

# 中枢胰岛素信号与 $\beta$ -淀粉样蛋白稳态研究进展

金鑫,田绍文\*,侯立力\*

(南华大学医学院生理教研室,湖南 衡阳 421001)

**摘要:** 阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)的主要神经病理特征表现为  $\beta$ -淀粉样蛋白( $A\beta$ )堆积形成的老年斑和 Tau 蛋白过度磷酸化形成的神经纤维缠结。临床研究发现糖尿病患者并发 AD 的风险显著增高,提示胰岛素信号异常可能是诱发 AD 的重要机制之一。本文从胰岛素信号与  $A\beta$  稳态的角度探讨了胰岛素信号异常在 AD 发生发展中的作用。

**关键词:** 阿尔茨海默病; 胰岛素;  $\beta$ -淀粉样蛋白; Tau 蛋白

**中图分类号:** R33 **文献标识码:** A

阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)是以进行性记忆等认知功能减退为主要特征的神经退行性疾病。随着全球人口老龄化进程的加速,AD 已经成为发病率最频繁的神经退行性疾病之一,给患者个人、家庭与社会带来严重的经济和社会负担<sup>[1]</sup>。AD 的临床表现通常包括记忆、视觉空间技能和复杂认知的损伤以及进行性全身性适应功能破坏<sup>[2]</sup>。截至目前,AD 发生发展的神经病理机制并未完全阐明,临床上用于 AD 治疗药物仅能缓解而不能逆转或治愈 AD 症状<sup>[3]</sup>。因此,阐明 AD 的神经病理机制以寻找新型、有效、低毒的治疗药物一直是一个巨大的挑战。 $\beta$ -淀粉样蛋白( $\beta$ -amyloid,  $A\beta$ )堆积形成的老年斑和 Tau 蛋白过度磷酸化形成的神经纤维缠结是 AD 的主要神经病理特征。近年来,临床研究发现糖尿病患者并发 AD 的风险显著增高,提示胰岛素信号异常可能是诱发 AD 的重要机制之一<sup>[4]</sup>。本文从胰岛素信号与  $A\beta$  的角度探讨了胰岛素信号异常在 AD 发生发展中的作用。

## 1 中枢 $A\beta$ 生理与毒性作用

$A\beta$  是  $\beta$ -淀粉样前体蛋白(APP)水解产生的多肽,可由低密度脂蛋白受体相关蛋白 1 运出大脑; $A\beta$  也可在外周合成,通过糖基化终产物相应受体进入中

枢。 $A\beta$  透过血脑屏障的双向运输以及由金属蛋白酶介导的  $A\beta$  清除作用使  $A\beta$  维持在一定的浓度范围内<sup>[5]</sup>。在一定浓度下可溶性  $A\beta$  主要是单体状态,因此寡聚体主要在局部位置(如细胞膜)和病理条件下产生。在体外, $A\beta$  的多种组装形式如原纤维、环形结构、小核、淀粉样派生扩散性配体及球状体已有研究报道<sup>[6]</sup>;在体内,研究表明与淀粉样斑块相比,可溶性  $A\beta$  寡聚体与痴呆的程度关系更为密切。

近年来的研究结果表明,生理浓度的  $A\beta$  在神经元突触传递与突触可塑性调节过程中发挥着重要作用。Kamenetz 及其同事首次报道, $A\beta$  在激活的神经元内分泌量增加,并能调节兴奋性突触传递<sup>[7]</sup>;APP 裂解酶基因敲除小鼠在  $A\beta$  生成降低后出现行为学损伤<sup>[8]</sup>和突触功能异常<sup>[9]</sup>。纳摩尔剂量的  $A\beta$  能够增强大鼠海马的突触可塑性和记忆能力<sup>[10]</sup>。急性  $A\beta$  处理能可逆增加海马活性突触的数量,而持久抑制  $A\beta$  清除则导致海马活性突触数量的降低<sup>[11]</sup>,表明  $A\beta$  对海马突触功能的调节依赖于  $A\beta$  生成与清除之间的动态平衡。另一方面,非生理浓度的  $A\beta$  可发挥神经毒性作用。研究表明  $A\beta$  天然寡聚体处理海马细胞可阻断突触传递功能,并快速可逆地干预习得性行为的记忆过程<sup>[12]</sup>。此外,其它实验也证实了  $A\beta$  寡聚体的神经毒性,如合成或天然  $A\beta$  处理细胞,过表达 APP 培养细胞以及 APP 转基因小鼠实验等<sup>[13]</sup>。与淀粉样斑块相比,可溶性  $A\beta$  寡聚体与 AD 有更紧密的联系<sup>[14]</sup>,表明寡聚体是  $A\beta$  发挥神经毒性的主要存在形式。上述研究结果表明, $A\beta$  稳态调节在  $A\beta$  生理与毒性过程中发挥着关键性作用。

收稿日期:2015-01-13;修回日期:2015-06-20

基金项目:国家自然科学基金项目(81171281)(Project of National Natural Science Foundation of China,81171281)。

\* 通讯作者,E-mail:tsw. neuro@126. com,75194172@qq. com.

## 2 中枢胰岛素信号

研究表明,中枢胰岛素信号在神经元存活、突触形成、神经递质受体转运、突触传递及突触可塑性调节等过程中发挥着重要作用<sup>[15]</sup>。中枢胰岛素主要有两个来源,一是外周胰腺  $\beta$  细胞合成分泌的胰岛素通过血脑屏障转运至脑内;二是海马、前额叶及嗅球等部位神经元也能合成分泌胰岛素。中枢胰岛素受体分布广泛,如在啮齿动物的嗅球、大脑皮层、边缘系统、海马、下丘脑和小脑中均有胰岛素受体表达<sup>[16]</sup>。与外周胰岛素受体不同,中枢胰岛素受体分子量较低且具有不同的糖基化位点;此外,胰岛素过量并不能引起中枢胰岛素受体表达下调,表明中枢与外周胰岛素受体表达可能存在不同的调控机制。有研究表明,上述差异可能与胰岛素受体 mRNA 的选择性剪接及翻译后修饰有关<sup>[17]</sup>。胰岛素受体基因含 22 个外显子,外显子 11 的选择性剪接可产生两种胰岛素受体亚型:A 亚型主要分布于造血细胞、胎儿组织和神经组织等;B 亚型主要分布于肝脏、脂肪组织和肌肉组织等。A 亚型受体与胰岛素的结合能力高于 B 亚型且 A 亚型受体具有更快的内化和循环能力<sup>[18]</sup>。

与外周受体相似,中枢胰岛素受体也是由两个胞外  $\alpha$  亚基和两个跨膜  $\beta$  亚基组成的异四聚体。胰岛素与  $\alpha$  亚基结合后,引起  $\beta$  亚基酪氨酸残基的自磷酸化,进而诱导特异支架蛋白的募集。胰岛素受体招募的主要支架蛋白是胰岛素受体底物 1/2 (IRS-1/2) 和 Shc。IRS-1/2 负责大部分的中枢胰岛素和胰岛素样生长因子信号的多种效应,其中 IRS-1 在大脑皮层和海马有大量分布,而 IRS-2 主要分布于弓状核和海马部位<sup>[19]</sup>。研究发现,胰岛素可通过诱导 IRS-1 和 IRS-2 多处位点的磷酸化实现对下游信号的精细调节。磷酸化修饰的 IRS-1/2 酪氨酸残基是调节合成代谢和胰岛素促生长功能等相关蛋白的停泊位点;而 IRS-1/2 的丝氨酸苏氨酸残基的磷酸化对胰岛素信号通路既有正向和负向的调节作用,也有两者的结合效应。其中被丝氨酸激酶磷酸化的下游信号通路包括 mTOR, S6K 及非典型的 PKC $\zeta$ <sup>[20]</sup>。研究表明能够激活胰岛素受体的蛋白主要诱导 PI3K/Akt 通路和 Ras/ERK 通路的信号级联传导<sup>[21]</sup>。PI3K/Akt 信号主要参与代谢功能,即脂质和蛋白质的合成。Ras/ERK 信号主要介导细胞存活,增值和基因的表达。

## 3 中枢胰岛素信号对 $A\beta$ 稳态调节

大量动物与临床研究结果表明,中枢胰岛素信号异常是 AD 病变的一个重要特征之一<sup>[15]</sup>。中枢胰岛素信号异常可在多个环节上影响  $A\beta$  的稳态。

**3.1 胰岛素水平与  $A\beta$  稳态** 胰岛素能直接参与  $A\beta$  代谢和清除进而影响  $A\beta$  稳态。研究表明,胰岛素降解酶 (Insulin Degrading Enzyme, IDE) 在胰岛素调节  $A\beta$  稳态过程中发挥着重要作用。IDE 在大脑、肝、肾脏以及肌肉组织均有高水平表达,其表达受胰岛素调节;胰岛素通过激活 PI3K 信号通路增加 IDE 表达水平<sup>[22]</sup>。IDE 主要通过降解  $A\beta$  参与  $A\beta$  的稳态调节;IDE 水平降低可影响  $A\beta$  的清除率,进而导致  $A\beta$  稳态的失衡。临床研究发现,AD 患者脑组织中 IDE 的 mRNA 水平、蛋白含量及活性均显著下调,提示 IDE 与 AD 的发生发展密切相关。动物研究表明,IDE 基因敲除小鼠中  $A\beta$  水平显著升高<sup>[23]</sup>。Tg2576 转基因胰岛素抵抗模型小鼠海马和大脑皮层内 IDE 水平及活性显著降低而  $A\beta$  水平显著增加<sup>[22]</sup>。进一步研究表明,胰岛素和胰岛素样生长因子似乎共同参与调节脑内  $A\beta$  的水平,而改变其相互作用可能会促进  $A\beta$  的寡聚化。胰岛素亦可通过 PI3K 促进 APP 代谢和增加 APP 的分泌率。此外,胰岛素能够增加 APP/ $A\beta$  从反面高尔基网向细胞膜的转运进而降低  $A\beta$  在细胞内的堆积<sup>[24]</sup>。

**3.2 胰岛素受体水平与  $A\beta$  稳态** 胰岛素在其受体水平依旧参与调节  $A\beta$ 。研究表明 AD 中的胰岛素抵抗是  $A\beta$  寡聚物引起的,即  $A\beta$  寡聚物下调了神经元膜表面的 IRs<sup>[25]</sup>。另外,激活 IR 能够通过 IDE 促进  $A\beta$  寡聚物向  $A\beta$  单体转化<sup>[26]</sup>。 $A\beta$  单体在发育神经元营养不足的情况下能够促进神经元的存活,并保护成熟神经元对抗兴奋性毒性死亡。该两种效应都是由胰岛素受体激活 PI3K 通路调节。在胰岛素所激活的生存信号通路中,如 ERK1/2 信号通路和 PI3K 信号通路<sup>[27]</sup>, $A\beta$  单体特异激活 PI3K 导致 Akt 磷酸化和促进 Akt 底物 GSK-3 $\beta$  Ser9 位点的磷酸化,从而抑制 GSK-3 $\beta$  激活。GSK-3 $\beta$  的抑制能够通过各种机制促进细胞存活,其机制之一就是下调  $\beta$ -链蛋白的降解从而激活保护基因的转录,因此神经元中  $A\beta$  单体能够引起  $\beta$ -链蛋白快速和大幅度增加<sup>[28]</sup>。通过抑制 GSK-3 $\beta$ , $A\beta$  单体能够降低 Tau 蛋白磷酸化水平,该作用与 Tau 蛋白 O-GlcNAc 糖基化修饰 (O-GlcNAcylation) 有关。而 O-GlcNAcylation 过程依赖糖代

谢,脑内糖代谢降低与 Tau 蛋白病变可能导致了该过程的下降。至于 A $\beta$  能否通过神经元的糖供应来增加 Tau 蛋白 O-GlcNAcylation 有待进一步研究。

#### 4 AD 中 A $\beta$ 对胰岛素信号系统的影响

A $\beta$  本身也可以影响胰岛素信号通路。研究证实 A $\beta$  多肽能够降低胰岛素结合和受体自磷酸化,表明 A $\beta$  是胰岛素结合与发挥作用直接的竞争性抑制剂<sup>[29]</sup>。近期报道体外培养细胞试验中 A $\beta$  能够通过下调 IRs 引起胰岛素抵抗<sup>[30]</sup>。这些发现提示 A $\beta$  可能在 AD 患者脑中影响神经元的胰岛素信号。A $\beta$  寡聚体处理培养海马神经元以及侧脑室注射 A $\beta$  寡聚体,都能在多个丝氨酸残基位点增加 IRS-1 的磷酸化<sup>[31]</sup>。A $\beta$  寡聚体也能结合海马神经元,移除胞膜表面的 IRs,导致 IRs 的数量下降及其对胰岛素的反应降低<sup>[32]</sup>。研究证实在 AD 患者脑内,IRs 聚集于细胞内,而在正常脑内 IRs 都分布在神经元胞体和轴突膜上<sup>[33]</sup>。胰岛素处理能够完全阻断 A $\beta$  寡聚体引起的膜表面 IRs 受体丢失及随后的突触棘减少<sup>[34]</sup>。A $\beta$  通过损伤 ERK 和 PI3K 信号导致胰岛素抵抗。A $\beta$  寡聚体与聚和物能够结合 IRS-1 导致胰岛素信号损伤。胰岛素信号损伤通过抑制 PI3K/Akt 导致 Tau 蛋白过度磷酸化及增加 GSK3 $\beta$  激活。GSK 抑制的下降是由于 PI3K 水平降低可激活 GSK3 $\alpha$  亚基,并通过  $\gamma$ -分泌酶刺激 A $\beta$  的生成。A $\beta$  寡聚物能够异常激活肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF $\alpha$ ), mTOR 和 JNK,进而阻碍胰岛素信号 IRS-1 抑制位点的磷酸化和引起胰岛素抵抗<sup>[33,35]</sup>。AD 大脑尸检分析发现了 JNK 的升高,IRS-1 磷酸化抑制的增加<sup>[32]</sup>和 mTOR 的激活<sup>[36]</sup>。研究显示在 A $\beta$  处理的细胞和人 AD 大脑中,A $\beta$  激活 JNK,导致 c-jun 磷酸化增加及 AP-1 的激活<sup>[37]</sup>。这些细胞信号通路激活后导致 IRS-1 丝氨酸位点的磷酸化,特别是 Ser312 和 Ser612 位点的磷酸化能够导致下游胰岛素信号抑制及胰岛素抵抗<sup>[31,33]</sup>。胰岛素抵抗和 A $\beta$  堆积两种之间的相互催化导致了 AD 的发展。在生理状态下更好理解胰岛素与 A $\beta$  间相互连接的分子通路能够深入阐述病理下 AD 功能受损的分子通路。

#### 5 结 语

随着社会步入老龄化期,AD 和 DM 患病率将会

持续增长。目前研究已经证实,AD 与 DM 拥有共同的细胞和分子机制。由于胰岛素信号参与各种生理和病理性脑功能,因此胰岛素信号通路与 AD 病理的相互作用关系将更显复杂。进一步研究两者间的机制将为 AD 的治疗提供新策略及实质性突破。

#### 参考文献:

- [1] Querfurth HW, Laferla FM. Alzheimer's disease [J]. N Engl J Med, 2010, 362(4): 329-344.
- [2] Iqbal K, Flory M, Soininen H. Clinical symptoms and symptom signatures of Alzheimer's disease subgroups [J]. J Alzheimers Dis, 2013, 37(3): 475-481.
- [3] Ridge PG, Ebbert MT, Kauwe JS. Genetics of Alzheimer's disease [J]. Biomed Res Int, 2013, 2013: 254954.
- [4] Crane PK, Walker R, Larson EB. Glucose levels and risk of dementia [J]. N Engl J Med, 2013, 369(19): 1863-1864.
- [5] Krug R, Benedict C, Born J, et al. Comparable sensitivity of postmenopausal and young women to the effects of intranasal insulin on food intake and working memory [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2010, 95(12): E468-E472.
- [6] Teplow DB. Structural and kinetic features of amyloid beta-protein fibrillogenesis [J]. Amyloid, 1998, 5(2): 121-142.
- [7] Kamenetz F, Tomita T, Hsieh H, et al. APP processing and synaptic function [J]. Neuron, 2003, 37(6): 925-937.
- [8] Liu Y, Liu F, Grundke-Iqbal I, et al. Deficient brain insulin signalling pathway in Alzheimer's disease and diabetes [J]. J Pathol, 2011, 225(1): 54-62.
- [9] Chen Y, Tian Z, Liang Z, et al. Brain gene expression of a sporadic (icv-STZ Mouse) and a familial mouse model (3xTg-AD mouse) of Alzheimer's disease [J]. PLoS One, 2012, 7(12): e51432.
- [10] Craft S, Baker LD, Montine TJ, et al. Intranasal insulin therapy for Alzheimer disease and amnesic mild cognitive impairment: a pilot clinical trial [J]. Arch Neurol, 2012, 69(1): 29-38.
- [11] Reger MA, Watson GS, Green PS, et al. Intranasal insulin administration dose-dependently modulates verbal memory and plasma amyloid-beta in memory-impaired older adults [J]. J Alzheimers Dis, 2008, 13(3): 323-331.
- [12] Deng Y, Li B, Liu Y, et al. Dysregulation of insulin signaling, glucose transporters, O-GlcNAcylation, and phosphorylation of tau and neurofilaments in the brain: Implication for Alzheimer's disease [J]. Am J Pathol, 2009, 175(5): 2089-2098.
- [13] Liu Y, Liu F, Iqbal K, et al. Decreased glucose transporters



- correlate to abnormal hyperphosphorylation of tau in Alzheimer disease[J]. FEBS Lett,2008,582(2):359-364.
- [14] Chen Y,Liang Z,Blanchard J,et al. A non-transgenic mouse model (icv-STZ mouse) of Alzheimer's disease; similarities to and differences from the transgenic model (3xTg-AD mouse)[J]. Mol Neurobiol,2013,47(2):711-725.
- [15] De Felice FG. Alzheimer's disease and insulin resistance;translating basic science into clinical applications [J]. J Clin Invest,2013,123(2):531-539.
- [16] Farooqui AA, Farooqui T, Panza F, et al. Metabolic syndrome as a risk factor for neurological disorders[J]. Cell Mol Life Sci,2012,69(5):741-762.
- [17] Yanagita M, Kojima Y, Kubota M, et al. Cooperative effects of FGF-2 and VEGF-A in periodontal ligament cells[J]. J Dent Res,2014,93(1):89-95.
- [18] Giudice J, Leskow FC, Arndt-Jovin DJ, et al. Differential endocytosis and signaling dynamics of insulin receptor variants IR-A and IR-B [J]. J Cell Sci,2011,124 (Pt 5):801-811.
- [19] Ghasemi R, Haeri A, Dargahi L, et al. Insulin in the brain;sources, localization and functions [J]. Mol Neurobiol,2013,47(1):145-171.
- [20] Boura-Halfon S, Zick Y. Serine kinases of insulin receptor substrate proteins [J]. Vitam Horm, 2009, 80: 313-349.
- [21] De Felice FG. Alzheimer's disease and insulin resistance;translating basic science into clinical applications [J]. J Clin Invest,2013,123(2):531-539.
- [22] Zhao L, Teter B, Morihara T, et al. Insulin-degrading enzyme as a downstream target of insulin receptor signaling cascade; implications for Alzheimer's disease intervention[J]. J Neurosci,2004,24(49):11120-11126.
- [23] Farris W, Mansourian S, Chang Y, et al. Insulin-degrading enzyme regulates the levels of insulin, amyloid beta-protein, and the beta-amyloid precursor protein intracellular domain in vivo[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2003,100(7):4162-4167.
- [24] Gasparini L, Netzer WJ, Greengard P, et al. Does insulin dysfunction play a role in Alzheimer's disease [J]. Trends Pharmacol Sci,2002,23(6):288-293.
- [25] Mcnay EC, Ong CT, Mccrimmon RJ, et al. Hippocampal memory processes are modulated by insulin and high-fat-induced insulin resistance [J]. Neurobiol Learn Mem, 2010,93(4):546-553.
- [26] Marks DR, Tucker K, Cavallin MA, et al. Awake intranasal insulin delivery modifies protein complexes and alters memory, anxiety, and olfactory behaviors [J]. J Neurosci,2009,29(20):6734-6751.
- [27] Craft S, Cholerton B, Baker LD. Insulin and Alzheimer's disease: untangling the web [J]. J Alzheimers Dis, 2013,33 (Suppl 1):S263-S275.
- [28] Francis GJ, Martinez JA, Liu WQ, et al. Intranasal insulin prevents cognitive decline, cerebral atrophy and white matter changes in murine type I diabetic encephalopathy [J]. Brain,2008,131(Pt 12):3311-3334.
- [29] Xie L, Helmerhorst E, Taddei K, et al. Alzheimer's beta-amyloid peptides compete for insulin binding to the insulin receptor [J]. J Neurosci,2002,22(10):C221.
- [30] Zhao WQ, De Felice FG, Fernandez S, et al. Amyloid beta oligomers induce impairment of neuronal insulin receptors [J]. FASEB J,2008,22(1):246-260.
- [31] Bomfim TR, Forny-Germano L, Sathler LB, et al. An anti-diabetes agent protects the mouse brain from defective insulin signaling caused by Alzheimer's disease- associated Abeta oligomers [J]. J Clin Invest,2012,122(4):1339-1353.
- [32] Zhao WQ, De Felice FG, Fernandez S, et al. Amyloid beta oligomers induce impairment of neuronal insulin receptors [J]. FASEB J,2008,22(1):246-260.
- [33] Moloney AM, Griffin RJ, Timmons S, et al. Defects in IGF-1 receptor, insulin receptor and IRS-1/2 in Alzheimer's disease indicate possible resistance to IGF-1 and insulin signalling [J]. Neurobiol Aging, 2010, 31(2):224-243.
- [34] De Felice FG, Vieira MN, Bomfim TR, et al. Protection of synapses against Alzheimer's-linked toxins; insulin signaling prevents the pathogenic binding of Abeta oligomers [J]. Proc Natl Acad Sci U S A,2009,106(6):1971-1976.
- [35] Ma QL, Yang F, Rosario ER, et al. Beta-amyloid oligomers induce phosphorylation of tau and inactivation of insulin receptor substrate via c-Jun N-terminal kinase signaling; suppression by omega-3 fatty acids and curcumin [J]. J Neurosci,2009,29(28):9078-9089.
- [36] Griffin RJ, Moloney A, Kelliher M, et al. Activation of Akt/PKB, increased phosphorylation of Akt substrates and loss and altered distribution of Akt and PTEN are features of Alzheimer's disease pathology [J]. J Neurochem,2005,93(1):105-117.
- [37] 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 [J]. Neurobiol Dis,2009,34(1):95-106.