Stroke and Nervous Diseases, Jun 2022, Vol. 29, No. 3

经典 Wnt 信号通路与阿尔茨海默病发病机制的研究进展

陈凡　王娜　何夏萍

【中图分类号】 R742　【文献标识码】 A　【文章编号】 1007-0478(2022)03-0296-04
【DOI】 10.3969/j.issn.1007-0478.2022.03.020

阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)是常见的神经退行性疾病之一,主要表现为脑内淀粉样蛋白沉积和神经纤维缠结形成,对于 AD 发病机制的研究已成为热点问题。Wnt 信号通路是一种相对保守的信号机制,在细胞增殖、组织稳态、中枢神经系发育过程中发挥重要作用,并且参与调控着多种疾病的病理机制。近年来,随着研究的深入,发现 Wnt 信号通路与 AD 的发生密切相关。

AD 是一类严重影响老年人身心健康的神经退行性疾病,目前全球预估有5 500万人罹患 AD,预计 2030 年这一数字将增长到 7800 万[1]。AD 所导致的记忆力衰退、基本活动能力的丧失等临床表现为家庭和社会带来了沉重的负担,因此对于 AD 的发病机制的研究迫在眉睫。

AD 的病因复杂,目前对于 AD 发病机制的假说众多,而越来越多的研究表明,Wnt 信号通路参与调控了 AD 的发病进程,并且在 AD 发病机制中起着关键性作用。本研究拟从经典 Wnt 信号通路对 AD 发病机制的影响作一综述,以期为 AD 的治疗提供新的研究思路。

1　经典 Wnt 信号通路(Canonical Wnt signaling pathway, CWSP)

1.1　CWSP 的作用　Wnt 信号通路是一种机体在进化过程中发生的相对保守的信号机制[2],在细胞增殖和中枢系统发育过程中发挥着相当重要的作用,它调节细胞的分化与迁移,维持机体组织的稳态[3];在中枢神经系统(Central nervous system, CNS)中 Wnt 信号通路可以影响神经元突触的数量和功能、帮助血管修复、维持血脑屏障(Bblood-brain barrier, BBB)的完整性,并能调节小胶质细胞等的生理功能[4-5]。因此,Wnt 信号通路的异常会对机体大脑产生严重的影响如导致 AD 的发生等[6]。

1.2　CWSP 的传导机制　根据有无 β-catenin 的参与,一般将 Wnt 信号通路分为经典 Wnt 信号通路(Canonical Wnt signaling pathway, CWSP)和非经典信号通路。其中经典 Wnt 信号通路又称 Wnt/β-catenin 通路,其传导机制是(1)当存在 Wnt 蛋白时 Wnt 蛋白能与膜表面的 Frizzled(Fz)受体和低密度脂蛋白受体相关蛋白 5/6(Low-density lipoprotein receptor-related protein 5/6, LRP5/6)结合,并且招募 Dishevelled 蛋白(DVl)。DVl 能够抑制由 Axin、腺瘤性息肉病大肠杆菌(Adenomatous polyposis coli, APC)、糖原合酶激酶-3β(Glycogen synthase kinase-3β, GSK-3β)、酪蛋白激酶 1α(Casein kinase 1α, CK1)、蛋白磷酸酶 2A(Protein phosphatase 2A, PP2A)和 E3-泛素连接酶(E3-ubiquitin ligase, βTrCP)形成的破坏复合物对 β-catenin 的磷酸化和泛素化导致的降解[7],随后 β-catenin 开始在细胞质中累积并且转运到细胞核,与 T 细胞因子/淋巴增强子结合因子(T cell factor/Lymphoid enhancer binding factor, TCF/LEF)结合,启动 Wnt 靶基因的转录[8];(2)在缺乏 Wnt 蛋白的情况下破坏复合物导致 β-Catenin 磷酸化与泛素化,被蛋白酶体降解,不能转运到细胞核与 TCF/LEF 结合,Wnt 信号通路处于关闭的状态[3,8-9](图 1)。

2　CWSP 与 AD

AD 的主要病理学表现是细胞外 β-淀粉样蛋白(Amyloid β-protein, Aβ)的积累和细胞内神经原纤维的缠结,而在 Wnt/β-Catenin 信号传导中对 AD 的影响主要表现在对中枢神经系统炎症的调节和导致突触功能的障碍上[10],其中与 AD 相关的蛋白如糖原合成酶激酶-3β(Glycogen synthase kinase-3, GSK-3β)和分泌性糖蛋白-1(Dickkopf-1, DKK1)等也表现出明显的异常改变,最终导致 Wnt 信号通路的下调,影响细胞分化增殖与中枢神经系统的稳态,从而加重了 AD 的病程发展。

2.1　GSK-3β　GSK-3β 是一种丝氨酸/苏氨酸激酶,可以使微管稳定蛋白 τ 磷酸化,促使 τ 从微管上解离下来形成不溶性的寡聚体,这种由寡聚体形成的成对螺旋丝是 AD 大脑中形成的神经原纤维缠结的组成部分之一[11]。Zhao 等人研究了与 AD 有关的细胞应激传感器核富集丰富的转录本 1(Nuclear enriched abundant transcript 1, NEAT1),发现 NEAT1 能通过抑制卷曲类受体 3(Frizzled class receptor 3, FZD3)/GSK-3β/过度磷酸化的 Tau 蛋白(Hyperphosphorylated Tau, p-Tau)的途径调节微管(Microtubules, MTs)的聚合,并且能影响 Wnt 信号传导中 FZD3 的转录活性,FZD3 表达水平下降并激活 GSK-3β 的活化,最终导致磷酸化 Tau 蛋白的增加[12]。Pares 等人分别对 GSK-3β 抑制剂和激活剂的研究发现,GSK-3β 是由其位于氮末端尾部的丝氨酸 9(Serine 9, Ser9)上的抑制性磷酸化进行调节的,这一过程的失调能导致 GSK-3β 永久性异常激活,诱导 τ 过度磷酸化聚集,进而加重 AD 病情的发展[13]。同时,GSK-3β 作为经典 Wnt 信号传导通路中 β-catenin 破坏复合物中的组成部分之一,在 AD 发病过程中高度活化,使 β-Catenin 磷酸化降解,导致 Wnt 信号通路的失活。Liu 等人对小鼠的海马神经干

作者单位:671000　云南省大理大学基础医学院[陈凡　王娜　何夏萍(通信作者)]

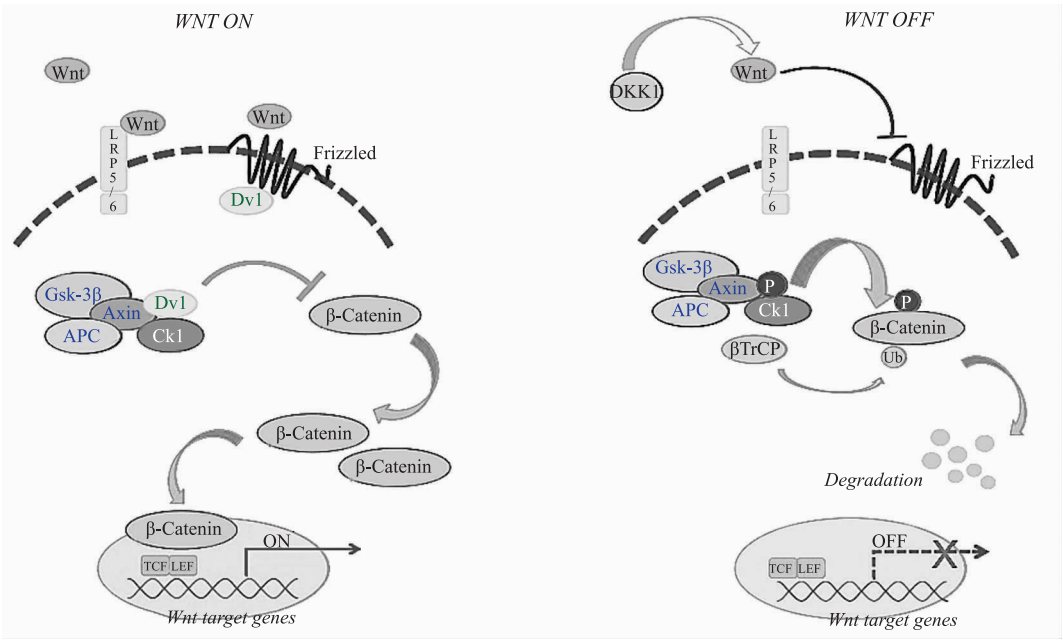

图 1 经典 WNT 信号通路的传导过程

细胞中 GSK-3β 进行激活，发现其过度活化能够加速神经干细胞库的消耗，导致成年海马神经形成缺陷，从而损害小鼠的空间记忆能力[14]。

2.2 DKK1 Dickkopf 相关蛋白-1（Dickkopf-1，DKK1）是一种内源性途径的 Wnt 信号通路拮抗剂，已经证实与 AD 的发病机制有关。Tay 等人进行随访检测了特定 AD 人群 1 年内的血清学样本，发现 AD 患者血清中 DKK1 水平上升[15]。Liu 等人在人胚胎肾细胞 293A（Human embryonic kidney 293A cell，HEK293A）细胞内过量表达 DKK1，随后对诱导产生的蛋白质组进行定量分析，发现其富含与已知 AD 的相关分子途径的蛋白，表明 Aβ 导致 DKK1 水平上升，增加了 Tau 蛋白的磷酸化和神经退行性变的风险[16]。另有研究用过量 DKK1 处理细胞，发现微管和神经丝的聚集，增加的 Tau 蛋白的磷酸化水平同样证明了上述观点[17]。在 AD 的病程进展中突触的丢失认为是记忆功能逐渐丧失的原因之一，Ross 等人用 miRNA-431 沉默 DKK1 的跨膜受体 Kremen1（Krm1）后发现突触丢失得到了改善，证明了 DKK1 可减少神经元中突触前和突触后点的数量[18]。同样有研究表明，DKK1 能阻止 Wnt 配体与膜表面 LRP5/6 受体复合物的结合来抑制 CWSP；Menet 等人通过抑制 DKK1 的生物学活性而发现与 Aβ 有关的淀粉样前体蛋白（Amylopsin，APP）裂解酶-1（β-Site APP-cleaving enzyme 1，BACE-1）蛋白表达水平下降，并且抑制 DKK1 后脑内血管密度增强，保护了 BBB 结构与功能的完整性，而诱导 DKK1 表达后突触后密度蛋白-95（Postsynaptic density protein，PSD-95）的 mRNA 表达水平下降，所以猜测 DKK1 可能是通过抑制脑源性神经营养因子（Brain-derived neurotrophic factor，BDNF）和 PSD-95 蛋白表达来影响突触的可塑性[19]。

2.3 β-Catenin β-Catenin 是 CWSP 的中心蛋白，作为转录因子被转运至细胞核内启动 Wnt 靶基因的转录。有研究已证实，在 AD 中 β-Catenin 的表达减少，其原因可能是由于 GSK-3β 活性的上升，增加了丝氨酸 45（Serine 45，pSer45）位点的 β-catenin 磷酸化，一旦 Ser45 磷酸化，β-Catenin 就会被蛋白酶体降解[2]。另有研究发现 APP 能与 β-Catenin 产生物理结合，阻止其转运到细胞核而启动下游基因转录，导致 β-Catenin 核功能的改变并且影响其在细胞内的分布[20]。Wang 等人发现，谷氨酰胺能够通过 Wnt3a/β-Catenin 的途径来保护 AD 内氧化应激导致的损伤，实验用谷氨酰胺治疗被 Aβ25-35 预处理的大鼠嗜铬细胞瘤肿瘤细胞系 PC12 后发现 Wnt 配体 3a 和 β-Catenin 的蛋白水平增高，神经细胞凋亡减少[21]。有研究曾表明小胶质细胞所导致的神经炎性是 Wnt 信号传导发挥作用的主要靶点，并且可能与 β-Catenin 的传导有关[22]。髓细胞触发受体 2（Triggering receptor expressed on myeloid cells 2，TREM2）作为小胶质细胞的重要受体之一，已经被证实可以抑制 β-Catenin 的降解，从而激活 CWSP 对 AD 起保护作用[23]。最近的一项研究也表明，经典的 Wnt 途径可以通过 β-Catenin 在非神经模型中发挥抗炎活性，防止促炎因子 κB 靶基因的表达[24]。Pons 等人发现，当 TREM2/β-Catenin 和白细胞介素-34（Interleukin-34，IL-34）的表达增加时敲除小胶质细胞基因后的小鼠内出现了 1 个代偿系统，这种补偿机制能够促进小胶质细胞的存活和对 Aβ 的吞噬作用[25]。另有研究则发现，β-Catenin 可以通过调节内皮特异性家族 Claudin5（Cldn5）和葡萄糖转运蛋白亚型 1（Glucose transporter 1，Glut-1）来维持 BBB 的完整性[26]。

2.4 PP2A 2 型蛋白磷酸酶（Protein phosphatase 2A，PP2A）在 Wnt 信号通路的传导途径中作为 β-Catenin 破坏复合物的活性组装因子之一[27]，可以分离出 β-Catenin 的磷酸基团，保护 β-Catenin 的稳定性。用蛋白磷酸酶抑制剂冈田酸（Akadaic acid，OA）抑制 PP2A 活性会导致细胞内活性 β-

Catenin(ATP-binding cassette, ABC)转运蛋白水平下降[28]。在 CWSP 中 PP2A 的另外 1 个作用是激活酪蛋白激酶 1ε(Casein kinase 1ε, CK1ε),并且招募 DVl 蛋白,使 DVl 与 β-Catenin 破坏复合物结合并启动 Wnt 途径[29]。在提高 ABC 水平中 PP2A 发挥着积极作用;最新的研究表明 PP2A 可以作为治疗 AD 的药物靶点[29];Huang 等人用氟西汀处理 App/ps1/Tau 三转基因小鼠(Triple transgenic mouse for Alzheimer's disease, 3XTg-AD),发现 PP2A 的活性显著增强,并降低了海马组织中 GSK-3β 的活性[30];同样 Chiroma 等人的研究表明,积雪草可以通过海马内 PP2A/GSK-3β 途径来保护 AD 样病变的大鼠[31],所以加强对 PP2A 作为 AD 的药物靶点的研究对临床治疗有着重要的意义。

3　总结与展望

综上所述,在 AD 发展过程中经典 Wnt 信号通路总体是下调的,其传导过程中的相关蛋白受 Aβ 累积、Tau 蛋白磷酸化和神经炎性的影响能导致 CNS 内突触的丢失和血脑屏障的功能性障碍,加重 AD 的病程发展(图 2)。其中各种因素互相影响,并且形成恶性循环,由此可见 AD 发病机制的错综复杂,而经典的 Wnt 信号通路在细胞增殖分化和中枢神经系统发育中起发挥着重要的作用,对 AD 发病机制的影响不可小觑。虽然目前在 AD 的研究领域上日益加强,但临床上对于 AD 的治疗并没有特效药物,因此对经典 Wnt 信号通路的深入研究是必须的,以期为能找出更多的与 AD 相关的治疗靶点,给 AD 患者带来福音。

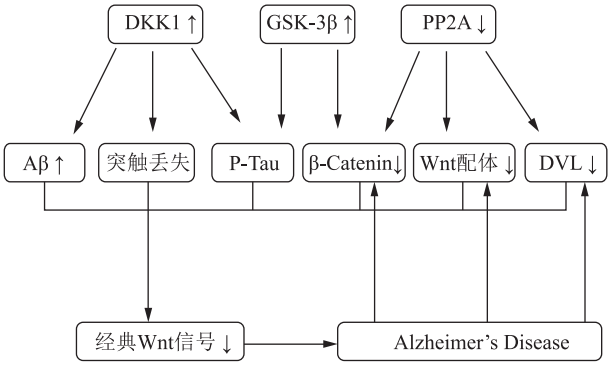

图 2　经典 WNT 信号通路调控 AD 发病机制

参　考　文　献

[1] Gauthier S, Rosa-Neto P, Morais JA, et al. World Alzheimer Report 2021: Journey through the diagnosis of dementia[R]. London, England: Alzheimer's Disease International, 2021:19

[2] Folke J, Pakkenberg B, Brudek T. Impaired Wnt signaling in the prefrontal cortex of alzheimer's disease[J]. Mol Neurobiol, 2019, 56(2): 873-891.

[3] Aghaizu ND, Jin H, Whiting PJ. Dysregulated Wnt signalling in the alzheimer's brain[J]. Brain Sci, 2020, 10(12): 902.

[4] Palomer E, Buechler J, Salinas PC. Wnt signaling deregulation in the aging and alzheimer's brain[J]. Front Cell Neurosci, 2019, 13: 227.

[5] Hübner K, Cabochette P, Diéguez-Hurtado R, et al. Wnt/β-catenin signaling regulates VE-cadherin-mediated anastomosis of brain capillaries by counteracting S1pr1 signaling[J]. Nat Commun, 2018, 9(1): 4860.

[6] Yang Y, Zhang Z. Microglia and Wnt pathways: prospects for inflammation in alzheimer's disease[J]. Front Aging Neurosci, 2020, 12: 110.

[7] Park HB, Kim JW, Baek KH. Regulation of Wnt signaling through ubiquitination and deubiquitination in cancers[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(11): 3904.

[8] Gao J, Liao Y, Qiu M, et al. Wnt/β-Catenin signaling in neural stem cell homeostasis and neurological diseases[J]. Neuroscientist, 2021, 27(1): 58-72.

[9] Huang P, Yan R, Zhang X, et al. Activating Wnt/β-catenin signaling pathway for disease therapy: Challenges and opportunities[J]. Pharmacol Ther, 2019, 196: 79-90.

[10] Liu X, Wang K, Wei X, et al. Interaction of NF-κB and Wnt/β-catenin Signaling Pathways in Alzheimer's Disease and Potential Active Drug Treatments[J]. Neurochem Res, 2021, 46(4): 711-731.

[11] Vignaux PA, Minerali E, Foil DH, et al. Machine learning for discovery of GSK3β inhibitors[J]. ACS Omega, 2020, 5(41): 26551-26561.

[12] Zhao Y, Wang Z, Mao Y, et al. NEAT1 regulates microtubule stabilization via FZD3/GSK3β/P-tau pathway in SH-SY5Y cells and APP/PS1 mice[J]. Aging, 2020, 12(22): 23233-23250.

[13] Llorach-Pares L, Rodriguez-Urgelles E, Nonell-Canals A, et al. Meridianins and lignarenone B as potential GSK3β inhibitors and inductors of structural neuronal plasticity[J]. Biomolecules, 2020, 10(4): 639.

[14] Liu F, Tian N, Zhang HQ, et al. GSK-3β activation accelerates early-stage consumption of Hippocampal Neurogenesis in senescent mice[J]. Theranostics, 2020, 10(21): 9674-9685.

[15] Tay L, Leung B, Yeo A, et al. Elevations in serum dickkopf-1 and disease progression in Community-Dwelling older adults with mild cognitive impairment and Mild-to-Moderate alzheimer's disease[J]. Front Aging Neurosci, 2019, 11: 278.

[16] Shi L, Winchester LM, Liu BY, et al. Dickkopf-1 over expression in vitro nominates candidate blood biomarkers relating to Alzheimer's disease pathology[J]. Journal of Alzheimer's disease, 2020, 77(3) :1353-1368.

[17] Tian Z, Zhang X, Zhao Z, et al. The Wnt/β-catenin signaling pathway affects the distribution of cytoskeletal proteins in Aβ treated PC12 cells[J]. J Integr Neurosci, 2019, 18(3): 309-312.

[18] Ross SP, Baker KE, Fisher A, et al. miRNA-431 prevents Amyloid-β-Induced synapse loss in neuronal cell culture model of alzheimer's disease by silencing kremen1[J]. Front Cell Neurosci, 2018, 12: 87.

[19] Rma B, Pba C, Fca C, et al. Dickkopf-related protein-1 inhibition attenuates amyloid-beta pathology associated to Alzheimer's disease[J]. Neurochemistry International, 2020, 141:104881.

[20] Zhang N, Parr C, Birch AM, et al. The amyloid precursor protein binds to β-catenin and modulates its cellular distribution[J]. Neurosci Lett, 2018, 685: 190-195.

[21] Wang Y, Wang Q, Li J, et al. Glutamine improves oxidative

stress through the Wnt3a/β-Catenin signaling pathway in alzheimer's disease in vitro and in vivo[J]. Biomed Res Int, 2019 (3): 4690280.

[22] Song D, Zhang X, Chen J, et al. Wnt canonical pathway activator TWS119 drives microglial anti-inflammatory activation and facilitates neurological recovery following experimental stroke[J]. J Neuroinflammation, 2019, 16(1): 256.

[23] Meilandt WJ, Ngu H, Gogineni A, et al. Trem2 deletion reduces Late-Stage amyloid plaque accumulation, elevates the Aβ42:Aβ40 ratio, and exacerbates axonal dystrophy and dendritic spine loss in the PS2APP alzheimer's mouse model[J]. J Neurosci, 2020, 40(9): 1956-1974.

[24] Van SJ, Schang AL, Krishnan ML, et al. Decreased microglial Wnt/β-catenin signalling drives microglial pro-inflammatory activation in the developing brain[J]. Brain, 2019, 142(12): 3806-3833.

[25] Pons V, Pascal Lévesque, Marie-Michèle Plante, et al. Conditional genetic deletion of CSF1 receptor in microglia ameliorates the physiopathology of Alzheimer's disease [J]. Alzheimer's Research & Therapy, 2021, 13(1):8.

[26] Liebner S, Dijkhuizen RM, Reiss Y, et al. Functional morphology of the blood-brain barrier in health and disease[J]. Acta Neuropathol, 2018, 135(3): 311-336.

[27] Manandhar S, Kabekkodu SP, Pai K. Aberrant canonical Wnt signaling: Phytochemical based modulation[J]. Phytomedicine, 2020, 76(prepublish): 153243.

[28] Persad A, Venkateswaran G, Hao L, et al. Active β-catenin is regulated by the PTEN/PI3 kinase pathway: a role for protein phosphatase PP2A[J]. Genes Cancer, 2016, 7(11/12): 368-382.

[29] Protein phosphatase 2A as a drug target in the treatment of cancer and Alzheimer's disease[J]. Current Medical Science, 2020,40(1): 1-8.

[30] Min H, Liang Y, Chen H, et al. The role of fluoxetine in activating Wnt/β-catenin signaling and repressing β-Amyloid production in an Alzheimer mouse model[J]. Frontiers in Aging Neuroscience, 2018, 10:164.

[31] Chiroma SM, Baharuldin M, Mat TC, et al. Centella asiatica Protects d-Galactose/AlCl(3) Mediated Alzheimer's Disease-Like Rats via PP2A/GSK-3β Signaling Pathway in Their Hippocampus[J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(8): 1871.

(2021-11-30 收稿)

(上接第 295 页)

[68] Chen Y, Zhou K, Wang R, et al. Antidiabetic drug metformin (GlucophageR) increases biogenesis of Alzheimer's amyloid peptides via up-regulating BACE1 transcription[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2009, 106(10): 3907-3912.

[69] Zhou R, Tardivel A, Thorens B, et al. Thioredoxin-interacting protein links oxidative stress to inflammasome activation [J]. Nat Immunol, 2010, 11(2): 136-140.

[70] Gillies PS, Dunn CJ. Pioglitazone[J]. Reactions Weekly, 2002, 894(1): 10-10.

[71] Gumieniczek AH, Zabek A. Protective effects of a PPARgamma agonist pioglitazone on anti-oxidative system in testis of diabetic rabbits[J]. Pharmazie, 2008, 63(5): 377-378.

[72] Diaz-Delfin JM, Caelles C. Hypoglycemic action of thiazolidinediones/peroxisome proliferator-activated receptor gamma by inhibition of the c-Jun NH2-terminal kinase pathway[J]. Diabetes, 2007, 56(7): 1865-1871.

[73] Lourenco MV, Ledo JH. Targeting alzheimer's pathology through PPARγ signaling: modulation of microglial function [J]. J Neurosci, 2013, 33(12): 5083-5084.

[74] 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.

[75] Xu J, Zhao C, Huang X, et al. Regulation of artemisinin and its derivatives on the assembly behavior and cytotoxicity of amyloid polypeptides hIAPP and Aβ[J]. ACS Chem Neurosci, 2019, 10(11): 4522-4534.

[76] Zhu H, Wang X, Wallack M, et al. Intraperitoneal injection of the pancreatic peptide amylin potently reduces behavioral impairment and brain amyloid pathology in murine models of Alzheimer's disease[J]. Mol Psychiatry, 2015, 20(2): 252-262.

[77] Fu W, Patel A, Kimura R, et al. Amylin receptor: a potential therapeutic target for alzheimer's disease[J]. Trends Mol Med, 2017, 23(8): 709-720.

[78] Patrick S, Corrigan R, Grizzanti J, et al. Neuroprotective effects of the amylin analog, pramlintide, on alzheimer's disease are associated with oxidative stress regulation mechanisms [J]. J Alzheimers Dis, 2019, 69(1): 157-168.

[79] Corradi A, Zanardi A, Giacomini C, et al. Synapsin-I-and synapsin-II-null mice display an increased age-dependent cognitive impairment[J]. J Cell Sci, 2008, 121(Pt 18): 3042-3051.

[80] Jessberger S, Aigner S, Clemenson GJ, et al. Cdk5 regulates accurate maturation of newborn granule cells in the adult hippocampus[J]. PLoS Biol, 2008, 6(11): e272.

[81] Fu W, Patel A, Jhamandas JH, et al. Amylin receptor: a common pathophysiological target in Alzheimer's disease and diabetes mellitus[J]. Front Aging Neurosci, 2013, 5: 42.

[82] Kimura R, Mactavish D, Yang J, et al. Beta amyloid-induced depression of hippocampal long-term potentiation is mediated through the amylin receptor[J]. J Neurosci, 2012, 32(48): 17401-17406.

[83] Fu W, Vukojevic V, Patel A, et al. Role of microglial amylin receptors in mediating beta amyloid (Aβ)-induced inflammation[J]. J Neuroinflammation, 2017, 14(1): 199.

[84] Soudy R, Patel A, Fu W, et al. Cyclic AC253,a novel amylin receptor antagonist, improves cognitive deficits in a mouse model of Alzheimer's disease[J]. Alzheimers Dement (N Y), 2017, 3(1): 44-56.

(2021-09-20 收稿)