

Rho/ROCK 信号通路在阿尔茨海默病中的研究进展

裴海艳¹, 万君², 崔洁², 王翔宇¹

三峡大学第三临床医学院 葛洲坝集团中心医院神经内科¹、药学部², 湖北 宜昌 443002

【摘要】 阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)是导致痴呆最常见的病因,随着人口的老龄化,患AD的人数逐年攀升,目前尚无有效的治疗方法。AD的发病机制尚未完全明了,目前认为其是一种多因素参与的疾病,其病理特征主要是 β 淀粉样蛋白(β -amyloid protein, A β)的沉积和神经纤维素的缠结(neurofibrillary tangles, NFT)。目前认为减少A β 的产生能延缓或者预防AD的发展,而Rho/ROCK信号通路参与此病理过程,故Rho/ROCK抑制剂成为了AD治疗研究的新靶点。他汀类药物能抑制Rho/ROCK信号通路,为AD的治疗提供了新的思路,现将就AD、Rho/ROCK信号通路及他汀类药物之间的关系展开综述。

【关键词】 阿尔茨海默病;Rho/ROCK信号通路;A β ;抑制剂;他汀类药物

【中图分类号】 R742.5 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1003-6350(2019)09-1187-03

Research progress of Rho/ROCK signaling pathway in Alzheimer's disease. PEI Hai-yan¹, WAN Jun², CUI Jie², WANG Xiang-yu¹. Department of Neurology¹, Department of Pharmacy², Gezhouba Central Group Hospital, the Third College of Clinical Medical Science, China Three Gorges University, Yichang 443002, Hubei, CHINA

【Abstract】 Alzheimer's disease (AD) is the most common cause of dementia. As the population ages, the number of people with AD increases year by year. There is currently no effective treatment. The pathogenesis of AD has not been fully understood. It is currently considered to be a multifactorial disease. Its pathological features are mainly the deposition of beta-amyloid protein (A β) and the neurofibrillary tangles (NFT). At present, it is believed that reducing the production of A β can delay or prevent the development of AD. Rho/ROCK signaling pathway is involved in this pathological process, so Rho/ROCK inhibitors have become a new target for AD treatment research. Statins can inhibit Rho/ROCK signaling pathway, which provide new ideas for the treatment of AD. This review will summarize the relationship between AD, Rho/ROCK signaling pathway and statins.

【Key words】 Alzheimer's disease; Rho/ROCK signaling pathway; A β ; Inhibitor; Statins

阿尔茨海默病为各型痴呆中最常见的一种,主要表现为记忆丧失、语言功能及逻辑思维障碍,丧失独立生活能力,最终导致死亡。随着全球人口老龄化的加剧,AD患者将日益增多,据估计,到2050年,世界AD患者将多达一亿,是继心脑血管疾病及恶性肿瘤之后危及人类健康的第四大疾病,是一个日益受到全球关注的问题,对个人和社会有着巨大的影响^[1]。根据发病机制及其发病时间,AD可以分为家族遗传性及散发性、早发性和晚发性,大多数AD病例(>99%)是散发性的和晚发性的,缺乏明确的病因机制导致疾病发展,目前认为是一种受遗传基因因素、免疫因素、神经递质以及环境等多因素影响的疾病^[2]。迄今为止,关于AD的发病机制及药物靶点有大量的研究,但仍没有一种药物能明显治疗AD^[3]。目前关于AD的发病机制有多种假说,包括A β 假说、Tau蛋白病因假说、胆碱能假说、兴奋性氨基酸毒性假说等。目前研究表明,AD的主要病理特征是皮质和海马区神经元逐渐丧失,主要表现为脑神经元外A β 聚集形成老年斑和胞内神经原纤维缠结^[4]。因而A β 假说长久以来在AD的

发病机制中占主导地位。A β 在细胞外的异常聚集而引起神经元的凋亡过程以及其产生的一系列临床表现的过程是及其复杂的,涉及到多种生物反应、代谢途径以及多种信号通路。其中Rho/ROCK信号通路在AD的发生发展中起着重要的作用,该通路的过度激活可以导致多种异常的细胞学事件的发生,结果加剧了脑神经元的凋亡^[5]。因此,研究Rho/ROCK信号通路及其抑制剂对AD的治疗有着重要作用,他汀类药物能通过抑制Rho/ROCK信号通路减少AD患者A β 的产生,减少神经元的损伤,进而起到治疗AD的目的。本综述的目的是详述Rho/ROCK信号通路及AD及他汀类药物之间的关系。

1 Rho/ROCK信号通路

Rho蛋白激酶又称为ROCK,是丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶家族中的一员,分子量约为160 kDa^[6]。ROCK包括ROCK1和ROCK2两种亚型,尽管两者结构和功能相似,但它们在组织中的表达水平存在差异,ROCK1主要在肺、肝、脾、肾中高度表达,而ROCK2主要在大脑和心脏中表达。ROCK的空间结构从N末端

基金项目:湖北省教育厅科研项目(编号:B2018012);三峡大学青年科学基金项目(编号:KJ2016A018)

通讯作者:王翔宇,主任医师,硕士,硕士生导师,E-mail:wxy72315@sina.com

到 C 末端的排列顺序依次为激酶(或催化)结构域,包含了 Rho 蛋白结合结构域在内的卷曲螺旋区,以及 C 端包含了半胱氨酸富集的锌指样结构域在内的 PH 结构域。Rho 蛋白是 ROCK 上游的激活剂,属于 Ras 超家族中的一个亚家族,是一种小分子三磷酸鸟苷(guanosine triphosphate, GTP)结合蛋白,具有较弱的 GTP 酶活性,以结合 GTP 或者 GDP 的构象在高活性和无活性之间进行转变,在 Rho/ROCK 信号通路中起着分子开关的作用。目前已从哺乳动物中分离出约 20 种 Rho 蛋白家族成员,在神经元内主要是 RhoA^[7]。

Rho/ROCK 信号通路是存在于生物体中的一条经典信号通路,参与调节细胞的多种生物过程。当 Rho/ROCK 信号通路过度激活,则会导致多种疾病的发生。在中枢神经系统中,神经元的形态改变、突触的结构及功能、神经细胞的损伤、修复等都与 Rho/ROCK 信号通路有关,因此,对于 AD 等多种神经系统疾病的发生发展,Rho/ROCK 信号通路起着重要作用。近年来,Rho/ROCK 信号通路在 AD 等神经系统退行性疾病中的作用受到广泛关注,为 AD 等疾病提供了一个新的治疗靶点^[8]。

2 Rho/ROCK 信号通路 & AD 的关系

AD 的病理特征之一是 A β 在神经细胞外聚集形成老年斑,在 AD 患者的大脑中,随着 A β 的积累,突触结构的完整性遭到破坏,疾病不断进展^[9]。A β 是由淀粉样前体蛋白(amyloid protein precursor, APP)经 β 位点 APP 切割酶(β -site APP cleaving enzyme, BACE1) 和 γ -分泌酶降解形成的由 40~42 个氨基酸残基构成的多肽蛋白,是 AD 患者神经细胞外老年斑的核心成分。在正常情况下,人脑中也可能存在 A β 的表达,但量很少,并且对未成熟和未分化的神经元起着营养作用。在 AD 患者的大脑中,A β 的表达明显增多,对神经元产生明显的毒性作用。A β 主要包括 A β_{40} 和 A β_{42} 两种亚型,其中 A β_{40} 较 A β_{42} 含量多的多,A β_{40} 占 90% 而 A β_{42} 仅占 10%^[10]。但尽管如此,A β_{42} 却有着更强的神经毒性和疏水性,并且更容易在大脑中积聚并沉淀形成老年斑。在正常生理状态下,A β_{40} 和 A β_{42} 始终保持着动态平衡^[11]。然而,在病理状态下,病理性增多的 A β 可以转化成为 A β_{42} ,A β_{40} 与 A β_{42} 之间的动态平衡被打破,形成更多的不溶解的沉淀物并在神经细胞外大量积聚,形成“老年斑”,从而产生神经毒性作用,这是目前广泛认可的导致 AD 发生、发展的始因及共同途径,并且,A β_{42} 在干扰突触结构中完整性方面更强,在 AD 的发生发展中发挥着更加关键的作用。虽然 A β 含量的增加不能单独解释 AD 的所有特征,但减少 A β 的产生或积累或者更确切的说减少 A β_{42} 的产生可以作为延缓或者预防 AD 进展的一种治疗途径^[12]。

长期以来,针对减少 A β 的产生进行了很多研究,

发现非甾体类抗炎药(NSAIDs)能通过抑制 Rho GTP 酶及其下游效应器 ROCK1 及 ROCK2 活性减少 A β 的生成,并且同样具有 ROCK1 和 ROCK2 抑制效应的药物 Y-27632 能够减少 AD 小鼠模型中的 A β 含量^[13]。SR-3677 是一种高选择性的 ROCK2 小分子抑制剂,无论是在体内还是体外都能显著降低 A β 的产生,并且,通过实验研究发现,ROCK2 抑制剂能减少 A β 的产生的可能机制为:(1)抑制 BACE1 酶的活性;(2)改变 BACE1 内吞作用;(3)修饰 APP T654 磷酸化位点。在同一实验研究中,分析了 9 个轻度认知障碍(MCI)、5 个无症状 AD 患者大脑以及正常人作为对照组,采用免疫组化的方法发现与对照组相比,MCI 大脑额叶皮质组织匀浆中 ROCK2 水平升高,而无症状 AD 患者 ROCK2 显著增加。总的来说,这些结果表明,ROCK2 水平在 AD 的早期阶段增加,并在整个疾病进展过程中保持升高。基于这些发现,结合药理学研究,认为 ROCK2 是一种基于机制的治疗靶点^[12]。

3 Rho/ROCK 信号通路与他汀类药物、AD 之间的关系

流行病学证据表明,长期服用 3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶 A (HMG-CoA) 还原酶抑制剂即他汀类药物能降低 AD 发病的风险,然而,他汀类药物介导的 AD 保护作用不能完全通过降低胆固醇水平来解释,说明他汀类药物在 AD 患者中的作用可能独立于其对胆固醇的影响^[14]。他汀类药物是目前治疗高胆固醇血症的常用药物,主要是抑制胆固醇合成途径中的限速酶 HMG-CoA 还原酶来降低血浆胆固醇水平,广泛应用于心脑血管的二级预防^[15]。许多回顾性研究表明,胆固醇水平与 AD 之间的关系是复杂的,大多数研究显示胆固醇水平与 AD 之间没有相关性,尽管有几项研究支持中老年高胆固醇与 AD 的发病率存在一定的联系,但暂时没有研究证实这一联系。故认为他汀类药物用于降低 AD 发病率的作用是独立于其降低胆固醇作用的^[16]。

研究发现,他汀类药物对 AD 患者的影响主要是通过调节蛋白质的异戊烯化发挥其多效性,他汀类药物能降低胆固醇生物合成过程中甲羟戊酸的合成,从而降低甲羟戊酸衍生物即异戊二烯类化合物的生成,如法尼基焦磷酸盐(FPP)和香叶香叶酰焦磷酸盐(GGPP)^[17]。FPP 和 GGPP 是细胞内蛋白翻译后异戊二烯化修饰的重要脂质供应体,可以在异戊二烯转移酶作用下将异戊二烯基团与 Rho A 等小 GTP 蛋白的 C-末端连接,增加其亲脂性(异戊烯化)。异戊烯化是激活小分子 G 蛋白的关键步骤,促使其定位在细胞膜上而激活,进而激活其下游效应分子 ROCK,发挥 Rho/ROCK 信号通路的转导功能。

早期有研究报告指出,低浓度的辛伐他汀作用于

小鼠成神经瘤细胞,发现在不影响细胞胆固醇水平的情况下,辛伐他汀可通过抑制异戊烯化水平来调节 Rab1b 蛋白,减少 A β 的生成。同时,辛伐他汀还可抑制 Rho 蛋白的功能,促使溶酶体依赖性降解途径的激活,加快 APP 中 CTFs 片段的降解,最终达到降低 A β 的效果。另外,用洛伐他汀作用于海马区神经元细胞,发现在不改变胆固醇水平及细胞膜中脂筏结构的情况下,洛伐他汀通过 GGPP 依赖性途径降低 β 分泌酶活性和胞内 APP 水平,进一步证明他汀类药物对 AD 的治疗作用是独立于其降低胆固醇作用的^[18]。以上研究表明,他汀类药物可能通过抑制异戊烯化过程影响 Rho/ROCK 信号转导途径,进而影响 APP 的代谢和 A β 的沉积,对 AD 起到防治作用。

4 展望

AD 是最常见的一种痴呆类型,其发病率逐年上升,严重影响老年人的健康及生活质量。AD 是一种复杂的多因素疾病,可能需要同样复杂的治疗方法,早期疾病监测、联合治疗和保持良好的生活方式都对 AD 的治疗至关重要^[19]。目前研究发现 Rho/ROCK 信号通路在 AD 的发生发展中起着重要作用^[20],为 AD 的治疗提供了新的思路,然而暂时没有一种药物能明确其对 AD 的治疗有明显影响,可能与 ROCK 存在两种异构体有关,ROCK1 和 ROCK2 结构相似,很难找出特异性的 ROCK1 或 ROCK2 抑制剂。而他汀类药物作为心脑血管疾病预防及治疗的经典药物,理论上能通过抑制 Rho/ROCK 信号通路减少 A β 的生成,达到治疗和预防 AD 的作用,然而他汀类药物治疗 AD 的临床试验并没有显示出一致的疗效,他汀类药物的使用剂量,血脑屏障的通透性的差异以及疾病的不同阶段均可以导致结果的差异,可能需要更多的实验去验证其疗效^[21]。进一步的研究应致力于开发高选择性的 ROCK1 抑制剂或者 ROCK2 抑制剂,以减少不良反应,并提高血脑屏障的通透性以提高治疗 AD 的能力。由于 AD 的发生发展与多种因素有关,具有 ROCK 抑制剂性质的多靶点药物是治疗 AD 的理想药物。希望在不久的将来围绕这一通路能开发出更有效的药物预防和治疗 AD。

参考文献

- [1] LANE CA, HARDY J, SCHOTT JM, et al. Alzheimer's disease [J]. *Eur J Neurol*, 2018, 25(1): 59-70.
- [2] RIDGE PG, HOYT KB, BOEHME K, et al. Assessment of the genetic variance of late-onset Alzheimer's disease [J]. *Neurobiology of Aging*, 2016, 41: 200.e13-200.e20.
- [3] KHALIL RB, KHOURY E AND KOUSSA S. Linking multiple pathogenic pathways in Alzheimer's disease [J]. *World Journal of Psychiatry*, 2016, 6(2): 208-214.
- [4] KOZLOV S, AFONIN A, EVSYUKOV L, et al. Alzheimer's disease: as it was in the beginning[J]. *Reviews in the Neurosciences*, 2017. 28 (8): 825-843.
- [5] STANKIEWICZ TR, LINSEMAN DA. Rho family GTPases: key players in neuronal development, neuronal survival, and neurodegeneration [J]. *Frontiers in cellular neuroscience*, 2014, 8: 314-327.
- [6] LAI AY, MCLAURIN J. Rho-associated protein kinases as therapeutic targets for both vascular and parenchymal pathologies in Alzheimer's disease [J]. *Journal of Neurochemistry*, 2018, 144(5): 659-668.
- [7] SHIMOKAWA H, SUNAMURA S, SATOH K. RhoA/Rho-Kinase in the Cardiovascular System [J]. *Circulation Research*, 2016, 118(2): 352-366.
- [8] HENSEL N, RADEMACHER S, CLAUS P. Chatting with the neighbors: crosstalk between Rho-kinase (ROCK) and other signaling pathways for treatment of neurological disorders [J]. *Frontiers in Neuroscience*, 2015, 9: 198-227.
- [9] NAKAYAMA AY, HARMS MB, LUO L. Small GTPases Rac and Rho in the maintenance of dendritic spines and branches in hippocampal pyramidal neurons [J]. *Neurosci*, 2000, 20(14): 5329-5338.
- [10] 万君, 李余星, 郑卫红, 等. γ -分泌酶的空间结构及调节剂的研究进展[J]. *中国药理学与毒理学杂志*, 2015, 29(6): 979-985.
- [11] SAMBAMURTI K, GREIG NH, UTSUKI T, et al. Targets for AD treatment: conflicting messages from γ -secretase inhibitors [J]. *Journal of Neurochemistry*, 2011, 117(3): 359-374.
- [12] HERSKOWITZ JH, FENG Y, MATTHEYSES AL, et al. Pharmacologic Inhibition of ROCK2 Suppresses Amyloid- β Production in an alzheimer's disease mouse model [J]. *Journal of Neuroscience*, 2013, 33(49): 19086-19098.
- [13] ZHOU Y, SU Y, LI B, et al. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs can lower amyloidogenic Abeta42 by inhibiting Rho [J]. *Science*, 2003, 302(5648): 1215-1217.
- [14] SCHULTZ BG, PATTEN DK, BERLAU DJ. The role of statins in both cognitive impairment and protection against dementia: a tale of two mechanisms [J]. *Transl Neurodegener*, 2018, 7: 5.
- [15] FORCE USPST. Statin use for the primary prevention of cardiovascular disease in adults: US preventive services task force recommendation statement [J]. *J Am Med Assoc*, 2016, 316: 1997-2007.
- [16] OSTROWSKI SM, JOHNSON K, SIEFERT M, et al. Simvastatin inhibits protein isoprenylation in the brain [J]. *Neuroscience*, 2016, 329: 264-274.
- [17] JEONG A, SUAZO KF, WOOD WG, et al. Isoprenoids and protein prenylation: implications in the pathogenesis and therapeutic intervention of Alzheimer's disease [J]. *Crit Rev Biochem Mol Biol*, 2018, 53(3): 279-310.
- [18] 付婕琴, 刘海洋, 胡昌华. 他汀类药物治疗阿尔茨海默病的非降脂作用新机制[J]. *中国药理学杂志*, 2010, 45(11): 804-807.
- [19] FOLCH J, PETROV D, ETTCHETO M, et al. Current research therapeutic strategies for Alzheimer's disease treatment [J]. *Neural Plast*, 2016, 2016: 1-15.
- [20] CHONG C, AI N, LEE SM. ROCK in CNS: different roles of isoforms and therapeutic target for neurodegenerative disorders [J]. *Current drug targets*, 2017, 18(4): 455-462.
- [21] HOTTMAN DA, LI L. Protein prenylation and synaptic plasticity: implications for Alzheimer's disease [J]. *Molecular Neurobiology*, 2014, 50(1): 177-185.

(收稿日期:2019-01-02)