



**WIE-biotech**

立效生物

# 神经退行性疾病

基础知识+拓展

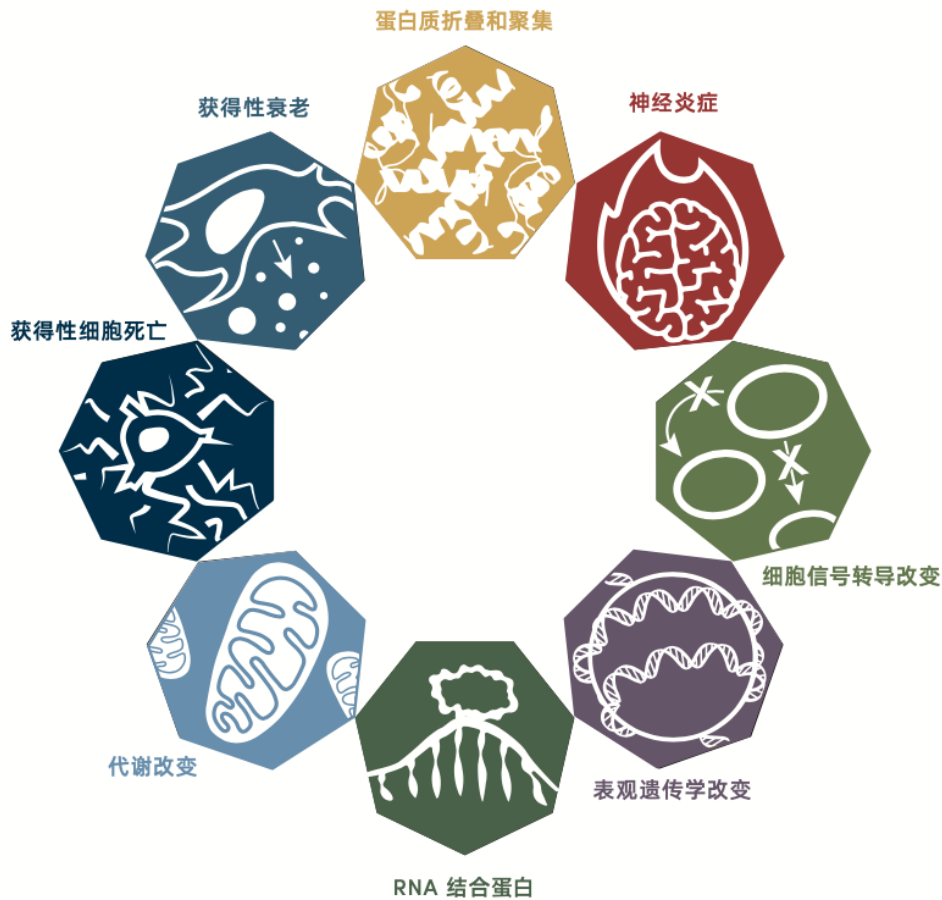
方案组

2022/8/30

## 目录

一、蛋白质折叠和聚集 .....	2
二、神经炎症 .....	3
三、细胞信号转导改变 .....	4
四、表观遗传学变化 .....	7
五、RNA 结合蛋白 .....	4
六、代谢改变 .....	8
七、获得性细胞死亡 .....	11
八、获得性衰老 .....	15

## 神经退行性疾病八大标志事件



### 神经退行性疾病概念：

神经退行性疾病表现为神经元结构和功能丧失，这会导致运动（共济失调）或精神（痴呆）功能问题。基因突变或随年龄累积的蛋白折叠异常会导致这些变化的发生。虽然淀粉样斑块的病理生理学研究有很多，但促进神经退行的许多生物过程尚未得到充分解释。不同的神经退行性疾病中可能都存在这些关键过程的缺陷，所以靶向一个过程的新疗法有可能缓解许多病症的进展。

### 一、蛋白质折叠和聚集

未折叠或错误折叠蛋白的聚集是许多神经退行性疾病的标志之一，会产生引起细胞毒性的神经纤维缠结和斑块。人们越来越关注于了解已知的会形成这些聚集物的蛋白的产生和加工的机制，因为这些蛋白聚集物与阿尔茨海默病、帕金森病、亨廷顿氏舞蹈病和肌萎缩性脊髓侧索硬化症密切相关。但靶向蛋白聚集物形成的新疗法开发也面临着一些挑战，包括对作用机制的认识不全面，以及缺少早期诊断病情、监视疾病进展和治疗效果的生物标记物。

靶标蛋白：

### 1、 $\beta$ -Amyloid

$\beta$ -淀粉样蛋白 ( $\beta$ -Amyloid, A $\beta$ ) 是一种肽，它是在阿尔茨海默病患者的大脑中观察到的淀粉样斑块的主要组分。当淀粉样前体蛋白 (amyloid precursor protein, APP) 被  $\beta$ -分泌酶和  $\gamma$ -分泌酶切割时，就会产生肽。

### 2、Phospho-Tau (Thr205)

在正常细胞条件下, Tau 会促进并稳定微管组装, 尤其是在轴突中。在神经纤维缠结中, Tau (Thr205) 磷酸化的特征很明确, 在阿尔茨海默病的早期其水平较低, 在晚期, 其水平明显更高。

### 3、 $\alpha/\beta$ -Synuclein

对  $\alpha/\beta$ -突触核蛋白( $\alpha/\beta$  Synuclein)的关注始于在几个患有常染色体显性帕金森病的家族中观察到其突变。 $\alpha/\beta$ -Synuclein 可调节膜稳定性甚至膜周转, 但其正常的细胞功能尚未被最终确定。 $\alpha/\beta$ -Synuclein 突变与早发型家族性帕金森病有关。

## 二、神经炎症

神经炎症是小胶质细胞和星形胶质细胞在中枢神经系统 (CNS, 即大脑和脊髓) 中激活的免疫反应。通常, 在 CNS 损伤、感染、毒素的刺激下或在自身免疫的作用下会出现神经炎症。瞬时神经炎症信号转导在发育和损伤后组织修复期间起到保护作用, 而慢性神经炎症与阿尔茨海默病、帕金森病、肌萎缩性脊髓侧索硬化症和多发性硬化等神经退行性疾病的进展有关。与神经退化有关的病理性神经炎症主要由小胶质细胞介导, 小胶质细胞是 CNS 的常驻型免疫细胞。

靶标蛋白：

### 1、NeuN

神经元可以处理电化学信号, 因此是中枢神经系统接收和传输电脉冲的主要细胞。成熟神经元可以通过神经元特异性烯醇化酶 (NSE)、微管相关蛋白-2 (MAP2) 和 神经元特异性核蛋白 (NeuN) 的表达来区分。神经炎症的程度通常可以通过 NeuN 表达的降低来确定, 这表明神经元丢失。

### 2、IBA1

作为大脑的常驻免疫细胞，小胶质细胞表达离子钙结合接头分子 1 (IBA1)、整合素  $\alpha$ M (ITGAM/CD11b) 和 CD68 (F4/80 在鼠中)。IBA1 表达可用于区分小胶质细胞和浸润性单核细胞，并且已显示在神经炎症条件下表达。

### 3、GFAP

成熟星形胶质细胞最特异的标记物是胶质纤维酸性蛋白 (GFAP) 和 S100B 的表达。GFAP 表达增加表明星形胶质细胞活化，表明存在炎症反应。

### 4、TREM2

小胶质细胞激活的关键调节因子是 TREM2，这是一种在小胶质细胞上表达的蛋白质，负责小胶质细胞存活和大脑炎症反应的调节。在健康状态下，TREM2 部分通过促炎细胞因子信号传递神经保护作用，以限制神经炎症。虽然 TREM2 信号在炎症、淀粉样蛋白吞噬作用、斑块包裹和凋亡细胞清除中起作用，但尚不清楚 TREM2 在神经退行性疾病中发挥最明显的功能是什么。在疾病状态方面，TREM2 突变与 AD 风险增加有关。

## 三、细胞信号转导改变

细胞信号转导是指细胞通过胞膜或者是胞内的受体，感受信息分子的刺激，经过细胞内信号转导系统转换放大，从而影响细胞功能结构，并且产生生物学效应的过程，可见一个经典的信号转导通路涉及到的细胞外的信号分子，也就是第一信使，受体，他是接受细胞外的信息的分子，然后就是信号转导系统也就是细胞里面的，第二第三信使是他的级联反应和放大转导，然后到终末感受器包括离子通道酶，转录因子等等，最终产生生物学效应，包括肌肉收缩，腺体分泌，代谢改变等等。

从细胞的信号来说：首先是细胞外的信号，它有化学信号和物理信号，那么化学信号里面包括了比如说激素，神经递质，神经肽，细胞的代谢物，外源性的药物以及毒性物质等等。

第二个方面就是物理信号，有机械牵拉以及血流，机械力刺激等等，此外细胞之间以及细胞与细胞外基质之间直接的接触也能够产生刺激，也能够激活细胞内的信号转导通路，这是第一个方面就是信号；

第二个层次是受体，受体有胞浆受体以及核受体，细胞膜受体有三种类型的，性质不一样，第一种类型就是离子通道型，第二种是 G 蛋白偶连，第三种是它是指这个蛋白激酶型受体。

离子通道受体本身它有离子通道的功能，它可以通过离子流的改变来转导细胞外的信息，比如乙酰胆碱的受体他本身就是一个离子通道，那么是通过囊泡与突触前膜融合，然后通过

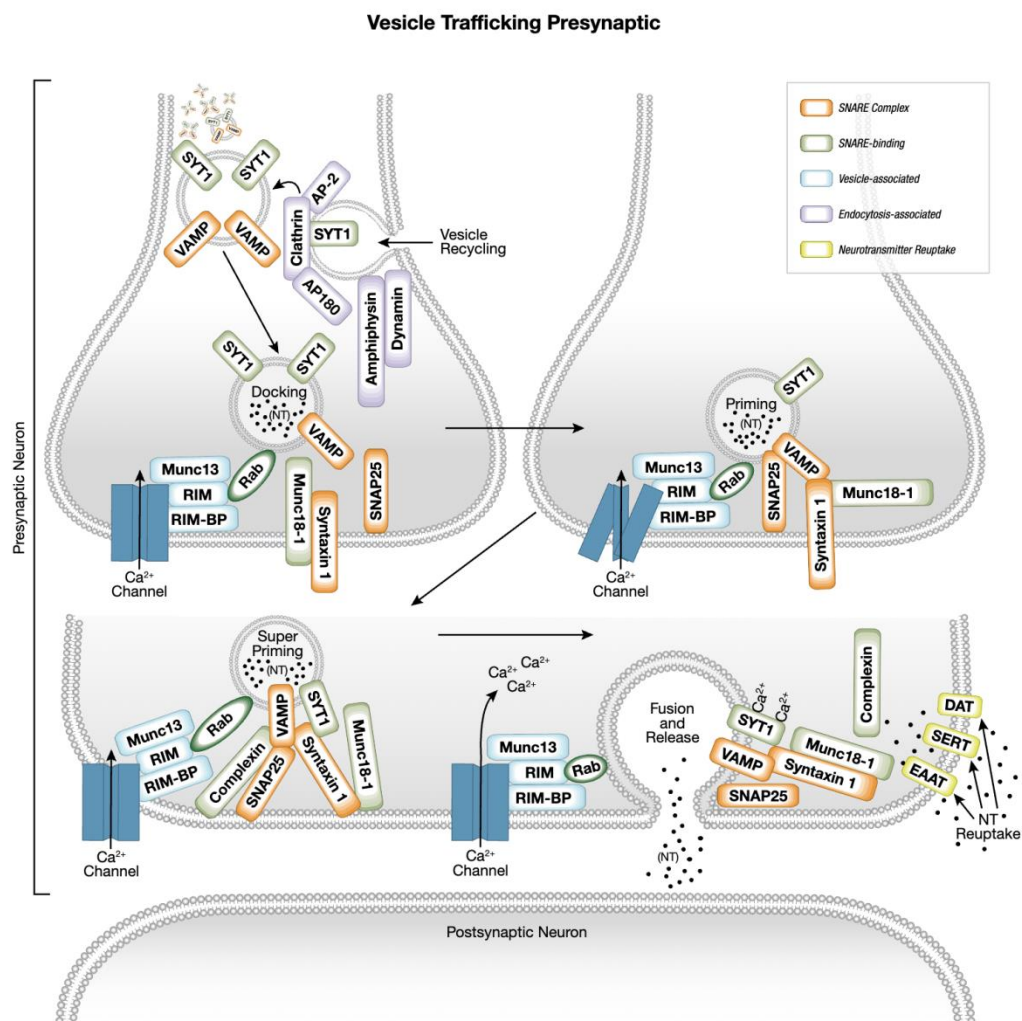
递质释放乙酰胆碱到突触间隙。乙酰胆碱突触后膜上的受体结合以后，Na<sup>+</sup> 离子通道开放，Na<sup>+</sup> 内流或者是运动终版上面产生动作电位，导致肌肉兴奋。

## 1、氨基酸

**谷氨酸**——是 CNS 中最常见的神经递质，在脑细胞中广泛表达，具有兴奋性性质，并且在记忆和学习方面起到主要作用。

**GABA（ $\gamma$ -氨基丁酸）**——一种具有广泛功能（包括调节焦虑）的抑制性神经递质。

**天冬氨酸**——一种在腹侧脊髓中表达的兴奋性神经递质。



## 2、单胺类

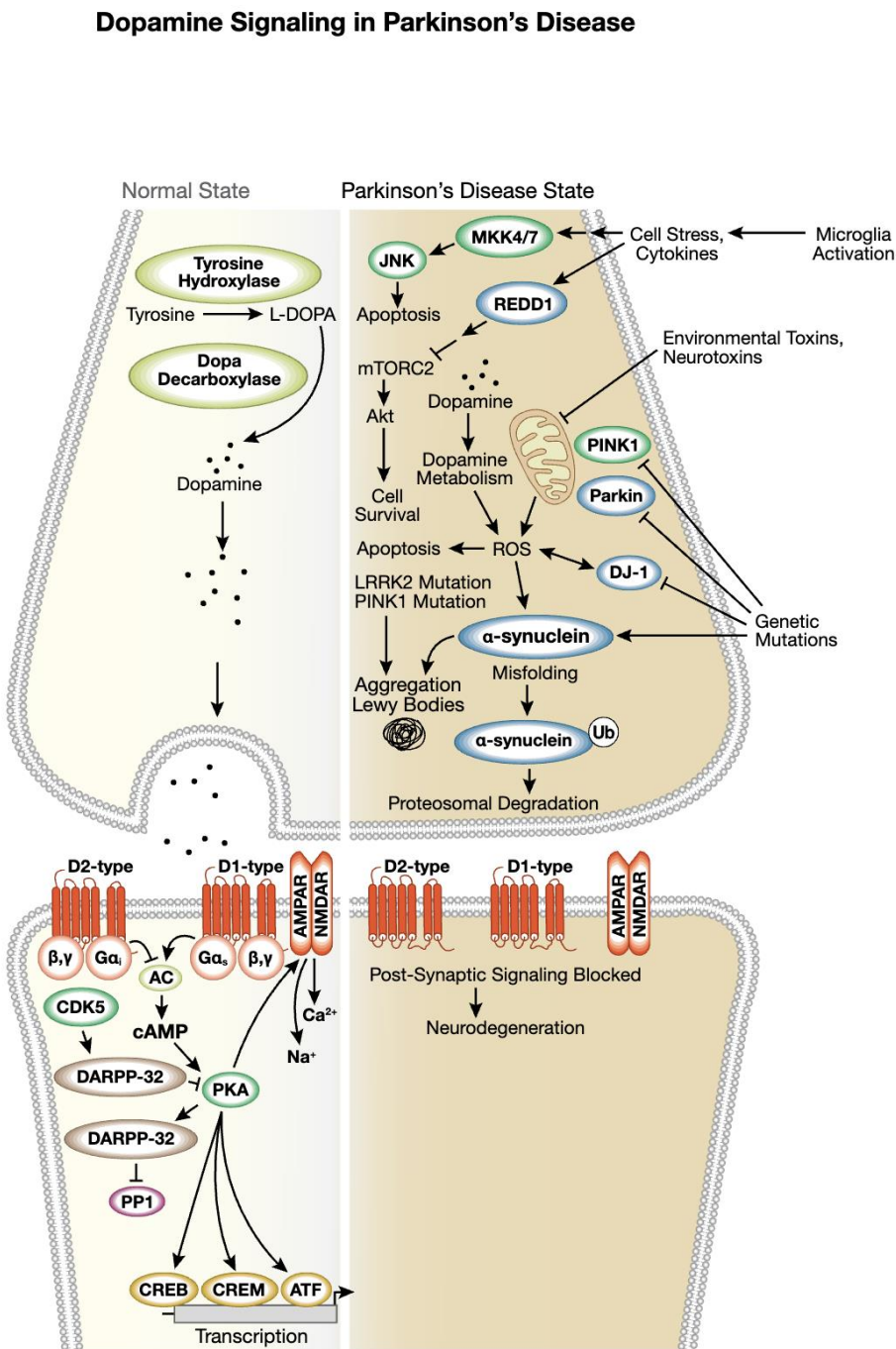
**多巴胺**——一种已知的在情绪和成瘾、控制姿势和运动这些方面起着主要作用的神经调节性神经递质。脑中多巴胺表达的下降与帕金森氏病中的肌肉功能障碍有关。

**血清素**——一种抑制性神经递质，已知可以稳定情绪并调节睡眠周期。

**去甲肾上腺素**——一种由肾上腺释放以提高警觉性的兴奋性神经递质。焦虑与极高水平的去甲肾上腺素有关。

**肾上腺素**——一种使心率和血压升高来刺激身体“对抗/逃避”反应的兴奋性神经递质。

**组胺**——一种与炎症反应和血管舒张有关的兴奋性神经递质。



3、肽

**神经肽 Y**——一种在脂肪生成、饱腹感和血管收缩中起到作用的抑制性神经递质。

**生长抑素**——一种在消化系统以及下丘脑中产生的，并且可抑制胰岛素和胰高血糖素分泌的抑制性神经递质。

#### 4、其它神经递质

**ATP**——通过提升突触后信号传递的速度而介导神经元和胶质细胞信号转导中的重要介导体。

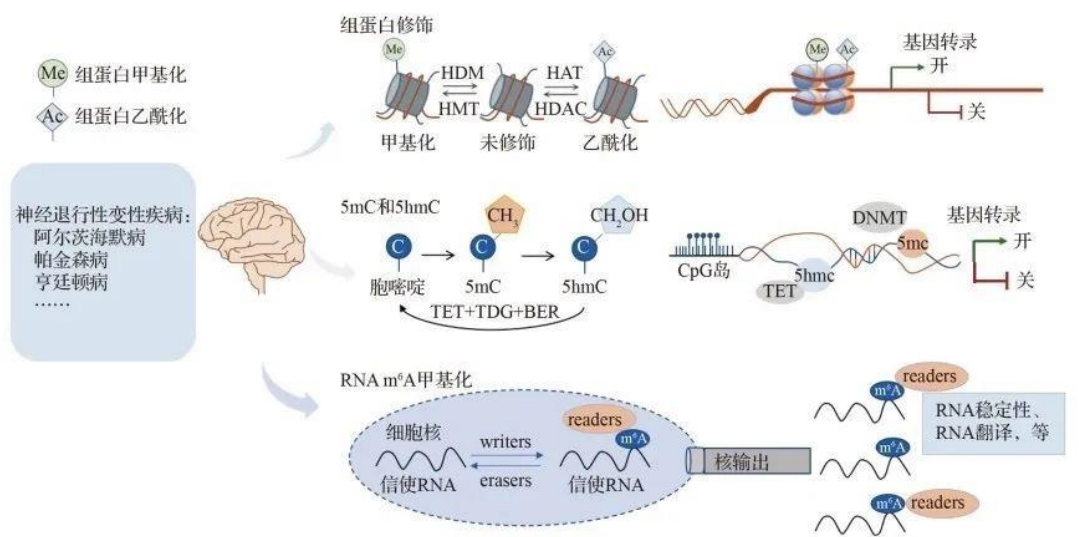
**腺苷**——可抑制乙酰胆碱释放并增加 cAMP 的 ATP 的降解产物；在缺氧、缺血和神经炎症条件下有神经保护作用。

**乙酰胆碱**——一种在肌肉功能中起着重要作用的兴奋性神经递质。

**一氧化氮**——氧化性自由基，是一种强效血管扩张药，并且能够诱导乙酰胆碱、儿茶酚胺及其他神经递质的释放。

## 四、表观遗传学变化

表观遗传修饰是指不依赖于 DNA 序列改变的基因表达水平的变化，主要包括 DNA 修饰、组蛋白修饰和 RNA 修饰。研究表明，表观遗传修饰参与了包括胚胎发育、干细胞调控、细胞凋亡、器官稳态维持等多种生物学过程，与多种疾病的发生和发展关系密切。神经退行性变性疾病是由于神经元的异常死亡导致的神经系统疾病，随着社会老龄化，发病率逐渐升高。研究表明，表观遗传修饰与神经退行性变性疾病有着密切关系。



## 五、RNA 结合蛋白

RNA 结合蛋白是一类在转录后水平参与基因表达调控的分子。神经退行性疾病的大脑也发生着广泛的 RNA 的剪接的变化，这些剪接变化导致病理蛋白的沉积变化，进而对疾病



的病理产生影响。在所有的脑区中，基于海马的认知功能在早期即呈现功能下降，同时在神经退行性疾病病理过程中也是受损严重的脑区之一。

靶标

### 1、hnRNP D-Like

RNA 结合蛋白 hnRNP D-Like 通过调控神经元的 RNA 选择性剪接过程参与调控大脑衰老以及阿尔茨海默病的全新机制。

### 2、FUS

FUS 是一个多功能的 DNA/RNA 结合蛋白，主要定位于细胞核，但可以在细胞核与细胞质中穿梭。FUS 蛋白在 RNA 的转录、RNA 的剪接和 microRNA 的加工等过程中发挥重要作用。FUS 蛋白病是一组致命性、累及多种神经元的神经退行性疾病。

### 3、hnRNPA2/B1

hnRNPA2/B1 通常位于细胞核内，但也可发生核质穿梭出现在细胞质中。作为 RBP，hnRNPA2/B1 在 pre-RNA 可变剪接、应激颗粒(stress granule, SG)形成、轴突运输等一系列过程中均发挥作用，对认知形成具有重要意义。

## 六、代谢改变

众所周知，大脑需要 ATP 形式的持续能量供应，其中大部分能量来源于葡萄糖代谢。而在神经退行性疾病中，大脑糖代谢会发生进展性的、疾病特异性的恶化，导致能量供应产生问题，比如阿尔茨海默病（AD）患者，在症状前期即出现葡萄糖代谢问题。

参考文献：Brain energy rescue: an emerging therapeutic concept for neurodegenerative disorders of ageing

### 1、ATP

ATP 是大脑能量代谢的主要供能物质。大部分 ATP 被用于 Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATP 酶和 Ca<sup>2+</sup>-ATP 酶，这两种离子泵可以在神经元信号传导中重置离子梯度。在能耗分配上，兴奋性（谷氨酸能）神经元消耗的脑 ATP 占 80-85%，抑制性神经元和其他细胞消耗余下的 15-20%ATP。此外，ATP 也可以作为一种神经递质，由神经元、星形胶质细胞和小胶质细胞释放。

### 2、葡萄糖

大脑中 95% 以上的 ATP 是由葡萄糖代谢产生的。在脑中，葡萄糖的摄取是通过不同类型细胞形成的神经血管单元完成的，这一单元包括脑毛细血管内皮细胞、周细胞、星形胶质细胞、少突胶质细胞、小胶质细胞和神经元，其中神经元是葡萄糖摄取的最终获益者。

脑对外周葡萄糖的摄取力度，并不受外周葡萄糖水平影响，而是由活化的神经元对能量的需求所驱动的。实际上，在正常情况下，外周向大脑运输葡萄糖的能力超过大脑能量需求 的 2-3 倍。简而言之，葡萄糖被积极的拉入大脑中，以满足局部升高的神经元活性的能量需要。葡萄糖的运输是通过不同葡萄糖转运蛋白（glucose transporters, GLUT）相互协调完成的，其中，GLUT1 分布于毛细血管上皮和少突胶质细胞，GLUT1、2 和 7 分布于星形胶质细胞的细胞膜上，GLUT3 和 4 分布于神经元上。调动 GLUT4 可以维持突触活性，而 GLUT4 膜易位在肌肉和脂肪组织中是依赖胰岛素调节的，在神经元中这种机制可能同样存在，这也解释了为什么在神经变性疾病中胰岛素抵抗通常以神经元葡萄糖摄取率降低为主要特征。

为了从毛细血管到达神经元，血液葡萄糖可以通过细胞外隙直接扩散或者通过星形胶质细胞包绕毛细血管壁和神经突触的终足进行运输。在后一种方式中，葡萄糖从毛细血管壁通过 GLUT1 进入星形胶质细胞再在临近神经元和少突胶质细胞的突触周围通过 GLUT1 离开星形胶质细胞（图 1），完成从毛细血管到神经元的葡萄糖运输。进入星形胶质细胞的葡萄糖去向主要有 2 种，一是代谢产生 ATP，二是转化成乳酸，乳酸既可以作为神经递质发挥作用也可以成为一种替代的能量来源。

### 3、脑细胞的能量消耗

神经元所需的 ATP 主要是通过线粒体内葡萄糖氧化磷酸化生成的，另外一小部分是通过细胞质糖酵解生成的。由于神经元需要支持突触传递的高能量需求，所以与星形胶质细胞相比，神经元具有更多的活性丙酮酸脱氢酶和更高的三羧酸循环活性，而星形胶质细胞的能量需求则主要由糖酵解来满足。

有一种假说叫做“星形胶质细胞-神经元乳酸穿梭假说”，该假说认为神经元在神经传递过程中释放谷氨酸刺激临近星形胶质细胞的葡萄糖摄取、糖原分解代谢、有氧糖酵解和乳酸产生。而星形胶质细胞产生的乳酸被认为是用来维持神经可塑性的。

少突胶质细胞主要通过有氧糖酵解获得 ATP，它们利用乳酸满足自己的能量需求，也向临近的轴突供应乳酸，这一过程由神经元释放的谷氨酸进行局部调节。

与星形胶质细胞和少突胶质细胞不同，小胶质细胞不直接为神经元提供能量，但激活的小胶质细胞释放的大量乳酸很可能被局部神经元回收。在神经退行性疾病中，受神经炎症的影响，小胶质细胞的产能方式会从以氧化磷酸化为主转化成有氧糖酵解为主，同时伴随着 GLUT1 和 GLUT4 的表达上调。同时，当大脑葡萄糖供应持续紧缺时，激活的小胶质细胞的高能量需求会进一步限制神经元的能量供应。

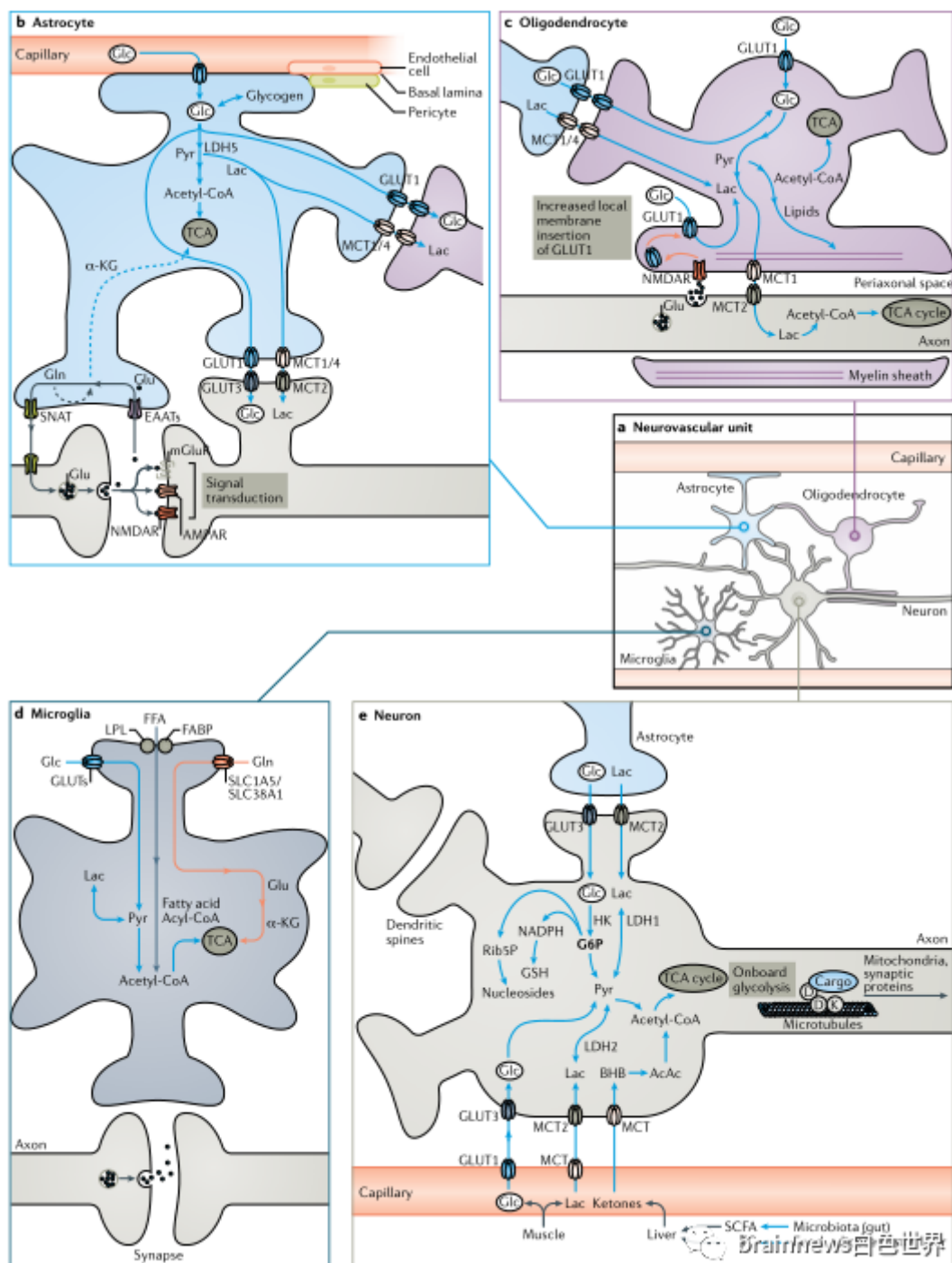


图 1.神经元和其他脑细胞的能量供应和使用

#### 4、神经网络与能量利用

星形胶质细胞到突触和少突胶质细胞到轴突的能量底物的提供对于大脑网络内和大脑网络之间的交流都是至关重要的。不同的脑区之间通过有髓轴突相互联系，然而在神经退行性疾病中这种联系受到了破坏，例如 AD 和额颞叶痴呆（FTD）中的皮质-皮质环路，亨廷顿病（HD）中的皮质-纹状体通路，肌萎缩侧索硬化（ALS）中的皮质脊髓束以及帕金森病

(PD) 中的黑质-纹状体投射。

## 5、神经内分泌机制

多种细胞和动物模型证实，胰岛素对脑能量供应的平衡和功能有着积极的影响。在海马和皮层中，胰岛素可以增加神经元 GLUT4 对葡萄糖的摄取，从而加强神经元的能量供应。胰岛素和胰岛素样生长因子 (IGF1) 的激活也可以促进突触可塑性和维持认知功能。由此可见，维持正常状态的胰岛素敏感性是十分重要的；在 AD 中，胰岛素抵抗作为一个重要的危险因素，不仅干扰了胰岛素对能量供应的调节，更破坏了脑内的胰岛素信号通路。此外，其他激素，包括胃饥饿素、促泌素、瘦素、淀粉纤维素和脂联素，同时调节食欲和能量稳态，在神经退行性疾病中影响着脑功能的方方面面。

## 6、和乳酸在大脑中的应用

酮类和乳酸是葡萄糖的主要替代燃料，两者可以通过星形胶质细胞和毛细血管内皮细胞上的单羧酸转运体输送到大脑。与葡萄糖不同，大脑对酮类的摄取力度依靠的是酮在血浆中的浓度，而不是大脑细胞的能量需求。同时，酮不会进行有氧糖酵解，也不能代谢成乳酸，只能通过氧化磷酸化产生 ATP。

## 7、肠-脑轴

肠道微生物参与胃肠道和大脑之间的双向交流，产生营养物质并调节整体能量稳态。在神经变性疾病中，肠道微生物群的失调也会影响能量供应。膳食纤维是肠道微生物群产生短链脂肪酸的一类重要底物，同时，膳食纤维还可以降低葡萄糖吸收进而起到增加胰岛素敏感性的作用。肠道微生物群产生的短链脂肪酸，尤其是丁酸盐类，是肠细胞的主要燃料。在动物模型研究中，外源性的丁酸盐类可以促进树突棘的发育、长时程增强、髓鞘发生和记忆形成。然而，内源性的丁酸盐含量很低，所以丁酸盐可能不会是脑能量供应的常用底物，而是可以通过肠-脑轴发挥作用。

## 七、获得性细胞死亡

细胞死亡途径包括细胞凋亡 (Apoptosis)、坏死性凋亡 (Necroptosis)、自噬 (Autophagy)、铁死亡 (Ferroptosis)、细胞焦亡 (Pyroptosis)、坏死 (Necrosis)，它们具有不同的形态和生化特征相关 (参见图 1)。

**Table 1** Cell death pathways and associated morphological and biochemical hallmark features.

Cell death pathway	Morphological features and key biochemical pathway components	References
Apoptosis	Nuclear fragmentation, plasma membrane blebbing, cell shrinkage (pyknosis), formation of apoptotic bodies and phagocytosis by neighbouring cells. Pro-apoptotic BCL-2 family members, caspase activation, cleavage of hundreds of caspase substrates (e.g. ICAD, PARP), PS exposure, $\Delta\Psi_m$ dissipation, MOMP and ROS production.	[1, 21, 150]
Necroptosis	Cytoplasmic swelling (oncosis), loss of plasma membrane integrity, swelling of cytoplasmic organelles. RIPK1, RIPK3, MLKL, phosphorylation and ubiquitination of RIPK1, formation of the necrosome complex in the cytosol, phosphorylation and activation of MLKL, the effector of caspases, ROS production and release of DAMPs (and in infected cells also PAMPs).	[57–60]
Autophagy	Accumulation of autophagic vacuoles, vacuolisation of the cytoplasm, no chromatin condensation. <i>atg</i> family of gene encoded proteins, LC3-I to LC3-II conversion and cleavage of p62.	[82, 151]
Ferroptosis	Smaller mitochondria with decreased cristae, increased density and rupture of mitochondrial membrane but with normal nucleus. Iron accumulation, cysteine deprivation and/or glutathione peroxidase inactivation culminating in lipid peroxidation.	[102]
Pyroptosis	Rupture of the plasma membrane and lack of cell swelling. Inflammatory induced activation of the initiator caspases, caspase-1 and -11, and consequent activation of the effector caspases, caspase-3 and -1. Release of bio-active IL-1 $\beta$ and IL-18 and proteolytic activation of GSDMD, the essential effector of pyroptosis.	[135, 136]
Necrosis	Plasma membrane rupture, swelling of cytoplasmic organelles, lack of inter-nucleosomal DNA fragmentation, depletion of ATP, involvement of calpains and cathepsins, release of DAMPs (and in infected cells also PAMPs).	[139, 152]

### 1、细胞凋亡（Apoptosis）

细胞凋亡可以被两个不同的通路触发：内源性的线粒体途径（BCL-2 途径）和外源性的死亡受体途径。（图 2）

内在途径由 BCL-2 蛋白家族的促凋亡和抗凋亡成员调节。在健康细胞中，抗凋亡蛋白 BCL-2、BCL-XL、MCL-1、BCL-W 和 A1/BFL1 通过抑制 BAX 和 BAK 的基本效应来保证细胞存活。当细胞处于应激状态（例如生长因子剥夺、DNA 损伤、ER 应激）时，BH3-only 蛋白（BIM、PUMA、BID、BMF、BAD、HRK、BIK、NOXA）作为细胞凋亡的关键启动子，会呈现出转录或转录后层面的上调，与抗凋亡 BCL-2 蛋白以高亲和力结合，释放 BAX 和 BAK 并形成寡聚体，导致线粒体外膜通透性增加，线粒体释放 cytochrome c 和 Smac/DIABLO 等凋亡因子，这些凋亡因子促进半胱天冬酶级联反应的激活，导致数百种蛋白质的裂解，最终导致细胞破坏。

死亡受体途径通过肿瘤坏死因子受体超家族成员的配体激活，这些家族成员具有细胞内死亡结构域，促进了细胞内死亡诱导信号复合物的形成，导致 caspase-8 和下游效应器半胱天冬酶（caspase-3 和 caspase-7）的激活。死亡受体途径可以通过 caspase-8 介导的促凋亡蛋白 BID 的蛋白水解过程激活从而与内源性凋亡通路连接到一起。

### 3、坏死性凋亡（Necroptosis）

坏死性凋亡是 PCD 的一种细胞裂解形式，并且可导致炎症。当 caspase-8 的活性被药物或病毒抑制剂阻断时，TNFR1、TLR 等受体的刺激可诱导坏死性凋亡，涉及受体相互作用的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 1（RIPK1）的自磷酸化激活。RIPK1 激活 RIPK3，之后 RIPK3 磷酸化并激活下游 MLKL，这是导致细胞膜裂解的坏死性凋亡的末端效应物。这促进了损

伤相关的分子模式、病原体相关分子模式的释放，这些内源性分子的释放促进了炎症反应。

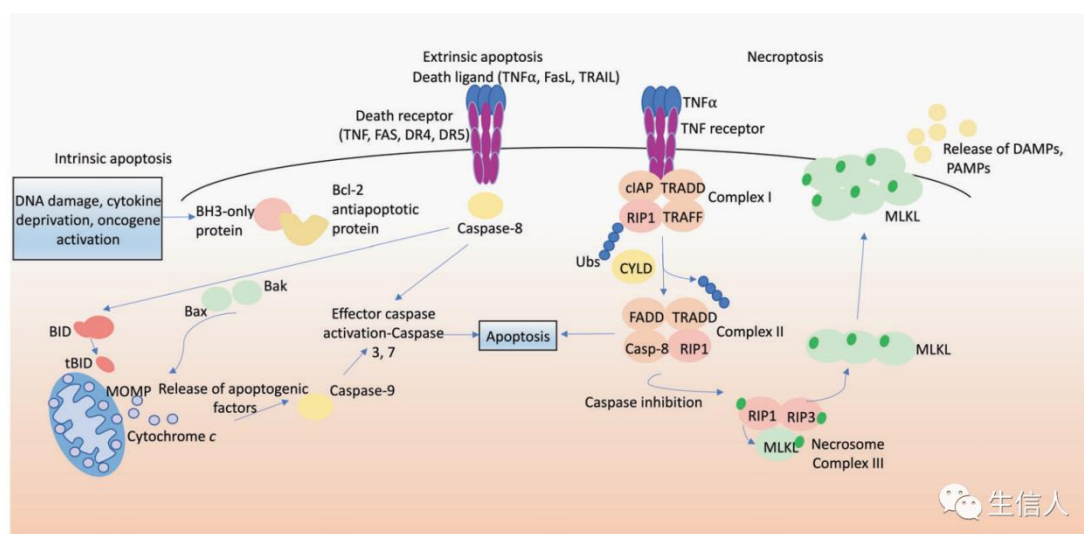


图 2 细胞凋亡和坏死的分子途径

#### 4、与自噬相关的细胞死亡（Cell death associated with autophagy）

自噬是大分子结构甚至整个细胞器降解过程中的高度保守的步骤，在细胞和组织稳态中起关键作用，对于调节蛋白质的细胞质周转和整个细胞器的很重要。营养缺乏、氧化应激和蛋白质聚集等许多刺激都可以启动细胞自噬。在这些情况下，自噬减少了细胞压力，并为细胞提供了用于修复、存活和生长的代谢物。根据细胞内底物进入溶酶体腔的方式不同，自噬可分为三大亚型：大自噬（macro-autophagy）、微自噬（micro-autophagy）和分子伴侣介导的自噬（chaperone-mediated autophagy）。这些自噬方式都集中在溶酶体上，用于细胞内容物降解和回收。尽管自噬通常用于促进细胞存活，但在某些情况下，例如果蝇发育过程中唾液腺的退化，自噬与细胞杀伤有关。

#### 5、细胞铁死亡（Ferroptosis）

铁死亡在 2012 年首次被提出，是指铁依赖性坏死的一种 PCD 形式。铁死亡的最终结局是压倒性的脂质过氧化，导致细胞完全衰竭。尽管铁死亡表现出以前通常称为氧化应激诱导的细胞死亡的许多特征，但有许多方面足以将其区分为一种独特的细胞死亡形式，例如铁死亡在形态和功能上与一般氧化应激不同。ACSL4 和 LPCAT3 等许多铁死亡相关的分子成分已经被确定，它们产生容易过氧化的膜脂，以及为细胞提供谷氨酸-胱氨酸逆向转运蛋白系统 xCT 来保证细胞所必需的半胱氨酸。铁死亡诱导剂包括 GPX4 抑制剂（RSL3、ML210、ML162、FIN56、FINO2）、谷胱甘肽合成中断剂（丁硫氨酸亚砷亚胺）、xCT 系统抑制剂（埃斯汀、索拉非尼、柳氮磺吡啶、谷氨酰胺）、铁。铁死亡的内源性抑制剂包括谷胱甘肽、泛醌、维生素 E 和硒。



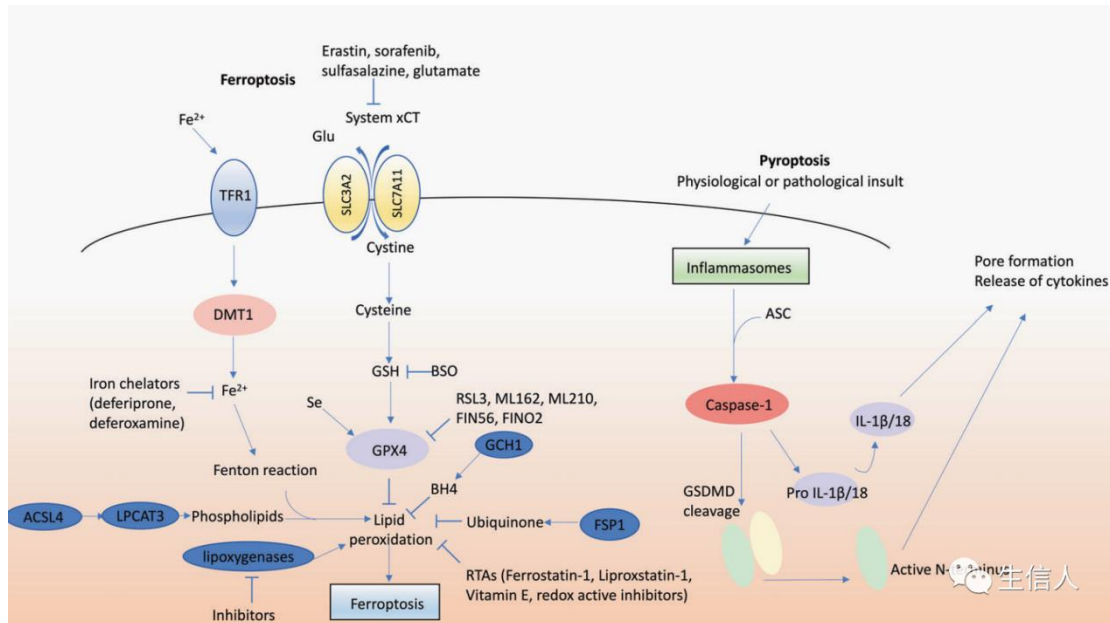


图3 铁死亡和细胞焦亡的分子途径

## 6、细胞焦亡（Pyroptosis）

细胞焦亡是 PCD 的一种炎症形式，涉及炎症小体对 caspase-1 的激活，caspase-1 通过蛋白水解将 pro-IL-1 $\beta$  和 pro-IL-18 分别加工成成熟的炎症细胞因子 IL-1 $\beta$  和 IL-18。GSDMD 是细胞焦亡的关键执行者，在被 caspase-1 切割后其 N 端片段组装成质膜孔，从而允许释放生物活性 IL-1 $\beta$ 、IL-18 以及其他细胞内容物。细胞焦亡表现出表现出质膜起泡的形态，因此通常被认为是单核细胞特异性的细胞凋亡形式。然而，最近发现的 GSDMD 及其成孔活性已将细胞焦亡重新定义为细胞死亡的一种坏死形式。许多神经退行性疾病，包括 AD、PD、ALS、HD、多发性硬化、中风和创伤性脑损伤，都有细胞焦亡（伴有炎症小体激活和 IL-1 $\beta$  和 IL-18 升高）的证据报道。在多发性硬化的动物模型中，发现了小胶质细胞和少突胶质细胞的炎症小体激活和焦亡，其中病理通过抑制 caspase-1 减弱。

## 7、坏死（Necrosis）

坏死通常被认为是一种非程序化的、不受调节的细胞死亡过程，其特征是细胞肿胀、生物膜完整性丧失、细胞内容物溢出和离子梯度的消散，从而引发炎症反应。缺氧、冷冻或灼烧、病原体刺激、物理化学应激、缺血再灌注和钙超载等来自细胞外部的过度刺激，可能会诱导细胞发生坏死。坏死的早期事件包括细胞内钙离子增加、活性氧浓度增加，最终导致不可逆的细胞损伤。然而，与坏死性凋亡不同，坏死缺乏明确的核心细胞信号转导机制，但最近 *Ninj1* 被确定为对质膜破裂至关重要，此外 *Ninj1* 对于在坏死性凋亡、细胞焦亡和继发性坏死期间发生的质膜破裂也同样至关重要。

8.治疗前景

不同细胞死亡途径的调节器和效应器仍然是有吸引力的治疗靶点，它们可能构成转化医学的基础，有望改善患有这些疾病的患者的临床治疗。鉴于复杂的神经系统疾病的病因，其中多种细胞死亡机制通常与其他细胞过程相结合从而共同驱动病理进展，有效的疗法似乎可能包括一种以上细胞死亡程序的抑制剂和其他细胞过程的抑制剂。图 4 显示了已进入临床试验的细胞死亡途径中的一些关键靶标。

**Table 2** Candidate drugs targeting cell death pathways in neurological diseases.

Cell death pathway	Drug and mechanism of action	Disease	Clinical trial phase (number of participants) and outcome	References and/or clinical trial registration number
Apoptosis	Carboplatin, DNA damaging agent triggering apoptosis. Evaluated in combination with Bevacizumab (VEGF inhibitor).	GBM	Phase II (122), patients on carboplatin + Bevacizumab; more toxicity without additional clinical benefit compared to placebo.	ACTRN12610000915055 [153]
	Olaparib, PARP inhibitor, sensitizes GBM cells to death receptor-mediated apoptosis induced by TRAIL. These agents all induce apoptosis in malignant cells	GBM	Phase I/IIa (79), Evaluating the therapeutic potential of Olaparib in combination with TMZ and radiation.	NCT03212742 [154]
Necroptosis	DNL747; RIPK1 inhibitor	ALS	Phase I (15)	NCT03757351
		AD	Phase I (16)	NCT03757325
Autophagy	Rapamycin; Autophagy enhancer, mTOR inhibitor.	ALS	Phase II (63)	[155]
	Resveratrol; autophagy enhancer	AD	Phase III (27), No significant changes in Alzheimer's Disease Assessment Scale.	NCT00678431 [156]
			Phase II (119), no effects of drug treatment on plasma A $\beta$ 42, CSF A $\beta$ 42, CSF tau, CSF phospho-tau and hippocampal volume.	NCT01504854 [157]
	CQ; autophagy inhibitor, and chemoradiation with Temozolomide (alkylating agent).	GBM	Phase III (30), Median survival increased in patients receiving CQ + standard of care treatment.	NCT00224978 [158]
Ferroptosis	Deferiprone; iron chelator	PD	Phase II (40) Stabilised brain iron and slowed disease progression (UPDRS).	NCT00943748 [121]
			Phase II (22) Deferiprone therapy reduced brain iron content and trended towards improved motor -UPDRS scores and quality of life, but was not significant.	NCT01539837 [159]
			Phase II (140) Yet to report.	NCT02728843
		AD	Phase II (372) Ongoing	NCT02655315
			Phase II (171) Ongoing	NCT03234686
		ALS	Phase II (23) Decreased iron in spinal cord and motor cortex. Slower disease progression (ALSFRRS-R) and weight loss.	NCT02164253 [120]
	Edaravone; radical scavenger Cu <sup>II</sup> (atsm); radical scavenger	FRDA	Phase II (240) Ongoing	NCT03293069
			Phase II 2010 (80)	NCT00530127
			Phase II 2011 (36)	NCT00897221
		ALS	FDA-approved	
		PD	Phase I (31) Not reported	NCT03204929
		ALS	Phase I (50)	NCT02870634 [124]
			Phase I (28) Ongoing	NCT03136809
			Phase II (80) Ongoing	NCT04082874
			Phase II (70) Ongoing	NCT04313166

图 4 神经疾病中针对细胞死亡途径的候选药物

八、获得性衰老

Hallmarks of Brain Aging: Adaptive and Pathological Modification by Metabolic States



对脑开展的细胞和分子水平上的研究，揭示了脑衰老的许多特征。包括：（1）线粒体功能障碍；（2）氧化损伤的蛋白质、核酸和脂质在细胞内积累；（3）能量代谢失调；（4）细胞“废物处理”机制受损（自噬-溶酶体和蛋白酶体功能障碍）；（5）适应性应激反应信号通路受损；（6）DNA 修复功能受损；（7）神经网络活动异常；（8）神经元钙离子调节能力失调；（9）干细胞耗竭；（10）炎症反应增加（图 1）。

脑衰老特征：

## 1、线粒体功能障碍

线粒体分布在神经元的树突和轴突中，它们可以产生能支持电化学神经传递、细胞维护和修复所需的 ATP。线粒体可以变大和分裂（线粒体生物发生），并可以被溶酶体降解（线粒体自噬）而移除。除了在细胞能量代谢中的基础作用外，线粒体还在细胞钙稳态中发挥关键作用，并可作为调节细胞核基因转录的信号来源。此外，线粒体膜通透性转换孔（mPTPs）的形成是细胞凋亡中的关键事件之一，而脑细胞凋亡异常是一系列神经退行性疾病的病理表现。

一些技术方法已经被用来确定衰老是否以及如何影响脑细胞中的线粒体。如对线粒体特异蛋白的分析，对分离出的线粒体或突触体中的线粒体的功能检查，以及对编码线粒体蛋白的基因的操作。通过对动物脑组织中分离的线粒体进行比较，发现许多与增龄相关的改变，**包括线粒体增大或破裂，线粒体 DNA 氧化损伤增加，电子传递链（ETC）功能受损，膜去极化线粒体数量增加，Ca<sup>2+</sup>处理能力受损，以及触发 mPTP 形成的阈值降低。**脑衰老过程中线粒体功能的下降涉及细胞 NAD<sup>+</sup>水平和 NAD:NADH 比率的下降，这将损害对神经元功能和生存至关重要的 NAD<sup>+</sup>依赖性酶的活性，包括 sirtuin 家族蛋白去乙酰化酶。对衰老小鼠的体内研究和体外培养衰老的神经元和星形胶质细胞的研究表明，**在衰老过程中脑中的大多数细胞类型可能都会发生功能障碍的线粒体的积累。**

CR 降低了脑线粒体衰老的多个指标，包括氧化损伤、ETC 功能、膜不稳定性、Ca<sup>2+</sup>处理能力以及对凋亡触发的敏感性。对肌肉和肝脏细胞的研究表明，线粒体生物发生在衰老过程中下降，CR 和运动锻炼激活的神经信号通路可以刺激脑元中的线粒体生物发生。但 CR 和运动锻炼引起的线粒体反应在脑衰老的结构和功能表现中的作用仍有待确定。

## 2、氧化损伤分子的积累

在衰老过程中，由于氧化失衡—活性氧（ROS）产生增加和/或抗氧化防御能力降低，神经元往往会积累功能障碍的聚集性蛋白质和线粒体。神经元产生的活性氧主要来源于线粒体呼吸和各种氧化酶产生的超氧阴离子自由基、过氧化氢与 Fe<sup>2+</sup>或 Cu<sup>+</sup>反应产生的羟基

自由基，以及由于响应细胞内  $\text{Ca}^{2+}$  水平升高而产生的一氧化氮 (NO)。嗅觉减弱是衰老的一个共同特征。研究表明，在衰老小鼠的嗅球中，神经元和星形胶质细胞中的碳化蛋白，以及血管中的硝化蛋白水平增加。NO 介导的氧化损伤异常也与衰老脑皮层的血管功能障碍有关。过氧亚硝酸盐（由超氧化物与 NO 相互作用形成）和羟基自由基有高度的反应活性，可以启动膜脂质过氧化的自催化过程。老年狗的脑表现出脂质过氧化产物 4-羟基壬烯醛（4-hydroxynonenal, HNE）的积累，且与淀粉样沉积和神经纤维缠结有关。HNE 对半胱氨酸、赖氨酸和组氨酸残基的修饰，以及 NO 对酪氨酸残基的修饰，都会损害许多对细胞新陈代谢和生存至关重要的膜蛋白的功能，包括葡萄糖转运蛋白、神经营养因子受体和离子泵中的 ATP 酶。

有研究表明，小鼠和果蝇体内 SOD2 水平的降低会加速衰老相关的神经学表型的发生，包括运动功能障碍、神经元 DNA 损伤和神经退化。这些证据表明，抗氧化防御能力减弱和移除氧化损伤分子的能力受损足以加速衰老。在秀丽隐杆线虫中，氧化损伤在生殖后期显著增加，有趣的是，在胰岛素信号通路突变的个体中，年轻个体出现氧化应激的短暂爆发，而后维持低水平的氧化损伤。氧化修饰的蛋白质通常被泛素化作为蛋白酶体降解的目标，而在自噬过程中，氧化损伤的膜和线粒体被定位于溶酶体中。然而，氧化应激若是过度则会损害蛋白酶体和溶酶体的功能。

### 3、溶酶体和蛋白酶体功能受损

清除受损和功能障碍的分子和细胞器对神经元十分重要。受损的细胞成分被分子受体识别，并将它们转移到溶酶体或蛋白酶体，从而被降解。在自噬过程中，受损成分被包裹在膜状吞噬泡中，吞噬泡随后与溶酶体融合，并将内容物释放到酸性溶酶体腔中，在水解酶作用下被降解。蛋白质被泛素化后会成为蛋白酶体降解的目标，这个过程涉及三种酶（E1、E2 和 E3），其中 E3 是一个连接酶，可以将泛素转移到目标蛋白的赖氨酸残基。随后多个泛素相互结合形成泛素链，泛素链被蛋白酶体的 19S 调节亚基识别，蛋白被展开然后进入 20S 亚基的“桶”状结构中，并在那里被降解。E3 泛素连接酶 Parkin 突变或 Parkin 底物  $\alpha$ -突触核蛋白过度表达足以导致早发性帕金森氏病，这也突显了蛋白酶体降解在脑衰老中的重要性。

有研究发现，细胞中包含的未降解物、功能失调的线粒体和多泛素化蛋白的自噬小泡，呈增龄性积累，表明神经元衰老过程中会发生蛋白酶体降解和自噬功能受损。由于膜泡 ATP 酶的氧化损伤，在衰老过程中神经元溶酶体维持溶酶体腔内低 pH 值的能力受损。HNE 可以损害脑皮层神经元内的溶酶体功能，导致未降解物的堆积和细胞死亡。在衰老过程中，神经元的自噬小泡或富含脂质的囊泡中会出现脂质的积累。脑衰老过程中也会发生蛋白酶体功能

障碍和过载，表现为神经元中多泛素化蛋白的积聚。对衰老大鼠不同脑区的蛋白酶体活性检测显示，某些脑区（海马体和脑皮层）的蛋白酶体活性显著降低，而其他脑区（小脑和脑干）则没有显著变化，这表明衰老过程中神经元细胞群对蛋白酶体功能障碍的易感性不同。

饮食能量限制（DER）、蛋白质限制和雷帕霉素治疗等刺激自噬的干预措施，可以延长动物模型的寿命。有研究利用遗传或药物操作增强细胞自噬，结果表明自噬和蛋白酶体功能受损会导致脑衰老。例如，cystatin B（溶酶体水解酶抑制剂）基因的缺失增强了 AD 小鼠模型的自噬和学习能力，并改善了记忆缺陷；转录因子 EB（自噬的关键调节因子）的过表达，挽救了 Tauopathy 疾病小鼠模型的记忆缺陷；自噬上调可以改善斑马鱼模型的神经退化。这些发现共同揭示了溶酶体和自噬在保护神经元免受衰老损伤中的关键作用。

#### 4、神经元钙稳态失调

**钙离子可以调节神经元功能和神经网络的结构适应性，涉及几秒到几天的记忆的形成，甚至可以达到几年的长期记忆。**兴奋性神经递质谷氨酸从突触前轴突末端释放后，激活突触后树突上的 Na<sup>+</sup>活化 AMPA 受体，导致细胞膜去极化，Ca<sup>2+</sup>通过 NMDA 谷氨酸受体通道和电压依赖性 Ca<sup>2+</sup>通道流入细胞内。这导致了细胞内 Ca<sup>2+</sup>浓度的短暂升高，随后 K<sup>+</sup>通道和“Na<sup>+</sup>泵”被激活以恢复膜电位，并通过位于质膜和内质网膜的 Ca<sup>2+</sup>-ATP 酶的活性来清除胞浆内的 Ca<sup>2+</sup>。短暂的 Ca<sup>2+</sup>浓度升高激活了胞浆激酶和磷酸酶，改变了树突中多种蛋白的磷酸化状态，包括参与谷氨酸受体进出膜、细胞骨架重塑和局部蛋白质合成的蛋白。例如，依赖突触活性的 Ca<sup>2+</sup>内流刺激 AMPA 谷氨酸受体迅速插入突触后膜，同时也诱导编码蛋白 Arc（介导 AMPA 受体的内吞作用）的 mRNA 的翻译。通过激活激酶，Ca<sup>2+</sup>内流还激活了包括环磷酸腺苷反应元件结合蛋白（CREB）和 PGC-1  $\alpha$  在内的转录因子，这些转录因子随后使多种蛋白编码基因表达上调，其中涉及神经元可塑性和细胞抗应激相关的各种蛋白编码基因。内质网和线粒体对钙离子的吸收和释放机制，为亚细胞内钙离子的动态变化提供了额外的微调途径。

**在衰老过程中，神经元将 Ca<sup>2+</sup>动态控制在生理范围内的能力受损。**对海马体锥体神经元的研究表明，衰老损伤了 Ca<sup>2+</sup>诱导的后超极化，从而增加了 Ca<sup>2+</sup>内流（通过 L 型电压依赖性 Ca<sup>2+</sup>通道）和从内质网释放（通过 ryanodine 受体通道）的 Ca<sup>2+</sup>，导致胞浆 Ca<sup>2+</sup>水平异常升高，从而导致蛋白质磷酸化、细胞骨架动力学和基因表达的失调。**恢复神经元 Ca<sup>2+</sup>稳态的实验改善了老年大鼠的认知缺陷，表明 Ca<sup>2+</sup>调节紊乱与增龄相关的认知缺陷有关。**老年小鼠的海马神经元对 Ca<sup>2+</sup>介导的兴奋性毒性退化和细胞死亡表现出更高的易感性。

Calbindin 等钙结合蛋白的表达下调以及线粒体和内质网的 Ca<sup>2+</sup>处理能力受损，导致了衰老

过程中神经元钙离子调节能力的失调。细胞内  $\text{Ca}^{2+}$  浓度持续升高可以损伤和杀死神经元，其机制包括  $\text{Ca}^{2+}$  依赖性蛋白酶(calpains)的激活以及触发 caspase 介导的细胞凋亡和 PARP1 介导的细胞死亡。

## 5、适应性应激反应信号通路受损

神经元不断受到代谢、离子和氧化应激的影响，这些应激来自神经元内部正常的电化学生物活动，以及外部的系统性生物能量挑战和生理、心理应激。很多信号通路已经进化到能够对细胞压力做出适应性的反应，缓解直接威胁，并向其他细胞发出应激状态的警报，从而增强对未来应激源的防御。**ATP 消耗、 $\text{Ca}^{2+}$  和 ROS 是适应性细胞应激反应的三个主要启动因子。**

$\text{Na}^+$  和  $\text{Ca}^{2+}$  通过质膜通道内流形成了动作电位和突触活性，随后被膜离子驱动的 ATP 酶(“ $\text{Na}^+$  和  $\text{Ca}^{2+}$  泵”)泵出；伴随的 ATP 消耗提高了 AMP/ATP 比值，导致 AMPK 的激活。AMPK 随后磷酸化，从而调控参与能量代谢(葡萄糖转运蛋白和 mTOR 通路)、自噬和神经元兴奋性的蛋白活动。钙是介导细胞应激适应的重要信号； $\text{Ca}^{2+}$  与钙调蛋白结合，导致激酶的激活，从而促进包括 CREB 和 NF- $\kappa$ B 在内的转录因子的激活。CamKII 是被  $\text{Ca}^{2+}$  激活的激酶之一，它也激活 NO 合成酶。NO 激活可溶的鸟苷环化酶产生环 GMP，环 GMP 通过下游途径保护神经元免受兴奋性中毒和代谢应激的影响。 $\text{Ca}^{2+}$  也被运输到线粒体中，在那里它参与了氧化磷酸化的增加和 ROS 的生成。这些 ROS(超氧化物和过氧化氢)作为信号分子可以激活氧化还原状态的应答转录因子，包括 NF- $\kappa$ B 和核调节因子 2 (NRF2)。CREB、NF- $\kappa$ B 和 NRF2 诱导编码蛋白基因的表达，这些蛋白质可以减轻细胞应激，消除或修复受损分子。例如 CREB 诱导神经营养因子 BDNF 和 DNA 修复酶 APE1 的表达；NF- $\kappa$ B 上调抗氧化酶 SOD2、 $\text{Ca}^{2+}$  结合蛋白 calbindin、抗凋亡蛋白 Bcl-2 的表达；NRF2 上调抗氧化酶 HO-1 和 NQO1 的表达。

适应性应激反应信号通路可能在衰老过程中受损，从而使神经元易受损伤和神经退行性疾病的影响。例如，BDNF、NGF 和 IGF-1 信号在脑衰老过程中由于神经营养因子表达减少和受体表达或下游信号的改变而受损。神经营养因子缺陷可能导致衰老过程中神经元线粒体功能、 $\text{Ca}^{2+}$  处理和抗氧化防御功能受损。在衰老脑的突触末梢中可能由于膜脂过氧化而导致质膜  $\text{Ca}^{2+}$ -ATP 酶活性下降。 $\text{Ca}^{2+}$ -CaMKII 信号的失调会对神经元线粒体动力学产生不利影响，这可能会导致衰老过程中的神经元功能障碍。在正常衰老过程中，海马区 NO 生成和下游信号通路受到干扰，NO 代谢和下游信号通路的恢复可以改善小鼠与年龄相关的认知障碍。最后，慢性不受控制的应激(心理或生理上的)会损害神经元的可塑性，并通过下丘

脑-垂体-肾上腺轴的过度激活和糖皮质激素水平的升高（人类的皮质醇和啮齿动物的皮质酮）等机制使神经元易于退化。持续升高糖皮质激素水平会抑制 BDNF 的表达，从而削弱突触可塑性，增加神经元的退化易感性。

## 6、神经网络活动异常

整个脑神经回路的一般组织以兴奋性谷氨酸能神经元为基础，它们具有复杂的树突，并通过长轴突与其他谷氨酸能神经元和抑制性 GABA 能中间神经元形成突触（图 2）。兴奋性神经元树突的突触输入为：谷氨酸能突触位于树突的远端，GABA 能突触位于细胞体上或邻近细胞体，来自脑干血清素能和去甲肾上腺素能神经元、基底前脑胆碱能神经元和中脑多巴胺能神经元的突触输入位于谷氨酸能输入的近端。**这些不同神经递质系统的结构完整性和突触活动的适当整合是正常脑功能所必需的。在脑衰老过程中，脑区域内和脑区域之间的神经网络活动的保真度受到干扰，有些个体表现得相对微妙，有些则是致病的。**由于 GABA 能信号传导受损，尤其是经由 GABA-A 受体的信号传导减弱，导致脑衰老时出现兴奋性失衡。氧化应激、线粒体功能障碍、适应性应激反应受损和炎症等脑衰老的特征，会使神经回路容易受到过度兴奋性和兴奋毒性损伤。**正常衰老过程中出现的 G 蛋白偶联血清素能、去甲肾上腺素能、多巴胺能和胆碱能神经元的退化和功能障碍可能使人更容易出现一种或多种与年龄有关的神经退行性疾病。**胆碱能神经元的神经递质系统在学习和记忆，决策和情绪调节中起关键作用。因此，他们的失调会导致老年人的认知障碍和抑郁。脑不同区域之间的沟通主要通过谷氨酸能神经元的髓鞘轴突投射进行，轴突位于白质束中，用于脑半球间的沟通（胼胝体）和半球内的沟通（如上下纵束和钩突束）。在正常的人类脑衰老过程中，白质完整性受到破坏，而认知障碍患者的情况则更为严重。这种脱髓鞘的机制涉及少突胶质细胞的 DNA 氧化损伤。

对人类受试者的脑神经网络活动进行功能核磁共振成像（fMRI）分析，发现了与正常衰老和年龄相关的认知障碍相关的变化。当一个人闭上眼睛并停止与周围环境的互动时，包括楔前叶、后扣带皮层、内侧前额叶皮层和角回在内的神经网络的活动就会增加。**这种“默认模式网络”（DMN）被认为在回忆过去、思考未来和“思维漫游”方面起着重要作用。DMN 的功能连接减少发生在正常的衰老过程中，并且在认知能力受损的老年人中显著加重。**功能核磁共振成像分析发现在静息状态下，年轻人的额顶叶和突出神经网络活跃，而老年人则不活跃，这些差异与灰质体积减少和白质完整性有关。在老年人的记忆任务中，DMN 和海马之间的功能连接与记忆能力相关。DMN 也发生在啮齿动物身上，与认知未受损的老年动物相比，认知受损的老年动物表现出功能性连接障碍。研究遗传和药物干预对 DMN 活性

的影响可能会揭示与年龄相关的神经网络功能连通性破坏背后的细胞和分子机制。

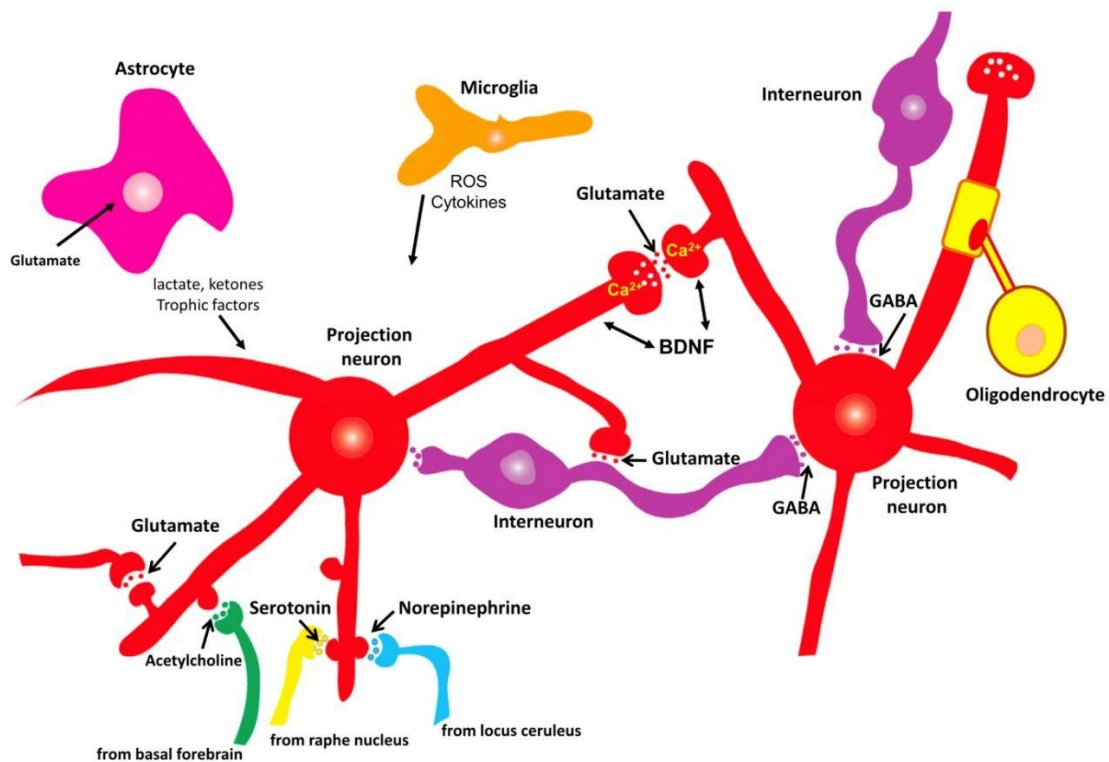


图 2.哺乳动物脑的核心神经回路和神经胶质细胞。脑兴奋性神经元会分泌谷氨酸神经递质，并具有典型的精细长轴突，可以在脑区域内和脑区域之间相对较长的距离上投射信息。 $Ca^{2+}$ 是在兴奋性突触中介导突触前和突触后可塑性的主要第二信使。脑区域内的抑制神经元主要是将兴奋性神经回路限制在生理范围内的 GABA 能神经元。谷氨酸能神经元也接受包括去甲肾上腺素，血清素和乙酰胆碱在内的神经调节递质的输入。星形胶质细胞是脑中神经胶质细胞最丰富的类型。它们从细胞外环境中去除谷氨酸，并产生神经营养因子、乳酸和酮类，以支持神经元的生长和生物能。少突胶质细胞是一种神经胶质细胞，它使轴突形成髓鞘，以提高动作电位沿轴突传播的速度。小胶质细胞是脑中主要的先天免疫细胞，它们产生活性氧（ROS）和细胞因子，并清除凋亡细胞和细胞外碎片。

## 7、DNA 修复功能受损

在正常的细胞功能过程和衰老过程中，线粒体和细胞核中的 DNA 经常受到 ROS 的破坏，而神经元中，这种 DNA 损伤会伴随兴奋性突触活动而增加。在健康的年轻细胞中，DNA 修复途径中的相关蛋白质的协调活动会将受损的 DNA 碱基迅速清除，并用未损坏的碱基取代，这些修复途径主要包括同源重组，错配修复，核苷酸切除修复和碱基切除修复（BER）。在神经元中，BER 是修复 DNA 氧化损伤的关键；BER 过程可简单的概括为三步：首先由糖基化酶（OGG1、UDG 和 NEIL1）识别受损碱基，接着核酸内切酶（APE1）切除受损的碱基，最后聚合酶（Pol  $\beta$ ）将新的未受损碱基整合到 DNA 链中。对人类和啮齿动物脑组织样本的分析表明，在衰老过程中，受损的核 DNA 和线粒体 DNA 数量增加，一些 DNA 修

复蛋白的表达和/或酶活性降低。在人类脑衰老过程中，核 DNA 的某些区域特别是涉及突触可塑性和线粒体功能的基因启动子区域容易发生氧化损伤的积累。与幼龄小鼠相比，老年小鼠海马、额叶皮质、脑干和小脑的线粒体 OGG1 和 UDG 活性（但不包括它们的表达水平）降低。在衰老的脑中，Pol  $\beta$  的表达减少，而 DER 可以阻止这种减少。虽然通常认为 BER 对有丝分裂后的神经元特别重要，但也有证据表明，核苷切除修复和转录偶联修复也会在脑衰老过程中受损。这些变化可能主要发生在神经干细胞和胶质细胞中，但这一点仍有待确定。

**DNA 修复受损足以导致加速衰老表型。**患有 Cockayne 综合征，Werner 综合征和共济失调毛细血管扩张综合征的人从年轻开始就表现出多种衰老表型的快速发展。**这三种早衰综合征都是由参与 DNA 修复的蛋白质突变（CSB，Werner 和 ATM）引起的，受影响的个体表现出与脑部加速衰老一致的神经系统缺陷。**Cockayne 患者表现出小脑浦肯野细胞、耳蜗神经元和视网膜神经元的退化，而 CSB 缺陷小鼠则在早年就出现听力丧失以及海马和皮质神经元的线粒体功能障碍。Werner 综合征的特征是类似 AD 的神经病理学和认知缺陷。ATM 缺乏会导致小脑浦肯野细胞和颗粒神经元的进行性死亡，从而导致身体运动控制受损。有趣的是，DER 通过减少氧化性 DNA 损伤的积累，显着减少了神经变性和神经功能缺损，并延长了 DNA 切除修复缺陷小鼠（加速衰老的动物模型）的寿命。据推测，DER 通过延缓脑衰老的其他特征可以对导致急剧加速衰老表型的遗传缺陷进行补偿。

## 8、炎症

与其他器官系统相似，局部炎症是脑衰老的一个常见特征。胶质细胞，特别是小胶质细胞，通常在衰老的脑中表现出一种激活状态，其特征是获得变形虫样形态，产生促炎性细胞因子，包括白细胞介素 1b（IL-1b）、IL-6 和肿瘤坏死因子  $\alpha$ （TNF- $\alpha$ ）。补体级联是一种“攻击”和破坏细胞膜的蛋白-蛋白相互作用的连续反应，它也可能在衰老的脑中被激活，并与 AD 和缺血性中风的发病机制有关。补体级联的遗传或药理学抑制作用可改善正常衰老期间以及 AD 和中风小鼠模型中发生的突触丢失和神经元死亡。另外，活化的小胶质细胞表达一种诱导型 NO 合酶，并产生大量可引起神经元氧化损伤的 NO。此外，因免疫细胞对入侵病原体的反应而闻名的 Toll 样受体（TLR）越来越多地与年龄相关的脑部疾病的神经炎症有关。在与年龄相关的神经退行性疾病模型中，实验激活小胶质细胞 TLR4 受体会加剧神经元变性，而药理学抑制小胶质细胞激活则具有神经保护作用。先天免疫反应的异常激活可能与脑衰老的其他特征有关（图 1）。

在脑衰老和神经退行性疾病中，免疫细胞的异常激活导致突触变性和功能损伤，但如果

调控得当，同样的途径也可以在神经可塑性和神经元应激抵抗中发挥重要作用。例如，(1)  $\text{TNF-}\alpha$  在海马突触可塑性和学习记忆中起重要作用；(2) 补体蛋白在健康的发育中和成年脑中介导自适应突触重塑；(3) TLRs 在神经元中表达，它们在调节发育和成人神经可塑性中起作用；(4) 在癫痫发作，TBI 和 AD 模型中， $\text{TNF-}\alpha$  受体缺陷型小鼠的海马神经元发生功能障碍和变性的可能性增加；(5) TLR 2 和 4 调节食量，副交感神经系统和体重。星形胶质细胞也可能有助于对年龄相关的神经元应激的适应性反应。它们产生神经营养因子，从突触中去除谷氨酸，并增强神经元生物能。在衰老过程中，星形胶质细胞的这些功能可能会受到损害，从而加剧病理性神经炎症过程。

## 9、神经发生功能受损

成年哺乳动物脑中的绝大多数神经元是在胚胎期或产后早期发育时产生的，而新的海马齿状回颗粒神经元和嗅球间神经元则是由成年脑中的神经元干细胞产生的。齿状回颗粒神经元通常在学习和记忆中，尤其是在空间模式分离（环境中物体间空间关系的记忆）中起关键作用。**在正常衰老过程中，海马和嗅觉神经发生减少，并且可能导致认知和嗅觉缺陷。衰老的其他几个特征可能会导致衰老过程中神经发生受损。**衰老的神经祖细胞表现出线粒体氧化代谢降低，成年小鼠海马神经元祖细胞中线粒体 ETC 功能的遗传受损以类似于正常衰老的方式损害神经发生。氧化应激，DNA 修复受损和炎症也可能导致与年龄相关的神经生成减少。

## 10、细胞衰老和端粒损耗

有丝分裂细胞在衰老过程中会经历端粒缩短和衰老。随着细胞分裂的不断进行，由重复的六核苷酸 DNA 序列 (TTAGGG) 组成的染色体末端（端粒）会缩短，而逆转录端粒酶可以阻止这种缩短。在间期，端粒 DNA 受几种端粒相关蛋白的保护。端粒的大量缩短和端粒 DNA 的保护受损会触发 DNA 损伤反应以及凋亡或细胞衰老。**因为神经元是有丝分裂后的，所以它们的端粒不会缩短（尽管它们可能会被氧化应激所破坏）并且不会经历衰老。然而，在从干细胞分化的最初几天中，新产生的神经元对端粒损伤触发的凋亡特别敏感。**在端粒酶缺陷型小鼠中，海马神经发生减少，海马依赖性空间学习和记忆受损。晚期端粒酶缺陷型小鼠中端粒酶的重新激活可将嗅觉神经发生恢复到正常水平，从而改善嗅觉缺陷。

当细胞衰老时，细胞停止分裂，体积增大，表达 p21 和 p16Ink4a 蛋白，抗凋亡，产生促炎细胞因子。机体衰老过程中，细胞衰老可能是某些神经祖细胞和胶质细胞的归宿，p16Ink4a 表达的增加和脑室下区增殖祖细胞数量的减少可以说明这一点。而且，体外培养的人类神经祖细胞的细胞倍增数量存在上限，然后步入衰老状态。未来的研究中，在衰老和与



年龄相关的神经退行性疾病的动物模型中，选择性清除脑中的衰老细胞，将有助于阐明细胞衰老是否真的是脑衰老的一个标志。

## 11、能量代谢失调

随着衰老，外周和脑组织细胞中的葡萄糖代谢和脂质代谢发生紊乱。由于衰老细胞响应胰岛素信号，其转运葡萄糖的能力会受损，血液循环中的葡萄糖浓度会增加。胰岛素抵抗表现为空腹血液中胰岛素与葡萄糖水平升高，是糖尿病、心血管疾病以及中风发生的主要危险因素。外周系统的胰岛素抵抗可能会诱发衰老相关的认知功能障碍，可能是 AD 的危险因素之一。此外，**神经元在衰老过程中可能也会发生胰岛素抵抗和葡萄糖转运障碍**，表现为放射性标记的葡萄糖摄取 PET 成像显示的葡萄糖利用率逐渐降低，并且这种葡萄糖代谢异常在颞叶，顶叶和额叶以及运动皮层区域尤为突出。同正常受试者（年龄相匹配）相比，在患有轻度认知障碍和 AD 的受试者中，其颞叶和顶叶区域的葡萄糖利用率明显降低。

胰岛素与其膜受体结合后，受体胞质侧的酪氨酸激酶结构域被激活，从而导致该受体互作蛋白 IRS-1 磷酸化。当胰岛素抵抗发生时，IRS-1 的酪氨酸磷酸化减少，丝氨酸 312 位点磷酸化增加。而老年受试者的脑组织尸检分析显示，其 IRS-1 的丝氨酸 312 位点磷酸化水平增加，这提示着衰老神经元发生了胰岛素抵抗。在认知功能受损的老年受试者中，由神经元释放的循环细胞外囊泡（extracellular vesicles, EVs）也表现出胰岛素抵抗相关的磷酸化特征。除了胰岛素抵抗外，神经元葡萄糖转运蛋白 GLUT3 还容易受到氧化应激和 HNE 的损害。不过，**神经元中的葡萄糖代谢会对衰老妥协，表现为神经元摄取和利用酮体  $\beta$ -羟基丁酸酯以及乙酰乙酸酯的能力在衰老过程中得以维持**，AD 患者的神经元也是如此。正如下文“代谢因素可以加快或减慢脑衰老”中所述，对于神经元生物能量学的干预措施具有缓解多种脑衰老特征的巨大潜力，因此可以用于预防神经退行性疾病。

血脂异常（血液中低密度脂蛋白和甘油三酸酯浓度升高）是中风和血管性痴呆的危险因素之一，也增加了 AD 的患病风险。**在脑衰老过程中，多种脂质的新陈代谢发生改变，表现为长链神经酰胺和富含脂质的细胞的积累，以及脑组织中 omega-3 脂肪酸水平的下降**。同时遗传学分析还发现脂质代谢同衰老相关的脑功能退化相关。因此，迟发散发性 AD 的最主要遗传风险因素是编码载脂蛋白 E（一种转运胆固醇和脂蛋白的蛋白）基因的  $\epsilon 4$  等位基因，但是 APOE  $\epsilon 4$  亚型损害神经元的机制尚不清楚，并且可能不是由于胆固醇代谢改变导致的。对此有两种猜测：一是 APOE $\epsilon 4$  不具备 APOE $\epsilon 2$  和  $\epsilon 3$  的抗氧化（HNE 清除）能力；二是 APOE  $\epsilon 4$  可以通过核内体途径影响蛋白质（包括 APP）的转运。