

阿尔茨海默病免疫机制及免疫治疗研究进展

马国诏

【关键词】 阿尔茨海默病； 免疫疗法； 综述文献

DOI: 10.3969/j.issn.1672-6731.2010.02.008

阿尔茨海默病(AD)是老年人大脑皮质和海马区神经变性疾病,严重影响老年人的生活质量,给社会和家庭带来极大负担。随着我国社会人口的老齡化,阿尔茨海默病发病率明显升高,而临床上尚缺乏有效的防治药物及措施。阿尔茨海默病的病理学特征为神经元胞外大量神经炎性斑[NPs, 又称老年斑(SP_s)]沉积和胞内神经原纤维缠结(NFTs)形成。在老年斑形成过程中大量 β -淀粉样蛋白(A β)沉积,其中A β_{1-42} 是最先沉积且最难溶解的淀粉样蛋白。自身免疫性反应或炎性反应在阿尔茨海默病的发病机制和病理进展中具有重要作用,目前已在阿尔茨海默病患者脑组织中发现抗原呈递细胞(APC)、人类白细胞抗原组织相容性DR抗原(HLA-DR)阳性和其他免疫调节细胞、补体成分、炎性细胞因子(inflammatory cytokine)和急性期反应物质。尽管尚不能肯定免疫反应在阿尔茨海默病发病过程中起主要作用,但研究显示免疫反应至少是阿尔茨海默病的次级或终末病理过程^[1]。另外,抗炎药物可以减少阿尔茨海默病的发病。因此,抗炎药物及其他控制免疫潜能细胞活性的物质在阿尔茨海默病的治疗中可能具有研究价值。

一、阿尔茨海默病的细胞免疫机制

阿尔茨海默病患者脑组织炎性反应可能参与了A β 沉积和神经元凋亡,经活化的小胶质细胞及其他免疫细胞调节。慢性活化的小胶质细胞和星形胶质细胞可以破坏血-脑屏障,并通过释放细胞毒性分子,例如前炎性细胞因子、活性氧(RoS)、一氧化氮及补体,从而产生神经毒性作用^[1]。Weksler等^[2]研究发现,与健康老年人相比,阿尔茨海默病患者

血清抗A β_{42} 抗体表达水平较低,且伴小胶质细胞和星形胶质细胞增生等炎性反应。提示:不同A β_{42} 抗原序列之间可能存在不同的免疫原刺激活性,一部分刺激B细胞产生保护性抗体以清除A β_{42} ;另一部分则激活T细胞诱发细胞免疫应答,发生炎性反应。Monsonogo等^[3]的研究结果显示,抗A β_{16-23} 单克隆抗体可以促进小鼠产生T细胞免疫反应,推测,阿尔茨海默病患者可能与正常老年人的内源性A β_{42} 以相同的机制诱发中枢神经系统的T细胞产生自身免疫反应,从而构成免疫反应和细胞损伤的分子学基础。小胶质细胞为中枢神经系统的组织性巨噬细胞,是防御有害环境影响的主要细胞成分,其功能包括细胞增殖、迁徙和分化,并具有抗原递呈功能。作为中枢神经系统的巨噬细胞,小胶质细胞可更新血液循环和组织中的单核细胞。尽管小胶质细胞具有合成A β 的能力,但晚近研究更倾向于其吞噬作用,包括转移脑组织中的 β -淀粉样物质,将其转变为纤维,还包括产生炎性细胞因子、活性氧、一氧化氮及多种蛋白溶解酶。小胶质细胞与A β 接触可产生趋化、吞噬和分泌功能,与清道夫细胞功能相仿;小胶质细胞的这些功能需通过媒介物(如炎性细胞因子、趋化因子等),或细胞表面媒介物(如受体等)和刺激物(如高度不活化的A β)来实现。小胶质细胞清除A β 的作用与局部炎性反应相关,并可对周围组织产生细胞毒性作用,使小胶质细胞激活及清除A β 变得困难^[4]。尽管小胶质细胞具有抗原递呈功能,但小胶质细胞并非真正的抗原呈递细胞,抑制小胶质细胞活性或降低小胶质细胞介导氧化损伤的药物,可有效延缓阿尔茨海默病的发生与发展^[5]。小胶质细胞与老年斑有关,可吞噬、分解和清除老年斑核心,然而当与星形胶质细胞共培养时其吞噬作用则明显受到抑制,甚至可能促进老年斑的形成^[6]。表明小胶质细胞和星形胶质细胞之间或二

基金项目:国家自然科学基金青年科学基金项目(项目编号:30600202);国家自然科学基金面上项目(项目编号:30870874)

作者单位:250021 济南,山东大学附属省立医院神经内科,
Email: maguozhao@hotmail.com

者分泌的细胞因子之间存在着相互作用,使小胶质细胞的吞噬作用减弱。

二、阿尔茨海默病的体液免疫机制

补体系统在人类免疫防御机制中占重要地位,机体通过补体经典途径(classical pathway)或旁路途径(alternative pathway)最终形成免疫复合物而杀伤或杀死细胞。以往对阿尔茨海默病补体活性的研究几乎均集中在经典的抗原-抗体复合物结合补体 C1q 启动激活途径(经典途径),而最近研究表明,旁路途径关键因子 B 因子 mRNA 存在于阿尔茨海默病患者的额叶皮质中,而且 B 因子的分裂产物 D 因子、Bb 和 Ba 表达水平也显著升高,提示旁路途径被激活^[7]。与之相反,旁路途径的两种抑制因子,即 H 因子和 I 因子虽然存在于 mRNA 和蛋白质结构中,但其表达水平较低。由此可见,阿尔茨海默病患者脑组织中存在慢性的旁路途径。

阿尔茨海默病患者额叶皮质和海马区高表达补体 C1q mRNA,而枕叶或小脑则呈低表达或缺失。经典途径是阿尔茨海默病神经元缺失的病理机制,聚集型 A β 可以促进病程进展,这也是 A β 激活补体途径的功能状态。经典途径始于 C1q 与 A β 的结合,A β_{1-16} 和 A β_{1-28} 可抑制 A β 与 C1q 相互作用,表明 A β_{1-11} 区域是 C1q 的结合位点;C1q A 链的 14~26 区是 A β 结合位点,A β_{1-11} 的负电性与 C1q A14~26 的正电性可以介导 A β 与 C1q 的结合^[8]。A β 沉积是阿尔茨海默病最主要的病理学特征,其中可溶性 A β 不结合 C1q,A β_{1-42} 或 A β_{1-28} 可诱导剂量依赖性 C1s 和 C4 的活性,且不依赖 C1q 的存在。由于,可溶性 A β 在缺乏 C1q 的情况下仍可活化 C1s 和 C4,诱导早期炎性反应,而相继发生的多步骤级联反应(cascade reaction)则可导致神经功能缺损^[9]。淀粉样斑块中的补体激活产物 C1q 和 C3c/d 可能是由于 A β 直接结合并激活 C1 而产生,以往的研究发现淀粉样斑块中可检测到炎性细胞因子。白细胞介素-1(IL-1)、白细胞介素-6(IL-6)和肿瘤坏死因子- α (TNF- α)通过不同途径刺激 C1 复合物、C1 抑制子(C1-Inh)、C4 和 C3 表达,星形胶质细胞可分泌少量 C1r 和 C1s,细胞暴露于 IL-1 α 、IL-1 β 和 TNF- α 使 C1r、C1s 和 C3 表达水平升高。在干扰素- γ (INF- γ)以及 IL-6 刺激下,C4 合成增加,而 C1 抑制子则由 INF- γ 刺激分泌产生。与 A β 斑块不同的是,A β_{1-42} 本身并不刺激星形胶质细胞、小胶质细胞合成 C1r、C1s,小胶质细胞可以表达 C1q,后者与新形成的 C1r 和 C1s

重新结合形成有活性的 C1,并使 C1 抑制子失活,致使淀粉样物质中的补体激活,尤其在 C1 抑制子消耗殆尽时这种激活作用更加明显^[10]。

在中枢神经系统中,主要由激活的小胶质细胞产生 IL-1,包括 IL-1 α 和 IL-1 β ,后者与阿尔茨海默病的炎性反应有关。在体外培养的人脑内皮细胞中,A β_{1-40} 可以上调 IL-1 β 和 IL-6 基因表达水平^[11]。阿尔茨海默病患者脑组织中的 IL-1 增加可导致细胞因子产生增加、急性期蛋白合成、神经胶质细胞增生性级联反应。提示,IL-1 具有神经免疫调节作用,可促进神经胶质细胞增生,升高 β -淀粉样蛋白前体(APP)和 α 1-抗糜蛋白酶(α 1-ACT)表达水平。IL-1 还可促进星形胶质细胞大量分泌 IL-6。IL-1 过表达与 A β 斑块进展有关,IL-1 与其他阿尔茨海默病相关因子,例如 APP、载脂蛋白 E(ApoE)、 α 1-ACT 和 α 2 巨球蛋白(α 2M)相互作用,对体液免疫和细胞免疫产生调节作用,系多能免疫调节炎性细胞因子;IL-1 在阿尔茨海默病患者脑组织中呈过表达,直接作用于其他淀粉样斑块相关蛋白,诱导星形胶质细胞活化和星形胶质细胞过表达 S-100B 蛋白,后者与老年斑引起的轴突萎缩有关,可逆转 A β 沉积。

三、阿尔茨海默病的免疫治疗

免疫治疗包括主动免疫(active immunity)和被动免疫(passive immunity),主动免疫即通过不同的接种途径直接接种 A β 疫苗,诱发机体产生抗体;被动免疫则直接给予抗 A β 抗体。尽管抗体难以透过血-脑屏障,但小剂量抗体即可产生抑制 A β 聚集的作用。迄今为止,相关抗体治疗阿尔茨海默病的免疫学机制尚未完全阐明,推测可能与以下方面有关。(1)渗透作用:即血浆内抗 A β 抗体与脑组织 A β 结合在血浆与脑组织之间形成浓度梯度,高浓度的 A β 即从脑组织中渗入血浆,而进一步清除之。(2)由抗体介导的 A β 斑块的溶解:抗原-抗体反应使聚集型 A β 转化为游离型 A β 。(3)免疫球蛋白 Fc 介导的吞噬作用:抗 A β 抗体与纤维型 A β 结合,通过小胶质细胞膜表面的 Fc 受体激活小胶质细胞,经吞噬作用而清除 A β 。(4)改变 A β 构型:抗体与 A β 抗原决定簇相结合,改变 A β 构型,阻止聚集型 A β 形成。关于免疫接种预防及治疗阿尔茨海默病的研究,对抗原物质的制备主要集中于 A β_{42} ,目前爱尔兰生物技术公司研制的接种疫苗 AN21792 应用的抗原即为 A β_{42} ;Schenk 等^[12]已将其用于治疗 APP 转基因小鼠并获得成功。A β_{42} 多次免疫 APP 转基因小鼠可使其记忆

力减退、行为迟缓和认知功能障碍等症状逆转,脑组织 $A\beta_{42}$ 斑块和轴突营养性缺乏明显改善,月龄较小的 *APP* 转基因小鼠被免疫 1 年后,其脑组织 $A\beta_{42}$ 可被完全清除,月龄较大、免疫之前即已存在老年斑沉积者,免疫 1 年后脑组织 $A\beta_{42}$ 表达水平明显低于同月龄未免疫小鼠。Check^[13] 进行的 I 期临床试验结果显示,接受 AN21792 免疫治疗的 80 例健康成年志愿者和部分阿尔茨海默病患者均未出现任何不良反应;随后进行的 II 期临床试验共接种免疫 360 例阿尔茨海默病患者,约 5% 患者并发无菌性脑炎和局灶性脑出血,因此被迫终止试验。尽管,不能完全排除疫苗辅助成分的原因,但 $A\beta_{42}$ 抗原存在的问题是不容忽视的。首先,直接应用 $A\beta_{42}$ 存在较大风险,因为 $A\beta_{42}$ 为阿尔茨海默病发病的主要毒性肽,尚无证据表明反复应用是否会造成抗原成分直接进入脑组织而产生毒性或炎性反应,特别是用于预防阿尔茨海默病更具风险。Nicolle 等^[14] 对接受 AN21792 免疫治疗的阿尔茨海默病患者进行神经病理学分析发现,其大脑皮质的大部分区域几乎不存在 $A\beta_{42}$ 斑块和轴突营养缺乏性改变;仅可见小胶质细胞激活后引起的免疫反应,以及 T 细胞浸润和局限于白质区域的巨噬细胞浸润。提示, $A\beta_{42}$ 治疗阿尔茨海默病重复了 *APP* 转基因小鼠的结果,围绕 $A\beta_{42}$ 斑块的 T 细胞必然参与了清除 $A\beta_{42}$ 的免疫反应。因此认为,II 期临床试验部分患者治疗过程中出现的 T 细胞浸润可能与年龄相关干扰因素产生的自身免疫性反应有关,或是由细胞免疫应答诱发的免疫炎性反应所致。另外,McLaurin 等^[15] 研究认为, $A\beta_{42}$ 羧基末端(C 末端)的抗原决定簇在部分小鼠和患者可激活与炎性反应有关的 T 细胞反应,而其氨基末端(N 末端)片段 $A\beta_{4-10}$ 含 B 细胞激活性抗原决定簇,应用氨基末端片段 $A\beta_{4-10}$ 后不会诱发炎性反应。推测,与阿尔茨海默病炎性反应有关的部位可能位于 $A\beta_{42}$ 的羧基末端。对 $A\beta_{42}$ 氨基末端和羧基末端进行研究发现,羧基末端区域在溶液中形成的 β 片层结构不随环境的变化而发生构型改变,而氨基末端区域可因环境(如 pH)改变或与其他蛋白质的结合等而导致构型及溶解度变化^[16]。应用于氨基末端的免疫球蛋白抗体 mAbs10D5、3D6、Pab $A\beta_{1-42}$ 可减少阿尔茨海默病转基因模型鼠脑组织中的 $A\beta$ 沉积,而作用于其他部位的免疫球蛋白抗体 mAbs16C 和 21F12 则不产生相应的作用。业已证实,单克隆抗体 m266 不与 $A\beta$ 斑块结合,但对可溶

性 $A\beta$ 则具有极高的亲和力;且该抗体具有减少脑组织 $A\beta$ 斑块的功效^[17]。其机制可能是:m266 单克隆抗体捕获外周可溶性 $A\beta$,使脑组织中的纤维型 $A\beta$ 流向外周,经长期作用而达到减少阿尔茨海默病患者脑组织中 $A\beta$ 斑块之目的。现已证明,m266 单克隆抗体是唯一无需与脑组织 $A\beta$ 斑块结合即可发挥免疫作用的抗体^[17]。在 Elan 小组的实验中,其他一些抗体虽然也可以识别可溶性 $A\beta$,但由于亲和力过低,不能减少 $A\beta$ 斑块;此外,表达 m266 单克隆抗体表位的疫苗亦无治疗作用^[18]。由此推断,唯有抗体对外周可溶性 $A\beta$ 的长期捕获作用,方可达到减少中枢神经系统 $A\beta$ 沉积及其所形成的斑块的效果^[18]。

四、基因载体及接种途径

研究显示,在众多基因载体中(如质粒、噬菌体及病毒等),以腺病毒载体较为常用,且已为美国食品与药品管理局(FDA)批准用于临床试验。但是,以该病毒作为载体的基因治疗的最显著的缺陷之一即免疫原性强,可刺激机体产生较强的免疫反应。免疫接种腺病毒载体制备的疫苗后,在病毒感染细胞并表达目的基因编码蛋白的过程中,因其本身具有较强的抗原性及趋细胞性,又可作为免疫接种中的抗原佐剂。由此可见,利用腺病毒作为载体制备疫苗,可将其在基因治疗中的缺点转变为可利用的优点。

疫苗的接种途径主要有注射免疫、鼻黏膜免疫、口服免疫和皮肤表面免疫,其中以注射免疫最为常用;且选择皮肤表面免疫途径具有更佳的应用前景^[19]。因此,如果选择 $A\beta_{42}$ 氨基末端某一片段作为抗原,接种疫苗后对阿尔茨海默病的预防及治疗有效且不诱发炎性反应;同时,由于 $A\beta_{42}$ 氨基末端某一片段不是引起阿尔茨海默病的毒性肽,多次应用无脑组织沉积及细胞毒性。因此,选择缺陷性腺病毒作为基因载体,以皮肤表面免疫的方法最佳,接种方法简便、患者无痛苦、无注射接种带来的相关不良反应,且可被广泛多次应用,此为未来阿尔茨海默病免疫治疗的理想接种途径。

参 考 文 献

- [1] Kubis AM, Janusz M. Alzheimer's disease: new prospects in therapy and applied experimental models. *Postepy Hig Med Dosw*, 2008, 62:372-392.
- [2] Weksler ME, Relkin N, Turkenich R, et al. Patients with Alzheimer disease have lower levels of serum anti-amyloid peptide antibodies than healthy elderly individuals. *Exp Gerontol*, 2002, 37:943-948.

- [3] Monsonego A, Zota V, Karni A, et al. Increased T cell reactivity to amyloid beta protein in older humans and patients with Alzheimer disease. *J Clin Invest*, 2003, 112:415-422.
- [4] Rogers J, Lue LF. Microglial chemotaxis, activation, and phagocytosis of amyloid beta-peptide as linked phenomena in Alzheimer's disease. *Neurochem Int*, 2001, 39:333-340.
- [5] Kalaria RN. Microglia and Alzheimer's disease. *Curr Opin Hematol*, 1999, 6:15-24.
- [6] DeWitt DA, Perry G, Cohen M, et al. Astrocyte regulate microglial phagocytosis of senile plaque core of Alzheimer's disease. *Exp Neurol*, 1998, 14:329-340.
- [7] Strohmeyer R, Shen Y, Rogers J. Detection of complement alternative pathway mRNA and proteins in the Alzheimer's disease brain. *Brain Res Mol Brain Res*, 2000, 81:7-18.
- [8] Webster S, Bonnell B, Rogers J. Charge - based binding of complement component C1q to the Alzheimer amyloid beta-peptide. *Am J Pathol*, 1997, 150:1531-1536.
- [9] Bergamaschini L, Canziani S, Bottasso B, et al. Alzheimer's beta-amyloid peptides can activate the early components of complement classical pathway in a C1q - independent manner. *Clin Exp Immunol*, 1999, 115:526-533.
- [10] Veerhuis R, Janssen I, De Groot CJ, et al. Cytokines associated with amyloid plaques in Alzheimer's disease brain stimulate human glial and neuronal cell cultures to secrete early complement proteins, but not C1-inhibitor. *Exp Neurol*, 1999, 160:289-299.
- [11] Vukic V, Callaghan D, Walker D, et al. Expression of inflammatory genes induced by beta-amyloid peptides in human brain endothelial cells and in Alzheimer's brain is mediated by the JNK - AP1 signaling pathway. *Neurobiol Dis*, 2009, 34:95-106.
- [12] Schenk D, Barbour R, Dunn W, et al. Immunization with amyloid-beta attenuates Alzheimer-disease-like pathology in the PDAPP mouse. *Nature*, 1999, 400:173-177.
- [13] Check E. Nerve inflammation halts trial for Alzheimer's drug. *Nature*, 2002, 415:462-465.
- [14] Nicoll JA, Wilkinson D, Holmes C, et al. Neuropathology of human Alzheimer disease after immunization with amyloid-beta peptide: a case report. *Nat Med*, 2003, 9:448-452.
- [15] McLaurin J, Cecal R, Kierstead ME, et al. Therapeutically effective antibodies against amyloid-beta peptide target amyloid-beta residues 4-10 and inhibit cytotoxicity and fibrillogenesis. *Nat Med*, 2002, 8:1263-1269.
- [16] Barrow CJ, Zagorski MG. Solution structures of β -peptide and its constituent fragments: relation to amyloid deposition. *Science*, 1991, 253:179-182.
- [17] Bard F, Cannon C, Barbour R, et al. Peripherally administered antibodies against amyloid beta peptide enter the central nervous system and reduce pathology in a mouse model of Alzheimer disease. *Nat Med*, 2000, 6:916-920.
- [18] Bard F, Barbour R, Cannon C, et al. Epitope and isotype specificities of antibodies to beta-amyloid peptide for protection against Alzheimer's disease-like neuropathology. *PNAS*, 2003, 100:2023-2028.
- [19] Tang DC, Shi Z, Curiel DT. Vaccination onto bare skin. *Nature*, 1997, 388:729-730.

(收稿日期:2010-03-10)

第四届全国儿童康复、第十一届全国小儿脑瘫康复学术会议暨国际学术交流会议征文通知

为了推动我国儿童康复事业的发展,促进学术交流,中国康复医学会儿童康复专业委员会暨中国残疾人康复协会小儿脑瘫康复专业委员会拟定于2010年6月17-20日在浙江省温州市召开第四届全国儿童康复、第十一届全国小儿脑瘫康复学术会议暨国际学术交流会议。届时将邀请国内外知名康复医学专家作专题讲座,还将召开中国康复医学会儿童康复专业委员会和中国残疾人康复协会小儿脑瘫康复专业委员会委员会议,并进行中国康复医学会儿童康复专业委员会换届改选。此次会议对于掌握国内外儿童康复医学最新进展,学习国内外儿童康复和小儿脑瘫康复的新理念、新知识、新技术是一次极好的机会,也是广大国内同仁进行学术交流、增进友谊、加强合作的一次盛会。欢迎广大从事和关心儿童康复医学、小儿脑瘫及相关领域的临床医师参加。参会者将授予国家级继续医学教育 I 类学分 10 分。

1. 征文内容 儿童康复和脑瘫的医疗、教学、科研、预防、管理及其他,主要包括儿童康复和脑瘫的临床与基础研究;儿童康复评价方法和治疗技术;儿童早期康复;儿童社区康复;儿童康复医师和治疗师培养及管理;儿童发育与心理行为疾病康复;儿童康复护理;儿童康复工程;中国传统医学康复;残疾儿童康复与教育;儿童残疾预防及流行病学与基础研究;儿童神经康复及其他内容。

2. 征文要求 尚未在国内公开发表的临床论著、综述等论文全文及约 800 字摘要各 1 份,按照目的、方法、结果和结论格式书写。请于文题下注明作者姓名、单位名称、职务或职称、通讯地址、邮政编码及 Email 地址。

3. 投稿方式 大会仅接受 Email 投稿,Email 地址:zjlsmyc@126.com;chenxiangnj2005@yahoo.com.cn。请于主题中注明“全国儿童康复会议征文”字样。

4. 截稿日期 2010 年 5 月 20 日。

5. 联系方式 浙江省温州市学院西路 109 号温州医学院附属第二医院暨育英儿童医院科教科林俭。邮政编码:325027。电话:(0577)88816374,88816191,88879139。传真:(0577)88816191。Email 地址:zjlsmyc@126.com;chenxiangnj2005@yahoo.com.cn。