

## 淀粉样变性的分子致病机制及其治疗

陈丹 综述 刘志红 审校

关键词 淀粉样变性 淀粉样物质 分子机制

### 概述

淀粉样变性 (amyloidosis) 是指由于难溶性淀粉样物质在细胞外异常沉积导致的一类疾病。它属于蛋白质构象病 (protein conformational diseases, PCD), 顾名思义, 特定蛋白质构象的改变在其发病过程中发挥了重要作用。蛋白质异常构象的形成过程可与蛋白质的生理性折叠过程同时进行, 使得正常情况下可溶性的蛋白质转变为难溶性的致病性蛋白, 以  $\beta$  片层结构纤维蛋白的形式在组织中成束聚集沉积, 影响正常细胞和组织的功能, 并逐渐取代正常结构, 最终导致组织损伤和器官功能的障碍甚至衰竭。

随着淀粉样变性涉及病种的不断扩展, 对淀粉样变性的研究也越来越受到重视。虽然对淀粉样变的确切病因和发病机制尚未完全阐明, 有关淀粉样变前体蛋白、淀粉样物质理化性质、形成机制、沉积特性等方面的研究均得到了可喜的成果, 现就有关此方面的研究进展作一综述。

### 淀粉样物质的结构

19世纪中叶, 德国学者 Virchow 引进了植物学“淀粉样物质 (amyloid)”的概念以描述组织中碘染色呈阳性反应的异常细胞外成分。目前认为, 淀粉样物质主要由两大部分组成: 淀粉样多肽 (amyloidogenic polypeptides): 这是组成淀粉样物质的主体。不同来源的淀粉样物质均有其独特的淀粉样多肽结构, 作为单体参与形成多聚化  $\beta$ -片层结构。迄今为止, 已发现 20 多种不同的淀粉样多肽 (附表)。

淀粉样物质附加成分: 存在于所有淀粉样变物质

中。主要包括血清淀粉样 P 成分 (serum amyloid P component, SAP)、糖胺聚糖 (glycosaminoglycans, GAGs)、载脂蛋白 E 等。其中, SAP 是一种糖蛋白, 属于 Pentraxin 家族, 在钙离子存在的情况下, 能通过特殊模序和淀粉样物质共有构象结合, 抵制相应酶的蛋白水解作用, 保护淀粉样物质。GAGs 是由二糖 (糖醛酸/己糖胺) 单位重复聚合形成的多糖链, 可以和蛋白质核心共价结合。用小分子阴离子硫酸盐或硫酸复合物阻碍 GAGs 和淀粉样物质的相互作用, 可以减少大鼠脾脏 AA 淀粉样物质的沉积, 提示其与淀粉样变密切相关<sup>[1]</sup>。载脂蛋白 E 是一种富含精氨酸的碱性蛋白, 可能通过发挥病态分子伴侣 (pathological chaperone) 的作用, 参与淀粉样物质的沉积。

尽管不同淀粉样多肽在结构上存在着明显的差异, 它们形成的淀粉样物质仍表现出一些共同的组织学和超微结构特征, 这也是目前识别淀粉样物质的公认标准: 着色特性。这是识别淀粉样物质最常用的方法。所有的淀粉样物质均呈刚果红染色阳性, 偏振光显微镜检呈苹果绿双折光。苯并噻唑类染料 thioflavin T (或 S) 染色呈苹果绿色荧光。电镜下, 可见直径 7.5~10 nm、长度不定、僵直、无分支且聚集成束的原纤维样结构。高分辨率电子显微镜示, 原纤维主要由直径 2.5~3.5 nm 的纤丝缠绕而成, 每一条纤丝均拥有由规则的反平行  $\beta$  折叠股所形成的  $\beta$  片层构象。X 线衍射分析示“交叉- $\beta$  (cross- $\beta$ )”结构。

### 淀粉样变性发生机制

蛋白质的特定折叠是它正确行使其功能的基础。如果折叠过程发生异常, 形成错误的空间结构, 蛋白质不仅丧失其生物学功能, 甚至可能导致疾病。

[作者单位] 南京军区南京总医院 解放军肾脏病研究所

(南京, 210002)

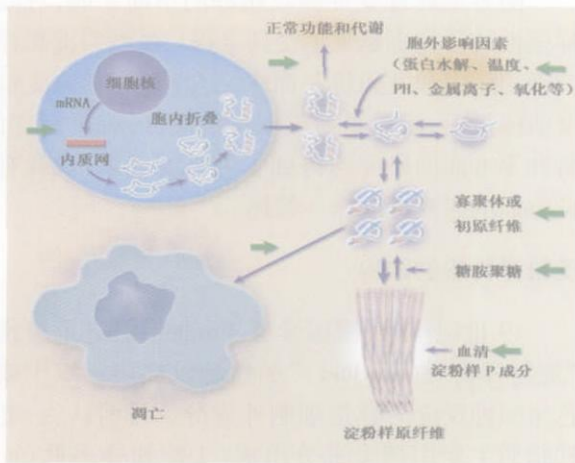
附表 淀粉样物质及前体蛋白

淀粉样蛋白	前体蛋白	累及器官/分布	相关的临床综合征
轻链(重链)片段	免疫球蛋白轻链(重链)	<b>系统性</b> (主要累及肾脏、肝脏、心脏、脾脏、脉管、肺脏、胃肠道、神经、舌)	系统性 AL(AH)淀粉样变性, 偶见局灶性 AL(AH)淀粉样变性
淀粉样 A 物质	血清淀粉样蛋白 A	系统性(主要累及脾脏、肝脏、肾脏)	系统性继发性 AA 淀粉样变性, 常发于慢性感染后炎症, 包括遗传性周期热
$\beta$ 淀粉样蛋白	$\beta$ 淀粉样前体蛋白	脑	阿尔茨海默氏病, 老龄化, 遗传性淀粉样脑血管病, Dutch type, 唐氏综合征
$\beta$ 微球蛋白	$\beta_2$ 微球蛋白	<b>系统性</b> (主要累及骨骼肌系统、心脏、滑膜)	血透相关性淀粉样变性
载脂蛋白前体 A <sub>1</sub>	载脂蛋白 A1	肝脏、肾脏、心脏、神经	家族性淀粉样变性多发性神经病
载脂蛋白前体 A <sub>2</sub>	载脂蛋白 A2	肾脏、心脏	家族性淀粉样变性多发性神经病, 家族性血管淀粉样变性
朊病毒蛋白片段	朊病毒蛋白	脑	克雅氏病及其他海绵状脑病
转甲状腺素蛋白片段	转甲状腺素蛋白	神经系统、肾脏、甲状腺、心脏	家族性淀粉样多发性神经病、老年系统性淀粉样变性
胰岛淀粉样多肽片段	胰岛淀粉样多肽	胰岛	2 型糖尿病、胰岛素瘤
BR I 蛋白	BR I 蛋白	脑	家族性英国型痴呆
降钙素片段	降钙素原	甲状腺	髓质性甲状腺癌相关性淀粉样变性
半胱氨酸蛋白酶抑制蛋白 C 片段	半胱氨酸蛋白酶抑制蛋白 C	脑及其他组织	遗传性(冰岛型)淀粉样脑血管病
纤维蛋白原 $\alpha$ 链片段	纤维蛋白原 $\alpha$ 链	肾脏	遗传性肾脏淀粉样变性
溶胶蛋白片段	溶胶蛋白	系统性(脉管)	芬兰遗传性淀粉样变性
胰岛素片段	胰岛素	胰岛素注射位点	Injection-localized amyloidosis 胰岛素瘤
乳铁蛋白片段	乳铁蛋白	角膜	家族性角膜淀粉样变性
溶菌酶片段	溶菌酶	肾脏、肝脏、脾脏	家族性淀粉样变性
催乳素片段	催乳素	垂体	催乳素瘤, Aging pituitary
角蛋白片段	角蛋白	皮肤	原发性皮肤淀粉样变性
心房钠钾因子片段	心房钠钾因子	心房	心房淀粉样变性
M edin	lactadherin	大动脉	主动脉中层淀粉样变性

影响蛋白质折叠方式的因素有: 蛋白质的氨基酸组成, 它不仅决定了蛋白质的三级结构, 还决定了该蛋白与其他蛋白质相互作用形成复合物的形式。环境因素, 环境因素可以影响蛋白质特定构象的形成。 纠错程序。正常情况下, 因各种应激导致未折叠蛋白质发生积聚或错构、变性时, 机体可以启动特殊程序将错构的蛋白质由内质网运输至胞浆中, 通过泛素标记, 被特异性识别和降解, 从而保证内质网内蛋白质的正确折叠和聚集。一旦该过程发生障碍, 将导致异常蛋白质的聚集(附图)。

在淀粉样变性中蛋白质发生错误折叠、形成淀粉样物质的确切机制至今尚不清楚。现介绍几种可能参与的机制。

**蛋白质稳定性的改变** 当某蛋白质序列能够快速完成正确折叠并保持其高度稳定性时, 蛋白质局部聚集的危险性最小, 否则就易发生错构, 产生局部聚集。即蛋白质的去稳定是淀粉样变性发生的首要条件。迄今为止, 已经发现多种因素可影响蛋白质的稳定性。



附图 淀粉样物质生成途径

在细胞内, 蛋白质肽链在内质网中合成、折叠, 通过细胞质控制机制, 分泌至细胞外; 在细胞外, 正常蛋白质可行使正常的功能, 参与正常代谢。在特殊环境中, 变异体易从完全折叠状态转变为部分折叠状态, 重新经历生理性折叠途径的部分程序。在这一过程中, 部分解链的多肽可以生成错构分子, 从而发生自我聚集, 形成淀粉样物质局部沉积。其中, 寡聚体, 或原纤维, 可以通过促进靶组织细胞的凋亡介导细胞毒性。绿箭头提示淀粉样变性治疗靶点(本图转译自参考文献 [2])

**遗传学因素** 虽然蛋白质分子发生自我联结和聚集不一定与遗传缺陷直接相关,但特定遗传背景可以破坏蛋白质结构的稳定,增加构象变异的危险性,使蛋白质更易发生解链和局部积聚。即具有致病潜力的蛋白质本身往往具有形成病态构象的内在倾向。

在人类拥有的大量免疫球蛋白轻链中,只有小部分可以转变为淀粉样物质。它们往往具有  $\lambda$  同种型和  $\lambda$  变异型亚类(轻链可变区的同源性家族)。在具备淀粉样变性能力的  $\lambda$  链中约 42% 含有 6a 或 3r  $\lambda$  基因片段断产物。在已知的  $\kappa$  轻链淀粉样物质序列中大部分来源于一对  $\kappa$  链可变区胚系基因(O18-O8和 L18)。阿尔茨海默病的流行病学资料显示,晚期发病的散发型阿尔茨海默病或家族性阿尔茨海默病患者常携带有载脂蛋白 E $\epsilon$ 4 等位基因,而白种人中阿尔茨海默病高危人群也常携带此等位基因<sup>[3]</sup>。

此外, DNA 突变导致前体蛋白序列中氨基酸组成的改变也可引起相应蛋白质的去稳定,从而易于发生结构转变。在遗传性系统性淀粉样变性中,已经报道了 80 多种不同的转甲状腺蛋白突变类型及四种溶菌酶的病态变异体 (I56T, D67H, W64R, P57I)。当转甲状腺蛋白 Thr119Met 变异体和野生型多肽或淀粉样变倾向变异体 Val30Met 结合时, Thr119Met 变异体对转甲状腺蛋白四聚体结构具有热力学稳定效应。故体内有基因型呈 Met30/Met119 的转甲状腺蛋白四聚体的人群不易发病,而基因型为 Met30 野生型者则相反<sup>[4]</sup>。在家族性朊蛋白病中,朊病毒蛋白细胞型 PrP<sup>C</sup> 第 3 个  $\alpha$  螺旋区发生的 V210I 变异可以改变  $\alpha$  螺旋-3 的构象特性,使之易于形成  $\beta$  片层结构<sup>[5]</sup>。

**年龄因素** **年龄因素和淀粉样变性亦密切相关**。典型如老年性淀粉样变性,淀粉样物质沉积的发生率及严重性和年龄增长导致的生理学改变呈正相关。对百名老年人心脏的研究发现,91% 存在心房淀粉样物质的沉积,而且半定量分析发现 80 岁以上的老年人心脏中淀粉样沉积物质明显增多<sup>[6]</sup>。几乎所有 60 岁以上的老年人均可发现主动脉中层淀粉样物质的沉积<sup>[7]</sup>。目前认为生物年龄的增长可以增加蛋白质合成过程中翻译后相错误的发生率,使蛋白质稳定性受到影响,从而导致疾病的发生。

**环境因素** 环境因素在淀粉样前体蛋白的去稳定中也发挥了重要作用。

体外研究发现,微变性环境如低 pH, 变性剂如尿素、盐酸胍,有机溶剂的存在均可导致蛋白质的去稳定、部分折叠及原纤维的形成。已知当 pH < 5 时,天门冬氨酸、谷氨酸和组氨酸残基可发生质子化,破坏分子内的盐桥结构、改变分子的亲水性,从而在不破坏蛋白质整体结构的情况下诱导其疏水核心的暴露。微酸环境下,朊病毒蛋白细胞型 PrP<sup>C</sup>  $\alpha$  螺旋结构中的 144、147、178、202 位天门冬氨酸残基,152、196、211 位谷氨酸残基发生质子化,负电荷的丢失和疏水残基的暴露可以影响蛋白质结构稳定性,促进  $\beta$  片层结构的形成和积聚,从而更利于异常型 PrP<sup>Sc</sup> 的形成<sup>[8]</sup>。在体外, pH 值的改变或热应激可以减少局部净电荷、增加疏水性,降低解链的  $\alpha$ -突触核蛋白的蛋白质稳定性,从而形成部分折叠中间体<sup>[9]</sup>。金属离子如 Cu<sup>2+</sup> /Zn<sup>2+</sup> 可以通过和多肽链组氨酸残基结合诱导 A $\beta$  的快速积聚<sup>[10]</sup>。

**蛋白质的结构转换** 研究发现,淀粉样变性通常起始于处于部分折叠或解链状态的多肽。如磷酸甘油酸激酶、半胱氨酸蛋白酶抑制剂 C、转甲状腺蛋白等,需先完成部分解链才能形成淀粉样原纤维;而  $\alpha$ -突触核蛋白和胰岛淀粉样多肽,必须先形成部分折叠状态才能启动原纤维形成过程。

部分具有  $\alpha$  螺旋结构的蛋白质序列,在完成  $\alpha$  / $\beta$  结构转换后,  $\beta$  链方可相互连接形成原纤维结构。朊病毒蛋白的积聚就是一个典型的例子。正常细胞中细胞型 PrP<sup>C</sup> 的构象包含约 40% 的  $\alpha$  螺旋结构,很少或无  $\beta$ -片层,当其发生结构转换,形成富含  $\beta$ -片层的异常型 PrP<sup>Sc</sup>, 方具有高度的聚集倾向,可形成淀粉样朊蛋白棒。如果加入六氟异丙醇, PrP<sup>Sc</sup> 蛋白  $\beta$  折叠重新转化为  $\alpha$  螺旋,则积聚溶解<sup>[11]</sup>。

对  $\alpha$  螺旋和  $\beta$  折叠的结构特征分析发现,  $\beta$  折叠由于含较多的非极性残基,常埋在蛋白质内部形成疏水核心;而  $\alpha$  螺旋通常呈两性,亲水面位于表面,疏水一侧朝向蛋白质内部。 $\alpha$  / $\beta$  的结构转换可导致肽链疏水核心的暴露和亲水面的减少,使蛋白质分子间易于形成交叉  $\beta$  折叠结构。

有趣的是,近期研究发现一些最初未折叠或以  $\beta$ -片层结构为主的蛋白质需通过形成具有  $\alpha$  螺旋结构的中间体方能最终完成变构过程。Teplow 等<sup>[12]</sup> 研究发现,在 A $\beta$  淀粉样原纤维形成过程中,  $\beta$

折叠结构出现之前,可发现 $\alpha$ 螺旋结构,而且 $\alpha$ 螺旋中间体结构的形成是关键步骤之一,唯有在 $\alpha$ 螺旋形成后方可在电镜下发现原纤维。除 $A\beta$ 多肽外,胰岛素也可以发现 $\alpha$ 螺旋中间体<sup>[13]</sup>。

**蛋白质的水解** 在特定的淀粉样物质中,通常仅有部分淀粉样蛋白质前体结构参与形成原纤维。Schormann等<sup>[14]</sup>认为蛋白水解是淀粉样原纤维形成的初始步骤。

在阿尔茨海默病中,原纤维主要由包含39~43个残基的淀粉样物质前体蛋白(APP)水解片段组成。Medin含50个残基的Lactadherin的水解片段,和动脉中层淀粉样变性相关。蛋白质水解使得深埋在Lactadherin核心的 $\beta$ 链暴露,从而促进原纤维的生成。在慢性钙化性胰腺炎中发现,积聚的原纤维主要由Iiostathine的水解片段组成。水解过程切除了Arg(11)-Ile(12)带电荷肽段,而后者可以阻断原纤维形成所必需的疏水片段的暴露<sup>[15]</sup>。

鉴于原纤维的形成是一个分步进行的过程,迄今为止,已经提出了多种有关淀粉样物质形成机制的模型,包括模板辅助模型(templated assembly, TA)、晶核多聚化模型(nucleated polymerization, NP)、晶核依赖的构象转化模型(nucleated conformational conversion, NCC)。三种模型在不同程度上解释了绝大多数实验结果。其中,NCC被认为是最综合、最被接受的淀粉样原纤维形成机制的模型。它综合了TA、NP两种模型的特征,认为轻度的构象改变导致了错误折叠中间体的形成。由于疏水片段暴露而难溶于水样环境,使得它在水样环境中很不稳定,可以通过与其他分子的相互作用,形成小的 $\beta$ 片层寡聚体,寡聚体发生构象重排后积聚形成晶核,后者又继续和具有一定亚单位组成的结构可变的寡聚体相互作用,从而促进原纤维的形成。

### 临床常见淀粉样变性

淀粉样变性的分类标准有多种,目前越来越多的学者主张根据淀粉样多肽的成分进行分类(附表)。下面介绍几种临床比较常见的淀粉样变性的特点及其组织损伤机制。

**免疫球蛋白轻链** 在西方国家,免疫球蛋白轻链相关淀粉样变性(AL)是各类淀粉样变性中最常见的一种,因淀粉样物质前体蛋白为免疫球蛋白轻链而得名。迄今为止已经从AL相关淀粉样变性患

者尿及组织中分离得到70多种单克隆蛋白。尽管有小部分该类疾病患者可合并多发性骨髓瘤(5%~10%)或B细胞淋巴瘤,多数AL型淀粉样变性常与单克隆浆细胞功能异常有关,仅表现为不明显的克隆性浆细胞增生,即所谓的“primitive”AL型淀粉样变性。现多利用免疫固定法检测血清或尿液中的单克隆免疫球蛋白或轻链,约90%的AL型淀粉样变性患者可以得到阳性结果。对于无法明确者,可以通过骨髓组织活检免疫组化染色找寻优势克隆的浆细胞。

AL型淀粉样变性可以累及多个器官或组织,在不同患者具有一定的选择性。Raymond等<sup>[16]</sup>对60例AL相关淀粉样变性患者研究发现,免疫球蛋白轻链种系基因可以影响AL淀粉样物质沉积的器官特异性。已证明来源于 $6a\lambda$ 种系基因的 $\lambda$ 轻链克隆具有特异的肾脏定向特性,这可能是由于这些蛋白和肾脏局部系膜细胞相互作用的结果。而具有其他 $\lambda$ 克隆的患者则主要表现为心脏受累和多系统病变。有 $\kappa$ 克隆的患者则主要发生肝脏的病变。提示淀粉样物质沉积的器官选择性可能和异质性前体物质与组织特异成分的相互作用相关。

除传统的物理性破坏作用外,AL淀粉样物质在形成过程可能通过组织毒性效应直接介导组织损伤。用放射标记的血清淀粉样P成分探查,发现在特定定位点淀粉样物质的沉积程度与器官功能损伤程度之间并不存在直接关系。Boston等<sup>[17]</sup>的研究也发现,在同等程度沉积情况下,AL型心脏淀粉样变性和TTR相关心脏淀粉样变性患者的预后明显不同。提示除沉积物的数量以外,沉积物的性质在介导的靶器官损伤中具有重要的作用。化疗阻断淀粉样物质前体轻链的产生,明显改善外周神经病变、肾脏和心脏功能,提示在淀粉样物质形成过程中产生的可溶性寡聚体,参与组织损伤。

AL型淀粉样变性为一种系统性疾病,可以累及多种器官、组织,因受累器官的多寡和程度不等,故其临床表现复杂多样。乏力、消瘦往往是最早出现的症状,心脏、肾脏是最常累及的器官。约有3/4的患者可以表现为大量蛋白尿,也可以发生进行性肾功能衰竭。心脏累及时常表现为限制性心脏病,可表现为进行性充血性心力衰竭。常发生不明原因的心肌梗塞,可导致临床误诊,尤其是表现为典型心绞痛的心肌淀粉样变性。另外,自主神经和外周神经

损害症状也较常见。可表现为症状性体位性低血压,胃肠道动力异常、腕管综合征、肢体麻木、手套袜套样改变等。消化系统症状,肝脏肿大在AL型淀粉样变性患者中也较常见。

AL型淀粉样变性的预后较差,主要取决于脏器受累的程度,尤其心脏,是影响预后的最主要因素。患者一般在确诊后1~2年内死亡。若出现明显的心脏受累表现,平均生存期约为6个月。如果同时累及多个脏器,尤其是心脏和胃肠道时,预后极差。

**淀粉样A物质** AA型淀粉样变性,也是一种较常见的淀粉样变性类型。因其淀粉样物质的主要成分为血清淀粉样A物质(SAA)而得名。SAA既是一种急性期反应蛋白,也是一种高密度脂蛋白相关的载脂蛋白,主要在肝脏合成。人类共有四种SAA基因,其中SAA1和SAA2具有高度同源性,炎症过程中,在促炎因子,尤其是白介素1(IL-1)、肿瘤坏死因子(TNF- $\alpha$ )、IL-6等的作用下,SAA1和SAA2可大量表达,SAA的持续升高是发生淀粉样变性的先决条件。

对AA淀粉样物质介导组织损伤的机制研究发现,沉积的AA可能通过与细胞表面结合位点相互作用,介导细胞损伤,并进一步诱导淀粉样物质的产生。其中糖基化终末产物受体(RAGE)是一个备受关注的结合位点。RAGE是免疫球蛋白超家族中的一种多配体受体,可与SAA高亲和力结合。有学者认为,AA淀粉样物质可以诱导并和局部受体RAGE相互作用激活信号传导途径诱导细胞应激,活化核因子 $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B),诱导细胞凋亡、器官失功。另外,对AA型淀粉样变性患者的受累脾脏的研究发现,单核吞噬细胞RAGE的表达明显上调。体外实验发现,SAA可以诱导单核吞噬细胞发生RAGE依赖的细胞活化。在小鼠AA型淀粉样变性模型中,阻断RAGE的作用可以抑制小鼠脾脏淀粉样物质的沉积,从而减轻AA诱导的细胞损伤<sup>[18]</sup>。即体内和体外研究均证实SAA可以诱导单核吞噬细胞的活化,促进TNF- $\alpha$ 、巨噬细胞集落刺激因子(M-CSF)的表达,促进疾病进展。

AA型淀粉样变性常见于慢性炎症性疾病,如类风湿性关节炎、强直性脊柱炎、家族性地中海热;慢性感染,如结核、麻风以及恶性肿瘤。AA型淀粉样变性虽然可累及多种脏器,临床多表现为肾脏病变、肾病综合征、甚至肾功能不全,是该病的主要死因。

肝脾肿大亦较常见,心脏则较少受累。

AA型淀粉样变性患者的预后主要取决于原有的慢性疾病及受累脏器的病变程度,平均生存期为4~8年。

**$\beta$ 淀粉样蛋白** A $\beta$ 淀粉样变性,是由于 $\beta$ 淀粉样蛋白(A $\beta$ )源性淀粉样物质在体内沉积引起一种局限性淀粉样变性。以一系列脑部病变为主,包括阿尔茨海默病、Down's syndrome遗传性淀粉样脑血管病变等。

A $\beta$ 是 $\beta$ 淀粉样前体蛋白(I型整合膜蛋白,APP)先后经水解后得到的一种大小约4kD的多肽。虽然A $\beta$ 在体内以多种形式存在,在淀粉样物质中,发现主要以两种形式存在:A $\beta$ 1-40和A $\beta$ 1-42。对A $\beta$ 毒性的体内和体外研究发现,其神经毒性包括两个方面:增强一些伤害性刺激,如兴奋性毒素、自由基等的细胞损伤效应,直接的细胞毒性。进行性A $\beta$ 的积聚可以激活大脑皮质的慢性炎症反应,诱导氧化应激、线粒体膜去极化,破坏细胞内的钙稳态,并提高其对兴奋毒性(excitotoxic)的敏感性,从而导致突触改变和神经元死亡。另外实验也发现,在A $\beta$ 淀粉样变性中,原纤维可溶性低聚物中间体具有细胞毒性,可以影响神经元的代谢,从而导致神经元丢失。

阿尔茨海默病作为一种神经退行性病变,临床表现为近期记忆和智力的进行性减退,神经病理学可见大脑皮层和海马出现大量的老年斑(senile plaque, SP)(以A $\beta$ 沉积为主)和神经纤维缠结(neurofibrillary tangle, NFT),并伴随出现神经元丧失。现有观点认为,A $\beta$ 是阿尔茨海默病形成和发展的关键因素。阿尔茨海默病的预后较差,平均生存期为5.5年。

**胰淀素** 早在一个世纪前就有学者发现,在胰腺胰岛中可以有淀粉样物质的沉积,而且这种沉积在糖尿病患者中尤为突出。1987年,研究揭示这些在胰岛沉积的淀粉样物质中包含一种37个氨基酸的多肽,即胰淀素(amylin)。它是2型糖尿病、胰岛素瘤胰岛淀粉样沉积物的主要成分。文献报道在70%~90%的2型糖尿病患者以及50%以上的胰岛素瘤患者胰岛内有淀粉样物质的沉积,在无糖尿病的老年人群中也可见胰岛淀粉样变性,但概率明显下降。

Amylin是胰腺胰岛细胞分泌的调节糖稳态的第

三种重要内分泌激素,它和胰岛素由胰岛 $\beta$ 细胞共合成、共组装、共分泌。动物实验发现,在糖耐量降低的动物中胰岛淀粉样变性的发生率明显高于糖耐量正常者,提示胰岛淀粉样变性发生于 prediabetic stages<sup>[19]</sup>。

目前认为,胰岛 $\beta$ 细胞功能的改变,导致 Amylin 合成、修饰、分泌、降解过程的变化,从而启动胰岛淀粉样物质的形成。早期胰岛仅有少量淀粉样物质沉积于胰岛小血管周围。这种血管周围期(perivascular stage)改变可见于长期患糖尿病的患者或部分非糖尿病人群。随着胰岛淀粉样变性不断进展。除挤占性结构破坏作用外,Amylin 还可以通过直接的氧化作用、在细胞膜形成特异性钙离子通道、增加 P53 和 P21 的表达直接介导胰岛 $\beta$ 细胞损伤和凋亡,导致胰岛 $\beta$ 细胞功能异常和绝对数目减少。继而造成胰岛素释放的减少和血糖的持续升高,后者进一步刺激 Amylin 的合成,从而形成恶性循环。Amylin 也可以和 RAGE 结合,激活 NF- $\kappa$ B 等多条信号转导通路,介导后续炎症反应,使糖尿病不断加重。

### 治疗现状及进展

淀粉样变性尚无特效的治疗方案,目前治疗靶点主要集中于以下几个方面。

#### 减少淀粉样物质前体蛋白的合成或降低其浓度

在淀粉样物质的合成和清除之间存在着精细的平衡,减少淀粉样物质前体蛋白的合成,将其浓度降低至一定阈值,减少淀粉样物质的生成,有利于淀粉样物质的重吸收,从而逆转器官失功。

在 AL 型淀粉样变性中,主要应用 MP 方案(口服马法兰和强的松)控制克隆性浆细胞恶性增生,但疗效有限。现主张应用大剂量化疗合并自体干细胞移植,清除克隆性增生的浆细胞,可以减少或清除淀粉样前体物质克隆浆细胞,改善受累器官的功能,有效延长生存期。在 AA 型淀粉样变性中,积极控制炎症活动可以改善受累器官的功能。遗传性载脂蛋白 A1 淀粉样变性患者在接受肝脏移植后,淀粉样物质前体蛋白载脂蛋白 A<sub>1</sub> 的血浆水平可以减少约 50%,预后明显改善。转甲状腺蛋白主要由肝脏生成,肝脏移植也可以延缓病情进展。

利用反义寡核苷酸和小型干扰 RNA 干预相应基因表达也可以有效减少淀粉样物质前体轻链。但

在应用于临床前,特定 mRNA 靶点的选择及胞内小型干扰 RNA 浓度的调节等问题尚待解决。

**抑制淀粉样物质的生成及细胞外沉积** 已知转甲状腺蛋白四聚体的去稳定可以导致其解体并形成淀粉样物质,利用特殊配体稳定天然蛋白的结构可以阻断其由天然的折叠状态转变为具有高度淀粉样物质生成倾向的部分折叠状态。研究发现,用天然配体如甲状腺素、氟灭酸或人工设计的小型配体可以稳定转甲状腺蛋白四聚体结构,抑制原纤维的形成。

Soto 等<sup>[20]</sup>设计了一种名为‘小分子伴侣’(mini-chaperones)的物质,又名‘ $\beta$ 片层形成阻断肽’( $\beta$  sheet breaker peptide),可以和蛋白质序列中易于发生自我联合的区域相结合,从而抑制蛋白质构象的改变。迄今为止, $\beta$ 片层形成阻断肽已被设计用来妨碍 A $\beta$  和 PrP 的构象改变和聚集。但是这些特殊配体结合的特异性及饱和循环中相应前体蛋白所需的剂量尚无定论。

有学者发现 Camelid(包括骆驼、骆马和相关种系)能产生一种仅有重链二聚体组成的单体免疫球蛋白,这些小分子可以进入其他免疫球蛋白不能进入的组织和细胞。利用 Camelid 抗体的单结构域片段(cAb-HuL6)可以和溶菌酶变异体 D67H 特异性结合,恢复这种变异体结构的协调性和稳定性,从而防止其体外积聚<sup>[21]</sup>。提示用一系列抗体或其他类似物和相应蛋白质作用,克服病理性突变所致的去稳定效应,降低其形成部分解链构象的能力,可能是防止淀粉样物质沉积的一种有效方法。

抑制催化淀粉样前体蛋白片断形成的蛋白酶活性是另一种有效途径。在阿尔茨海默病中,抑制催化淀粉样物质肽链生成的 $\beta$ 和 $\gamma$ 泌离酶活性是一颇具发展前景的治疗手段<sup>[22]</sup>。流行病学研究发现,他汀类药物可能通过调节泌离酶的活性以清除淀粉样物质前体从而阻断阿尔茨海默病的进展<sup>[23]</sup>。某些特定的非类固醇抗炎药物也可以通过直接影响泌离酶的活性减少淀粉样物质的沉积<sup>[24]</sup>。随着对淀粉样变性病所涉及的蛋白酶认识的深入,他们可能成为特殊抑制剂而应用于临床。

**促进已形成的淀粉样物质的重吸收** 日本发现一种名为内肽酶(neprilysin)的 A $\beta$  降解酶,对分解 $\beta$ 淀粉样蛋白起主要作用。在 neprilysin 基因敲除小鼠中可以发现大量 A $\beta$  的积聚,特别在海马区。

通过基因表达干预,可以有效控制脑内积聚的蛋白,从而缓解病情<sup>[25]</sup>。

其他直接针对淀粉样沉积物的作用靶点还有淀粉样物质共同的纤丝结构及其保护成分。鉴于SAP可以保护淀粉样物质的水解,干扰SAP与淀粉样物质的结合有利于促进疾病的缓解,如清除淀粉样沉积物中的SAP或抑制其与GAGs的相互作用<sup>[1]</sup>。这些措施已经在动物模型中得到证实,正处于二期临床试验。一种新型蒽环霉素 4-Iodo-4-Deoxydoxorubicin (HDOX)可以和淀粉样原纤维共同超微结构结合,促进原纤维的解聚。但是,对AL型淀粉样变性患者的临床实验发现,这种物质对软组织累及为主的淀粉样变性患者疗效显著,而对于心脏、肾脏或其他脏器累及患者,其相应的器官功能无明显的好转<sup>[26]</sup>,故其临床效应还有待证实。

Rudi等<sup>[27]</sup>合成了一种针对AL淀粉样物质 $\beta$ 折叠构象表位的单抗,在AL淀粉样变性小鼠模型中可以通过激活中性粒细胞,释放相应的蛋白水解因子从而促进淀粉样物质的清除。提示利用主动或被动免疫反应清除沉积的淀粉样物质亦不失为一种有效的治疗手段。目前已有多个中心着手开发研制可以应用于人体的相应抗体。另外在阿尔茨海默病小鼠转基因模型中发现,用A $\beta$ 肽免疫可以减少淀粉斑,减轻神经退行性变<sup>[28]</sup>。这种措施对Prion病<sup>[29]</sup>和轻链淀粉样变性病<sup>[30]</sup>似乎也有一定的可行性。然而,在临床试验中,由于某些患者出现了中枢神经系统炎症反应,A $\beta$ 疫苗的二期临床试验中途终止<sup>[31]</sup>。故免疫治疗措施的应用首先需要解决这一问题。

淀粉样变性是人类疾病领域面临的又一巨大挑战。虽然对淀粉样变性发病机制的研究取得较大进展,但淀粉样原纤维形成的确切过程、组织特异性沉积的影响因素,致组织损伤的潜在机制等还远未阐明。因此,对淀粉样变性的深入研究,尤其是对这类病变发生的潜在分子机制的再认识,将有利于开发研制新的治疗手段,有效改善淀粉样变性患者的预后。

#### 参 考 文 献

- 1 Kisilevsky R, Lemkau LJ, Fraser PE, *et al*. A resting amyloidosis in vivo using small molecule anionic sulfonates or sulfates: implications for Alzheimer's disease. *Nat Med*. 1995, 1(2): 143-148.
- 2 Merlini G, Bellotti V. Molecular mechanisms of amyloidosis. *N Engl J Med*. 2003, 349(6): 583-596.
- 3 Famer LA, Cupples LA, Haines JL, *et al*. Effects of age, sex, and ethnicity on the association between apolipoprotein E genotype and Alzheimer disease: A meta-analysis: APOE and Alzheimer Disease Meta-Analysis Consortium. *JAMA*. 1997, 278(16): 1349-1356.
- 4 Almeida MR, Alves IL, Terazaki H, *et al*. Comparative studies of two transthyretin variants with protective effects on familial amyloidotic polyneuropathy: TTR R104H and TTR T119M. *Biochem Biophys Res Commun*. 2000, 270(3): 1024-1028.
- 5 Thompson AJ, Bamhan KJ, Norton RS, *et al*. The Val210-Ile pathogenic Creutzfeldt-Jakob disease mutation increases both the helical and aggregation propensities of a sequence corresponding to helix-3 of PrP(C). *Biochim Biophys Acta*. 2001, 1544(1-2): 242-254.
- 6 Kavanama S, Takahashi M, Ishihara T, *et al*. Incidence and distribution of isolated atrial amyloid: histologic and immunohistochemical studies of 100 aging hearts. *Pathol Int*. 1995, 45(5): 335-342.
- 7 Haggqvist B, Nashund J, Sletten K, *et al*. Medic: An integral fragment of aortic smooth muscle cell-produced lactadherin forms the most common human amyloid. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1999, 96: 8669-8674.
- 8 Wawrzek J. Modelling charge interactions in the prion protein: predictions for pathogenesis. *FEBS Lett*. 1999, 450(1-2): 144-148.
- 9 Uversky VN, Li J, Fink AL. Evidence for a partially folded intermediate in alpha-synuclein fibril formation. *J Biol Chem*. 2001, 276(14): 10737-10744.
- 10 Mirra T, Suzuki K, Kohata N, *et al*. Metal binding modes of Alzheimer's amyloid beta-peptide in insoluble aggregates and soluble complexes. *Biochemistry*. 2000, 39(23): 7024-7031.
- 11 Safar J, Roller PP, Gajdusek DC, *et al*. Thermal stability and conformational transitions of scrapie amyloid (prion) protein correlate with infectivity. *Protein Sci*. 1993, 2(12): 2206-2216.
- 12 Kiktidze MD, Condon MM, Teplov DB. Identification and characterization of key kinetic intermediates in amyloid beta-protein fibrillogenesis. *J Mol Biol*. 2001, 312(5): 1103-1119.
- 13 Bouchard M, Zurdo J, Nettleton EJ, *et al*. Formation of insulin amyloid fibrils followed by FTIR simultaneously with CD and electron microscopy. *Protein Sci*. 2000, 9(10): 1960-1967.
- 14 Schormann N, Murrell JR, Benson MD. Tertiary structures of amyloidogenic and non-amyloidogenic transthyretin variants: New model for amyloid fibril formation. *Amyloid*. 1998, 5(3): 175-187.
- 15 Cerini C, Peyrot V, Garnier C, *et al*. Biophysical characterization of lithostathine. *J Biol Chem*. 1999, 274(32): 22266-22274.
- 16 Conen RL, Zhang Y, Martinez C, *et al*. The tropism of organ involvement in primary systemic amyloidosis: contributions of IgV(L) germ line gene use and clonal plasma cell burden. *Blood*. 2001, 98(3): 714-720.
- 17 Dubrey SW, Cha K, Skinner M, *et al*. Familial and primary (AL) cardiac amyloidosis: echocardiographically similar diseases with dis-

- tinctly different clinical outcomes. *Heart* 1997, 78(1): 74–82
- 18 Yan SD, Zhu H, Zhu A, *et al*. Receptor-dependent cell stress and amyloid accumulation in systemic amyloidosis. *Nat Med* 2000, 6(6): 643–651.
- 19 Porte D Jr, Kahn SE. Beta-cell dysfunction and failure in type 2 diabetes: potential mechanisms. *Diabetes* 2001, 50 (Suppl 1): S160–S163.
- 20 Soto C. Protein misfolding and disease: protein refolding and therapy. *FEBS Lett* 2001, 498(2–3): 204–207.
- 21 Dumoulin M, Last AM, Desnyter A, *et al*. A camelid antibody fragment inhibits the formation of amyloid fibrils by human lysozyme. *Nature* 2003, 424(6950): 783–788.
- 22 Wolfe MS. Secretase targets for Alzheimer's disease: identification and therapeutic potential. *J Med Chem* 2001, 44(13): 2039–2060.
- 23 Sjögren M, Gustafsson K, Syversen S, *et al*. Treatment with simvastatin in patients with Alzheimer's disease lowers both alpha- and beta-cleaved amyloid precursor protein. *Dement Geriatr Cogn Disord* 2003, 16(1): 25–30.
- 24 Weggen S, Eriksen JL, Das P, *et al*. A subset of NSAIDs lower amyloidogenic Aβ42 independently of cyclooxygenase activity. *Nature* 2001, 414(6860): 212–216.
- 25 Iwata N, Tsubuki S, Takaki Y, *et al*. Metabolic regulation of brain Aβ by neprilysin. *Science* 2001, 292(5521): 1550–1552.
- 26 Merlini G, Anesi E, Garini P, *et al*. Treatment of AL amyloidosis with 4'-ido-4'-deoxydoxorubicin: an update. *Blood* 1999, 93(3): 1112–1113.
- 27 Hmeic R, Wall J, Wolfenbarger DA, *et al*. Antibody-mediated resolution of light chain-associated amyloid deposits. *Am J Pathol* 2000, 157(4): 1239–1246.
- 28 Morgan D, Diamond DM, Gottschall PE, *et al*. A beta peptide vaccination prevents memory loss in an animal model of Alzheimer's disease. *Nature* 2000, 408(6815): 982–985.
- 29 Peretz D, Williamson RA, Kaneko K, *et al*. Antibodies inhibit prion propagation and clear cultures of prion infectivity. *Nature* 2001, 412(6848): 739–743.
- 30 Hmeic R, Wall J, Wolfenbarger DA, *et al*. Antibody-mediated resolution of light chain-associated amyloid deposits. *Am J Pathol* 2000, 157(4): 1239–1246.
- 31 Citron M. Alzheimer's disease: treatments in discovery and development. *Nat Neurosci* 2002, 5(Suppl 1): 1055–1057.

[收稿日期] 2005-07-18

(本文编辑 凡心 丁大洪)