

# 知識天地

## 阿茲海默症研究近況—淺談 $\gamma$ -secretase 與阿茲海默症的致病機制

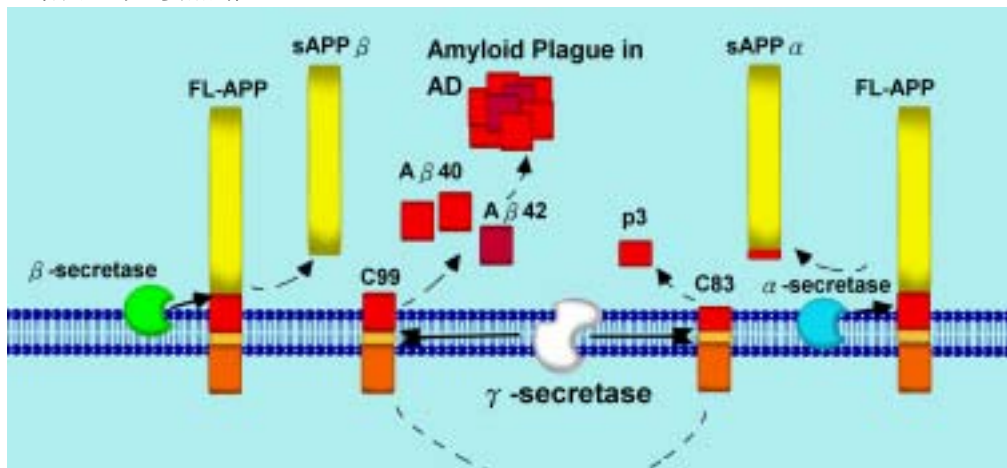
董盈岑、廖永豐（細胞與個體生物學研究所博士班研究生、助研究員）

台灣自 82 年起已進入高齡化社會，依內政部社會司的統計，截至今年 6 月份，全台灣有 225 萬的老年人口，佔人口總數的 9.86%。<sup>1</sup> 隨著老年族群的擴大，老年相關疾病成爲主要的社會大眾健康問題之一。一項台灣失智症協會與台大醫院神經部合作的報告指出，台灣失智症的盛行率於 93 年在 65 歲以上的老人約爲 5.5%，超過 11 萬人口，且失智人口增加速度將逐年加快。<sup>2</sup> 而造成失智症的眾多因素中，又以罹患阿茲海默症患者佔最高比例。

阿茲海默症（Alzheimer's disease, 又稱老年癡呆症）爲一神經退化疾病，患者發病後腦部神經細胞會逐漸退化死亡，尤其是腦中掌管記憶與情緒區域受損最爲明顯，因此不同於一般老化現象，患者在發病後十幾年內，記憶力嚴重退化，心智功能下降，甚至在生活各方面都需要他人的協助。

阿茲海默症是在 1907 年由德國神經科學家阿茲海默（Alois Alzheimer）首次以顯微鏡取得影像，他觀察到病人大腦組織出現一些不正常的「老化斑塊」（senile plaques），同時神經細胞內也出現異常糾結的「神經纖維束」（neurofibrillary tangles）；這些組織異常，到現在仍是診斷阿茲海默症的主要病理特徵。而經多年的研究，目前已知斑塊主要是由類澱粉蛋白  $\beta$ （Amyloid  $\beta$ ，簡稱 A  $\beta$ ）堆積在神經細胞外形成，糾結則是由細胞內稱爲 tau 的微纖維蛋白（microtubule）所構成。雖然其間的因果關係尚未釐清，但現在的研究成果大部分支持 A  $\beta$  的累積，爲導致阿茲海默症的關鍵。<sup>3</sup>

A  $\beta$  並非基因的直接產物，而是經由先產生的一前驅蛋白 amyloid precursor protein（APP）被分解後所釋放的產物。APP 爲一種單次穿膜蛋白質，它有兩種分解途徑：一種是經兩種蛋白酶  $\alpha$ -secretase 與  $\gamma$ -secretase 依序作用分解掉，此時並不會產生 A  $\beta$ ；然而，當 APP 經另一種途徑，被蛋白酶  $\beta$ -secretase 與  $\gamma$ -secretase 依序分解時，便會生成 A  $\beta$  釋放到細胞外。在阿茲海默症患者的腦神經中，可能就是 APP 的分解多經由  $\beta$ -secretase 與  $\gamma$ -secretase 分解路徑，因此產生出較多的 A  $\beta$  到細胞外。同時，由於  $\gamma$ -secretase 在 APP 的切點不同，切出的 A  $\beta$  片段長短不一，其中 A  $\beta$  42 的毒性較強，並且容易纖維化形成聚合體，而堆積爲斑塊的核心，使得其他種類的 A  $\beta$ （大部分爲 A  $\beta$  40）更容易堆積到斑塊上。目前也發現在阿茲海默症患者腦中，A  $\beta$  42 佔所有 A  $\beta$  的比例較正常人高，因而更容易形成斑塊。這些斑塊會改變神經細胞活性，並引發糾結的形成，最後導致神經細胞壞死，使記憶與情緒控制受損。由此可知，A  $\beta$  的生成是阿茲海默症致病的關鍵一環，而在最後一步負責分解出 A  $\beta$  的  $\gamma$ -secretase，也是現今研究阿茲海默症的重要焦點。



最近的研究顯示， $\gamma$ -secretase 是由多種蛋白質所組成的大複合分子。Presenilin（PS）是首先被發現參與形成  $\gamma$ -secretase 的分子，它是種多穿膜蛋白質，並具有酵素活性，利用其位於穿膜區 6、7 的兩個天冬氨酸殘基（Asp257 與 Asp385）來分解 APP，因此  $\gamma$ -secretase 也被歸爲天冬氨酸蛋白酶（aspartyl protease）的一員。剛生成的 PS 是很不穩定的，需要與其他蛋白質形成複合體，才不會馬上被分解掉，並且要被切割形成分別包含 N 端及 C 端兩片段（NTF、CTF）後，才成爲一個真正有活性的成熟酵素。

Nicastrin 是  $\gamma$ -secretase 中第二個被純化出來的蛋白質，它是個大分子膜蛋白，會與 PS 相接，當 Nicastrin 的表現被抑制時，穩定態的 PS 量減少，顯示 Nicastrin 可以幫助維持 PS 的穩定性。但是如果只在細胞中大量表現 PS 與 Nicastrin 兩種蛋白質，並不足以增加  $\gamma$ -secretase 活性，暗示著還有別的分分子參與組成  $\gamma$ -secretase。而後，遺傳學家又陸續在線蟲（*C.elegans*）與果蠅（*Drosophila*）中，發現 Aph-1 與 Pen-2 兩種蛋白質也爲組成  $\gamma$ -secretase 的

成員。已有實驗結果指出，Aph-1 跟 Nicastrin 可一起幫助穩定 PS 分子，而 Pen-2 則負責引發 PS 形成具酵素活性的成熟型態。當把 PS、Nicastrin、Pen-2 及 Aph-1 共同表現時，成熟態的 PS 與 Nicastrin 量增加，並且  $\gamma$ -secretase 活性明顯上升，表示此四種蛋白為構成具活性  $\gamma$ -secretase 複合體的基本單位。<sup>4</sup>

近年來遺傳實驗已發現，家族性阿茲海默症患者的 APP 和 PS 基因帶有點突變，讓 A $\beta$  更容易被產生，而 PS 突變型不但加強 APP 被分解成 A $\beta$ ，更使得 A $\beta$ 42 所佔比例上升，增加形成斑塊的機率；也顯示  $\gamma$ -secretase 在阿茲海默症致病機制的重要性。因此，了解  $\gamma$ -secretase 的活性是如何受到調控，以及研發藥物去抑制  $\gamma$ -secretase 活性，是當今研究阿茲海默症的重要課題。

目前對於  $\gamma$ -secretase 活性的調控尚未透徹了解，但蓬勃進行中的研究已提供一些初步方向。先前提及  $\gamma$ -secretase 為一個多蛋白大複合分子，雖然已知 PS、Nicastrin、Pen-2、Aph-1 可以組成有活性  $\gamma$ -secretase，但事實上由生物體中分離出的  $\gamma$ -secretase，其分子量 (~250-1000 kDa) 遠大於上述四種蛋白質的總和 (~200 kDa)，顯示很有可能還有其他分子參與其中，雖不是  $\gamma$ -secretase 活性必備，但可能具有調控其酵素活性之角色；最近有一加拿大的研究團隊找到一個膜蛋白 TMP21，也會出現在  $\gamma$ -secretase 複合體中，當 TMP21 表現量受到抑制時，A $\beta$  產量會相對增加，顯示其存在可能影響  $\gamma$ -secretase 切割 APP 的作用。<sup>5</sup> 此外，PS 與 Aph-1 在哺乳動物中各有兩種異構型 (isoforms)，由基因剔除動物實驗中發現他們的功能有些許不同，因此很可能不同異構型所構成的  $\gamma$ -secretase，其活性也會有所差異。另外有研究觀察到  $\gamma$ -secretases 是由上述四個基本分子以 2:2:2:2、甚至更高層級的形式存在於細胞膜上以分解 APP，更增加了不同異構型的可能組合方式，來調控  $\gamma$ -secretase 活性。

除了分子組成的不同， $\gamma$ -secretase 活性也可能會受轉譯後修飾 (post-translational modification) 所影響，特別是以磷酸化的方式改變其活性。目前已在 PS 分子上找到幾個可能被磷酸化的位置，利用離體或活體內的磷酸化反應，細胞中的肝糖合成酶激酶-3 $\beta$  (glycogen synthase kinase-3 $\beta$ , GSK-3 $\beta$ )、neuronal cyclin-dependent kinase p35/cdk5、protein kinase A 及 protein kinase C 已被證實可以磷酸化 PS 分子，並影響 PS 的分解、或 PS 與其他受質的聯結。不過它們對於  $\gamma$ -secretase 與 A $\beta$  產生方面的關聯，還有待其他實驗作進一步釐清。

我們實驗室也正致力於研究  $\gamma$ -secretase 的分子調控機制，以期對阿茲海默症的發生有更清楚了解。之前我們建立了同時穩定表現標定有 Gal4-VP161 的 C99-APP 和 Gal4 promoter-driven luciferase reporter gene 的細胞株。此細胞株可用於定量分析細胞內  $\gamma$ -secretase 的活性。利用這些細胞株，我們的研究發現有三種免疫生長因子—TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  及 IFN- $\gamma$ ，可經由活化 JNK 的訊息傳導路徑來促進  $\gamma$ -secretase 的活性，並增加 A $\beta$  產量。另外我們也觀察到生長因子 EGF 可藉活化 ERK，來抑制  $\gamma$ -secretase 的活性，而減低 A $\beta$  產量。<sup>6</sup> JNK 與 ERK 同屬細胞內的促分裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 家族，此激酶家族除了包括調控細胞生長的 ERK、及刺激細胞凋亡的 JNK，還包含 p38 激酶。由於它們是以磷酸化方式來傳遞訊息，同時也被發現在阿茲海默症患者腦中有激酶活性失調現象。綜合以上的研究結果，我們認為細胞內的  $\gamma$ -secretase 活性很可能即受到 JNK 與 ERK 的訊息傳導路徑間的交互拮抗作用，而維持在一恆定的狀態，當細胞受到特定刺激時 (例外不同的免疫生長因子的刺激)，即很有可能改變 JNK 與 ERK 交互拮抗作用的恆定，進而影響  $\gamma$ -secretase 活性。因此，在阿茲海默症患者中是否還有其他訊息傳導途徑的失調，會導致  $\gamma$ -secretase 活性的失恆而釋放出更多 A $\beta$ ，造成神經退化壞死，將是我們未來重要的研究課題。

另一方面，我們也與國防醫學院的實驗室合作，由他們以化學方式合成新藥物，然後利用我們所建立的細胞株分析法，有系統地篩選這些化合物對  $\gamma$ -secretase 活性的抑制效果，目前已有藥物確定可有效阻斷  $\gamma$ -secretase 活性，同時降低 A $\beta$  產量，並證實它是透過阻斷  $\gamma$ -secretase 的酵素反應機制，來達到抑制的效果。我們將再進一步以其他生物實驗作檢驗，確認這些藥物未來在臨床應用上的潛力。

阿茲海默症是高齡化社會無可避免的課題，這種慢性疾病不論對患者本身、其家屬與社會資源都是沉重的負擔，我們希望透過這些基礎研究，對  $\gamma$ -secretase 分解出 A $\beta$  的分子調控機制，與阿茲海默症的致病關聯，有更清楚的了解，並為預防及治療此症提供新的研究方向。

參考文獻：

1. 內政部社會司老人福利-各項統計資料, <http://sowf.moi.gov.tw/04/07/07.htm>
2. 台灣失智症協會-失智症盛行率調查報告, <http://www.tada2002.org.tw/~tada/>
3. D. J. Selkoe, *Annals of Internal Medicine* **140**, 627 (Apr 20, 2004).
4. B. De Strooper, *Neuron* **38**, 9 (Apr 10, 2003).
5. F. Chen *et al.*, *Nature* **440**, 1208 (Apr 27, 2006).
6. Y. F. Liao, B. J. Wang, H. T. Cheng, L. H. Kuo, M. S. Wolfe, *J Biol Chem* **279**, 49523 (Nov 19, 2004).