



阿尔茨海默病关键蛋白 β -淀粉样蛋白的聚集机理

李言言¹, 毛玺雯¹, 刘珂好², 牛铮^{1*}

1. 河南大学药学院, 开封 475004;

2. 河南大学迈阿密学院, 开封 475004

* 联系人, E-mail: nz@henu.edu.cn

2023-11-14 收稿, 2024-01-03 修回, 2024-01-05 接受, 2024-01-08 网络版发表

国家自然科学基金青年科学基金(32100964)资助

摘要 阿尔茨海默病是一种典型的神经退行性疾病. 由 β -淀粉样蛋白的错误折叠和异常聚集导致的淀粉样斑块沉积, 是该疾病的主要病理特征之一. 淀粉样蛋白倾向于从天然的无规则单体状态聚集形成高度有序的淀粉样纤维, 此类病理性纤维的形成及其在细胞间的扩散与多种神经退行性疾病的发生发展密切相关. 本文综述了 β -淀粉样蛋白聚集过程中的成核机制, 主要包括初级成核过程、次级成核过程和延伸过程; 讨论了在 β -淀粉样蛋白聚集早期出现的液-液相分离现象, 进而分析了液-液相分离和液-固相转化过程在聚集过程中的作用; 最后总结了聚集过程中形成的淀粉样纤维的分子结构, 以期通过对聚集机理和分子结构的深入研究, 串联起蛋白质聚集和聚集体神经毒性之间的联系, 理解阿尔茨海默病的发展进程, 进而通过调控蛋白质的聚集和相变过程, 达到治疗或者缓解阿尔茨海默病的目的.

关键词 阿尔茨海默病, β -淀粉样蛋白, 蛋白质聚集, 液-液相分离, 固体核磁共振

阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)是一种神经退行性疾病, 也是一种典型的老年痴呆症. 临床上以智能损害为主, 包括记忆缺失, 语言能力、空间辨别能力和认知能力的衰退. 淀粉样斑块和神经纤维缠结是阿尔茨海默病最典型的病理特征. 此外, 在阿尔茨海默病患者大脑内部还伴随着神经元的功能障碍和突触的损伤. 截至2019年, 阿尔茨海默病影响了世界上超过5000万的人口, 预计到2050年, 全球将有1亿5200万人罹患该病^[1,2]. 关于阿尔茨海默病的病因, 虽然有多种假说(主要包括遗传基因假说、胆碱能假说、淀粉样蛋白级联假说和Tau蛋白异常磷酸化假说), 但目前尚无定论.

在家族型阿尔茨海默病(familial Alzheimer's disease, FAD)中, 遗传基因假说发挥了重要的作用. 临床上, <5%的家族遗传病例携带了突变基因, 其中与早发

性家族型阿尔茨海默病直接相关的3种基因包括 *PSEN1*、*PSEN2*和*APOE4*^[3-5]. 胆碱能假说则认为, 大脑内部的神经递质存在缺陷, 导致胆碱能神经元受到损伤, 胆碱水平下降, 进而影响认知功能, 促使记忆丧失和认知障碍, 是阿尔茨海默病致病的主要原因^[6]. 淀粉样蛋白级联假说认为, β -淀粉样蛋白(β -amyloid peptide, A β)的沉积形成具有毒性的聚集体, 从而引发Tau蛋白过度磷酸化, 进而使神经元功能丧失是引起阿尔茨海默病的主要因素^[7,8]. Tau蛋白异常磷酸化假说认为, Tau蛋白在大脑中的异常沉积, 导致形成具有神经毒性的淀粉样纤维缠结, 进而引发神经元细胞损伤, 是该病的致病原因^[9].

阿尔茨海默病的发病机制复杂多样. 近年来研究表明, TDP-43蛋白的功能异常与多种神经退行性疾病密切相关. 其中, 在阿尔茨海默病患者的大脑内部, 伴

引用格式: 李言言, 毛玺雯, 刘珂好, 等. 阿尔茨海默病关键蛋白 β -淀粉样蛋白的聚集机理. 科学通报, 2024, 69: 903-911

Li Y Y, Mao X W, Liu K Y, et al. Molecular mechanism of Alzheimer's β -amyloid peptide aggregation (in Chinese). Chin Sci Bull, 2024, 69: 903-911, doi: 10.1360/TB-2023-1167

随着淀粉样斑块和神经纤维缠结的沉积,还发现了TDP-43蛋白的异常聚集,且含有TDP-43病理异常的阿尔茨海默病患者其海马区的萎缩程度和认知功能下降更为严重,表明TDP-43蛋白在阿尔茨海默病患者的认知功能减退中发挥了重要作用,该蛋白的聚集和病理异常可能是促进该病恶化的一个重要原因^[10,11]。此外,一项最新的研究表明,在阿尔茨海默病患者的脑发生变、出现早期临床症状的20年之前甚至更早, A β 就已经开始在患者的大脑中聚集^[12]。因此,如何通过药物调控A β 产生和清除之间的平衡,一直是药物研发的主要思路。此外,淀粉样蛋白级联假说不仅解释了两种临床病理特征之间的联系,还说明了该疾病的发生和发展过程。基于该假说,2021年美国食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)加速批准了世界上首个用于治疗阿尔茨海默病的药物——阿杜那单抗(Aducanumab, AduhelmTM)。该药物可以通过血脑屏障进入患者大脑,结合A β 可溶性低聚物和不溶性淀粉样纤维,同时以剂量和时间依赖的方式除去淀粉样斑块,以达到减缓或阻止阿尔茨海默病的疗效^[13]。

淀粉样蛋白倾向于从天然的非规则单体状态聚集形成高度有序的淀粉样纤维,此错误折叠和异常聚集过程与多种神经退行性疾病的发病机制密切相关^[14]。因此,A β 的聚集机理和聚集过程中所形成的各类聚集体的分子结构一直是相关领域科学家们研究的重点和热点问题。本文综述了A β 蛋白聚集的动力学过程,主要包括初级成核过程、次级成核过程、纤维延伸过程,聚焦于聚集早期出现的凝聚相和稀释相之间动态平衡的过程,总结了异常聚集过程中形成的各类聚集体的分子结构研究进展,以期通过对聚集机理和分子结构的深入研究,了解阿尔茨海默病的发展进程,进而通过调控蛋白质的聚集和相变过程,达到治疗或者缓解阿尔茨海默病的目的。

1 淀粉样蛋白聚集的分子机理

1.1 A β 的产生和聚集

淀粉样斑块,作为阿尔茨海默病的典型病理特征之一,其主要成分是A β 。A β 是由淀粉样前体蛋白(amyloid precursor protein, APP),经过 β -和 γ -分泌酶两步切割形成的多肽。由于 γ -分泌酶的切割位点不同,导致A β 多肽片段含有不同的C端^[15]。其中,最常见的两种亚型是A β 40和A β 42。相较于A β 40,A β 42的C端多两个疏水

性氨基酸——异亮氨酸和丙氨酸。由于两者的纤维化进程不同,因此由其聚集所形成的各类聚集体往往具有不同的分子结构,且表现出不同的神经毒性。在A β 纤维化的过程中产生的低聚态中间体,相较于成熟的淀粉样纤维,表现出较高的神经毒性。A β 寡聚体不仅会损害学习能力和记忆功能,还会引起神经病理学上的损伤和恶化。近年来的研究结果显示,寡聚体通过以下3条途径对细胞造成损伤:(1)寡聚体与细胞膜和膜受体产生相互作用,引起细胞膜的穿孔和细胞信号通路的改变;(2)寡聚体进入细胞后在细胞内积累,影响细胞器的功能和细胞内环境的稳态;(3)寡聚体在细胞间传播,导致淀粉样斑块的形成,进而引发阿尔茨海默病的病理进程^[16~18]。

总体来说,A β 的聚集包括多步聚合动力学过程,满足S型曲线,大致可以分为滞后期、延伸期、平台期3个阶段(图1)。从聚集的分子机制上说,A β 的聚集主要包括成核过程和延伸过程。淀粉样纤维可以通过初级成核途径进行自组装产生,也可以通过蛋白单体在纤维末端延伸形成^[19,20]。具体来说,可溶性的A β 单体经过一段初始的滞后期,组装成为低聚核,经过A β 寡聚体(β -amyloid oligomers, A β O)这一中间过程,快速聚集延伸,逐步形成具有cross- β 单元且高度有序的淀粉样纤维(β -amyloid fibrils)。

淀粉样纤维在大脑特定部位的沉积会加速其纤维化进程,表明除了初级成核过程之外,次级成核过程在淀粉样蛋白的聚集中发挥重要作用,且经由次级成核形成的新型聚集体具有更高的神经毒性,与阿尔茨海默病的病程进展息息相关^[21,22]。当A β 单体处于较低浓度时,蛋白质聚集过程主要遵循初级成核途径,形成淀粉样纤维。当淀粉样纤维积累到临界浓度时,诱发次级成核过程,通过催化原纤维表面,吸附体系中的A β 单体,进一步生成具有毒性的新型聚集体。然而,次级成核只是表面成核的一种特殊情况。只有在体系中没有淀粉样纤维或者含有极少量淀粉样纤维的情况下,通过改变A β 单体的浓度,次级成核过程才可以被监测。当体系中含有较多的淀粉样纤维或者高浓度的淀粉样纤维种子时,聚集过程则以原纤维的延伸为主,此种情况下,很难监测到次级成核的速率,进而无法估量次级成核在聚集动力学中的贡献(聚集路径中的成核过程和延伸过程,参见图1)。

基于A β 的异常聚集过程,其靶向治疗可以从以下3个方向进行:(1)抑制A β 的产生。通过调节淀粉样前体

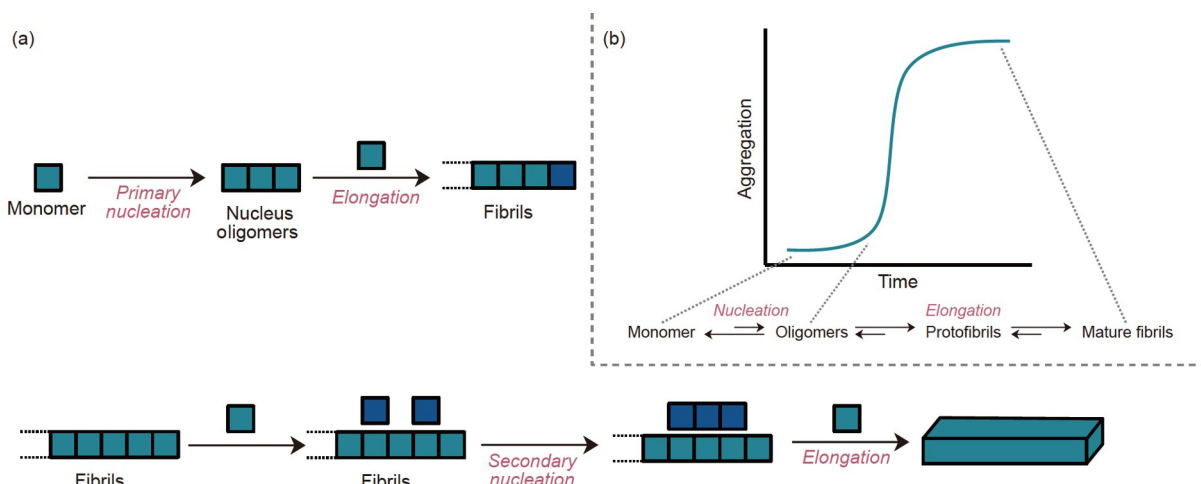


图1 Aβ聚集路径示意图(a)和Aβ聚集的动力学曲线(b). 聚集路径主要包括初级成核过程、延伸过程、次级成核过程

Figure 1 Schema of the aggregation process of Aβ (a) and the aggregation kinetics of Aβ in a sigmoid growth curve (b). The aggregation pathway consists of primary nucleation, elongation, and secondary nucleation steps

蛋白的酶切加工过程, 比如β-分泌酶抑制剂可以有效切断Aβ的产生过程. (2) 促进Aβ的清除. 设计靶向Aβ聚集体的抗体药物, 快速有效地清除淀粉样沉积, 可以减缓患者的认知功能衰退. (3) 调控Aβ的异常聚集过程, 阻断具有神经毒性的淀粉样聚集体的生成. 设计出调控Aβ聚集过程的小分子, 抑制Aβ的异常聚集过程, 使其生成不具有神经毒性的淀粉样沉积物, 从而达到靶向治疗的目的. 尽管淀粉样蛋白级联假说为阿尔茨海默病的病理病因研究提供了重要的理论基础, 但是仅仅基于淀粉样蛋白质聚集的理论仍然不能完全解释该疾病的复杂性. 此外, 临床试验中, 以Aβ蛋白及各类聚集集体为靶标的药物在消除淀粉样蛋白聚集集体之后, 并不能缓解或者恢复记忆和认知功能, 因此针对Aβ的异常聚集过程进行靶向治疗研究, 需要深入了解Aβ的产生、清除和聚集过程, 并开发相应的抑制剂或促进剂.

随着研究的深入, 研究人员发现此类错误折叠的蛋白质或称其为内在无序蛋白质, 比如朊蛋白、阿尔茨海默病关键蛋白Aβ和Tau蛋白、帕金森病关键蛋白α-突触核蛋白、2型糖尿病关键蛋白胰淀粉样多肽等, 尽管其一级结构不尽相同, 但是由其异常聚集形成的淀粉样纤维却具有相同的结构特征, 并且此类病理性纤维的形成及其在细胞间的扩散与多种神经退行性疾病的发生发展密切相关^[14,23-25]. 此外, 淀粉样蛋白质之间存在交叉相互作用, 这种相互作用可引发无序蛋白质之间的共聚集现象, 促进致病性淀粉样蛋白质聚集. 因此, 如何将此类致病性淀粉样蛋白质的聚集过程联

系起来, 破解蛋白质聚集背后的分子机理, 仍是当前学界面临的主要难题. 研究蛋白质的错误折叠和异常聚集, 解析聚集过程中各个产物的三维结构, 一方面有助于从原子层面获取病理蛋白的聚集机理, 从聚集的源头入手, 阻断蛋白质聚集, 另一方面有望促进基于其分子结构的新药研发, 降低致病的概率.

1.2 Aβ的液-液相分离

近年来, 生物大分子的液-液相分离(liquid-liquid phase separation, LLPS)研究是国际生命科学领域的一个新兴热点. 蛋白质的液-液相分离过程, 就是在一定的条件下, 蛋白质自发地转变为高度有序的状态, 达到凝聚相和稀释相之间动态平衡的过程^[26]. 在达到此动态平衡的过程中, 由于成核作用的参与, 蛋白质通过相分离过程形成液滴, 进一步通过液-固相转化(liquid-to-solid phase transition, LSPT)过程, 形成富含寡聚体和纤维且具有毒性的水凝胶^[27,28]. 研究表明, 淀粉样蛋白质异常的相分离和相变过程(图2), 与多种神经退行性疾病的发生密切相关^[26,29,30].

液-液相分离是由多价弱相互作用驱动的, 主要包括静电相互作用、π-π和阳离子-π相互作用、疏水相互作用等. 低复杂性结构域(low complexity domain, LCD)既具有很强的纤维化倾向, 又是蛋白质发生液-液相分离的关键结构域. 然而, Aβ的一级结构中并没有特定的低复杂性结构域, 其相分离的关键因素在于其内在无序的特性和表面电荷的不均匀分布. 研究表明,

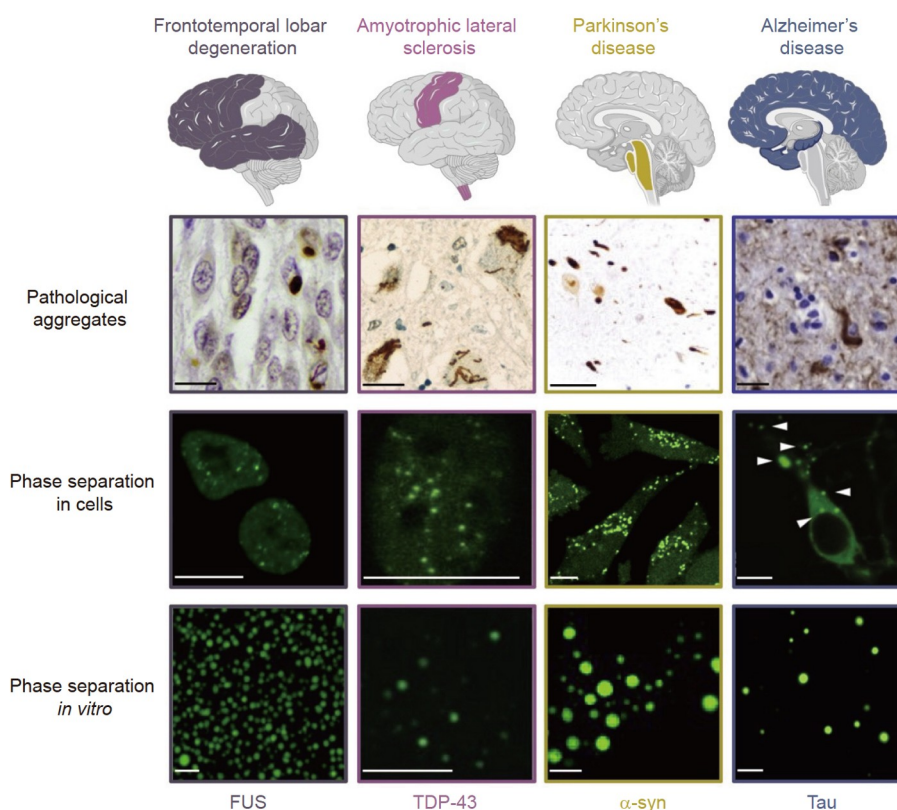


图 2 四种典型神经退行性疾病关键蛋白的液-液相分离行为^[29]。从左至右分别是额颞叶脑退行性病变关键蛋白FUS、肌萎缩侧索硬化症关键蛋白TDP-43、帕金森病关键蛋白 α -突触核蛋白及阿尔茨海默病关键蛋白Tau蛋白。Copyright © 2020, Elsevier

Figure 2 LLPS behavior of proteins associated with neurodegenerative diseases^[29]. From left to right side indicate the FTLTD-associated FUS protein, ALS-associated TDP-43 protein, PD-associated α -synuclein, and AD-associated Tau protein, respectively. Copyright © 2020, Elsevier

A β 42寡聚体(A β ₄₂Os)在阴离子去垢剂十二烷基硫酸钠(sodium dodecyl sulfate, SDS)的胶束中,通过疏水相互作用发生液-液相分离,进而形成具有类液体性质的液滴。随着时间的推移,伴随着液滴固化,其纤维化进程加快,最终生成成熟的淀粉样纤维^[31]。此外,最新研究表明,A β 寡聚体(A β O)可以通过与细胞朊蛋白(cellular prion protein, PrP^C)的相互作用,发生共凝聚形成富含A β O/PrP^C的水凝胶。该水凝胶通过招募mGluR5,调控信号转导过程。异常的mGluR5信号和部分突触功能失调可能是阿尔茨海默病的病理生理机制之一。这种通过淀粉样蛋白质之间交互作用引发的无序蛋白质之间的共凝聚现象,有助于理解下游异常的mGluR5信号在阿尔茨海默病的病理生理学过程^[32]。

大量研究表明,蛋白质的液-液相分离过程可以调控淀粉样蛋白质的聚集。例如,肌萎缩侧索硬化症(amyotrophic lateral sclerosis, ALS)的关键致病蛋白(fused in sarcoma, FUS)蛋白和帕金森病关键蛋白 α -突

触核蛋白,在聚集过程中会发生液-液相分离现象形成液滴^[27,33]。随着时间的推移,液滴逐渐固化,变得不规则,最终通过液-固相转化过程,加速形成含有淀粉样纤维的凝胶。此外,不同蛋白质之间的异型相互作用,可以促进蛋白质之间的共凝聚现象,进而通过液-液相分离过程,捕获淀粉样多肽并抑制其纤维化进程^[34,35]。凝聚物的局部环境可能改变蛋白质的构象,从而抑制淀粉样蛋白的聚集。A β 42与DEAD-box蛋白的异型相互作用和复杂凝聚过程诱导的凝聚物抑制了A β -A β 之间的相互作用,进一步阻止了淀粉样蛋白的聚集^[36]。

值得注意的是,不同的蛋白质由于其动力学过程和成核速率的差异,导致其形成凝聚相的时间也不尽相同,这表明蛋白质的液-液相分离是一个核驱动的过程。液-液相分离可以促进蛋白质组装,通过液-固相转化过程形成富含高度有序聚集体的凝胶和致病性淀粉样纤维,进一步影响淀粉样蛋白的聚集动力学及各种聚集中间体的分子结构。最新的研究结果表明,通过向

α -突触核蛋白-液相分离体系中引入 α -突触核蛋白的纤维种子,可以加速生物凝聚物的形成,表明次级成核过程在相分离中的重要作用^[37]。因此,全面了解淀粉样蛋白相分离、相转化和异常聚集过程中的分子机理,不仅可以更好地理解其在疾病中的功能,为靶向治疗提供重要的理论基础,还可以针对 $A\beta$ 相分离和相转化过程中的关键因素,如 $A\beta$ 的聚集和降解过程,开发出有效的药物抑制剂。通过研究药物分子与 $A\beta$ 各类聚集体的相互作用,进一步分析药物分子在 $A\beta$ 液-液相分离和液-固相转化过程中的调节作用,达到抑制其异常聚集和淀粉样沉积的目的,从而减缓阿尔茨海默病的发展,促进靶向干预治疗。

2 $A\beta$ 纤维的分子结构

淀粉样蛋白级联假说不仅解释了两种临床病理特征之间的关系,还说明了该病的发生和发展过程。基于该假说,科学家们围绕着 $A\beta$ 聚集过程中的最终产物淀粉样纤维,开展了一系列结构和功能的相关研究。淀粉样纤维的形态和分子结构除了与蛋白质的一级结构相关,还容易受到环境中细微条件差异的影响。2008年,

美国国立卫生研究院(National Institutes of Health, NIH)的高级研究员Robert Tycko团队^[38]发现,在搅拌作用下, $A\beta$ 40纤维呈现直杆状或者丝带状(striated ribbon morphology)的外貌特征。然而,在静置的溶液环境中,最终得到扭曲状(twisted morphology)的纤维。这种淀粉样纤维结构的多态性可能是由于具有相同分子结构的原纤丝以任意方式横向聚集,形成具有不同形态的成熟纤维,也可能是由于具有不同分子结构的原纤丝横向聚集。因此,为了进一步研究 $A\beta$ 纤维外貌形态多样性的本质,研究人员通过固体核磁共振技术和冷冻电子显微镜技术解析了 $A\beta$ 纤维的分子结构,下面将对 $A\beta$ 纤维的分子结构模型进行综述。

通过魔角旋转固体核磁共振技术,Robert Tycko研究团队成功解析了具有不同形态特征的 $A\beta$ 40纤维的分子结构。两者的共同特征是:N-端运动性强,呈现无规则的结构;纤维中的单体则呈现出 β 1-loop- β 2的U型结构;且两条 β 链之间通过分子间的氢键作用平行排布。两者最大的区别是亚结构单元排列的对称性不同,直杆状纤维包括两个 β 单元,形成一个2-fold螺旋对称轴,与成纤维的长轴线重合(图3(a), PDB ID: 2LMN)。扭曲

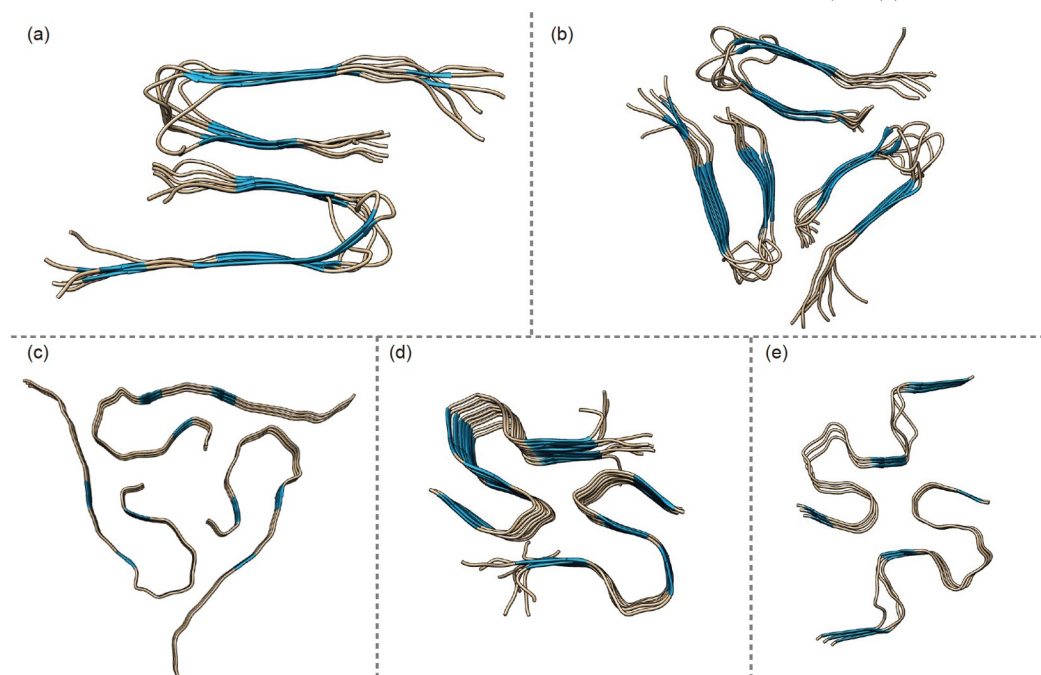


图3 $A\beta$ 纤维分子结构的多态性。(a) 直杆状淀粉样纤维 $A\beta$ 40的分子结构模型, PDB ID: 2LMN; (b) 扭曲状淀粉样纤维 $A\beta$ 40的分子结构模型, PDB ID: 2LMP; (c) 阿尔茨海默病患者大脑中 $A\beta$ 40病理性淀粉样纤维的分子结构模型, PDB ID: 2M4J; (d) $A\beta$ 42纤维的分子结构, PDB ID: 5KK3; (e) $A\beta$ 42纤维的分子结构, PDB ID: 2NAO。结构使用UCSF Chimera软件生成^[39], 其中 β 链用深空蓝色标亮

Figure 3 Amyloid polymorphism of $A\beta$ fibrils. (a) Structural model of the striated ribbon $A\beta$ 40 fibrils, PDB ID: 2LMN. (b) Structural model of the twisted $A\beta$ 40 fibrils, PDB ID: 2LMP. (c) Structural model of AD patient brain derived $A\beta$ 40 fibrils, PDB ID: 2M4J. (d) Structural model of $A\beta$ 42 fibrils, PDB ID: 5KK3. (e) Structural model of $A\beta$ 42 fibrils, PDB ID: 2NAO. PDB structures are plotted by UCSF Chimera^[39], β stands are highlighted with deep sky blue

状纤维包括三个 β 单元, 形成一个3-fold螺旋对称轴(图3(b), PDB ID: 2LMP). 此外, 在直杆状纤维结构中, D23和K28之间形成盐桥, 有助于纤维化进程中的成核作用, 然而在扭曲状纤维中则不存在这种盐桥结构. 随着研究的深入, 通过巧妙的实验设计, Robert Tycko课题组^[40]进一步解析了阿尔茨海默病患者大脑内的淀粉样蛋白纤维的三维结构. 病人大脑组织中提取的A β 40纤维与体外环境中的扭曲状纤维相似, 呈现三重对称形态. 然而, 由于G33的扭结结构与G37-G38的弯曲结构存在, 单体中的两条 β 链呈现出非平行的扭曲状态(图3(c), PDB ID: 2M4J).

2016年, 美国麻省理工学院(Massachusetts Institute of Technology)的Robert G. Griffin教授团队^[41]和苏黎世联邦理工学院(Swiss Federal Institute of Technology in Zurich)的Beat H. Meier教授团队^[42], 分别采用魔角旋转固体核磁共振技术成功解析了A β 42淀粉样纤维的分子结构. 这两个团队解析的结构具有高度的相似性(图3(d)和(e), PDB ID: 5KK3; 2NAO). Griffin教授团队的研究结果表明, A β 42的N端1~14号氨基酸运动性强, 没有采集到对应的固体核磁共振信号; 15~42号氨基酸包含四条 β 链呈现出S型结构. 该纤维含有两个疏水核心包裹在纤维内侧, 由A β 42分子的二聚体组成, 二聚体之间通过分子间的相互作用(一条多肽链上的M35与另一条多肽链上的L17和Q15'之间的相互作用)稳定(PDB ID: 5KK3).

近年来, 随着单颗粒重构法和断层重构法的发展, 冷冻电子显微镜技术已经发展成为蛋白质结构解析的

利器^[43-45]. 阿尔茨海默病患者大脑组织中提取的A β 纤维的三维结构通过冷冻电子显微镜技术被解析出来^[46-48]. 2019年德国乌尔姆大学(Ulm University)Marcus Fändrich教授团队^[48]报道了脑源性A β 40纤维的多种不同分子结构, 再次证明了淀粉样纤维的结构多样性. 其中, 一种典型的纤维构型(Morphology I, PDB ID: 6SHS)具有双重对称结构, 且该纤维中的A β 40单体包含4条 β 链, 呈现C型构型. 此外, 与体外环境孵育的A β 40纤维相比, 脑源性的淀粉样纤维N端结构有序, 以 β -折叠结构为主, 同时4条 β 链呈现右旋 β -折叠构型. 2020年, Robert Tycko团队结合冷冻电子显微镜技术和魔角旋转固体核磁共振技术, 再次证明了脑源性的A β 淀粉样纤维具有外貌形态和分子结构多样性的特征^[47], 且这种淀粉样纤维形态和结构上的多样性与该疾病的病理特征和进程息息相关^[49].

2022年, 英国剑桥大学(University of Cambridge)Michel Goedert教授团队及合作者提取了病人大脑组织中的A β 42蛋白纤维细丝, 通过冷冻电子显微镜技术, 首次解析了来源于人脑组织的两种类型A β 42蛋白纤维的分子结构(图4)^[46]. 结果表明, 两种类型的S形原纤丝折叠产生了两种不同构型的纤维. 其中, I型纤维(PDB ID: 7Q4B)由两条相同的S形原纤丝“面对面”相互拥抱组成, 原纤丝中的单体由五条 β 链组成, 有序核心从G9延伸至A42. S形结构的疏水核心包含两个区域: N端部分包括F19、F20、V24和I31侧链周围的残基, C端部分包括A30、I32、M35、V40和A42侧链周围的残基. II型

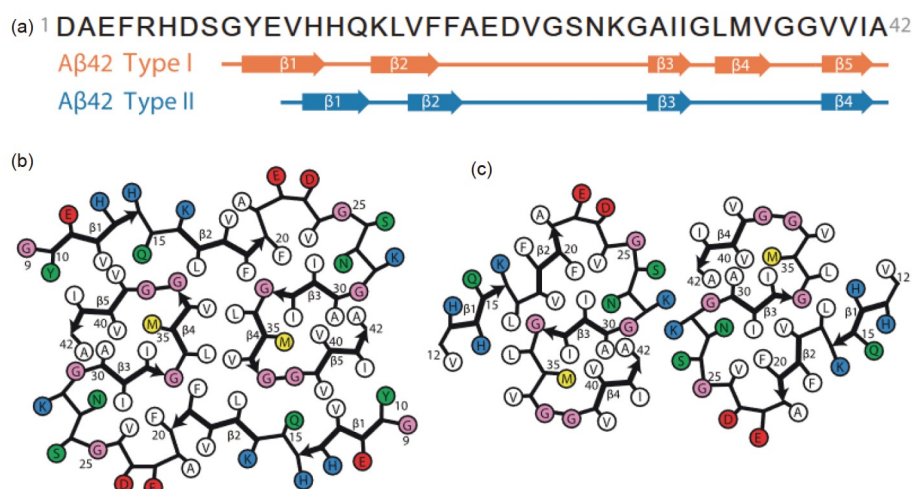


图4 脑源性A β 42纤维的分子结构^[46]. (a) A β 42的氨基酸序列, 包含其二级结构信息; (b) I型A β 42纤维的分子结构; (c) II型A β 42纤维的分子结构. Copyright © 2022, AAAS
 Figure 4 Structures of A β 42 filaments from the brain^[46]. (a) Amino acid sequence of A β 42. (b) Schematics of type I A β 42 folds. (c) Schematics of type II A β 42 folds. Copyright © 2022, AAAS

纤维(PDB ID: 7Q4M)采用与I型相似的S形折叠,同时具有相同的侧链取向,有序核心从V12延伸到A42,并由四条 β 链组成。在这两种类型的纤维中,二级结构的差异主要体现在肽段的折叠方向上。具体来说,肽段G25-S26和V36-G37在II型纤维的折叠结构中翻转约180°;II型纤维中的原纤丝以“背对背”的方式通过分子间(K28-A42)的静电吸引作用而稳定。

3 总结

淀粉样蛋白质倾向于从天然的非规则单体状态,聚集形成高度有序的淀粉样纤维,这一过程被称为蛋白质的错误折叠和异常聚集。由蛋白质的错误折叠和异常聚集所引发的与年龄相关的神经退行性疾病,包括阿尔茨海默病、朊病毒疾病、帕金森病等正在引起人们越来越多的关注。在上述病症中,尤以阿尔茨海默病对人类健康的威胁最大。由于A β 的异常聚集过程与阿尔茨海默病的发病机制密切相关,因此阐明A β 聚集过程的分子机理,对于深入理解阿尔茨海默病的致病

机理非常重要。解析聚集过程中产生的各类聚集体的分子结构,以结构为基础,实现靶向药物的合成,通过解析药物-靶点蛋白复合体的原子水平的三维结构,阐释药物与靶点的相互作用机制,鉴定出药物与靶点相互作用的关键区域,为后续以结构为导向的药学设计和研发提供理论指导,有助于为该病的早期诊断和治疗提供理论参考。

蛋白质通过自组装能够产生不同的凝聚状态,包括液-液相分离形成的类液滴、液-固相转化形成的水凝胶、异常聚集后形成的淀粉样纤维和无定形聚集体等。因此,淀粉样蛋白质的聚集过程异常复杂。A β 单体经由短暂的滞后期后,在初级成核作用、次级成核作用、和纤维延伸的共同作用下,聚集成各类结构和功能特异的聚集体。深入研究聚集过程中的成核机制和聚集途径,串联起蛋白质聚集、液-液相分离和聚集体神经毒性之间的联系,有助于深入理解阿尔茨海默病的发展进程,进而通过调控蛋白质的聚集和相变过程,达到治疗或者缓解阿尔茨海默病的目的。

参考文献

- O'Connor D. World Alzheimer Report 2019: Attitudes to Dementia. <https://ncdalliance.org/resources/world-alzheimer-report-2019-attitudes-to-dementia>
- Gauthier S, Rosa-Neto P, Morais J A, et al. World Alzheimer Report 2021: Journey through the diagnosis of dementia. London, England: Alzheimer's Disease International
- Knopman D S, Amieva H, Petersen R C, et al. Alzheimer disease. *Nat Rev Dis Primers*, 2021, 7: 33
- Shea Y F, Chu L W, Chan A O K, et al. A systematic review of familial Alzheimer's disease: Differences in presentation of clinical features among three mutated genes and potential ethnic differences. *J Formos Med Assoc*, 2016, 115: 67-75
- Zetterberg H, Mattsson N. Understanding the cause of sporadic Alzheimer's disease. *Expert Rev Neurother*, 2014, 14: 621-630
- Francis P T, Palmer A M, Snape M, et al. The cholinergic hypothesis of Alzheimer's disease: A review of progress. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 1999, 66: 137-147
- Hardy J A, Higgins G A. Alzheimer's disease: The amyloid cascade hypothesis. *Science*, 1992, 256: 184-185
- Selkoe D J, Hardy J. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease at 25 years. *EMBO Mol Med*, 2016, 8: 595-608
- Mudher A, Lovestone S. Alzheimer's disease—Do tauists and baptists finally shake hands? *Trends Neurosci*, 2002, 25: 22-26
- Meneses A, Koga S, O'Leary J, et al. TDP-43 pathology in Alzheimer's disease. *Mol Neurodegener*, 2021, 16: 84
- Shi L J, Xu A Q, Zhu L. Protein aggregation and phase separation in TDP-43 associated neurodegenerative Diseases. *Prog Biochem Biophys*, 2022, 49: 8-22
- Alzheimer's Association. 2019 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimer's Dement*, 2019, 15: 321-387
- Sevigny J, Chiao P, Bussière T, et al. The antibody aducanumab reduces A β plaques in Alzheimer's disease. *Nature*, 2016, 537: 50-56
- Chiti F, Dobson C M. Protein misfolding, amyloid formation, and human disease: A summary of progress over the last decade. *Annu Rev Biochem*, 2017, 86: 27-68
- Hampel H, Hardy J, Blennow K, et al. The amyloid- β pathway in Alzheimer's disease. *Mol Psychiatry*, 2021, 26: 5481-5503
- Nguyen P H, Ramamoorthy A, Sahoo B R, et al. Amyloid oligomers: A joint experimental/computational perspective on Alzheimer's disease, Parkinson's disease, type II diabetes, and amyotrophic lateral sclerosis. *Chem Rev*, 2021, 121: 2545-2647
- Lee S J C, Nam E, Lee H J, et al. Towards an understanding of amyloid- β oligomers: Characterization, toxicity mechanisms, and inhibitors. *Chem Soc Rev*, 2017, 46: 310-323
- Cline E N, Bicca M A, Viola K L, et al. The Amyloid- β oligomer hypothesis: Beginning of the third decade. *J Alzheimers Dis*, 2018, 64: S567-S610

- 19 Ono K, Watanabe-Nakayama T. Aggregation and structure of amyloid β -protein. *Neurochem Int*, 2021, 151: 105208
- 20 Buell A K. The nucleation of protein aggregates—From crystals to amyloid fibrils. In: Sandal M, ed. *International Review of Cell and Molecular Biology*. Amsterdam: Elsevier, 2017. 187–226
- 21 Cohen S I A, Cukalevski R, Michaels T C T, et al. Distinct thermodynamic signatures of oligomer generation in the aggregation of the amyloid- β peptide. *Nat Chem*, 2018, 10: 523–531
- 22 Michaels T C T, Šarić A, Curk S, et al. Dynamics of oligomer populations formed during the aggregation of Alzheimer's A β 42 peptide. *Nat Chem*, 2020, 12: 445–451
- 23 Xu Q, Ma Y, Sun Y, et al. Protein amyloid aggregate: Structure and function. *Aggregate*, 2023, 4: e333
- 24 Sawaya M R, Hughes M P, Rodriguez J A, et al. The expanding amyloid family: Structure, stability, function, and pathogenesis. *Cell*, 2021, 184: 4857–4873
- 25 Scheckel C, Aguzzi A. Prions, prionoids and protein misfolding disorders. *Nat Rev Genet*, 2018, 19: 405–418
- 26 Zhang H, Ji X, Li P, et al. Liquid-liquid phase separation in biology: Mechanisms, physiological functions and human diseases. *Sci China Life Sci*, 2020, 63: 953–985
- 27 Ray S, Singh N, Kumar R, et al. α -Synuclein aggregation nucleates through liquid-liquid phase separation. *Nat Chem*, 2020, 12: 705–716
- 28 Molliex A, Temirov J, Lee J, et al. Phase separation by low complexity domains promotes stress granule assembly and drives pathological fibrillization. *Cell*, 2015, 163: 123–133
- 29 Zbinden A, Pérez-Berlanga M, De Rossi P, et al. Phase separation and neurodegenerative diseases: A disturbance in the force. *Dev Cell*, 2020, 55: 45–68
- 30 Alberti S, Dormann D. Liquid-liquid phase separation in disease. *Annu Rev Genet*, 2019, 53: 171–194
- 31 Gui X, Feng S, Li Z, et al. Liquid-liquid phase separation of amyloid- β oligomers modulates amyloid fibrils formation. *J Biol Chem*, 2023, 299: 102926
- 32 Kostylev M A, Tuttle M D, Lee S, et al. Liquid and hydrogel phases of PrP^C linked to conformation shifts and triggered by Alzheimer's amyloid- β oligomers. *Mol Cell*, 2018, 72: 426–443.e12
- 33 Patel A, Lee H O, Jawerth L, et al. A liquid-to-solid phase transition of the ALS protein FUS accelerated by disease mutation. *Cell*, 2015, 162: 1066–1077
- 34 Foressi N N, Rodríguez L C, Celej M S. Heterotypic liquid-liquid phase separation of tau and α -synuclein: Implications for overlapping neuropathologies. *Biochim Biophys Acta*, 2023, 1871: 140950
- 35 Gracia P, Polanco D, Tarancón-Díez J, et al. Molecular mechanism for the synchronized electrostatic coacervation and co-aggregation of alpha-synuclein and tau. *Nat Commun*, 2022, 13: 4586
- 36 Küffner A M, Linsenmeier M, Grigolato F, et al. Sequestration within biomolecular condensates inhibits A β -42 amyloid formation. *Chem Sci*, 2021, 12: 4373–4382
- 37 Dada S T, Hardenberg M C, Toprakcioglu Z, et al. Spontaneous nucleation and fast aggregate-dependent proliferation of α -synuclein aggregates within liquid condensates at neutral pH. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2023, 120: e2208792120
- 38 Paravastu A K, Leapman R D, Yau W M, et al. Molecular structural basis for polymorphism in Alzheimer's β -amyloid fibrils. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105: 18349–18354
- 39 Pettersen E F, Goddard T D, Huang C C, et al. UCSF Chimera—A visualization system for exploratory research and analysis. *J Comput Chem*, 2004, 25: 1605–1612
- 40 Lu J X, Qiang W, Yau W M, et al. Molecular structure of β -amyloid fibrils in Alzheimer's disease brain tissue. *Cell*, 2013, 154: 1257–1268
- 41 Colvin M T, Silvers R, Ni Q Z, et al. Atomic resolution structure of monomorphic A β ₄₂ amyloid fibrils. *J Am Chem Soc*, 2016, 138: 9663–9674
- 42 Wälti M A, Ravotti F, Arai H, et al. Atomic-resolution structure of a disease-relevant A β (1–42) amyloid fibril. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, 113: E4976–E4984
- 43 Yip K M, Fischer N, Paknia E, et al. Atomic-resolution protein structure determination by cryo-EM. *Nature*, 2020, 587: 157–161
- 44 Röder C, Kupreichyk T, Gremer L, et al. Cryo-EM structure of islet amyloid polypeptide fibrils reveals similarities with amyloid- β fibrils. *Nat Struct Mol Biol*, 2020, 27: 660–667
- 45 Li B, Ge P, Murray K A, et al. Cryo-EM of full-length α -synuclein reveals fibril polymorphs with a common structural kernel. *Nat Commun*, 2018, 9: 3609
- 46 Yang Y, Arseni D, Zhang W, et al. Cryo-EM structures of amyloid- β 42 filaments from human brains. *Science*, 2022, 375: 167–172
- 47 Ghosh U, Thurber K R, Yau W M, et al. Molecular structure of a prevalent amyloid- β fibril polymorph from Alzheimer's disease brain tissue. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2021, 118: e2023089118
- 48 Kollmer M, Close W, Funk L, et al. Cryo-EM structure and polymorphism of A β amyloid fibrils purified from Alzheimer's brain tissue. *Nat Commun*, 2019, 10: 4760
- 49 Qiang W, Yau W M, Lu J X, et al. Structural variation in amyloid- β fibrils from Alzheimer's disease clinical subtypes. *Nature*, 2017, 541: 217–221

Summary for “阿尔茨海默病关键蛋白 β -淀粉样蛋白的聚集机理”

Molecular mechanism of Alzheimer's β -amyloid peptide aggregation

Yanyan Li¹, Xiwen Mao¹, Keyu Liu² & Zheng Niu^{1*}

¹ School of Pharmacy, Henan University, Kaifeng 475004, China;

² Miami College, Henan University, Kaifeng 475004, China

* Corresponding author, E-mail: nz@henu.edu.cn

Alzheimer's disease (AD) is a typical neurodegenerative disease. The common symptoms of AD include memory loss, decline in language abilities, impaired orientation, and cognitive skills deterioration. One of the major pathological hallmarks involved in AD is amyloid plaque deposition, which are amyloid deposits formed by aberrant aggregation of β -amyloid peptide (A β). A β is the cleavage product by β - and γ -secretases acting on amyloid precursor protein under the amyloidogenic pathway. It is prone to aggregate from their disordered monomeric state into a highly ordered aggregated state. The underlying microscopic mechanism of A β aggregation comprises nucleation and elongation steps. The resulting pathological amyloid fibrils formation and the spread of these amyloid fibrils in cells are linked to AD pathogenesis. The A β aggregation is the causative agent of Alzheimer's pathology and results in axonal disruption, synapse loss, and ultimately cell death.

Liquid-liquid phase separation (LLPS) driven protein aggregation has been observed to form pathological inclusions associated with neurodegenerative diseases, including amyotrophic lateral sclerosis, Parkinson's disease, and AD. In addition to misfolding and aggregation, several of these disease-associated proteins undergo LLPS forming dynamic condensates, further modulating the aggregation process. Recent research reported that one of the pathogenic A β oligomer species can undergo phase separation *in vitro* and this LLPS modulates a liquid-to-solid phase transition and redirects the aggregation pathway to form pathogenic amyloid fibrils. The regulatory role of LLPS underlies A β peptide aggregation and may inform future AD therapeutics.

Amyloid fibrils, as the final amyloid protein aggregation product, have been extensively studied due to the significant role of the molecular structure on the pathological characteristics of AD. However, owing to the complex nucleation and aggregation process, amyloid polymorphism and structural heterogeneity have been reported during A β aggregation. Benefit from the technological development of magic angle spinning (MAS) solid-state nuclear magnetic resonance (ssNMR) and single-particle cryogenic electron microscopy (cryo-EM), the molecular structures of A β fibrils have been determined both *in vitro* and *in vivo* over the last few decades. In general, amyloid fibril adopt β -conformation and assemble into a common cross- β fibril spine structure.

Although significant progress has been achieved during the last hundred years, there are still enormous challenges in AD pathology, early diagnosis, and effective treatment. The aggregation mechanism and A β species toxicity, the link between structure and toxicity, the relationship between amyloid polymorphism and disease progression are still not fully understood. This paper focuses on the aggregation process of the A β peptide, including primary nucleation, elongation, and secondary nucleation steps. We describe LLPS phenomenon in the early phase of A β aggregation and the vital roles of phase separation and phase transition in the aggregation process. We summarize amyloid polymorphism and the current molecular structures of A β fibrils formed during aggregation. This review will provide better understanding of the relationship between the aggregation mechanism and the cytotoxicity of diverse A β species to shed light on the disease progression and hope to offer a solution for treatment of AD by regulating the aberrant aggregation and phase transition.

Alzheimer's disease, β -amyloid peptide, protein aggregation, liquid-liquid phase separation, solid-state NMR

doi: [10.1360/TB-2023-1167](https://doi.org/10.1360/TB-2023-1167)