

Research Progress of APP/PS1 Mice on Neuronal Apoptosis

Xuxu Zhuang, Ling He*

Department of Pharmacology, China Pharmaceutical University, Nanjing Jiangsu
Email: *cpu2013zx@126.com

Received: Apr. 1st, 2016; accepted: Apr. 26th, 2016; published: Apr. 29th, 2016

Copyright © 2016 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

Abstract

Neuronal loss, mainly caused by neuronal apoptosis, is an important pathological feature of Alzheimer's Disease (AD). APP/PS1 double transgenic mouse can primely simulate the pathologic changes of AD, which makes this kind of mouse an internationally recognized transgenic AD animal model and be widely used in the relevant research of AD. This review provides a brief summary of the application situation of APP/PS1 mice to AD neuronal apoptosis research.

Keywords

Alzheimer's Disease, Neuronal Apoptosis, APP/PS1 Mice

APP/PS1双转基因小鼠在神经元凋亡研究方面的应用进展

庄旭旭, 何玲*

中国药科大学药理学教研室, 江苏 南京
Email: *cpu2013zx@126.com

收稿日期: 2016年4月1日; 录用日期: 2016年4月26日; 发布日期: 2016年4月29日

*通讯作者。

文章引用: 庄旭旭, 何玲. APP/PS1 双转基因小鼠在神经元凋亡研究方面的应用进展[J]. 药物资讯, 2016, 5(2): 14-18.
<http://dx.doi.org/10.12677/pi.2016.52003>

摘要

神经元丢失是阿尔茨海默病(Alzheimer's Disease, AD)的主要病理特征之一, 而神经元凋亡则是引起神经元丢失的主要原因。APP/PS1双转基因小鼠能够很好地模拟AD的病理变化, 是目前国际上公认的AD转基因动物模型, 因此被广泛地应用于AD相关的研究。本文对AD神经元凋亡及APP/PS1小鼠在这一方面的应用情况做一综述。

关键词

阿尔茨海默病, 神经元凋亡, APP/PS1小鼠

1. 引言

阿尔茨海默病(Alzheimer's Disease, AD)是一种以认知功能障碍、学习记忆能力减退、行为举止异常为临床特征的进行性神经退行性疾病[1]。中国科学院施一公院士称[2], 现在世界上有 4700 万人饱受这种疾病的困扰, 每 3 秒钟就有一个新的病人出现, 预计 2050 年时, 我们将会超过 1.3 亿人受它的困扰。AD 起病隐袭, 诊断确定之后具有不可逆性, 因其发病机制尚不清楚, 所以目前仍缺乏有效的治疗方法。 β -淀粉样蛋白(Amyloid β peptide, A β)在胞外沉积形成的神经炎性斑(又称老年斑, Senile Plaque, SP), 异常过度磷酸化的 Tau 蛋白在胞内形成的神经原纤维缠结(Neurofibrillary Tangles, NFTs), 以及神经元丢失是 AD 的主要病理特征[3]。临床尸检表明, AD 病人脑中存在大量凋亡神经元[4], 由各种病理过程最终导致的神经元丢失是 AD 患者出现记忆认知功能缺陷的主要原因, 而神经元凋亡在这一过程中扮演着重要角色[5], 并且越来越多的证据表明, AD 的发病可能与 A β 诱导的神经元凋亡密切相关[6] [7]。

2. A β 级联假说

如前所述, AD 的确切发病机制尚不明确, 围绕老化、遗传和环境等多种因素提出了不同的假说, 目前得到广泛认可的是 A β 级联假说(Amyloid cascade hypothesis)。该假说认为 A β 在脑内沉积作为 AD 病理改变的中心环节, 可引发一系列病理过程, 这些病理过程又反过来促进 A β 沉积, 最终形成一种级联式放大效应[8] [9]。

A β 是淀粉样前体蛋白(Amyloid Precursor Protein, APP)经 β 分泌酶和 γ 分泌酶水解形成的多肽片段, 一般由 38~43 个氨基酸残基构成, 以 A β 40 和 A β 42 为主[10], 其中 A β 42 为 β 片层结构, 由于疏水性强, 容易沉积, 具有神经毒性。正常生理情况下 90% 为 A β 40, 只有少量 A β 42, 而 AD 患者脑内 A β 42 增多, 导致 A β 42/A β 40 比例失衡。增多的这部分 A β 42 在大脑皮层和海马等区沉积形成神经炎性斑的核心, 可以通过激活小胶质细胞引起脑内炎症反应, 损害线粒体导致能量代谢障碍, 诱导氧自由基过多生成而引起氧化应激损害, 激活蛋白激酶以促进 tau 蛋白的异常磷酸化, 激活脑内细胞凋亡通路而介导神经元凋亡, 这一系列的病理改变又会反过来促进 A β 生成增加和异常沉积, 从而产生正反馈的级联放大效应, 最终导致神经元减少, 引发 AD 患者临床认知和行为症状。

基于此项假说, 我们需要寻找合适的 AD 动物模型以模拟 AD 患者脑内 A β 沉积形成神经炎性斑的病理特征, 目前国际公认的并被广泛应用于 AD 研究的是 APP/PS1 双转基因小鼠[11]。

3. APP/PS1 双转基因小鼠的病理变化特点

通过重组基因组技术将人类突变的 APP 基因和 PS1 基因转染小鼠形成的 APP/PS1 双转基因小鼠 AD

模型, 因 APP 的突变使得其与 β 分泌酶的结合位点发生改变, 引起 β 分泌酶的活性升高, 进而导致 $A\beta$ 的总量生成增加; 突变的 PS1 基因引起 γ 分泌酶的活性改变, 进而导致 APP 的代谢过程发生改变, 选择性地引起构成神经炎性斑主要成分的 $A\beta_{42}$ 产生和增加, 因此可以很好地模拟早发并且逐渐发展的 AD 患者脑内神经炎性斑的形成过程[12]。

APP/PS1 双转基因小鼠主要包括 APP_{swe}/PS1_{dE9}、APP_{swe}/PS1_{M146L}、APP_{swe}/PS1_{L166P}、APP_{SL}/PS1_{M146L} 双转基因小鼠等[13]。APP/PS1 双转基因小鼠与单转基因的或采用其他方法产生的 AD 动物模型相比, 无一例外地加快了 $A\beta$ 的沉积速度, 使动物模型脑内形成神经炎性斑的年龄显著降低。

4. 脑内 $A\beta$ 沉积所诱导 APP/PS1 小鼠神经元凋亡的病理特点

Takeuchi 等[14]的研究发现, 同时表达 APP 和 PS1 突变基因的小鼠有显著的年龄相关的 $A\beta$ 沉积, 海马 CA1 区和相关皮质的神经元丢失与非转基因或单转基因小鼠的相比最高可达 20%, 这与刘美霞[15]等对 9 月龄 APP/PS1 双转基因小鼠海马 CA1 区的病理观察结果相一致。应用脱氧核糖核苷酸末端转移酶介导的缺口末端标记法(TdT-mediated dUTP Nick-End Labeling, TUNEL)染色检测小鼠齿状回神经元凋亡情况发现, 野生型小鼠齿状回几无凋亡神经元, APP/PS1 双转基因小鼠齿状回可见较多的凋亡神经元, 凋亡指数显著高于野生型小鼠[16]。况超等[17]通过神经元 Nissl 染色发现双转基因小鼠海马 DG 区神经元明显丢失, 经过药物干预而改善 DG 区神经元的小鼠的空间学习记忆能力有明显提高。对 APP_{SL}/PS1_{K1} 小鼠的检测发现, 除了意料之中的胞外 $A\beta$ 迅速沉积, 在其海马 CA1 区出现年龄依赖性的神经元大量丢失, 还有 10 月龄的小鼠不论雌雄都在 CA1P2 亚区有广泛的神经元丢失, 而这种丢失最早在 6 月龄的雌鼠脑内就能观察到[13]。CA1P2 亚区的神经元丢失均匀延伸至锥体层, 并且与胞外 $A\beta$ 沉积位置是否临近无关, 这种现象与有些双转基因模型观察到的神经元凋亡局限在神经炎性斑附近有很大不同。

值得注意的是, 双转基因小鼠脑内神经元凋亡并非出现在所有的脑区, Lee 等[18]的研究结果显示, 16 月龄的 APP/PS1 小鼠并未出现在 AD 患者脑内可观察到的纹状体胆碱能神经元以及基底核胆碱能神经元的丢失, 但是 12-16 月龄的双转小鼠基底核的 ChAT-ir 神经元与同龄的非转基因小鼠相比明显增大, 提示其细胞骨架和(或)轴突运输可能出现缺陷。陈寒等[19]则证实, APP/PS1 小鼠随着年龄的增长, 其前联合存在轴突的丢失而髓鞘则保持相对完整。

5. 采用药物或其他治疗方法干预 APP/PS1 小鼠神经元凋亡的研究现状

由于 AD 发病机制尚无定论, 目前针对该病的药物或治疗方法都还处于缓解其病理症状的阶段。梓醇治疗能够通过改善 APP/PS1 小鼠脑内神经元及突触的丢失来显著缓解其焦虑情绪[20]。龙志敏等[21]使用丙戊酸钠(Valproic Acid sodium salt, VPA)干预 APP/PS1 双转基因小鼠, 通过 Nissl 染色发现 VPA 治疗组小鼠皮质和海马内的神经元数目较生理盐水组增加, TUNEL 染色显示 VPA 治疗组小鼠脑内凋亡神经元显著减少, 这可能正是 VPA 治疗组小鼠空间记忆能力比空白组小鼠显著增强的原因。不止是药物干预, 跑步[22]也能通过降低 APP/PS1 小鼠海马 CA1 区与齿状回区域内神经元凋亡来延缓早期 AD 模型小鼠空间学习记忆能力的下降。与此相类似的实验结果还有, 小强度跑台运动可能通过抑制神经元凋亡来减少 APP/PS1 小鼠海马齿状回神经元的丢失[16]。

不同治疗手段干预 APP/PS1 小鼠神经元凋亡的机制是不同的。表没食子儿茶素没食子酸酯(Epigallocatechin Gallate, EGCG)可以明显抑制 APP/PS1 小鼠脑内 p75^{NTR} 通路, 降低其剪切产物 p75^{ICD} 表达以及 JNK2 磷酸化水平, 减少 p53 和 cleaved-caspase 3 蛋白表达, 从而抑制神经元凋亡, 发挥神经保护作用, 以改善学习记忆障碍。地黄饮子[23]可以降低双转基因小鼠脑组织的神经元凋亡, 其机制与提高脑组织中 Bcl-2 mRNA 表达, 同时降低 Bax mRNA、Caspase-3 mRNA 表达有关。陈月等[24]以 C57 小鼠作

为对照, APP/PS1 双转基因小鼠作为模型组和 β -蛻皮甾酮处理组, 免疫组化结果显示, 与模型组相比, 给药组 Bcl-2 蛋白表达增加, Bax 蛋白表达减少, 从而证明 β -蛻皮甾酮能够改善转基因小鼠的学习记忆能力, 可能与抑制了海马相应区域神经元的凋亡相关。独活香豆素[25]能够减少双转基因小鼠脑内神经性损伤, 是通过增强中分子量神经丝蛋白表达和减少神经元凋亡, 但是抑制凋亡的具体机制有待于进一步的探究。

6. 展望

APP/PS1 双转基因小鼠具备特有的遗传学优势, 是一种基于病因(假说)的阿尔茨海默病动物模型, 这使其成为研究阿尔茨海默病发病机理的理想模型。但是我们也应该看到, 这种动物模型还不能完全模拟发生在阿尔茨海默病患者身上的病理变化, 而且也还应该对双转小鼠神经元凋亡的机理进行更加深入透彻的研究, 以有助于寻找阿尔茨海默病的发病机制, 为开展对阿尔茨海默病的病因治疗提供有效载体。预计未来通过应用 APP/PS1 双转基因小鼠, 把阿尔茨海默病的研究重点集中在寻找可以抑制或清除 β 淀粉样蛋白在脑内沉积的药物将大有可为。

基金项目

广东省重大科技专项(2012A080201005)。

参考文献 (References)

- [1] Webster, S.J., Bachstetter, A.D., Nelson, P.T., *et al.* (2014) Using Mice to Model Alzheimer's Dementia: An Overview of the Clinical Disease and the Preclinical Behavioral Changes in 10 Mouse Models. *Frontiers in Genetics*, **5**, 88. <http://dx.doi.org/10.3389/fgene.2014.00088>
- [2] 赵陈婷. 施一公:“剪”出一个未来[J]. 第一财经日报, 2016. <http://www.biodiscover.com/news/celebrity/172941.html>
- [3] Parihar, M.S. and Hemnani, T. (2004) Alzheimer's Disease Pathogenesis and Therapeutic Interventions. *Journal of Clinical Neuroscience*, **11**, 456-467. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jocn.2003.12.007>
- [4] Anderson, A.J., Su, J.H. and Cotman, C.W. (1996) DNA Damage and Apoptosis in Alzheimer's Disease: Colocalization with c-Jun Immunoreactivity, Relationship to Brain Area, and Effect of Postmortem Delay. *Journal of Neuroscience*, **16**, 1710-1719.
- [5] Yuan, J.Y. and Yankner, B.A. (2000) Apoptosis in the Nervous System [Review]. *Nature*, **407**, 802-809. <http://dx.doi.org/10.1038/35037739>
- [6] Kawasumi, M., Hashimoto, Y., Chiba, T., *et al.* (2002) Molecular Mechanisms for Neuronal Cell Death by Alzheimer's Amyloid Precursor Protein-Relevant Insults. *Neurosignals*, **11**, 236-250. <http://dx.doi.org/10.1159/000067424>
- [7] Pereira, C., Ferreira, E., Cardoso, S.M., *et al.* (2004) Cell Degeneration Induced by Amyloid- β Peptides. *Journal of Molecular Neuroscience*, **23**, 97-104. <http://dx.doi.org/10.1385/JMN:23:1-2:097>
- [8] Thomas, P. and Fenech, M. (2007) A Review of Genome Mutation and Alzheimer's Disease. *Mutagenesis*, **22**, 15-33. <http://dx.doi.org/10.1093/mutage/gel055>
- [9] Barage, S.H. and Sonawane, K.D. (2015) Amyloid Cascade Hypothesis: Pathogenesis and Therapeutic Strategies in Alzheimer's Disease. *Neuropeptides*, **52**, 1-18. <http://dx.doi.org/10.1016/j.npep.2015.06.008>
- [10] Zhai, J., Lee, T.-H., Small, D.H., *et al.* (2012) Characterization of Early Stage Intermediates in the Nucleation Phase of $A\beta$ Aggregation. *Biochemistry*, **51**, 1070-1078. <http://dx.doi.org/10.1021/bi201871r>
- [11] Heneka, M.T., Kummer, M.P., Stutz, A., *et al.* (2013) NLRP3 Is Activated in Alzheimer's Disease and Contributes to Pathology in APP/PS1 Mice. *Nature*, **493**, 674-678. <http://dx.doi.org/10.1038/nature11729>
- [12] Wengenack, T.M., Whelan, S., Curran, G.L., *et al.* (2000) Quantitative Histological Analysis of Amyloid Deposition in Alzheimer's Double Transgenic Mouse Brain. *Neuroscience*, **101**, 939-944. [http://dx.doi.org/10.1016/S0306-4522\(00\)00388-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0306-4522(00)00388-2)
- [13] 董贤慧, 柴锡庆. 阿尔茨海默病转基因动物模型: 如何更接近病理特征?[J]. 中国组织工程研究, 2013, 17(46): 8075-8082.

- [14] Takeuchi, A., Irizarry, M.C., Duff, K., *et al.* (2000) Age-Related Amyloid β Deposition in Transgenic Mice Overexpressing Both Alzheimer Mutant Presenilin 1 and Amyloid β Precursor Protein Swedish Mutant Is Not Associated with Global Neuronal Loss. *The American Journal of Pathology*, **157**, 331-339. [http://dx.doi.org/10.1016/S0002-9440\(10\)64544-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0002-9440(10)64544-0)
- [15] 刘美霞, 刘剑刚, 李浩, 刘龙涛, 梁琳, 胡佳, 魏芸. 还脑益聪方提取物对淀粉样前体蛋白/早老蛋白 1 双转基因痴呆模型小鼠学习记忆能力的改善作用及其机制[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2014, 28(1): 10-17.
- [16] 刘慧莉, 赵刚, 张合. 小强度跑台运动对 APP/PS1 转基因小鼠海马齿状回神经元凋亡的影响[J]. 中国康复医学杂志, 2014, 29(4): 348-350.
- [17] 况超, 李器, 李刚, 马晶, 张蕾, 晁凤蕾, 唐勇, 刘永刚. 氟西汀对 APP/PS1 双转基因阿尔茨海默病模型小鼠记忆能力的改善作用及其机制[J]. 基因组学与应用生物学, 2015(8): 1587-1593.
- [18] Lee, J.-E. and Han, P.-L. (2013) An Update of Animal Models of Alzheimer Disease with a Reevaluation of Plaque Depositions. *Experimental Neurobiology*, **22**, 84-95. <http://dx.doi.org/10.5607/en.2013.22.2.84>
- [19] 陈寒, 唐荣华, 唐洲平. APP/PS1 阿尔茨海默病转基因动物模型前联合异常改变[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2009, 13(41): 8178-8182.
- [20] 宋冲, 楚亚楠, 贺桂琼, 刘刚, 王凌晞, 周泽芬, 姚秋会. 梓醇对 APP/PS1 双转基因小鼠焦虑行为和脑内神经元的影响[J]. 重庆医科大学学报, 2013(6): 598-601.
- [21] 龙志敏, 赵蕾, 高宝兵, 汪克建, 贺桂琼. 丙戊酸钠对 APP/PS1 双重转基因 AD 模型小鼠脑内老年斑和神经元的影响[J]. 中国神经精神疾病杂志, 2011, 37(8): 477-481.
- [22] 蒋林, 张蕾, 晁凤蕾. 跑步对早期 APP/PS1 转基因阿尔茨海默病小鼠海马 CA1 区和齿状回神经元数量的影响[J]. 解剖学杂志, 2015, 38(2): 190-194.
- [23] 周妍妍, 刘艳丽, 董春雪. 地黄饮子对 APP/PS1 双转基因痴呆模型小鼠细胞凋亡的影响[J]. 中华中医药杂志, 2014(10): 3306-3308.
- [24] 陈月, 孟令慧, 冯婉玉. β -蜕皮甾酮对 APP/PS-1 转基因小鼠学习记忆能力及海马 Bcl-2、Bax 蛋白表达的影响[J]. 解剖科学进展, 2011, 17(5): 440-444.
- [25] 教亚男, 胡昱, 张晓丹, 等. 独活香豆素对 APP/PS1 双转基因小鼠的神经保护作用[J]. 中药药理与临床, 2014(5): 67-70.