobiol Aging* 2009; 30(3): 377-387.
- 56 Dore S, Kar S, Zheng WH, Quirion R. Rediscovering good old friend IGF-I in the new millenium: possible usefulness in Alzheimer's disease and stroke. *Pharm Acta Helv* 2000; 74(2-3): 273-280.
- 57 Qiu WQ, Folstein MF. Insulin, insulin-degrading enzyme and amyloid-beta peptide in Alzheimer's disease: review and hypothesis. *Neurobiol Aging* 2006; 27(2): 190-198.
- 58 Gengler S, McClean PL, McCurtin R, Gault VA, Hölscher C. Val(8)GLP-1 rescues synaptic plasticity and reduces dense core plaques in APP/PS1 mice. *Neurobiol Aging* 2010 Mar 30. [Epub ahead of print] doi:10.1016/j.neurobiolaging.2010.02.014
- 59 Bandyopadhyay S, Huang X, Cho H, Greig NH, Youdim MB, Rogers JT. Metal specificity of an iron-responsive element in Alzheimer's APP mRNA 5' untranslated region, tolerance of SH-SY5Y and H4 neural cells to desferrioxamine, clioquinol, VK-28, and a piperazine chelator. *J Neural Transm Suppl* 2006; (71): 237-247.
- 60 Gilman CP, Perry T, Furukawa K, Grieg NH, Egan JM, Mattson MP. Glucagon-like peptide 1 modulates calcium responses to glutamate and membrane depolarization in hippocampal neurons. *J Neurochem* 2003; 87(5): 1137-1144.