

ADAM10/17活性调控在A β 致神经小胶质细胞激活中的作用

崔博翔^{1#} 方星悦^{2#} 刘启兵³ 王欢欢^{1*}

(¹杭州师范大学医学院, 杭州 311121; ²海南医学院第一附属医院, 海口 570102; ³海南医学院, 海口 571199)

摘要 阿尔茨海默病(AD)是一种神经退行性疾病,严重影响老年患者的生活质量。AD最主要的致病机制是淀粉样 β 蛋白(A β)对神经细胞的损伤。A β 前体淀粉样前体蛋白(APP)由 β 和 γ 剪切酶剪切而来,另外 α 剪切酶也可剪切APP,从而减少A β 的产量。因此上调 α 剪切酶ADAM10/17的活性有可能成为AD的治疗策略之一。该研究实验数据证实,ADAM10/17不仅参与APP的剪切,还参与神经胶质细胞的激活和神经炎症反应;ADAM10/17可能参与胶质细胞炎症因子翻译后的修饰和剪切。该研究的结果为APP α 剪切酶激活剂的研究提供了研究基础,在APP α 剪切酶激活剂的研发过程中,不应只局限于神经细胞的作用,还必须考虑神经胶质细胞神经炎症的参与,以有效规避药物的不良反应。

关键词 淀粉样 β 蛋白; ADAM10/17; 小胶质细胞

The Role of ADAM10/17 Activity Regulation in A β -induced Neuroglial Activation

CUI Boxiang^{1#}, FANG Xingyue^{2#}, LIU Qibing³, WANG Huanhuan^{1*}

(¹School of Medicine, Hangzhou Normal University, Hangzhou 311121, China;

²The First Affiliated Hospital of Hainan Medical College, Haikou 570102, China; ³Hainan Medical College, Haikou 571199, China)

Abstract AD (Alzheimer's disease) is a neurodegenerative disease that seriously affects life quality of elderly patients. The most important pathogenic mechanism of AD is the damage of nerve cells by A β (amyloid β protein). A β is cleaved by its precursor APP (amyloid precursor protein) by β and γ secretase. α secretase can cleave APP to reduce A β production. Therefore, up-regulating the activity of α -secretase ADAM10/17 may become one of the therapeutic strategies of AD. The experimental data of this study confirmed that ADAM10/17 was not only involved in the cleavage of APP, but also involved in the activation of glial cells and neuroinflammatory reactions. ADAM10/17 may be involved in the modification and cleavage of glial inflammatory factors after translation. The results of this study provide a basis for the study of APP α -secretase activator. In the development of APP α -secretase activator, it should not be limited to the role of nerve cells, but also the involvement of glial neuroinflammatory in order to achieve effective elimination of adverse drug reactions.

Keywords A β ; ADAM10/17; microglia

收稿日期: 2019-04-01 接受日期: 2019-10-17

浙江省自然科学基金(批准号: LY19H260003、LQ13C090006)资助的课题

[#]共同第一作者

*通讯作者。Tel: 0571-28865661, E-mail: huanval@hznu.edu.cn

Received: April 1, 2019 Accepted: October 17, 2019

This work was supported by the Natural Science Foundation of Zhejiang Province of China (Grant No. LY19H260003, LQ13C090006)

[#]These authors contributed equally to this work

*Corresponding author. Tel: +86-571-28865661, E-mail: huanval@hznu.edu.cn

URL: <http://www.cjcb.org/arts.asp?id=5157>

阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)是一种神经退行性疾病,主要表现为进行性认知功能障碍、记忆力降低并伴随个性和行为改变,病变持续发展最终出现痴呆^[1]。随着发展中国家和发达国家人口迅速老龄化,AD正成为全球性日益严重的社会健康问题^[2]。该疾病的两个主要病理学标志是由淀粉 β 样蛋白(amyloid beta peptide, A β)组成的老年斑(senile plaque, SP)和由过度磷酸化tau蛋白组成的神经原纤维缠结(neurofibrillary tangle, NFT),随后导致海马和皮质区域神经元的损伤^[3-4]。

虽然该疾病的发病机制仍有争议,在众多假说中淀粉样蛋白级联是被最广泛接受的: A β 聚合、产生和清除的不平衡引起的A β 积累,导致A β 过剩从而诱发AD。除此之外,脑内慢性炎症反应也被证实参与了疾病过程^[5-6]。研究表明, SP的形成与脑内局部慢性炎症反应密切相关^[7]。慢性炎症反应的特征之一是单核细胞数量的增加,在中枢神经系统(central nerve system, CNS)中以小胶质细胞最为显著^[8]。证据显示,小胶质细胞常见于AD患者的SP附近^[3,7]。当神经系统发生损伤时,小胶质细胞从静息状态迅速转向活化状态,一方面扮演清道夫角色参与凋亡细胞的清除,有助于消除A β 的聚集^[3,6,9-10];另一方面合成和释放大量的炎症因子和过氧化物,从而对神经细胞造成损伤^[11]。在AD的发生和发展过程中,激活的小胶质细胞可以分泌各种炎症因子,如白细胞介素-1(interleukin-1, IL-1)、IL-6、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor α , TNF α)等,这些因子的释放甚至可以促进A β 积聚^[6,11-12]。因此,小胶质细胞吞噬清除A β 和启动炎症反应之间的平衡,可能是促进或抑制AD发生的重要机制。

A β 作为淀粉样级联假说的核心,是由淀粉样前体蛋白(amyloid precursor protein, APP)经 β 和 γ 剪切酶剪切产生的。除此之外, APP还可以被另一种 α 剪切酶剪切,阻止A β 的产生。研究证实, ADAM10/17是参与APP位点剪切的主要蛋白酶^[13]。上调ADAMs活性或成为降低A β 产量及预防AD发生的靶点之一。ADAM17, 又被称为TNF α 转化酶(TNF α converting enzyme, TACE), 其原因是ADAM17最初被发现参与TNF α 的剪切^[3,14]。在炎症的发生过程中, ADAM17可参与多种炎症因子的剪切, 包括TNF α 、IL-1 α/β 、IL-6、表皮生长因子和一些细胞黏附分子等^[15-19]。而也有研究证实, AD患者脑组织中ADAM17的表达

水平明显上调^[3], ADAM17在AD相关的小胶质细胞激活中发挥重要作用^[20-21]。与此同时, ADAM10也被证实参与许多肿瘤的发生^[22]。

综上, 一方面ADAM10/17参与APP α 剪切降低神经毒性A β 产生, 或成为AD治疗和预防的靶点; 另一方面, ADAM10/17又可能参与AD相关的神经炎症反应。因此, 明确ADAM10/17在小胶质细胞激活和神经炎症反应中的具体作用, 将有助于阐明ADAM10/17调控在AD发生中的作用, 为其在AD进程中的调控开辟新的方向和思路, 并挖掘潜在的AD治疗的分子靶点。因此, 本研究以小胶质细胞为主要研究对象, 深入研究了ADAM10/17活性调控对A β 致小胶质细胞激活和神经炎症反应中的具体作用。

1 材料与方法

1.1 细胞与主要试剂

小鼠小胶质瘤BV2细胞购于上海复祥生物科技有限公司。主要试剂包括: DMEM培养液(Biological Industries, 以色列)、胎牛血清(Gibco, 美国)、LPS(Sigma, 美国)、A β (Sigma, 美国)、TAPI-0(Abcam, 美国)、PMA(Merck, 德国)。基因转录水平检测主要试剂包括: RNA提取试剂盒(杭州浩基生物科技有限公司)、RNA逆转录试剂盒(TaKaRa公司, 日本)、Q-PCR试剂盒(北京康为世纪生物科技有限公司)。蛋白表达检测主要试剂包括: 细胞RIPA裂解液(上海索莱宝生物技术有限公司)、蛋白酶抑制剂PMSF和磷酸酶抑制剂[生工生物工程(上海)股份有限公司]、BCA蛋白定量试剂盒(北京康为世纪生物科技有限公司)、ECL超敏发光试剂盒和ADAM10抗体(Millipore, 美国)、ADAM17抗体(OriGene, 美国)。ELISA试剂盒主要包括: TNF α 、IL-6 ELISA试剂盒(eBioscience, 美国)、IL-1 β ELISA试剂盒(BD Biosciences, 美国)。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养和处理 细胞培养于含10%胎牛血清的DMEM培养液中, 在37 °C、5% CO₂培养箱内进行常规传代培养。以一定数量细胞铺于平板内, LPS(100 ng/mL)处理0~24 h, A β (10 μ mol/L)处理24~72 h, 同时加入TAPI-0(1 μ mol/L)或PMA(1 μ mol/L), 处理结束后, 收集细胞样本, 以供后续实验。

1.2.2 Q-PCR检测各炎症因子转录水平 细胞样本收集裂解后, 提取细胞总mRNA样本, 检测RNA浓

表1 Q-PCR反应中所使用的引物序列

Table 1 Primer sequence used for Q-PCR reactions

基因	引物(5'→3')
Genes	Primers (5'→3')
<i>β-actin</i>	For: CTG TCC CTG TAT GCC TCT G Rev: ATG TCA CGC ACG ATT TCC
<i>IL-1β</i>	For: AGC ATC CAG CTT CAA ATC Rev: CAT CCC ATG AGT CAC AGA G
<i>IL-6</i>	For: TCC ATC CAG TTG CCT TCT Rev: CTC ATT TCC ACG ATT TCC
<i>TNFα</i>	For: TTC CGA ATT CAC TGG AGC CTC GAA Rev: TGC ACC TCA GGG AAG AAT CTG GAA

度和纯度, 逆转录得cDNA, -20 °C保存以供后续实验。取合成的cDNA作为模板, 选取相应的PCR引物, 根据说明书配置反应体系并上机用 $\Delta\Delta CT$ 法进行相对定量分析(*β-actin*作为内参)。Q-PCR中使用引物如下表所示(表1)。

1.2.3 免疫印迹(Western blot, WB)法检测ADAM10/17 取细胞裂解液, BCA定量试剂盒进行蛋白定量, 计算待测蛋白的浓度。SDS-PAGE凝胶电泳分离蛋白样本, 将凝胶上的蛋白转移至PVDF膜。PVDF膜置于5%脱脂牛奶或BSA室温封闭1 h, 4 °C一抗孵育过夜, 用相应的二抗室温孵育2 h后, ECL显色, 在暗室用X线胶片曝光显影。

1.2.4 ELISA法检测炎症因子分泌水平 收集细胞培养上清液, 离心去沉淀。96孔板特定一抗室温孵育过夜后, 每孔加100 μL标准品、对照、样本(按一定比例稀释), 室温孵育2 h后, 每孔加100 μL二抗, 室温孵育30 min后, 依次加入显色剂和终止剂, 450 nm处检测吸光度(D)值, 通过标准曲线换算得出未知孔的浓度。

1.3 数据处理

实验所得结果为3次实验的平均值±标准差, 以 $\bar{x} \pm s$ 形式表示, 采用SPSS 13.0统计软件包进行数据分析。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 实验结果

2.1 Aβ可引起小胶质神经细胞炎症反应

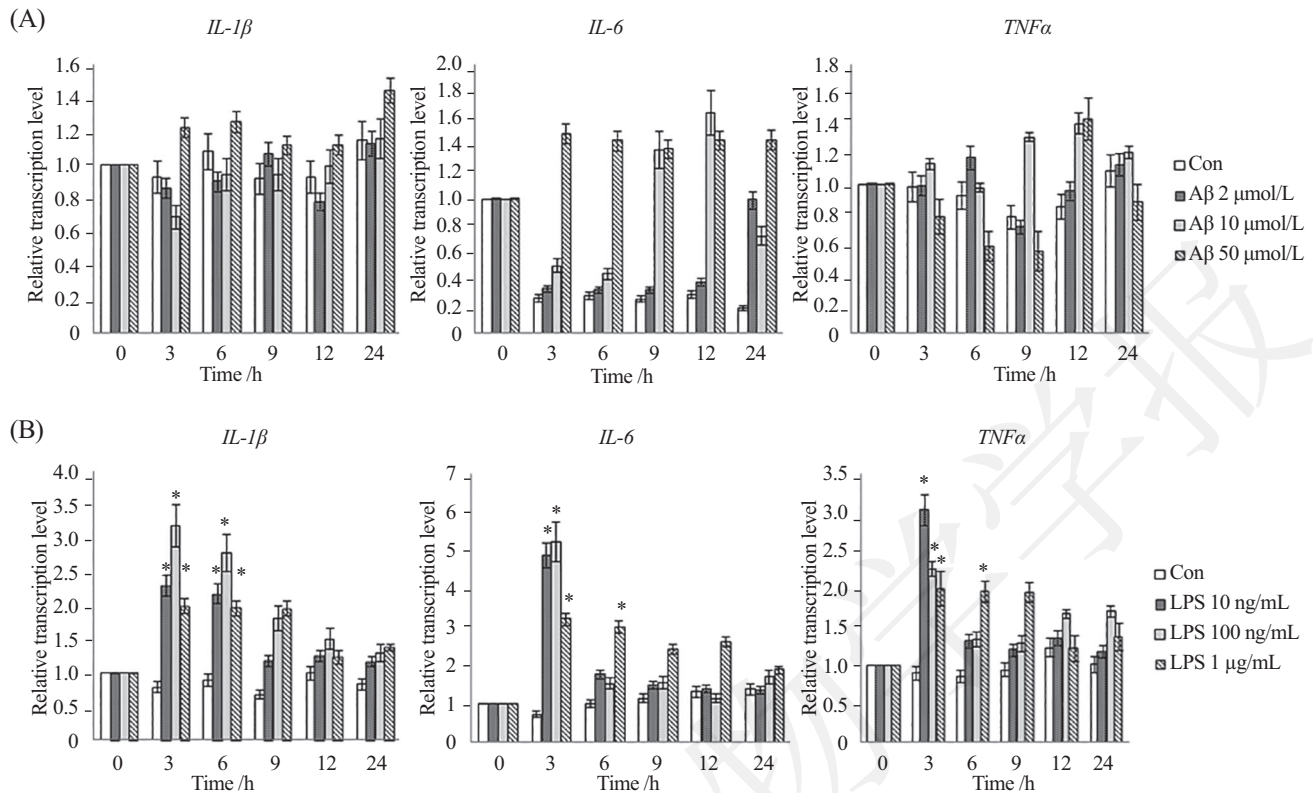
首先, 为了研究AD相关神经炎症发生的基本方式, 我们采用体外培养神经小胶质瘤细胞BV2细胞, 并以Aβ处理模拟AD的发生, 观察胶质细胞的激活和随之产生的各种反应。我们发现, BV2细胞在Aβ(低、中、高剂量组, 2、10、50 mol/L)急性的刺

激下(24 h以内, 3、6、9、12、26 h), 几种代表性炎症因子的转录并没有发生明显的改变(图1), 说明Aβ处理BV2细胞并不能影响炎症因子的转录。这与急性细胞感染模型对免疫细胞激活的模式有很大区别, 如图1所示急性脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)处理BV2细胞, 可明显增加细胞炎症因子的转录, 且这种变化在3~6 h即已达到峰值。比较说明, Aβ可能引起的小胶质细胞激活与普通急性刺激的机制有着本质区别。

而后我们对BV2细胞进行了不同浓度和更长时间的Aβ处理, 收集细胞培养上清, 检测细胞因子的释放情况。由图2A可见, 10 mol/L Aβ处理BV2细胞24 h可显著诱导细胞释放炎症因子IL-1β、IL-6和TNFα。由图2B可见, TNFα的释放峰值在24 h, 而IL-1β和IL-6的释放则随着Aβ处理时间的延长而增加。结果说明, AD相关Aβ处理神经胶质细胞可显著增强细胞的免疫应答和炎症反应, 相应炎症因子的释放也随之上升。上述结果提示, Aβ确实可以增加胶质细胞炎症因子的释放, 这种调节不发生在mRNA转录水平, 而非常有可能发生在蛋白质转录后的修饰过程中。

2.2 Aβ调控神经小胶质细胞ADAM的表达和修饰

前述研究结果显示, Aβ处理BV2细胞可引起小胶质细胞的激活, 但并不影响炎症因子mRNA的转录; Aβ可诱导BV2细胞释放炎症因子很可能是影响了炎症因子的翻译后转录, 因此本研究继续对可能参与炎症因子剪切的酶进行了探究。ADAM10/17虽然是APP的α剪切酶, 但从其化学本质而言, 也可以参与许多炎症因子的剪切。炎症因子IL-1β、IL-6和TNFα的翻译后修饰主要包括了蛋白质在高尔基体和内质网内的剪切与成熟过程, 许多相关酶参与了这个过程。既然Aβ可以影响胶质



A: 不同浓度A β 刺激BV2细胞0~24 h, 提取细胞mRNA, Q-PCR法检测细胞炎症因子转录情况; B: 不同浓度LPS刺激BV2细胞0~24 h, 提取细胞mRNA, Q-PCR法检测细胞炎症因子转录情况($n=3$, $*P<0.05$, 与对照组比较)。

A: BV2 cells were treated with different concentrations of A β for 0-24 h, mRNA was extracted, and the transcription levels of cellular inflammatory factors were detected by Q-PCR; B: BV2 cells were treated with different concentrations of LPS for 0-24 h, mRNA was extracted, and the transcription levels of cellular inflammatory factors were detected by Q-PCR ($n=3$, $*P<0.05$ vs control group).

图1 急性A β /LPS刺激BV2细胞引起细胞炎症因子转录改变

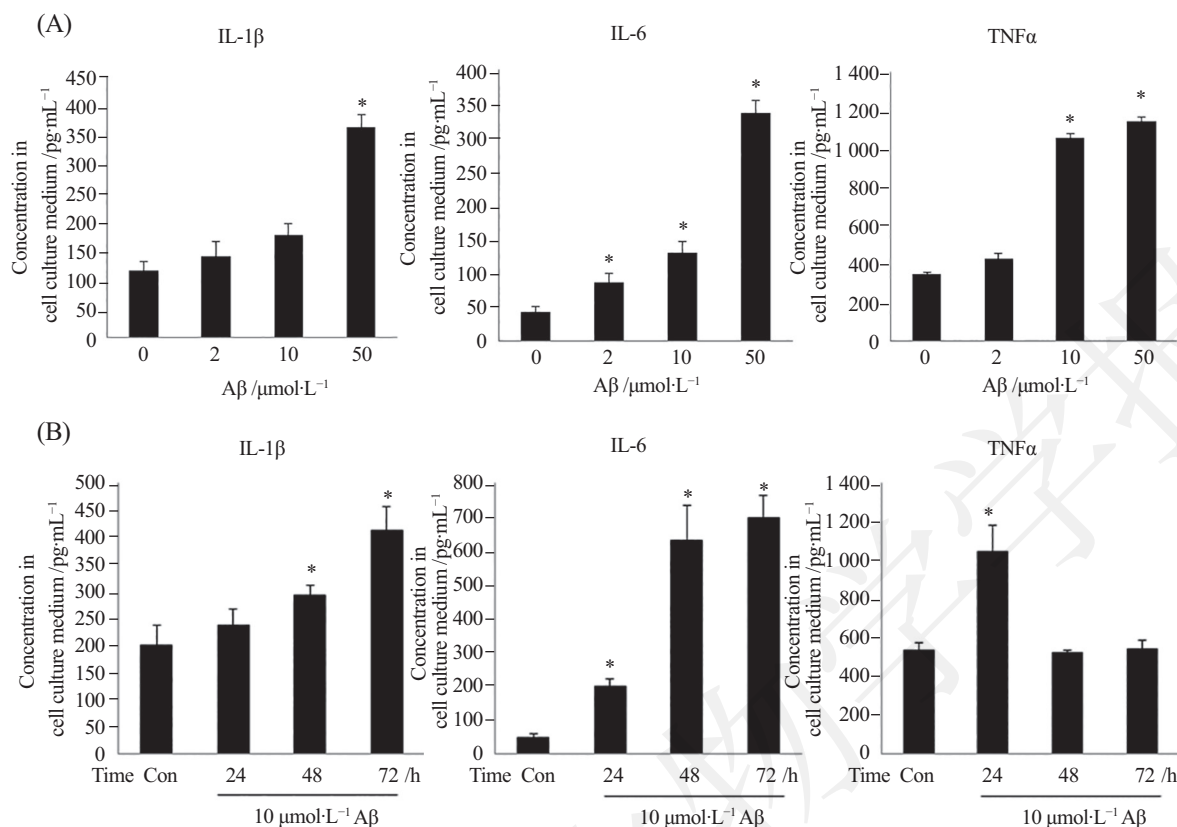
Fig.1 Acute A β /LPS stimulates BV2 cells to cause cytokine transcriptional changes

细胞相关炎症因子的转录后翻译过程, 那么我们有理由相信, A β 可以参与炎症因子剪切相关酶的调控。WB实验结果显示, A β 急性刺激(0~24 h) BV2细胞可上调ADAM17的活性(图3A); 而ADAM10的活性则需要A β 的慢性刺激(72 h)(图3B), 提示ADAM10/17均不同程度参与了小胶质细胞激活引起的炎症因子的剪切、成熟和释放。ADAM17作为一种金属蛋白酶, 其本身也必须经过细胞内的修饰, 才能成为分子量更小但具有功能的成熟ADAM17。由结果可知, A β 处理BV2细胞不仅增加ADAM17蛋白的表达, 处理48~72 h后还可增加成熟ADAM17的含量。ADAM17蛋白表达和成熟的特征与前述炎症因子分泌量改变的趋势一致, 说明A β 对炎症因子释放的影响, 非常有可能通过ADAM17蛋白酶的调控实现。

2.3 ADAM10/17活性调控参与小胶质细胞炎症反应

由上文实验结果可知, A β 水平的升高可以引

起神经小胶质细胞的激活。在这一神经炎症反应的过程中, ADAM10/17参与其中, 很有可能是参与了炎症因子转录和翻译后的修饰, 即炎症因子的剪切和成熟。因此, 紧接着我们开展一系列实验, 改变ADAM10/17的活性, 以观察ADAM10/17活性的调控是否可以影响胶质细胞的激活和炎症反应的发生。我们利用ADAM10/17激活剂佛波酯(phorbol ester, PMA)或抑制剂TAPI-0处理细胞, 以提高或降低ADAM10/17的活性后, 继续观察在此情况下由A β 引起的BV2胶质细胞的激活和炎症因子的产生会发生何种变化。结果显示, ADAM10/17活性的增加可以明显加剧细胞的炎症反应和炎症因子IL-1 β 、IL-6和TNF α 的释放(图4A和图4B); ADAM10/17活性的抑制则可有效阻断这一过程(图4C和图4D)。这些结果进一步说明, ADAM10/17参与A β 诱导的BV2胶质细胞的激活, 并且ADAM10/17活性的改变可以调控小胶质细胞炎症反应的发生。

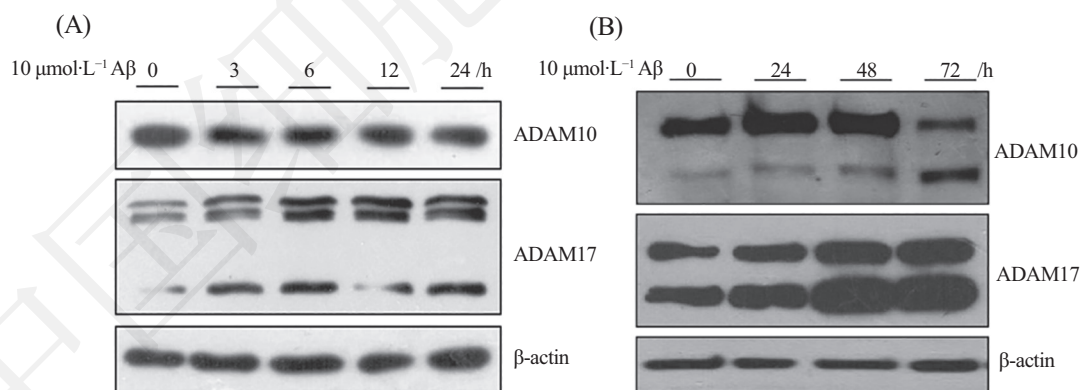


A: 不同浓度A β 刺激BV2细胞24 h, 收集上清液, ELISA法检测上清液中IL-1 β 、IL-6、TNF α 浓度; B: 10 $\mu\text{mol/L}$ A β 处理BV2细胞0~72 h, 收集上清液, ELISA法检测上清液中IL-1 β 、IL-6、TNF α 浓度($n=3$, $*P<0.05$, 与对照组比较)。

A: BV2 cells were treated with different concentrations of A β for 24 h; B: BV2 cells were treated with 10 $\mu\text{mol/L}$ A β for 0-72 h. Cell culture medium was collected. The concentrations of IL-1 β , IL-6 and TNF α in the supernatant were determined by ELISA ($n=3$, $*P<0.05$ vs control group).

图2 A β 处理BV2细胞引起炎症因子释放

Fig.2 A β treatment of BV2 cells causes inflammatory factor release



A: A β 刺激BV2细胞0~24 h, 收集细胞蛋白样本, WB法检测ADAM10/17表达水平; B: A β 刺激BV2细胞0~72 h, 收集细胞蛋白样本, WB法检测ADAM10/17表达水平。

A: BV2 cells were treated with A β for 0-24 h, protein samples were collected, and ADAM10/17 was detected by WB method; B: BV2 cells were treated with A β for 0-72 h, protein samples were collected, and ADAM10/17 was detected by WB method.

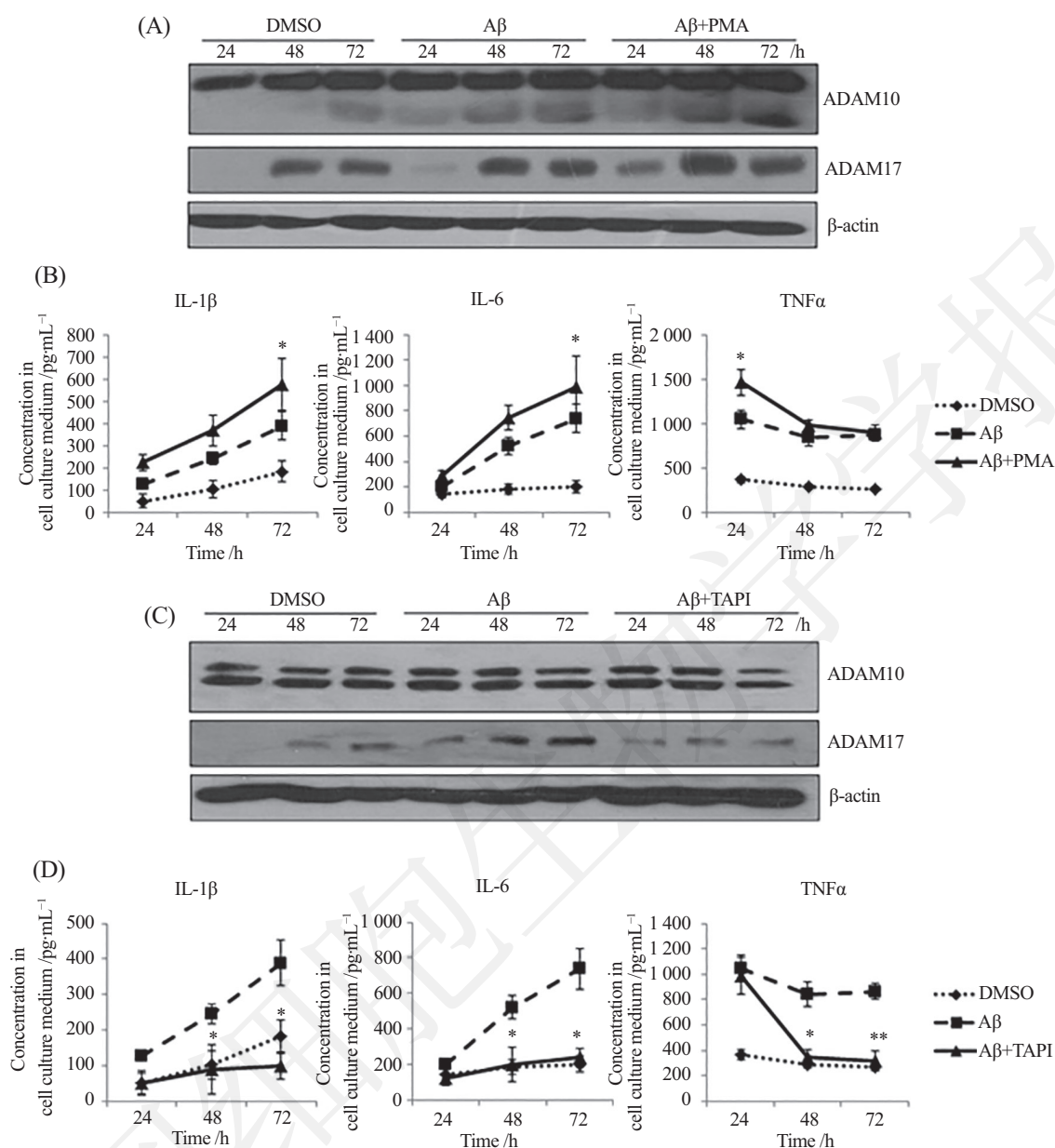
图3 A β 刺激BV2细胞引起ADAM10/17表达及活性的变化

Fig.3 A β stimulates BV2 cells to induce changes in ADAM10/17 expression and activity

3 讨论

随着社会经济和医疗水平的进步和发展, 人类的寿命近年来逐年延长, 老年性疾病的发病率急速

增长。AD作为一种老年痴呆患者的主要病因, 近年来发病率呈逐年上升的趋势。老年患者生活治疗差, 家庭和社会护理成本高, 医疗开支也十分巨大。自



A: PMA预处理细胞2 h后, A β 刺激BV2细胞, 收集细胞蛋白样本, WB检测ADAM10/17表达情况; B: 收集细胞培养上清液, ELISA法检测细胞激活炎症因子IL-1 β 、IL-6和TNF α ; C: TAPI预处理细胞2 h后, A β 刺激BV2细胞, 收集细胞蛋白样本, WB检测ADAM10/17表达情况; D: 收集细胞培养上清液, ELISA法检测细胞激活炎症因子IL-1 β 、IL-6和TNF α ($n=3$, * $P<0.05$, ** $P<0.01$, 与DMSO组比较)。

A: after PMA pretreated cells for 2 h, BV2 cells were treated with A β , protein samples were collected, and ADAM10/17 was detected by WB; B: the cell culture supernatant was collected, and inflammatory factors IL-1 β , IL-6 and TNF α were detected by ELISA; C: after TAPI pretreated cells for 2 h, BV2 cells were treated with A β , protein samples were collected, and ADAM10/17 was detected by WB; D: the cell culture supernatant was collected, and inflammatory factors IL-1 β , IL-6 and TNF α were detected by ELISA ($n=3$, * $P<0.05$, ** $P<0.01$ vs DMSO group).

图4 ADAM10/17活性调控对BV2细胞炎症反应的影响

Fig.4 Effect of ADAM10/17 activity regulation on inflammatory response of BV2 cells

20世纪90年代以来, 对于AD的预防和治疗的研究有了长足的发展, 许多药物被开发以希望能治疗或至少缓解AD的症状, 但至今为止除针对胆碱能神经功能的药物以外, 用于AD的治疗新药研发进程仍十分缓慢。

目前对于该疾病最广为接受AD的发病机制是

淀粉样级联假说。淀粉样级联假说的核心是A β , A β 数量的增多及二聚体、寡聚体、多聚体至淀粉样沉淀的形成对神经细胞造成损伤, 激活神经胶质细胞, 从而造成大范围神经损伤。A β 是其前体蛋白淀粉样前体蛋白APP的剪切产物。APP可被 β 和 γ 剪切酶释放A β ; 同时APP也可被 α 剪切酶剪切, 释放具有神

经保护作用的可溶性APP α 剪切片段,从而削弱A β 的产量^[13,23-25]。研究表明,ADAM10和ADAM17具有 α 剪切酶的活性,参与APP的 α 剪切^[13]。针对APP β 和 γ 剪切酶抑制剂的研究均因为其较大的副作用而停止,而目前对于APP α 剪切酶ADAM10/17激活剂的研究似乎是一种新的尝试。

AD发生的另一研究热点是神经炎症的参与,研究表明,神经小胶质细胞的激活可能参与了A β 介导的AD发生机制。激活的神经胶质细胞一方面可参与A β 的吞噬和清除,从而缓解A β 引起的神经毒性,另一方面过度激活的胶质细胞可释放一系列炎症因子,这些炎症因子将会对神经细胞产生进一步的损伤。有趣的是,ADAM10/17作为一种酶,不仅参与神经细胞APP的剪切,同时ADAM17也是一些炎症因子等的剪切酶,提示ADAM10/17可能参与了神经胶质细胞的激活。因此,针对ADAM17活性调节,期望以提高ADAM17活性来增加APP α 的神经保护作用或降低A β 的产量和神经毒性,或许并不是一个明智的选择。

到目前为止,关于小胶质细胞中ADAM17活性调节的直接证据不多,原因可能是小胶质细胞中ADAM17的表达水平相对较低^[26]。在本研究中,我们发现,用一定浓度的A β 刺激神经小胶质细胞,细胞释放的炎症因子IL-1 β 、IL-6和TNF α 显著上升。其中TNF α 的释放峰值在24 h,而IL-1 β 和IL-6的释放则随着A β 处理时间的延长而增加。同时,ADAM10/17也都有明显的增加。结果说明,AD相关A β 处理神经胶质细胞可显著增强细胞的免疫应答和炎症反应,相应炎症因子的表达及释放也随之上升。而当我们对相应时间点细胞裂解液进行蛋白检测时发现,炎症因子表达的增加与ADAM10/17的活性一致,指示A β 诱导BV2细胞炎症反应的发生有可能通过ADAM10/17的活性调控来实现。

A β 单体、多聚体和沉淀物,一般可以通过与胶质细胞表面模式识别受体结合,引起跨膜信号转导,从而引起细胞内一系列反应^[27]。有趣的是,我们同样发现,A β 处理只能诱导BV2细胞炎症因子释放,而并不增加相应时间点炎症因子转录水平。这说明,A β 对于炎症因子的诱导作用在于转录后修饰,对mRNA的合成和翻译作用不大。有研究报道,ADAM17也被称为TNF α 剪切酶,可以在细胞内剪切翻译后不成熟的TNF α ,帮助其成熟并释放^[17]。而

ADAM10可参与许多炎症相关因子的转录、翻译后修饰。

因此,接下来我们用A β 及ADAM10/17的抑制剂和激动剂一起处理神经小胶质细胞,实验结果表明,ADAM活性抑制剂TAPI-0处理BV-2细胞 0~72 h可以明显抑制由A β 引起的ADAM10/17的活化,其中对于ADAM10的抑制效果更明显,原因有待进一步研究。而相应的炎症因子也出现了抑制。相应地,ADAM激动剂PMA处理0~72 h也可进一步加强ADAM10/17活性的上调,相对应的炎症因子也出现了上调。提示可能的原因是,ADAM的抑制或激动导致了炎症因子前体被剪切成成熟的炎症因子的减少或增多,说明ADAM10/17在由A β 引起的BV2细胞炎症反应中起重要作用。本研究针对ADAM10/17的研究为APP α 剪切酶在神经细胞以外的作用提供了基础研究数据。本研究实验数据证实,ADAM10/17不仅仅参与APP的剪切,还参与神经胶质细胞的激活和神经炎症反应;ADAM10/17可能参与胶质细胞炎症因子翻译后的修饰和剪切,从而影响神经胶质细胞的炎症反应。本研究的结果为APP α 剪切酶激活剂的研究提供了研究基础,在APP α 剪切酶激活剂的研发过程中,不应只局限于神经细胞的作用,还必须考虑神经胶质细胞神经炎症的参与,以有效规避药物的不良反应。

4 结论

本研究结果显示,A β 可引起小胶质神经细胞炎症反应并影响ADAM10/17的活性;ADAM10/17活性调控可以调节小胶质细胞炎症反应的发生,以及炎症因子翻译后的修饰和剪切。ADAM10/17不仅是APP α 剪切酶,还参与小胶质细胞激活和神经炎症反应,本研究的结果为APP α 剪切酶激活剂的研究提供了研究基础。

参考文献 (References)

- [1] SELKOE D. Alzheimer's disease: genes, proteins, and therapy [J]. *Physiol Rev*, 2001, 81(2): 741-66.
- [2] CASELLI R, BEACH T, YARRI R, et al. Alzheimer's disease a century later [J]. *J Clin Psychiatry*, 2006, 67: 1784-800.
- [3] QIAN M, SHEN X, WANG H. The distinct role of ADAM17 in APP proteolysis and microglial activation related to Alzheimer's disease [J]. *Cell Mol Neurobiol*, 2016, 36(4): 471-82.
- [4] 侯佳宁, 胡雅儿. 阿尔茨海默病淀粉样肽级联假说及其相关基因研究进展[J]. *神经解剖学杂志*(HOU J N, HU Y E. Research

- progress in amyloid cascade hypothesis in Alzheimer's disease and related genes [J]. Chinese Journal of Neuroanatomy, 2009, 25(1): 111-4.
- [5] HALLIDAY G, ROBINSON S R, SHEPHERD C, et al. Alzheimer's disease and inflammation: a review of cellular and therapeutic mechanisms [J]. Clin Exp Pharmacol Physiol, 2000, 27(1/2): 1-8.
- [6] CAI Z, HUSSAIN M D, YAN L J. Microglia, neuroinflammation, and beta-amyloid protein in Alzheimer's disease [J]. Int J Neurosci, 2014, 124(5): 307-21.
- [7] ROZEMULLERBJ M, WAN DER VALK P, EIELENBOOM P. Activated microglia and cerebral amyloid deposits in Alzheimer's disease [J]. Res Immunol, 1992, 143: 646-9.
- [8] RUBBIO-PEREZ J M, MORILLAS-RUIZ J M. A review: inflammatory process in Alzheimer's disease, role of cytokines [J]. Scientific World J, 2012, 756357.
- [9] 马怡然, 郭大文, 孙伟, 等. 小胶质细胞的活化对其A β 吞噬能力的影响[J]. 解剖科学进展(MA Y R, GUO D W, SUN W, et al. The effect of microglia cells activation on their phagocytic ability of β -amyloid protein [J]. Progress of Anatomical Sciences), 2010, 16(1): 39-41,44.
- [10] HENENKA M T, SASTRE M, DUMITRESCU-OZIMEK L, et al. Focal glial activation coincides with increased BACE1 activation and precedes amyloid plaque deposition in APP[V717I] transgenic mice [J]. J Neuroinflammation, 2005, 2: 22.
- [11] 张军, 柯开富, 邱一华, 等. 神经炎症在阿尔茨海默病发病机制中的作用[J]. 南通大学学报(ZHANG J, KEE K F, QIU Y H, et al. Role of neuroinflammation in pathogenesis of Alzheimer's disease [J]. Journal of Nantong University), 2012, 32(1): 44-9.
- [12] TOWM T, NIKOLIC V, TAN J. The microglial 'activation' continuum: from innate to adaptive responses [J]. J Neuroinflammation, 2005, 2: 24.
- [13] KUHN P, WANG H, DISLICH B, et al. ADAM10 is the physiologically relevant, constitutive α -secretase of the amyloid precursor protein in primary neurons [J]. EMBO J, 2010, 29(17): 3020-32.
- [14] WEI Z, YU D, BI Y, et al. A disintegrin and metalloprotease 17 promotes microglial cell survival via epidermal growth factor receptor signalling following spinal cord injury [J]. Mol Med Rep, 2015, 12(1): 63-70.
- [15] BLOBEL CP. ADAMs: key components in EGFR signalling and development [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2005, 6(1): 32-43.
- [16] Edwards D R, Handsley M M, Pennington C J. The ADAM metalloproteinases [J]. Mol Aspects Med, 2008, 29(5): 258-89.
- [17] SAHIN U, WESKAMP G, KELLY K, et al. Distinct roles for ADAM10 and ADAM17 in ectodomain shedding of six EGFR ligands [J]. J Cell Biol, 2004, 164(5): 769-79.
- [18] ALTHOFFI K, REDDY P, VOLTZ N, et al. Shedding of interleukin-6 receptor and tumor necrosis factor α . Contribution of the stalk sequence to the cleavage pattern of transmembrane proteins [J]. Eur J Biochem, 2000, 267(9): 2624-31.
- [19] REDDY P, SLACK J L, DAVIS R, et al. Functional analysis of the domain structure of tumor necrosis factor- α converting enzyme [J]. J Biol Chem, 2000, 275(19): 14608-14.
- [20] SASTRE M, WALTER J, GENTLEMAN S M. Interactions between APP secretases and inflammatory mediators [J]. J Neuroinflammation, 2008, 5(1): 1-11.
- [21] NUTTALL R K, SILVA C, HADER W, et al. Metalloproteinases are enriched in microglia compared with leukocytes and they regulate cytokine levels in activated microglia [J]. Glia, 2007, 55(5): 516-26.
- [22] WETZEL S, SEIPOLD L, SAFTING P. The metalloproteinase ADAM10: a useful therapeutic target? [J]. Biochimica et Biophysica Acta-Mol Cell Res, 2017, 1864(11): 2071-81.
- [23] COLOMBO A, WANG H, KUHN P H, et al. Constitutive α - and β -secretase cleavages of the amyloid precursor protein are partially coupled in neurons, but not in frequently used cell lines [J]. Neurobiol Dis, 2013, 49: 137-47.
- [24] STEIN T D, ANDERS N J, DECARLI, et al. Neutralization of transthyretin reverses the neuroprotective effects of secreted amyloid precursor protein (APP) in APPSW mice resulting in tau phosphorylation and loss of hippocampal neurons: support for the amyloid hypothesis [J]. J Neurosci, 2004, 24(35): 7707-17.
- [25] GRALLE M, BOTELHO M G, WOUTERS FS. Neuroprotective secreted amyloid precursor protein acts by disrupting amyloid precursor protein dimers [J]. J Biol Chem, 2009, 284(22): 15016-25.
- [26] SKOVRONSKY D M, FATH S, LEE V M, et al. Neuronal localization of the TNF α converting enzyme (TACE) in brain tissue and its correlation to amyloid plaques [J]. J Neurobiol, 2001, 49(1): 40-6.
- [27] COMBS C K, KARLO J C, KAO S C, et al. beta-Amyloid stimulation of microglia and monocytes results in TNF α -dependent expression of inducible nitric oxide synthase and neuronal apoptosis [J]. J Neurosci, 2001, 21(4): 1179-88.