

• 讲座与综述 •

低温在阿尔茨海默病发病中作用的研究现状

杨永录 卜舒

[中图分类号] R 749.16 [文献标识码] A doi:10.3969/j.issn.1003-9198.2014.08.021

老年人处于低温环境中体温调节功能障碍时可引起原发性低温,但在临床上有许多病理性原因也能引起继发性低温,或者低温能引起和促进某些疾病的发生^[1-4]。动物实验和临床研究证明,低体温能导致 Tau 蛋白过度磷酸化,引起和促进阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)的发生^[1]。本文简要讨论不同原因引起的低温在 AD 发病中的作用及其机制的研究进展。

1 低温是引起 AD 发病的危险因素

正常人体温度(下简称体温)在 36~37.5℃,体温低于正常水平称为低温。临床上一般将低温分为轻度低温(33~35℃)、中度低温(28~32℃)、深度低温(17~27℃)和超深低温(2~16℃)。目前认为低体温是引起和促进 AD 发展的一个危险因素^[1]。

1.1 衰老引起低温与 AD 在热或冷的环境中,老年人不能像年轻人那样有效地将体温维持在正常水平。许多因素能引起老年人体温降低,其中包括基础代谢率降低和肌肉质量下降而引起战栗性产热减少,疾病引起的机体虚弱也能引起继发性低温^[2-3]。老年人在正常衰老过程中和患有慢性病状态下,其体温调节功能降低,特别是低温环境能严重影响老年人的体温恒定^[2-4]。所以,继发性低温是老年人入院时最常见的症状。临床研究发现,老年人在家里低温的发病率大约为 10%,而住院病人中则高达 34%^[1,4]。衰老是引起 AD 发病的重要因

素,在衰老过程中低温的发生率明显升高,这也是引起 AD 发病的一个危险因素^[1,5]。

1.2 糖尿病引起低温与 AD 糖尿病是老年人常见病之一,表现为高血糖继发的蛋白和脂肪代谢异常的全身性疾病,其中主要是糖耐量受损、胰岛素抵抗以及与衰老有关的胰岛素分泌相对降低。>65 岁的老年人中约有 40% 患有糖耐量和胰岛素抵抗受损,>80 岁的老年人中有 50% 有糖耐量异常和胰岛素抵抗^[1]。大脑中胰岛素信号通路的寿命和大脑老化有关。因为胰岛素的生物效应是通过一系列的蛋白激酶与磷酸酶的级联反应实现的,其信号通路中任何环节异常均可导致胰岛素生物效应下降,产生胰岛素抵抗,引发代谢综合征及糖尿病而严重危害老年人身体健康。越来越多的证据表明,AD 与胰岛素信号通路发生障碍有关^[6]。AD 大脑显示胰岛素和胰岛素受体水平出现异常,这些异常可能降低大脑局部葡萄糖的代谢。在人体研究发现,糖尿病患者的 AD 发病率较高,低温是糖尿病患者的常见症状,糖尿病患者伴有低温是促进 AD 发病的一个重要因素^[1]。

1.3 麻醉引起低温与 AD 在外科手术中,局部或全身麻醉能使患者出现轻度低温。低温也已经作为临床进行脑保护的一种治疗手段,因为低温不仅可通过减少能量消耗、调节脑血流、抑制兴奋性氨基酸与炎性因子以及减少钙离子内流等多方面保护神经系统,而且低温也能通过抑制神经元凋亡和炎症反应,改善细胞代谢和稳定微血管结构,促进创伤性脑损伤、中枢神经系统缺血和其他器官病理生理性伤害的恢复和改善患者的预后。

然而,老年患者全身麻醉术后,常出

现认知及注意力障碍是术后危害性很严重的精神并发症之一,其特点是发病急,常在数小时或数日内突然发生情绪波动,产生幻觉与错觉,并且易激惹和躁动不安。这种变化称为术后认知障碍或术后谵妄的一种急性精神混乱,有些患者的症状会持续几个月或几年^[7]。年龄>65 岁的患者发生术后认知障碍是年轻人的 2~10 倍。虽然随着年龄的增长出现这些症状的风险增加,而中年患者术后也会出现持续几个月的术后认知功能障碍^[8-9]。因此,人们认为麻醉能促进长期认知紊乱和老年痴呆的发展^[8-9]。最近的一些临床前研究表明,吸入麻醉剂引起低温能直接或间接地促进 AD 的发生和发展^[9-10]。

1.4 其他因素引起低温与 AD 低温分为原发性和继发性低温。虽然原发性低温,其体温调节功能正常,但在冷环境中仍能出现低温(例如,将机体浸入冷水中引起的低温反应)。继发性低温是由于体温调节功能出现故障,当环境温度稍微降低就能引起低温反应,这种现象在老年人中占的比例较大,高龄者尤甚。许多疾病都可以引起继发性低温症,如重度感染(败血症引起低温症是预后不良的征兆)、心血管疾病、神经或内分泌疾病、精神疾病和营养不良;许多药物可影响体温调节功能,如麻醉药、安眠药、抗焦虑药、抗抑郁药;另外,心肌梗死、脑卒中、半身不遂、帕金森病、甲状腺功能减退和垂体功能减退也能引起继发性低温,这些原因引起的继发性低温能加速 AD 的发生和发展^[1,11]。

2 低温促进 AD 发病的机制

AD 的主要病理特征是海马和皮层神经元退行性变化,有 2 个标志性的病理

基金项目:四川省教育厅科研基金资助项目(12ZB204);成都医学院学科建设项目专项经费资助(CYXK2012003)

作者单位:610500 四川省成都市,成都医学院
体温与炎症四川省高校重点实验室

改变,即老年斑和神经元内出现神经原纤维缠结(neurofibrillary tangle, NFT)。老年斑是细胞外 β 淀粉样蛋白沉积所致,而细胞内 tau 蛋白过度磷酸则是形成神经细胞内 NFT 的结构基础^[12]。

2.1 低温与淀粉样前体蛋白(APP)的代谢 随着对 AD 的深入研究,关于 AD 发生的 β -淀粉样蛋白假说得到了进一步的发展,越来越多的证据显示 β -淀粉样蛋白可能是 AD 发生的原发性病理因子。 β -淀粉样蛋白是 APP 的分解产物,APP 是一种分泌型糖蛋白。在 AD 中,APP 代谢受到 A β 和羧基端片段水平变化的影响^[12]。

Planel 等^[13]用水合氯醛麻醉小鼠引起的低温中,虽然过磷酸化 Tau 蛋白的水平明显增加,但 APP 水平或 APP 羧基端片段不仅没有改变,而且在麻醉过程中内源性 A β 1-40 和 A β 1-42 的水平也没有改变。然而,Bianchi 等^[14]用异氟烷或氟烷麻醉基因突变型 APP 小鼠发现,脑淀粉样蛋白沉积增多。在控制小鼠体温以防止出现低温时,证明麻醉对淀粉样蛋白生成作用是由于麻醉本身所引起。所以认为,急性低温对淀粉样蛋白通路没有影响。

2.2 低温对 tau 蛋白过磷酸化的影响

tau 蛋白是微管相关蛋白家族的成员之一,在神经系统的发育和维持微管功能等方面具有重要作用。tau 蛋白主要分布在大脑的额叶、颞叶、海马和内嗅区神经元以及外周神经的轴突内,其轴突的结合力比胞体或树突的结合力强。胞核内的 tau 蛋白主要定位于核仁,而胞质中 tau 蛋白的分布则比较分散。正常情况下磷酸化的 tau 蛋白分布在神经元突起,而非磷酸化的 tau 蛋白分布在胞体。正常成熟脑中 tau 蛋白分子含 2~3 个磷酸基,这些磷酸可分布于 tau 蛋白的不同位点。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,维持微管稳定性。

AD 患者脑中 tau 蛋白则异常过度磷酸化,每分子 tau 蛋白可含 5~9 个磷酸基,并丧失正常生物功能。大脑 tau 蛋白过度磷酸化后与微管蛋白的结合力仅是正常 tau 蛋白的 1/10,也失去其促进微管

装配形成的生物学功能,并丧失维持微管稳定作用。所有磷酸化的位点都是丝氨酸残基和苏氨酸残基以及酪氨酸残基。在体内和离体实验发现,低温能明显引起 tau 蛋白过度磷酸化反应。

2.2.1 低温孵育离体小鼠脑片引起 tau 蛋白过度磷酸化:在 37 °C 中孵育小鼠脑片时,tau 蛋白磷酸化保持正常水平。然而,在 23 °C 中孵育 5 min 后,tau 蛋白迅速发生过度磷酸化,较 37 °C 对照组提高 200%,在 30 min 和 1 h 后,分别较对照组提高达 500% 和 1000%^[15]。进一步研究发现,将孵育小鼠脑片的温度从 37 °C 迅速降低到 20~30 °C 之间时,tau 蛋白过度磷酸化发生在 pS199、AT8、pT2-31 和 pS422 位点。在 15 °C 中孵育小鼠脑片,tau 蛋白磷酸化仍然高于 37 °C;但在 1 °C 中孵育,所有酶活性都停止时,tau 蛋白不出现过度磷酸化^[15]。在 30 °C 中培育神经母细胞瘤细胞和神经元细胞原代培养,也出现 tau 蛋白过度磷酸化现象^[1]。

2.2.2 冷水游泳引起低温导致 tau 蛋白过度磷酸化:啮齿动物冷水游泳能引起体温快速降低反应,同时导致脑内 tau 蛋白过度磷酸化,主要部位是 pS199、AT8、pS262 和苏氨酸 231/丝氨酸 235 位点^[16]。在温水中游泳则不引起 tau 蛋白磷酸化^[15],因而有人提出这种现象可能与冷水游泳引起的应激刺激有关^[16]。但 Wu 等^[17]证明,在切除肾上腺后,冷水游泳也能引起 tau 蛋白过度磷酸化,所以,认为是低温引起 tau 蛋白过度磷酸化,而非应激所致。

2.2.3 糖代谢变化引起低温导致 tau 蛋白过度磷酸化:饥饿、胰岛素过量或脱氧葡萄糖均能降低糖代谢和引起低温,导致 tau 蛋白过度磷酸化。如小鼠在饥饿状态下血糖降低,伴有低温和 tau 蛋白过度磷酸化^[15]。禁食引起饥饿不仅减少了热量,而且由于禁食引起血糖降低使胰岛素分泌过量,促进糖原合成,抑制糖原分解和糖异生,进一步使血糖降低,导致低温引起 tau 蛋白 pS199、AT8、AT100、pT231、pS262、pS396、pS404 和 pS422 位点过度磷酸化^[15]。2-脱氧-D-葡萄糖是一种葡萄糖类似物,它能抑制糖酵解和氧化代谢。有趣的是脱氧葡萄糖也能引

起小鼠体温降低和 tau 蛋白 pS199、AT8、pT231、pS262、pS396、pS404、pS422 位点过度磷酸化^[15]。因此,糖代谢降低可引起低温反应,导致 tau 蛋白过度磷酸化。

2.2.4 糖尿病引起低温导致 tau 蛋白过度磷酸化:低温是糖尿病患者严重低血糖的常见症状。糖尿病导致低温的危险性比非糖尿病高 6 倍,这可能与自主神经、周围神经和血管等病变有关^[1]。低血糖患者 50% 出现低温症状,所以低温可作为诊断低血糖的重要指标,以便迅速给予葡萄糖治疗。在实验性糖尿病中发现,其低温与产热异常有关,如非战栗性产热减少和缺乏战栗性产热活动^[1]。在啮齿动物中,1 型和 2 型糖尿病均能引起 tau 蛋白过度磷酸化^[18-20]。糖尿病患者大脑中 tau 蛋白磷酸化也升高^[21]。为了探讨 1 型糖尿病的 tau 蛋白过度磷酸化的机制,Tjalve 给小鼠注射链脲霉素引起实验性糖尿病证明,可通过 2 种机制导致 tau 蛋白 pS199、AT8、AT180 (pS231)、pS262、pS356、PHF-1 (pS396/404)、pS400 和 pS422 位点过度磷酸化。其一,是链脲霉素能直接进入胰岛 B 细胞并进行广泛破坏,使其核内形态改变和染色体凝集,而影响了糖/能量代谢引起低温;其二,是链脲霉素能抑制丝氨酸/苏氨酸磷酸酶活性,可导致 tau 蛋白或神经细丝过度磷酸化并向胞体聚集^[18]。

2.2.5 麻醉引起低温导致 tau 蛋白过度磷酸化:通常麻醉药物均能显著影响自主性体温调节功能。吸入和静脉注射麻醉药以及阿片类药物均能显著降低血管收缩和战栗性产热的阈值而导致低温^[22]。在临床手术麻醉过程中,由于麻醉药物能抑制体温调节功能,患者暴露于中性环境温度的手术室中可引起体温降低。老年人皮下组织较少,通过血管收缩和战栗产热调节体温的能力也较年轻人降低,因而在手术中更容易出现低温反应^[1]。免疫印迹、ELISA 和免疫组织化学方法分析证明,水合氯醛、戊巴比妥钠或异氟烷麻醉小鼠能引起 tau 蛋白 pS199、AT8、TG3 (pT231)、MC6 (pS235)、pS262 和 pS422 位点过度磷酸化,当其体温恢复到正常水平后,tau 蛋白过度磷酸化也恢复到正常水平,证明 tau 过度磷酸

化不是麻醉药所致,而是低温所致^[13]。tau 蛋白磷酸化对温度降低非常敏感,小鼠体温低于 37℃时,体温每降低 1℃,tau 蛋白磷酸化增加 80%^[13]。目前有人将麻醉引起的低温也作为体内 tau 蛋白过度磷酸化的动物实验模型^[23-24]。

蛋白磷酸化由蛋白激酶和蛋白磷酸酶的平衡来调节,这种平衡破坏则导致 tau 蛋白过磷酸化及进一步的病理作用。因为蛋白激酶是一类催化蛋白质磷酸化反应的酶,而蛋白磷酸酶是一类促进已经磷酸化的蛋白质分子发生去磷酸化反应的酶,二者共同构成了磷酸化和去磷酸化这一重要的蛋白质活性的开关系统。tau 蛋白通过蛋白磷酸酶-2A (protein phosphatase 2A, PP-2A) 去磷酸化,部分也可被 PP-1、PP-2B 和 PP-5 去磷酸化。磷酸酶活性下调,特别是 PP-2A 活性下调,可导致 tau 蛋白过度磷酸化。低温时 tau 蛋白过度磷酸化主要是由于低温直接抑制了 PP-2A 所致^[13,18],动物冬眠伴随的低温对 PP-2A 也有抑制作用^[25-26]。

2.3 研究低温引起 tau 蛋白磷酸化的意义 许多因素引起低温能导致 tau 蛋白过度磷酸化。所以,研究不同因素引起的低温与 tau 蛋白过度磷酸化的关系有重要的意义。例如,脂多糖引起的炎症能促进 tau 蛋白磷酸化和 AD 转基因模型,因为脂多糖也能引起低温^[27-28]。热休克可导致大鼠 tau 蛋白去磷酸化,随后出现过度磷酸化,而且通常热休克后也能出现低温反应^[29]。另外,不仅束缚应激引起的低温也可导致 tau 蛋白过度磷酸化^[30],而且 1-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氢吡啶 (1-Methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine, 一种能够破坏大脑黑质中多巴胺神经细胞,引起类似于帕金森病的神经毒素) 也有类似的作用^[31]。列举这些例子不仅说明低温是引起 tau 蛋白过度磷酸化的主要原因,是引起和促进 AD 发生的重要因素,而且也说明低温是一种常见的现象,应该引起人们的重视。因此,在分析 tau 蛋白磷酸化时,应该同时分析体温变化的情况,以排除因实验操作或者实验环境因素引起的 tau 蛋白磷酸化变化。同样,在神经细胞培养过程中,应采取措施以防止实验环境温度

低于实验所要求的温度而影响实验结果。

3 结语

总之,自从 Holtzman 和 Simon 首次提出低体温是 AD 发病的风险因素以来,许多研究都支持这种假说,包括老年人耐受寒冷能力降低(例如,夏季穿毛衣,冬季需要温暖的室温环境)^[4]。机体在长期低温状态下,甚至微小的温度变化都能给 AD 患者带来危险。由于 AD 的主要病理改变之一是神经元内出现 NFT,而神经元内 tau 蛋白过度磷酸化则是形成神经细胞内 NFT 的结构基础^[12]。许多研究表明,低体温能导致 tau 蛋白高度磷酸化,可以引起和加重 AD 的发生^[1]。所以,目前认为低体温是促进 AD 发病的一个危险因素,但在临床研究中,低温并没有被作为变量进行统计分析。如本文所述,低温能促进 tau 蛋白过度磷酸化的文献都是来自于动物实验的研究结果,tau 蛋白病理与衰老、认知障碍、AD 和记忆力丧失有密切的相关性^[12,32]。相关研究要在人体进一步的进行,来证明低温对人体 AD 的发生及发展的影响。

[参考文献]

- [1] Whittington RA, Papon MA, Chouinard F, et al. Hypothermia and Alzheimer's disease neuropathogenic pathways[J]. *Curr Alzheimer Res*, 2010, 7(8):717-725.
- [2] Blatteis CM. Age-dependent changes in temperature regulation—a mini review[J]. *Gerontol*, 2012, 58(4):289-295.
- [3] Terrien J, Ambid L, Nibbelink M, et al. Non-shivering thermogenesis activation and maintenance in the aging gray mouse lemur (*Microcebus murinus*) [J]. *Exp Gerontol*, 2010, 45(6):442-448.
- [4] Waalen J, Buxbaum JN. Is older colder or colder older? The association of age with body temperature in 18,630 individuals [J]. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 2011, 66(5):

487-492.

- [5] Holtzman A, Simon EW. Body temperature as a risk factor for Alzheimer's disease[J]. *Med Hypotheses*, 2000, 55(5):440-444.
- [6] Cole GM, Frautschy SA. The role of insulin and neurotrophic factor signaling in brain aging and Alzheimer's Disease[J]. *Exp Gerontol*, 2007, 42(1/2):10-21.
- [7] Planel E, Richter KE, Nolan CE, et al. Anesthesia leads to tau hyperphosphorylation through inhibition of phosphatase activity by hypothermia [J]. *J Neurosci*, 2007, 27(12):3090-3097.
- [8] Xie Z, Tanzi RE. Alzheimer's disease and post-operative cognitive dysfunction [J]. *Exp Gerontol*, 2006, 41(4):346-359.
- [9] Baranov D, Bickler PE, Crosby GJ, et al. Consensus statement: First International Workshop on Anesthetics and Alzheimer's disease[J]. *Anesth Analg*, 2009, 108(5):1627-16230.
- [10] Eckenhoff RG, Eckenhoff MF. Anesthesia, amyloid and Alzheimer's[J]. *Cellsci Rev*, 2007, 4(2):78-96.
- [11] Tan ZS, Vasan RS. Thyroid function and Alzheimer's disease[J]. *J Alzheimers Dis*, 2009, 16(3):503-507.
- [12] Paterson RW, Toombs J, Slattery CF, et al. Biomarker modelling of early molecular changes in Alzheimer's disease [J]. *Mol Diagn Ther*, 2014, 18(2):213-227.
- [13] Planel E, Richter KEG, Nolan CE, et al. Anesthesia leads to tau hyperphosphorylation through inhibition of phosphatase activity by hypothermia [J]. *J Neurosci*, 2007, 27(12):3090-3097.
- [14] Bianchi SL, Tran T, Liu C, et al. Brain and behavior changes in 12-month-old Tg2576 and nontransgenic mice exposed to anesthetics [J]. *Neurobiol Aging*, 2007, 29(7):

- 1002-1010.
- [15] Planel E, Miyasaka T, Launey T, et al. Alterations in glucose metabolism induce hypothermia leading to tau hyperphosphorylation through differential inhibition of kinase and phosphatase activities; implications for Alzheimer's disease[J]. *J Neurosci*, 2004, 24(10): 2401-2411.
- [16] Feng Q, Cheng B, Yang R, et al. Dynamic changes of phosphorylated tau in mouse hippocampus after cold water stress [J]. *Neurosci Lett*, 2005, 388(1): 13-16.
- [17] Wu FY, Feng Q, Cheng M, et al. The activation of excitatory amino Acid receptors is involved in tau phosphorylation induced by cold water stress[J]. *Prog Biochem Biophys*, 2010, 37(5): 510-516.
- [18] Planel E, Tatebayashi Y, Miyasaka T, et al. Insulin dysfunction induces in vivo tau hyperphosphorylation through distinct mechanisms[J]. *J Neurosci*, 2007, 27(50): 13635-13648.
- [19] Jolivald CG, Lee CA, Beiswenger KK, et al. Defective insulin signaling pathway and increased glycogen synthase kinase-3 activity in the brain of diabetic mice; parallels with Alzheimer's disease and correction by insulin[J]. *J Neurosci Res*, 2008, 86(15): 3265-3274.
- [20] 樊华. 糖尿病与阿尔茨海默病发病风险相关性研究进展[J]. *实用老年医学*, 2010, 24(4): 342-345.
- [21] Liu Y, Liu F, Grundke-Iqbal I, et al. Brain glucose transporters, O-GlcNAcylation and phosphorylation of tau in diabetes and Alzheimer's disease [J]. *J Neurochem*, 2009, 111(1): 242-249.
- [22] Taguchi A, Kurz A. Thermal management of the patient: where does the patient lose and/or gain temperature? [J]. *Curr Opin Anaesthesiol*, 2005, 18(6): 632-639.
- [23] Planel E, Bretteville A, Liu L, et al. Acceleration and persistence of neurofibrillary pathology in a mouse model of tauopathy following anesthesia[J]. *FASEB J*, 2009, 23(8): 2595-2604.
- [24] Planel E, Krishnamurthy P, Miyasaka T, et al. Anesthesia-induced hyperphosphorylation detaches 3-repeat tau from microtubules without affecting their stability in vivo[J]. *J Neurosci*, 2008, 28(48): 12798-12807.
- [25] Su B, Wang X, Drew KL, et al. Physiological regulation of tau phosphorylation during hibernation[J]. *J Neurochem*, 2008, 105(6): 2098-2108.
- [26] MacDonald JA, Storey KB. The effect of hibernation on protein phosphatases from ground squirrel organs [J]. *Arch Biochem Biophys*, 2007, 468(2): 234-243.
- [27] Saia RS, Carnio EC. Thermoregulatory role of inducible nitric oxide synthase in lipopolysaccharide-induced hypothermia[J]. *Life Sci*, 2007, 79(15): 1473-1478.
- [28] Adachi YU, Obata Y, Suzuki K, et al. Nafamostat prevents hypothermia and improves survival time after administration of lipopolysaccharide in a mouse surgical model [J]. *J Anesth*, 2009, 23(4): 624-627.
- [29] Leon LR, DuBose DA, Mason CW. Heat stress induces a biphasic thermoregulatory response in mice [J]. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2005, 288(1): R197-R204.
- [30] Rissman RA, Lee KF, Vale W, et al. Corticotropin-releasing factor receptors differentially regulate stress-induced tau phosphorylation [J]. *J Neurosci*, 2007, 27(24): 6552-6562.
- [31] Duka T, Rusnak M, Drolet RE, et al. Alpha-synuclein induces hyperphosphorylation of Tau in the MPTP model of parkinsonism [J]. *FASEB J*, 2006, 20(13): 2302-2312.
- [32] 于方, 拓西平, 吕建勇. 侧脑室注射 β -淀粉样蛋白制作阿尔茨海默病样大鼠模型 [J]. *实用老年医学*, 2010, 24(6): 475-478.

(收稿日期:2014-01-17)