

阿尔茨海默病中的磁铁矿作用机制

李 玥, 潘卫东, 宋 涛

中国科学院电工研究所电磁生物工程研究组, 北京 100190

收稿日期: 2010-07-29; 接受日期: 2010-10-26

基金项目: 国家自然科学基金项目(51037006)

通讯作者: 宋涛, 电话: (010)82547164, E-mail: songtao@mail.iee.ac.cn

摘要: 阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 与铁代谢异常密切相关。目前研究发现人脑内有生物磁铁矿的存在。磁铁矿是一种含有两种价态铁的铁氧复合物, 呈反铁磁性耦合, 在 AD 病人脑中其含量和结构均出现异常, 表明磁铁矿在 AD 的发病中可能发挥重要作用, 氧化应激可能是磁铁矿发挥作用的一个重要途径。深入研究磁铁矿的形成机制以及调控因素, 可以为解析 AD 的发病机制, 以及电磁场生物学效应提供新的科学依据。

关键词: 阿尔茨海默病; 铁; 铁蛋白; 磁铁矿; 电磁场

中图分类号: Q64

引 言

1907年, Alois Alzheimer 首次报道一例 51 岁患者, 临床表现为情感障碍、记忆缺陷、幻觉以及攻击性行为。4 年半后这位患者死亡, 尸检发现她的脑组织神经元内有大量异常的神经元纤维束 (神经纤维缠结, neurofibrillary tangles or NFTs), 同时大脑皮层有许多局灶性损害 (后被 Simchowicz 命名为“老年斑, senile plaques”)。这种进行性早老性痴呆合并有神经纤维缠结和老年斑的疾病被称为 Alzheimer's disease (AD)^[1]。

AD 的具体病因和发病机制目前仍不清楚。研究表明, AD 的发病与淀粉样前体蛋白 (APP) 突变、Tau 蛋白异常磷酸化 (过磷酸化或超磷酸化)、活性自由基分子生成过多以及载脂蛋白 (Apo) E 异常等多种因素有关。铁是一种重要的化学元素, 铁对脑内氧运输、电子传递链、神经递质合成以及髓鞘的形成具有重要意义。长期以来, 人们发现铁运送和贮存的累积和失调与多种神经退行性疾病相关, 也有多篇文献报道铁异常与 AD 密切相关, 在 AD 发病机制中发挥重要作用^[2-4]。研究发现, AD 患者脑中的乳铁蛋白表达强烈上调, 表明其在 AD 患者的脑组织中起着重要作用^[5]。磁铁矿 (magnetite, 四氧化三铁, Fe_3O_4) 是体内铁的一种形式, 是体内唯一稳定的 Fe^{2+} 存在状态。近年来对于脑内磁铁矿的认识逐渐增多, 本文就 AD 与磁铁矿关系的研究进展做一综述。

AD 与铁

铁是脑内最多的金属, 脑铁水平受血脑屏障和铁相关蛋白控制, 比如转铁蛋白、转铁

蛋白受体、铁调节蛋白等。尽管有这些调节机制的存在，但是在许多神经变性疾病中仍然有脑铁的增多。铁，尤其是二价铁和非结合铁，能够通过 Fenton 反应催化自由基的生成，由此导致线粒体膜、蛋白质和核酸等的损伤，从而引起神经元损伤：



早在 1953 年，Goodman 就发现铁浓度异常与 AD 有关，也在 AD 患者中发现有过多的铁蓄积。铁增加不仅仅在胶质细胞中存在，神经原纤维缠结和老年斑中也有铁的增多。尤其在老年斑中，海马、杏仁核、基底核以及大脑皮层等脑区中也发现铁含量的增加^[67]。研究发现，临床前 AD 病例的皮层和小脑中的铁含量大幅上升，小脑中氧化还原活性态铁的神经营养十分明显；同时，随着认知损伤病程的递进，高活性态铁的累积不断加剧。这提示，脑铁动态代谢失衡是导致 AD 神经退行性病变的前提，其对受影响脑区的作用并非特异^[8]。脑铁代谢失调是多因素的，包括基因和非基因因素，可以发生在多个水平，如铁的摄入、释放和贮存，细胞内的代谢以及调节情况等。正常情况下，铁在摄取、贮存和利用的过程中不断在二价和三价之间转换。二价铁是高反应性的，如果游离铁不能被摄取和储存为三价铁化合物，就有可能参与到一个有害的化学反应中，生成过量的自由基。

铁蛋白

尽管铁在生命体中有众多作用，其生物利用度仍然有限。在某些情况下，铁对细胞是有毒性的，因此机体有必要用一套系统将铁以无毒性的形式隔离开来。在人体（包括人脑）以及大多数有机体中，大部分铁是在铁储存蛋白——铁蛋白内核中储存。铁蛋白将 90% 以上的亚铁以无活性的高铁形式储存在其核内。铁蛋白是一个由 24 个亚基组成的直径为 12 nm 的空心球形壳，壳内径 8 nm，最多能够储存 4 500 个铁原子，正常情况下球壳内为水合氧化铁 ($5\text{Fe}_2\text{O}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$, ferrihydrite) 所占据^[9]。

铁蛋白由重链和轻链组成，重链和轻链具有不同的功能，其中重链有一个亚铁氧化酶区域，可以催化亚铁氧化，这对于细胞保护非常有益，而轻链的主要作用是促进生物矿化^[10]。铁通过铁蛋白亚基之间的通道出入铁蛋白核。利用不同含量的铁重组无铁铁蛋白形成无机铁核，其拓扑结构与许多环境和土壤系统中衍生的无机水合氧化铁一致^[11]。一般认为，二价铁通过氧化反应变为较稳定的三价铁，以水合氧化铁的形式储存起来。如果铁蛋白内的铁过多或者铁蛋白功能故障，铁进入铁蛋白的氧化过程可能会缺失，导致铁蛋白内的水合氧化铁核心结构发生变化。

AD 与磁颗粒

1992 年，Kirschvink 等^[12]利用超导量子干涉仪对尸检后的脑组织各个脑区的磁性物质进行了检测，首次证明在人脑（大脑、小脑、基底节以及中脑）中也存在有磁性颗粒（四氧化三铁， Fe_3O_4 ），而且其表面结构和结晶特征与先前在鸟类和鱼类中发现的非常相似。此后，Dobson 等^[13]排除了人为影响，在活体人脑的海马组织中也发现了 Fe_3O_4 颗粒的存在，进一步确认了人脑中磁铁矿的存在。磁铁矿和磁赤铁矿 ($\gamma\text{Fe}_2\text{O}_3$) 是铁在体内的另一种形式。

尽管磁颗粒含量仅占脑总铁含量的一小部分，但是近来的一些定量研究表明，AD 患者

尸检脑组织中的磁颗粒含量明显高于对照组^[14]，提示磁颗粒可能是 AD 的一种标志物，或者在 AD 的发病过程中扮演重要角色。有学者通过电镜研究观察到 AD 患者脑组织中某些铁蛋白核内有立方形磁铁矿样物质存在，而且这种同时包含二价铁和三价铁的磁铁矿样物质占多数^[15,16]。近年来，Dobson 等利用超导量子干涉仪研究 AD 患者脑组织发现：磁颗粒的浓度与直径小于 20 nm 颗粒所占的比例有明显的线性相关性，即磁颗粒浓度越大，直径小于 20 nm 的颗粒所占比例越多，而且对照组也遵循相似的规律。值得注意的是，最大的磁颗粒浓度和最小直径的磁颗粒都来自于 AD 患者。这暗示：磁铁矿的起源在所有案例中可能是一样的，但是在 AD 中可能是一种加速过程的标志。同时还发现，AD 患者脑中生物磁颗粒的总浓度比较高（在某些例子中比对照组高出 15 倍），而且具有性别差异，女性患者脑内的磁颗粒浓度要比其他组的明显增高^[17]。先前的研究表明：AD 患者脑组织中铁蛋白核心的纳米晶体结构与正常铁蛋白晶体结构不同。尽管两种铁蛋白核心都是多相性组分，但是正常生理状态下的铁蛋白核心中大多数是高铁形式的水合氧化铁，而 AD 脑中的是两种立方形的亚铁和高铁混合形式的氧化铁^[18]。

磁颗粒在 AD 中的可能作用

众多研究表明 AD 患者脑中磁铁矿浓度比对照组要高，且结构也与正常有异，暗示磁铁矿很可能参与了 AD 的发病过程，是 AD 的病因之一。从目前研究来看，磁铁矿的作用机制可能有以下几种。

磁铁矿促进氧化应激

正常铁蛋白核心中，大多数是六面体形高铁形式的三氧化二铁，而 AD 患者脑中磁铁矿是含有亚铁和高铁混合形式的四氧化三铁。众所周知，二价铁是氧化还原反应活性高的铁形式，能够形成自由基，产生氧化应激，导致细胞膜的损伤。但自由 Fe^{2+} 形式不稳定，在体内半衰期短，而磁铁矿形式是体内唯一稳定的 Fe^{2+} 存在状态^[19]。体内磁铁矿浓度的逐步升高，意味着稳定的 Fe^{2+} 形式的比例增高，也就预示着氧化还原反应活跃态铁引起的组织损害程度可能加剧，由此可能对 AD 等神经退行性疾病带来不利影响^[17]，而磁铁矿中二价铁形式的铁可能为这种反应提供了更多的铁来源。也有研究表明，对自由基损伤来说，铁氧复合物可能是一个比 Fenton 反应更有效的催化剂，认为在大脑组织中，铁氧复合物，而不是 Fenton 反应，是触发自由基损伤的首要途径^[20]。

此外，磁铁矿具有磁性，在地磁场的环境下可以产生一个较强的局部磁场。研究表明，外加磁场可以影响自由基的产生过程。自由基对机制 (radical pair mechanism) 是被广泛接受的解释磁场影响生化反应的机制，基本原理是外加磁场可以通过塞曼交互作用 (Zeeman interaction) 影响未配对电子的自旋状态，从而延长自由基对三重态的时间。Scaiano 等研究认为，磁颗粒能够促进微胞 (micelles) 内自由基对的生成反应，从而改变微胞内自由基的动力学平衡。在磁铁矿的结构中， Fe^{2+} 和 Fe^{3+} 的晶格交错排列，呈反铁磁性耦合，这种交错的晶格和彼此未配对电子自旋数的差异，可赋予磁铁矿以强磁化性。而磁铁矿产生的这种局部磁场可以使得生化反应过程中的三重态更加稳定，从而增加自由基的产生，即便这种

磁场非常弱, 也能对自由基产生很大影响^[21-23]。因此 AD 患者脑内的磁铁矿极有可能通过影响自由基的生成, 引起氧化应激反应而产生生物学效应。

磁铁矿影响 A β 产生和沉积

A β 沉积是 AD 的重要病理特征, A β 的毒性作用也是 AD 的重要发病机制之一。已有研究显示, 铁和 A β 对于 AD 中的氧化应激形成具有重要作用。电子顺磁共振结果显示, A β 的 35 位甲硫氨酸对自由基形成起关键作用, 取代这个氨基酸将导致自由基的减少^[24]。另外, A β 的寡聚化在自由基生成中也是非常必要的: 将铁与 A β 共孵育, A β 明显聚集^[25]。A β 的寡聚体可以使三价铁转变为二价铁, 同时产生活性氧, 而二价铁又可以与氧反应产生超氧阴离子, 后者再与过氧化氢反应生成羟自由基; 二价铁还可直接与过氧化氢反应生成羟自由基^[26]。已有文献报道, 强的局部磁场可以加速老年斑 A β 的聚集, 磁铁矿中的二价铁很容易被氧化, 形成磁赤铁矿, 而这个过程和产生的局部磁场可能影响 A β 的产生和沉积^[27]。由此推测, AD 中磁铁矿与 A β 的互相作用, 可能也是其发挥生物学效应的一个重要途径。

磁场与 AD

许多研究资料提出极低频 (extremely low frequency, ELF) 电磁场 (electromagnetic field, EMF) 是神经变性疾病危险因素之一。还有一些调查显示, 电磁场暴露可以引起 AD。早在 1995 年, Sobel 等^[28]就电磁场暴露与 AD 发病的关系, 对芬兰和美国三个医疗中心的散发性 AD 患者(分别为 53、198、136 例)进行了病例对照研究。结果发现, 中度和高度工频电磁场暴露者患 AD 的优势比 (OR) 在三组患者中分别为 2.9、3.1、3.0, 合并后 OR=3.0 [95%可信区间(CI): 1.6~5.4]。Schulte 等^[29]对美国 27 个州 1982~1991 年间登记的神经系统变性病比例死亡比 (proportional mortality ratio) 进行了分析, 发现电业工作与 AD 相关, 有电磁场暴露史者 AD 的比例死亡比升高。有文献报道, 将 H4 神经胶质瘤细胞暴露于 3.1 mT 的 50 Hz 电磁场下, 结果发现细胞内 A β 分泌明显增加^[30]。上述结果显示电磁场可能是 AD 发病的诱因之一。

人脑中磁铁矿的存在为磁场提供了一个理想的作用位点。Kirschvink^[31,32]曾基于磁铁矿提出一个磁场生物学效应的生物物理机制, 其基本模型是一个单畴的磁铁矿与跨膜离子通道相连, 外加磁场可使磁性颗粒偏转从而打开或关闭离子通道, 进而产生生物学效应。2007 年, Fleissner 等人^[33]研究了家鸽喙部神经树突上的磁性颗粒, 认为其中的簇状小粒径磁性颗粒 (Fe₃O₄) 与细胞膜相连, 从而传导磁信号。Solov'yov 等^[34]修正了 Fleissner 的模型, 分析认为家鸽头部相对地磁场的改变可以产生 0.2 pN 的作用力, 而这足以改变神经细胞膜上的离子通道。以上几种磁场与生物内源磁性颗粒相互作用的模型, 其基本思路都是认为磁场对内源磁性颗粒的物理作用力可以影响离子通道, 从而影响神经系统, 提示磁铁矿可能是磁场与 AD 相关性的一个桥梁。

研究前景及展望

磁铁矿的发现已有 50 多年的历史, 目前已在多种生物体内发现其存在, 如蜜蜂、鱼类以及某些微生物 (磁小体) 等。在这些生物体中, 磁铁矿似乎与生物定向和导航有关。尽管目前对于磁铁矿的研究也取得不少进展, 但是还有很多问题有待解决。

1) 磁铁矿的形成过程及其调控因素的研究。铁蛋白内水合氧化铁是正常生理状态下的铁贮存形式, 病理状态下, 其铁核的晶体结构发生了变化, 铁进入铁蛋白是比较清楚的, 但是核内结晶的过程还知之甚少。有哪些因素参与了结晶过程并且对结晶过程起着什么样的作用? 这个问题的解决有助于我们深入理解某些疾病的病因, 寻找新的防治途径。

2) 如前所述, 磁场与某些疾病 (如 AD) 相关。磁铁矿作为体内具有磁学特性的物质, 是否是磁场生物学效应的一个媒介? 如果是, 它又扮演着什么样的角色? 因此研究磁场与磁铁矿之间关系及作用方式, 可为评价环境电磁场对健康的影响提供理论依据。

参考文献:

1. Hooper NM. Alzheimer's disease methods and protocols. New Jersey: Human Press, 2000
2. Bishop GM, Robinson SR, Liu Q, Perry G, Atwood CS, Smith MA. Iron: A pathological mediator of Alzheimer disease? *Dev Neurosci*, 2002, 24(2-3): 184~187
3. Mandel S, Amit T, Bar-Am O, Youdim MB. Iron dysregulation in Alzheimer's disease: Multimodal brain permeable iron chelating drugs, possessing neuroprotective-neurorescue and amyloid precursor protein-processing regulatory activities as therapeutic agents. *Prog Neurobiol*, 2007, 82(6): 348~360
4. Berg D, Youdim MB. Role of iron in neurodegenerative disorders. *Top Magn Reson Imaging*, 2006, 17(1): 5~17
5. Wang L, Sato H, Zhao S, Tooyama I. Deposition of lactoferrin in fibrillar-type senile plaques in the brains of transgenic mouse models of Alzheimer's disease. *Neurosci Lett*, 2010, 481(3):164~167
6. Weinberg ED, Miklossy J. Iron withholding: A defense against disease. *J Alzheimers Dis*, 2008, 13(4): 451~463
7. Ong WY, Farooqui AA. Iron, neuroinflammation, and Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*, 2005, 8 (2): 183~200; Discussion 209~215
8. Smith MA, Zhu X, Tabaton M, Liu G, McKeel DW Jr, Cohen ML, Wang X, Siedlak SL, Dwyer BE, Hayashi T, Nakamura M, Nunomura A, Perry G. Increased iron and free radical generation in preclinical Alzheimer disease and mild cognitive impairment. *J Alzheimers Dis*, 2010, 19(1): 363~372
9. Harrison PM, Arosio P. The ferritins: Molecular properties, iron storage function and cellular regulation. *Biochim Biophys Acta*, 1996, 1275(3): 161~203
10. Quintana C, Bellefqih S, Laval JY, Guerquin-Kern JL, Wu TD, Avila J, Ferrer I, Arranz R, Patiño C. Study of the localization of iron, ferritin, and hemosiderin in Alzheimer's disease hippocampus by analytical microscopy at the subcellular level. *J Struct Biol*, 2006, 153(1): 42~54
11. Michel FM, Hosein HA, Hausner DB, Debnath S, Parise JB, Strongin DR. Reactivity of ferritin and the structure of ferritin-derived ferrihydrite. *Biochim Biophys Acta*, 2010, 1800(8): 871~885
12. Kirschvink JL, Kobayashi-Kirschvink A, Woodford BJ. Magnetite biomineralization in the human brain. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1992, 89(16): 7683~7687
13. Dobson J, Grassi P. Magnetic properties of human hippocampal tissue — Evaluation of artefact and contamination sources. *Brain Res Bull*, 1996, 39 (4): 255~259
14. Collingwood JF, Mikhaylova A, Davidson M, Batich C, Streit WJ, Terry J, Dobson J. In situ characterization and mapping of iron compounds in Alzheimer's disease tissue. *J Alzheimers Dis*, 2005, 7(4): 267~272
15. Quintana C, Cowley JM, Marhic C. Electron nanodiffraction and high-resolution electron microscopy studies of the structure and composition of physiological and pathological ferritin. *J Struct Biol*, 2004, 147(2): 166~178
16. Quintana C, Lancin M, Marhic C, Pérez M, Martin-Benito J, Avila J, Carrascosa JL. Initial studies with high resolution TEM and electron energy loss spectroscopy studies of ferritin cores extracted from brains of patients with progressive supranuclear palsy and Alzheimer disease. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)*, 2000, 46(4): 807~820
17. Pankhurst Q, Hautot D, Khan N, Dobson J. Increased levels of magnetic iron compounds in Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*, 2008, 13(1): 49~52
18. Quintana C, Gutiérrez L. Could a dysfunction of ferritin be a determinant factor in the aetiology of some neurodegenerative diseases? *Biochim Biophys Acta*, 2010, 1800(8): 770~782

19. Castellani RJ, Moreira PI, Liu G, Dobson J, Perry G, Smith MA, Zhu X. Iron: The redox-active center of oxidative stress in Alzheimer disease. *Neurochem Res*, 2007, 32(10): 1640~1645
20. Schafer FQ, Qian SY, Buettner GR. Iron and free radical oxidations in cell membranes. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)*, 2000, 46(3): 657~662
21. Collingwood JF, Chong RK, Kasama T, Cervera-Gontard L, Dunin-Borkowski RE, Perry G, Pósfai M, Siedlak SL, Simpson ET, Smith MA, Dobson J. Three-dimensional tomographic imaging and characterization of iron compounds within Alzheimer's plaque core material. *J Alzheimers Dis*, 2008, 14(2): 235~245
22. Okano H. Effects of static magnetic fields in biology: Role of free radicals. *Front Biosci*, 2008, 13: 6106~6125
23. Brocklehurst B, McLauchlan KA. Free radical mechanism for the effects of environmental electromagnetic fields on biological systems. *Int J Radiat Biol*, 1996, 69(1): 3~24
24. Butterfield DA. Amyloid beta-peptide (1-42)-induced oxidative stress and neurotoxicity: Implications for neurodegeneration in Alzheimer's disease brain. *A review Free Radic Res*, 2002, 36(12): 1307~1313
25. Frackowiak J, Potempska A, Mazur-Kolecka B. Formation of amyloid-beta oligomers in brain vascular smooth muscle cells transiently exposed to iron-induced oxidative stress. *Acta Neuropathol*, 2009, 117(5): 557~567
26. Huang X, Moir RD, Tanzi RE, Bush AI, Rogers JT. Redox-active metals, oxidative stress, and Alzheimer's disease pathology. *Ann N Y Acad Sci*, 2004, 1012: 153~163
27. Dobson J. Nanoscale biogenic iron oxides and neurodegenerative disease. *FEBS Lett*, 2001, 496(1): 1~5
28. Sobel E, Davanipour Z, Sulkava R, Erkinjuntti T, Wikstrom J, Henderson VW, Buckwalter G, Bowman JD, Lee PJ. Occupations with exposure to electromagnetic fields: A possible risk factor for Alzheimer's disease. *Am J Epidemiol*, 1995, 142(5): 515~524
29. Schulte PA, Burnett CA, Boeniger MF, Johnson J. Neurodegenerative diseases: Occupational occurrence and potential risk factors, 1982 through 1991. *Am J Public Health*, 1996, 86(9): 1281~1288
30. Del Giudice E, Facchinetti F, Nofrate V, Boccaccio P, Minelli T, Dam M, Leon A, Moschini G. Fifty Hertz electromagnetic field exposure stimulates secretion of beta-amyloid peptide in cultured human neuroglioma. *Neurosci Lett*, 2007, 418(1): 9~12
31. Kirschvink JL, Kobayashi-Kirschvink A, Diaz-Ricci JC, Kirschvink SJ. Magnetite in human tissues: A mechanism for the biological effects of weak ELF magnetic fields. *Bioelectromagnetics*, 1992, Suppl 1: 101~113
32. Kirschvink JL, Walker MM, Diebel CE. Magnetite-based magnetoreception. *Curr Opin Neurobiol*, 2001, 11(4): 462~467
33. Fleissner G, Stahl B, Thalau P, Falkenberg G, Fleissner G. A novel concept of Fe-mineral-based magnetoreception: Histological and physicochemical data from the upper beak of homing pigeons. *Naturwissenschaften*, 2007, 94(8): 631~642
34. Solov'yov IA, Greiner W. Theoretical analysis of an iron mineral-based magnetoreceptor model in birds. *Biophys J*, 2007, 93(5): 1493~1509

Magnetite Mechanisms in Alzheimer's Disease

LI Yue, PAN Weidong, SONG Tao

Group of Electromagnetic Bioengineering, Institute of Electrical Engineering, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100190, China

This work was supported by a grant from The National Natural Science Foundation of China (51037006)

Received: Jul 29, 2010 Accepted: Oct 26, 2010

Corresponding author: SONG Tao, Tel: +86(10)82547164, E-mail: songtao@mail.iese.ac.cn

Abstract: Alzheimer's disease (AD) is closely correlated with abnormal iron metabolism. It has been shown that biological magnetite was identified in the human brain. Magnetite is a iron oxide compound with alternating lattices of antiferrimagnetically coupled Fe^{2+} and Fe^{3+} . In the AD, the content and structure of magnetite are all abnormal, indicating that magnetite may play an important role in the pathogenesis of AD, and of which oxidative stress is probably a route. Study on the mechanism of magnetite formation and regulatory factors can provide a new scientific evidence for AD pathogenesis and biological effect estimation of electromagnetic field.

Key Words: Alzheimer's disease; Iron; Ferritin; Magnetite; Electromagnetic field