黄连素治疗阿尔茨海默病的研究进展

左茹^{1,2,3}, 曹雪滨², 张文生^{1*}

1. 北京师范大学 中药资源保护与利用北京市重点实验室, 北京 100088

2. 中国人民解放军第 252 医院, 河北 保定 071000

3. 河北大学中医学院, 河北 保定 071000

摘要: 阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 是一种中枢神经系统退行性疾病, 以学习、记忆能力减退和认知功能障碍为主要临床表现。 β 淀粉样蛋白 ($A\beta$) 毒性级联损伤及 Tau 蛋白的磷酸化是其主要病理改变。黄连素 (小檗碱) 是从黄连中提取的一种天然的异喹啉类生物碱, 具有广泛的药理作用。实验研究表明, 黄连素具有抗炎、抗氧化应激、抑制胆碱酯酶活性、抑制 $A\beta$ 蛋白聚集和 Tau 蛋白的过度磷酸化等作用。综述近年来黄连素治疗 AD 的研究进展, 以期对黄连素治疗 AD 提供借鉴。

关键词: 黄连素/小檗碱; 阿尔茨海默病; β 淀粉样蛋白; Tau 蛋白; 炎症

中图分类号: R285 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2014)08-1184-04

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2014.08.025

Research progress on treatment of Alzheimer's disease by berberine

ZUO Ru^{1,2,3}, CAO Xue-bin², ZHANG Wen-sheng¹

1. Beijing Key Laboratory of Protection and Utilization of Chinese Materia Medica Resources, Beijing Normal University, Beijing 100875, China

2. No. 252 Hospital of People's Liberation Army, Baoding 071000, China

3. College of Traditional Chinese Medicine, Hebei University, Baoding 071000, China

Key words: berberine; Alzheimer's disease; amyloid β -protein; Tau protein; inflammation

阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 是一种进行性的中枢神经系统退行性疾病, 临床表现为认知功能减退、精神症状、行为障碍和日常生活能力的逐渐下降。针对 AD 的发病机制有多种学说, 主要包括 β 淀粉样蛋白 (amyloid β -protein, $A\beta$) 级联假说和 Tau 蛋白学说, $A\beta$ 级联假说认为脑组织细胞外 $A\beta$ 沉积形成的老年斑 (senile plaques, SPs) 是 AD 主要病理特征; 而 Tau 蛋白学说认为脑组织神经细胞内过度磷酸化的 Tau 蛋白聚集形成的神经元纤维缠结 (neurofibrillary tangles, NFTs) 是 AD 主要的病理特征; 此外还有中枢胆碱能损伤学说、自由基和氧化应激学说、免疫炎症反应学说等。AD 的发病机制的多样性及不确定性, 为其治疗带来困难, 并且涉及靶点众多, 主要包括 $A\beta$ 聚集、神经元纤维缠结、炎症、氧化应激、胆碱酯酶和单胺氧

化酶等。黄连是毛茛科植物黄连 *Coptis chinensis* Franch 的干燥根茎, 具有清热燥湿、泻火解毒等功效。黄连素 (berberine) 又称盐酸小檗碱, 是从黄连中提取的一种天然的异喹啉类生物碱, 具有多种药理作用, 包括抗炎、抗癌、抗病毒、抑菌及降糖、调脂等。近年来研究表明, 黄连素对 AD 具有良好的治疗作用。实验研究发现黄连素可明显提高 AD 模型鼠的学习记忆能力, 改善认知功能障碍; 并且具有减少 $A\beta$ 的形成、抑制 Tau 蛋白的磷酸化、抗炎、抗氧化应激等作用。本文主要探讨了黄连素治疗 AD 的研究进展及潜在的作用靶点。

1 黄连素治疗 AD 的作用机制

1.1 对 $A\beta$ 的作用

老年斑是 AD 主要病理特征之一, 其核心成分是 $A\beta$ 。 $A\beta$ 是由存在于细胞膜上的 $A\beta$ 前体蛋白 (amyloid

收稿日期: 2013-11-14

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81274118)

作者简介: 左茹 (1987—), 女, 硕士生, 研究方向为中西医结合治疗心脑血管疾病。Tel: (010)62205282 E-mail: zuoru19871124@163.com

*通信作者 张文生 (1966—), 男, 教授, 博士生导师, 研究方向为神经退行性疾病分子机制及神经药理。

Tel: (010)62200669 E-mail: zws@bnu.edu.cn

β -protein precursor, APP) 经 β 、 γ 分泌酶水解生成的 39~43 个氨基酸残基的多肽片段, $A\beta$ 产生以后可由脑啡肽酶 (neprilysin, NEP)、内皮素转化酶 (endothelin converting enzyme, ECE)、胰岛素降解酶 (insulin degrading enzyme, IDE) 等降解。根据 γ 分泌酶剪切方式的不同, 生成后的 $A\beta$ 主要包括 $A\beta_{1-40}$ 和 $A\beta_{1-42}$ 两种形式, $A\beta$ 可自发聚集形成可溶性的寡聚态和不可溶性的纤维态, 纤维态的 $A\beta$ 在大脑神经细胞外沉淀聚集形成老年斑。 $A\beta$ 具有神经毒性, 可导致神经元细胞凋亡, 且寡聚态的 $A\beta$ 毒性最强。在脑室内注射寡聚态 $A\beta_{1-42}$ 造成的痴呆模型小鼠中, 连续 ig 黄连素治疗 14 d 后, Morris 水迷宫发现小鼠寻找平台时间缩短, 显著提高了痴呆模型小鼠的空间学习记忆能力^[1]。说明黄连素对 $A\beta$ 损伤有保护作用^[2]。

此外, 黄连素还可通过减少 $A\beta$ 的生成及加速 $A\beta$ 的降解对 AD 起到治疗作用。Asai 等^[3]证实黄连素可上调 α 分泌酶的活性, 影响 β 分泌酶对 APP 的剪切, 减少 $A\beta$ 的形成。已往研究发现细胞膜上 β -淀粉样前体蛋白 (β -amyloid precursor protein, APP) 的磷酸化促进了 APP 剪切片段 C-末端的聚集和 $A\beta$ 的产生, 加速老年斑的形成^[4]。但其具体机制尚未清楚, 进一步实验发现黄连素能通过 PI3K/AKT 途径磷酸化糖原合成酶激酶 3 (GSK3), P-GSK3 直接抑制神经元细胞内 APP 的磷酸化, 降低 P-APP 在神经元轴突内的传递速度及神经末端 $A\beta$ 的释放, 减少 AD 模型鼠脑内老年斑的数目, 并对脑内神经细胞起到保护作用^[5]。

黄连素在 $A\beta$ 的降解过程中也发挥重要作用。IDE 是降解和清除 $A\beta$ 的主要酶类之一, 是胰岛素受体信号传导下游区的一个靶点, 在糖代谢异常促使 AD 发病的过程中发挥重要的作用。胰岛素抵抗以及过量表达的胰岛素与 $A\beta$ 竞争结合 IDE 致使 IDE 的活性下降, 从而减缓脑组织中 $A\beta$ 的降解和清除, 促进 AD 的发病过程^[6]。因此上调 IDE 的表达可促进 $A\beta$ 的降解, 减轻 AD 的发生。朱飞奇等^[7]向大鼠双侧海马注射寡聚态的 $A\beta_{1-40}$ 后, ig 黄连素治疗 14 d, 检测大鼠海马区 IDE 的水平, 发现黄连素组明显高于正常组及模型组; 即寡聚态的 $A\beta_{1-40}$ 可导致大鼠海马部位 IDE 的蛋白表达增加, 因此, 推测黄连素可通过上调 IDE 的表达而促进 $A\beta$ 的降解, 减少 $A\beta$ 的聚集沉积, 对 AD 起到治疗作用。

1.2 对 Tau 蛋白的作用

Tau 蛋白是量最高的微管相关蛋白, 调节多种细胞的功能。正常脑中 Tau 蛋白的细胞功能是与微管蛋白结合促进其聚合形成微管; 并与形成的微管结合, 维持其稳定性。AD 患者脑内神经细胞中正常 Tau 蛋白减少, 异常过度磷酸化 Tau 蛋白大量增加。异常过度磷酸化的 Tau 蛋白丧失了其正常的生物功能, 导致微管稳定性降低, 破坏正常的微管系统, 并聚集形成 PHF/NFT 结构, 是导致 AD 发病的主要原因之一。

研究发现受损神经元内蛋白激酶/蛋白磷酸酯酶动态平衡失调是导致 Tau 异常过度磷酸化的主要生化机制。已报道黄连素可通过降低神经元内蛋白激酶 GSK-3 β 的活性和升高磷酸酯酶 PP-2A 的活性, 从多个位点抑制 Tau 蛋白的磷酸化, 减少神经元纤维缠结, 抑制神经细胞的凋亡。为明确其具体作用机制, Durairajan 等^[5]经系列研究发现黄连素可通过 PI3K/Akt 途径引起 GSK3 的磷酸化, 磷酸化的 GSK3 抑制了 AD 模型鼠脑内神经元细胞中 PHF-Tau 蛋白的表达, 降低了磷酸化 Tau 蛋白水平, 减少了细胞内神经元纤维缠结的形成, 对脑内神经细胞起到保护作用, 进而预防和治疗 AD。

1.3 抗炎症作用

$A\beta$ 沉积导致的炎症反应是 AD 发病的重要因素。在 AD 患者脑内老年斑的周围及核心可见到大量的星形胶质细胞、小胶质细胞、急性反应蛋白和炎性细胞因子^[8]。实验发现, 注射了 $A\beta$ 的 AD 动物模型可诱导小胶质细胞产生细胞因子 C3^[9]。 $A\beta$ 可激活小胶质细胞, 活化的小胶质细胞可以产生补体成分, 通过激活补体经典途径及旁路途径导致神经元变性。炎症也可激活星形胶质细胞, 星形胶质细胞通过释放细胞因子介导炎症反应。这些被激活的星形胶质细胞能够产生诱导 $A\beta$ 神经毒性的 ROS, 从而形成恶性循环加速细胞的凋亡; 也可通过释放白细胞介素-1 (IL-1) 促进神经元纤维缠结的形成, 在 AD 的病理过程中发挥重要作用。

近年来, 愈来愈多的研究发现黄连素可通过抑制炎症反应对 AD 起到预防和治疗的效果。Zhu 等^[1]在大鼠海马区注射 $A\beta_{1-40}$ 后, 连续 ig 给予黄连素 50 mg/kg 14 d 后, 检测到大鼠海马区 IL-1 β 及诱导型 NO 合酶 (iNOS) 的表达量与对照组相比明显减少, 同时水迷宫实验发现治疗组大鼠的空间记忆能力得到显著改善, 但其具体机制尚未明确。进一步研究

发现黄连素可通过阻断 PI3K 和 MAPK 途径,减少核因子- κ B (NF- κ B) 的入核,从而降低前炎性细胞因子 IL-6、单核细胞趋化因子 (monocyte chemoattractant protein)、COX-2 和 iNOS 的表达,抑制 A β 沉积诱导的炎症反应,对 AD 的预防和治疗起到重要作用^[10]。

2 黄连素治疗 AD 潜在作用靶点的展望

2.1 抗氧化应激作用

氧化应激是指体内活性氧的产生和清除失衡,导致自由基堆积过多,从而对生物体造成氧化损伤。AD 患者脑内老年斑、神经元纤维缠结的形成及神经元的凋亡均与自由基产生过多有关。黄连素的抗氧化应激作用已得到广泛证实。首先,有研究报道黄连素可以清除活性氧 (ROS) 和活性氮 (RNS),也可清除 NO 和过氧硝酸盐 (ONOO⁻),其中过氧硝酸盐与 A β 的形成和聚集有关^[11]。其次,黄连素能抑制脂质过氧化反应并对低密度脂蛋白 (LDL) 的氧化起到保护作用^[12]。此外,黄连素能扭转花萼海绵诱癌素 (calyculin A, CA) 诱导的 HEK293 细胞中丙二醛的增加和超氧化物歧化酶 (SOD) 的减少^[13],更加证实黄连素的抗氧化作用。但目前仍未报道黄连素可通过抗氧化途径对 AD 起到治疗作用,其具体作用及机制需进一步研究。

2.2 对代谢的影响

2.2.1 对脂代谢的影响 Simous 等^[14]提出胆固醇可调节 A β 斑块的形成,因此降低神经元内胆固醇水平能抑制 A β 淀粉样蛋白的形成。同时 Wolozin^[15]也发现了胆固醇和 AD 发病之间的分子机制,并提出抗胆固醇药物具有治疗 AD 的潜在作用。Kong 等^[16]证实了口服规定剂量的黄连素能有效减少高脂血症小鼠血清胆固醇的水平,亦可通过基因转录后水平上调低密度脂蛋白受体 (LDLR) 的表达。进一步实验发现了黄连素的良性调血脂作用机制可能与促进脂质代谢相关的 CPT1A 基因和维生素 D 受体表达有关^[17-18]。综上所述,调脂作用可作为研究黄连素治疗 AD 的潜在靶点。

2.2.2 对糖代谢的影响 胰高血糖素样肽-1 (GLP-1) 是一种内源性的促胰岛素肽,能保护神经细胞免于毒性损害^[19]。以往有研究发现黄连素能提高链脲霉素诱导的糖尿病模型鼠体内 GLP-1 的分泌,并且能调控 GLP-1 在体内外的分布^[20]。因此推测黄连素对 GLP-1 的调节作用可能有助于 AD 的治疗,成为治疗 AD 的新靶点。

2.3 对神经递质的作用

2.3.1 乙酰胆碱酯酶抑制剂 乙酰胆碱酯酶 (acetylcholinesterase, AchE) 主要存在于中枢神经系统,催化神经递质乙酰胆碱水解生成胆碱。乙酰胆碱 (Ach) 是脑组织中重要的神经递质,AD 患者脑脊液和脑组织中 Ach 的合成、释放、摄取等功能下降,脑组织中胆碱能神经元数量减少,胆碱能受体 (如 M 和 N 受体) 密度降低,胆碱能活性与 SPs 数量呈负相关。许多药理研究均以抑制 AchE 为靶点,通过改善胆碱能神经元的神经传递达到缓解 AD 的作用^[21]。研究发现黄连素具有抑制 AchE 的作用^[22]。Ji 等^[23]报道了黄连素对 AchE 的半抑制浓度是 0.44 μ mol/L,并发现黄连素是通过疏水作用力和 AchE 的疏水性残基结合,抑制 AchE 的活性。体内实验证实黄连素能通过抑制 AchE 活性改善链脲霉素 (STZ) 诱导的糖尿病鼠记忆功能的损害,这为黄连素作为 AchE 抑制剂治疗 AD 提供了有力证据^[12]。

2.3.2 单胺氧化酶抑制剂 单胺氧化酶 (monoamine oxidase, MAO) 是位于线粒体外膜上的一种黄素蛋白,负责神经递质的氧化脱氨。人体内有 2 种单胺氧化酶亚型,分别是单胺氧化酶 A (MAO-A) 和单胺氧化酶 B (MAO-B)。Adolfsson 等^[24]发现大脑和血小板中 MAO-B 的活性越高,患 AD 的可能性就越大。进一步研究发现 MAO-B 抑制剂对神经元的凋亡起到保护作用,与自由基的形成和清除有关^[25]。因此,推测 MAO-B 抑制剂可能是潜在的治疗 AD 的有效药物。黄连素对 MAO-A 及 MAO-B 均有抑制作用^[26]。Ji 等^[23]研究发现黄连素对 MAO-A 的半数抑制浓度是 126 μ mol/L,对 MAO-B 的半数抑制浓度是 98.4 μ mol/L。因此,推测黄连素可作为 MAO 抑制剂,成为治疗 AD 的新靶点。

3 结语

黄连素具有多种潜在的治疗 AD 的作用,包括降低 A β 水平、抑制 Tau 蛋白的磷酸化、抗炎、抗氧化、抑制 AchE 及 MAO 的活性和调脂、降糖等。黄连素治疗 AD 的研究,主要是以 A β 为核心,涉及 A β 的神经毒性, A β 诱导的炎症反应, A β 的生成等方面,但对 A β 的降解及跨血脑屏障转运方面研究报道极少。因此,以 A β 代谢为核心研究黄连素治疗 AD 可成为今后研究黄连素治疗 AD 的重要靶点。此外,黄连素已作为抗炎、抑菌药物在临床应用多年,具有有效性和安全性;且研究发现黄连素能够通过血脑屏障^[27-28],对中枢神经系统性疾病

起到治疗作用^[29]。这为研究黄连素预防治疗 AD 提供了理论基础。但黄连素作为一种多效的治疗 AD 的药物,其具体作用机制有待进一步研究。

参考文献

- [1] Zhu F, Qian C. Berberine chloride can ameliorate the spatial memory impairment and increase the expression of interleukin-1beta and inducible nitric oxide synthase in the rat model of Alzheimer's disease [J]. *BMC Neurosci*, 2006, 78(7): 1471-2202.
- [2] 王 静, 张艳军, 常亮堂. 小檗碱对 $A\beta_{25-35}$ 损伤大鼠皮层神经元的保护作用 [J]. *中草药*, 2011, 42(4): 728-733.
- [3] Asai M, Iwata N, Yoshikawa A, et al. Berberine alters the processing of Alzheimer's amyloid precursor protein to decrease Abeta secretion [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2007, 352(2): 498-502.
- [4] Lee M S, Kao S C, Lemere C A, et al. APP processing is regulated by cytoplasmic phosphorylation [J]. *J Cell Biol*, 2003, 163(1): 83-95.
- [5] Durairajan S S, Liu L F, Lu J H, et al. Berberine ameliorates beta-amyloid pathology, gliosis, and cognitive impairment in an Alzheimer's disease transgenic mouse model [J]. *Neurobiol Aging*, 2012, 33(12): 2903-2919.
- [6] Cook D G, Leverenz J B, McMillan P J. Reduced hippocampal insulin-degrading enzyme in late-onset Alzheimer's disease is associated with the apolipoprotein E-ε4 allele [J]. *Am J Pathol*, 2003, 162(1): 313-319.
- [7] 朱飞奇, 马 英, 孙永安. 小檗碱对阿尔茨海默病大鼠模型胰岛素降解酶表达的影响 [J]. *中华神经医学杂志*, 2010, 9(12): 1201-1203.
- [8] Finch C E, Morgan T E. Systemic inflammation, infection, ApoE alleles, and Alzheimer disease: a position paper [J]. *Curr Alzheimer Res*, 2007, 4(2): 185-189.
- [9] Gasque P, Fontaine M, Morgan B P. Complement expression in human brain. Biosynthesis of terminal pathway components and regulators in human glial cells and cell lines [J]. *J Immunol*, 1995, 154(9): 4726-4733.
- [10] Jia L, Liu J, Song Z, et al. Berberine suppresses amyloid-beta-induced inflammatory response in microglia by inhibiting nuclear factor-kappaB and mitogen-activated protein kinase signalling pathways [J]. *J Pharm Pharmacol*, 2012, 64(10): 1510-1521.
- [11] Jung H A, Min B S, Yokozawa T, et al. Anti-Alzheimer and antioxidant activities of *Coptidis Rhizoma* alkaloids [J]. *Biol Pharm Bull*, 2009, 32(8): 1433-1438.
- [12] Bhutada P, Mundhada Y, Bansod K, et al. Protection of cholinergic and antioxidant system contributes to the effect of berberine ameliorating memory dysfunction in rat model of streptozotocin-induced diabetes [J]. *Behav Brain Res*, 2011, 220(1): 30-41.
- [13] Yu G, Li Y, Tian Q, et al. Berberine attenuates calyculin A-induced cytotoxicity and Tau hyperphosphorylation in HEK293 cells [J]. *J Alzheimers Dis*, 2011, 24(3): 525-535.
- [14] Simons M, Keller P, Dichgans J, et al. Cholesterol and Alzheimer's disease: Is there a link? [J]. *Neurology*, 2001, 57(6): 1089-1093.
- [15] Wolozin B. Cholesterol and the biology of Alzheimer's disease [J]. *Neuron*, 2004, 41(1): 7-10.
- [16] Kong W, Wei J, Abidi P, et al. Berberine is a novel cholesterol-lowering drug working through a unique mechanism distinct from statins [J]. *Nat Med*, 2004, 10(12): 1344-1351.
- [17] 王 红, 师凌云, 尹华峰, 等. 小檗碱的调脂作用与 CPT1A 基因表达的关系研究 [J]. *中国中药杂志*, 2011, 36(19): 2715-2718.
- [18] 罗 映, 金 磊, 何 琦, 等. 小檗碱对兔血脂代谢及维生素 D 受体和胰岛素诱导基因 2 基因表达的影响 [J]. *中草药*, 2011, 42(8): 1566-1570.
- [19] Holscher C. The role of GLP-1 in neuronal activity and neurodegeneration [J]. *Vitam Horm*, 2010, 84: 331-354.
- [20] Lu S S, Yu Y L, Zhu H J, et al. Berberine promotes glucagon-like peptide-1 (7-36) amide secretion in streptozotocin-induced diabetic rats [J]. *J Endocrinol*, 2009, 200(2): 159-165.
- [21] Munoz-Torrero D. Acetylcholinesterase inhibitors as disease-modifying therapies for Alzheimer's disease [J]. *Curr Med Chem*, 2008, 15(24): 2433-2455.
- [22] Huang L, Shi A, He F, et al. Synthesis, biological evaluation, and molecular modeling of berberine derivatives as potent acetylcholinesterase inhibitors [J]. *Bioorg Med Chem*, 2010, 18(3): 1244-1251.
- [23] Ji H F, Shen L. Molecular basis of inhibitory activities of berberine against pathogenic enzymes in Alzheimer's disease [J]. *Sci World J*, 2012, 2012: 823201.
- [24] Adolfsson R, Gottfries C G, Oreland L, et al. Increased activity of brain and platelet monoamine oxidase in dementia of Alzheimer type [J]. *Life Sci*, 1980, 27(12): 1029-1034.
- [25] Riederer P, Danielczyk W, Grunblatt E. Monoamine oxidase-B inhibition in Alzheimer's disease [J]. *Neurotoxicology*, 2004, 25(1/2): 271-277.
- [26] Kong L D, Cheng C H, Tan R X. Monoamine oxidase inhibitors from rhizoma of *Coptis chinensis* [J]. *Planta Med*, 2001, 67(1): 74-76.
- [27] Wang X, Wang R, Xing D, et al. Kinetic difference of berberine between hippocampus and plasma in rat after intravenous administration of *Coptidis rhizoma* extract [J]. *Life Sci*, 2005, 77(24): 3058-3067.
- [28] Wang X, Xing D, Wang W, et al. Pharmacokinetics of berberine in rat thalamus after intravenous administration of *Coptidis Rhizoma* extract [J]. *Am J Chin Med*, 2005, 33(6): 935-943.
- [29] Kulkarni S K, Dhir A. Berberine: a plant alkaloid with therapeutic potential for central nervous system disorders [J]. *Phytother Res*, 2010, 24(3): 317-324.