

·特约综述·

氧化应激在阿尔茨海默病病理发生中的作用机制与干预策略

刘 军

(中山大学孙逸仙纪念医院神经内科,广东 广州 510120)



作者简介:中山大学孙逸仙纪念医院神经内科教授,主任医师,留美博士后,博士生导师。中华医学会神经病学分会痴呆与认知障碍学组委员,中华医师协会神经病学分会认知障碍专业委员会委员,中国医疗保健国际交流促进会中老年医疗保健分会委员,广东省基层医药学会神经内科专业委员会主任委员,广东省康复学会神经康复学会痴呆与认知障碍专业委员会主任委员,国家自然科学基金面上及重点项目评审专家。主持国家自然科学基金面上项目4项,省部级课题及广州市协同创新重大专项等共11项,并参与国家“十五”和“十三五”重点研发等项目。近年来以第一或通信作者发表的SCI收录论文40余篇,2015年受邀担任《Bio Med Res Int》专刊客座主编。主编专著3部,受邀参编国外专著1部。目前主要从事神经退行性疾病、放射性神经损伤的病理发生机制,以及药物干预和治疗研究。E-mail:liujun6@mail.sysu.edu.cn。

摘要:阿尔茨海默病(AD)是常见的神经变性病,氧化应激在AD早期病理发生和发展中起到了重要的作用。在老化、早老素1(PS1)突变及环境等共同作用下,脑内出现过度氧化应激,促进 β -淀粉样蛋白(A β)的形成,A β 可能为氧化应激作用下的适应性产物。氧自由基产生与清除的失衡还可导致海马神经元自噬功能异常,诱导细胞从自噬到死亡,其可能的机制是Notch1通路失调。Notch1通路的失调导致机体抗氧化应激能力丧失和淀粉样前体蛋白(APP)剪切增多、A β 沉积,最终引起AD病理的发生与发展。深入研究其潜在机制,将为今后通过调控氧化应激反应、精细调节自噬平衡、特异性调控Notch1剪切和适时使用 γ -分泌酶调节剂等多靶点联合防治AD提供有力的理论支持和临床治疗新思路。

关键词:阿尔茨海默病;氧化应激;自噬;Notch1

中图分类号:R741.02

文献标志码:A

文章编号:1672-3554(2020)05-0661-08

Mechanism and Intervention Strategies of Oxidative Stress in the Pathogenesis of Alzheimer's Disease

LIU Jun

(Department of Neurology, Sun Yat-sen Memorial Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510120, China)

Correspondence to: LIU Jun, E-mail:liujun6@mail.sysu.edu.cn

Abstract: Alzheimer's disease (AD) is a common form of neurodegenerative disease. Oxidative stress plays an important role in the pathogenesis and development of AD. Researchers found that aging, the mutation of presenilin 1 (PS1) gene and environment may lead to excessive oxidative stress, and then promote the formation of A β in the brain. At the same time, the imbalance between the production and elimination of oxygen radicals can lead to the abnormal autophagy function in hippocampal neurons and induce cells from autophagy to death. The possible mechanism is that the disorder of

收稿日期:2020-03-02

基金项目:国家自然科学基金(81870836);广东省自然科学基金(2020A1515010210)

Notch 1 pathway leads to the loss of antioxidant capacity and the increase of β -amyloid ($A\beta$) deposition, which result in the development of AD pathology. Further study of its underlying mechanism will provide strong theoretical support for multiple therapeutic treatments of AD including the regulation of oxidative stress response and autophagy balance through the Notch 1 pathway as well as timely use of γ -secretase modulator.

Key words: alzheimer's disease; oxidative stress; autophagy; notch1

[J SUN Yat-sen Univ (Med Sci), 2020, 41(5): 661-668]

阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 是一种以认知功能减退、生活功能下降及精神行为异常为临床表现的神经系统退行性疾病,是老年期痴呆的最常见类型。随着社会老龄化现象日益严重,AD 的患病率明显升高:目前美国 65 岁以上的老年人中约有 580 万阿尔茨海默病患者,到 2050 年可能会增加到 1 380 万。AD 不仅降低患者的生活质量,也给社会、家庭带来沉重的负担。据调查,2019 年美国阿尔茨海默病总费用约为 2 440 亿美元,2020 年预计增加至 3 050 亿美元^[1]。我国现有痴呆患者约 950 万,是世界上痴呆人数最多的国家,在我国,AD 也已经成为一个很严峻的医疗和社会问题^[2]。AD 其病因和发病机制不详,目前仍没有有效防治 AD 的方法。多年来的主流观点一直认为 β -淀粉样蛋白 (β -amyloid, $A\beta$) 和 tau 蛋白在 AD 的病理发生和发展中起了核心作用。沉积在脑组织的 $A\beta$ 和 tau 蛋白过度磷酸化引起的 NFT 具有神经毒性,可以直接影响神经元的活性和功能,也可以激活小胶质细胞和星形胶质细胞引起炎症反应,还可以促进 ROS 的产生^[3-4]。多数针对 $A\beta$ 清除的药物研究在临床试验中没有达到预期治疗效果而宣告失败^[5],这提示我们应重视 $A\beta$ 形成的上、下游机制,以期探寻早期干预的手段。越来越多的研究发现氧化应激在 AD 的病理发展过程中发挥了重要作用。氧化应激与多条信号通路相关,包括 NRF2/ARE、PI3K/Akt/mTOR、Notch1 信号通路等^[6-8]。Notch1 信号通路调控着记忆的形成、巩固,同时也与氧化应激有着密切关系。本综述拟阐述氧化应激在 AD 病理发生中的作用,并深入探讨可能的机制,尤其是 Notch1 信号通路在氧化应激中的重要作用和其对 $A\beta$ 形成的影响,为 AD 的防治提供新的思路和手段。

1 氧化应激是 AD 病理发生及发展的重要因素

氧化应激与 AD 发病机制之间的关系学说众

多,但是目前仍无定论。与年龄相关的氧化应激损伤假说目前受到越来越多关注,过度氧化应激产生的自由基,尤其是活性氧簇 (reactive oxygen species, ROS) 的累积可造成细胞核、线粒体、细胞膜、细胞质、核酸及蛋白的损伤。

目前越来越多的证据认为氧化应激是 AD 等神经变性疾病中发挥神经毒性的主要因素。首先,大脑氧耗量大,抗氧化物质相对缺乏,加上大脑脂质含量丰富,神经元细胞膜含大量易氧化的不饱和脂肪酸,这些特征使大脑特别容易受到自由基损伤^[9];其次,许多 AD 发病的危险因素已证实可以导致氧化应激的增强,提示氧化应激与 AD 发病密切相关。如年龄是 AD 最主要危险因素,而自由基对机体损伤可随时间累积^[10]。AD 相关致病基因 [包括淀粉样前体蛋白 (amyloid precursor protein, APP)、早老素 1 (presenilin 1, PS1)、PS2 及 APOE 基因] 突变小鼠脑内氧化应激明显增强^[11],AD 的其他危险因素,如缺氧、创伤、中风、高血压、糖尿病、高胆固醇血症等都可促进 ROS 产生。反之,利于减少氧化应激的生活方式,比如摄入维生素 C、E 则可降低 AD 的发生率^[12];再次,有研究进一步证明,氧化应激不仅可激活 AD 相关通路,还可促进 AD 病理的形成。如氧化应激可引起 APP/PS1 转基因鼠 $A\beta$ 沉积、tau 蛋白过度磷酸化、NFT 形成,抗氧化剂如维生素 E 的作用则相反。此外,APP 突变鼠与 SOD 敲除鼠杂交,淀粉斑沉积增加^[13-15]。由此可见,自由基假说很好地解释了 AD 的异质性,囊括了年龄、遗传及后天因素的作用^[10],为探讨 AD 的病理发生机制提供了方向。

我们的研究发现,ROS 清除剂依达拉奉 (Edaravone) 可保护 H_2O_2 诱导的海马神经元 HT22 细胞损伤^[16]。我们观察到 H_2O_2 作用 24 h 后,HT22 细胞活力下降,死亡率增加,同时细胞内的 ROS 含量增加,抗凋亡蛋白 Bcl-2 表达下调,促凋亡蛋白 Bax 表达上调。而加入自由基清除剂 Edaravone 干预后,明显减轻了 H_2O_2 所致的细胞氧化损伤,胞

内 ROS 含量降低, Bcl-2/Bax 蛋白表达逆转。在体实验证明, Edaravone 可保护 A β 1-40 诱导痴呆模型鼠脑内的海马 CA1 神经元钙离子超载, 而清除 A β 并没有保护作用。此外 Edaravone 亦改善了动物的学习、记忆功能, 同时乙酰胆碱阳性细胞及海马胆碱能含量也有明显升高^[17-18]。

以上研究证据均提示氧化应激在 AD 发病中的重要地位, 但氧化应激是如何导致 AD 的病理发生, 氧化应激与 AD 的病理标记物有何种关系均有待进一步研究。

2 氧化应激诱导海马神经元死亡

氧化还原状态失调, 自噬功能紊乱, 可诱发或激活多个引起神经退行性病变的相关通路, 是 AD 早期状态的重要启动因素^[19-20]。Nixon 等^[21]用电镜发现, 在 AD 患者脑内特别是营养不良的神经突起中存在大量自噬囊泡, 而且 APP 转基因鼠脑内营养障碍的神经突起中也有广泛而显著的自噬囊泡聚集。在 AD 早期甚至是轻度认识损害阶段, 由于突变、蛋白质的损伤和聚集诱发的自噬激活, 导致反应性的自噬体过度形成, 是机体试图清除异常蛋白质的生理性调控, 此时表现为自噬体增加可以作为代偿机制起到保护性的作用。由于溶酶体的作用, 自噬循环快速进行使自噬体很快被代谢降解, 所以正常情况下并不容易检测到自噬体。但是如果这种状态持续存在, 或者再合并溶酶体功能异常, 可出现自噬体数量异常。如 AD 患者脑内会出现 Caspase 等蛋白介导的 Beclin-1 蛋白剪切, 随之 Beclin-1 的表达水平下降而抑制自噬的激活, 此时特征为自噬体异常减少, 异常折叠蛋白的水平增加。在 AD 的晚期, 常常表现为自噬小泡的过剩, 这可能同溶酶体降解功能下降有关^[22]。

氧化应激可以导致脑内神经元出现自噬, 内源性和外源性刺激所产生的 ROS 可以启动自噬, 如直接添加 H₂O₂ 以及一些炎症性疾病中产生的肿瘤坏死因子等均可刺激细胞产生自噬。细胞通过自噬能够抵抗 ROS 毒性而产生保护作用, 随着体内 ROS 的不断累积, 机会会补偿性地提升自噬水平来降解 ROS。但是如果细胞内 ROS 水平超出自噬所能承受的范围, 即通过自噬仍不能清除过量的 ROS, 则会引起细胞过度自噬, 最终导致细胞自

噬性死亡或者向凋亡进一步转化^[23-24]。

有研究发现急性应激后, 细胞内 ROS 水平增高, 海马 CA1 区神经元自噬被高度激活, 并于核周出现大量的自噬体^[25], 尽管有少量老年斑存在, 大部分细胞仍正常, 而当氧化应激逐渐扩散到整个细胞体, 自噬功能失调, 最后出现迟发型的神经元死亡。

我们研究发现, H₂O₂ 作用于海马神经元 HT22 细胞后, 随着自由基作用时间的延长, 自噬小体逐渐增多, LC3-II 的表达也逐渐增加。进一步的在体研究也发现, APP/PS1 转基因小鼠脑组织早期氧化应激明显, 此时并无明显神经元丢失及 A β 沉积等病理改变, 但是海马神经元内已开始检测到自噬现象的发生。随着动物年龄的增长, 其脑内抗氧化应激能力逐渐减弱, AD 神经病理改变则更为明显, A β 沉积增多, 神经元数量减少, 并可检测到神经元内自噬小体的动态改变。由此推测, 氧自由基产生与清除的失衡可能是 AD 早期病理发生以及发展的起始和促进的关键因素, 其可以诱导细胞从自噬到死亡。

3 氧化应激促进脑内 A β 形成

AD 的病理发生与发展是动态进展并同年龄密切相关的, 老年斑以及神经原纤维缠结是其特征性的病理变化。以往的 A β 级联假说认为 A β 是 AD 的根本病因, 神经病理改变、认知功能障碍是 A β 所致损伤的结果。但目前越来越多证据表明, A β 的累积或炎性斑以及神经原纤维缠结并不足以引起神经元的丢失及 AD 的临床表现, 如有研究表明老年斑与神经元的丢失、疾病的严重程度不完全相符, 且可出现于正常老年人脑内, 而某些认知功能障碍患者却无 A β 沉积^[26]。另一个证据是, 目前改善 AD 的治疗主要集中在降低大脑中淀粉样蛋白的水平, 有些此类药物已达到了降低 A β 的目的, 但是并没有改善 AD 症状。因此, 探讨 AD 早期病理发生及发展的推动因素, 从而在临床症状前期进行干预是目前 AD 研究的重中之重^[27]。

有学者提出的针对于 AD 发病机制的“适应性反应假说”表明, A β 聚集可能是大脑对慢性应激刺激产生的适应性反应过程的一部分。这些应激刺激的性质(而不是 A β 的聚集量)构成了晚发型

AD的病理触发因素,决定了其是否能发展到临床AD的阶段,以及可能作为治疗干预的合适靶点^[26],刺激包括氧化应激、炎症反应、代谢失调等,基于大脑的结构、代谢特征,起最主要作用的因素是氧化应激。

研究表明氧化应激在时间与机制上都位于AD早期病理发生的上游。时间上,氧化应激先于典型的神经病理表现。有研究发现,在AD病程中,早期氧化应激水平明显上调,尽管有少量老年斑存在,大部分细胞仍正常,而当氧化应激逐渐扩散到整个细胞体,细胞于24 h内出现凋亡。机制上,氧化还原状态失调可诱发或激活多个引起神经退行性病变的相关通路,是AD早期状态的重要启动因素^[20,28]。更有研究表明,A β 的良好调节对健康脑功能至关重要,A β 不仅与神经元核酸的氧化应激损伤呈负相关,甚至还可保护铁、铜离子引起的神经毒性及脂蛋白氧化应激损伤^[29]。

抗淀粉样蛋白治疗也可能对疾病带来负面影响,清除A β 蛋白累积可能会干扰脑内的稳态,或许还可能加强氧化应激损伤^[19]。如清除A β 治疗AD的药物bapineuzumab的临床研究因为脑水肿的形成而受到限制,而水肿是一种与脑淀粉样血管病高度相关的症状,同时又与氧化应激密切相关。除此之外,适量的A β 在大脑中还能发挥抗氧化的调节作用。这可能是目前去除A β 聚集疗法研究失败的原因^[26]。

4 氧化应激调节 Notch1 信号通路影响 A β 沉积

近年来 Notch 信号通路已经成为细胞内信号通路研究中的热点。Notch1 信号通路调控着记忆的形成、巩固,其变化对AD病理发生极为重要^[30]。Notch1 受体主要集中于海马,对已分化成熟的神经元具有调控作用,在果蝇长期记忆的形成、啮齿类动物神经突触可塑性与学习记忆,以及鸚鵡运动行为中都有 Notch1 信号通路的参与^[31];还有研究在 Notch1/CBF1 突变体的杂合体老鼠上观察到了空间学习以及记忆能力的减弱^[32]。Notch1 信号通路对细胞的自噬亦有着重要的调控作用,应用自噬抑制剂3-甲基腺嘌呤(3-methyladenine, 3-MA)能抑制 Notch1 蛋白表达从而改变细胞自噬水平^[33]。大鼠 PC12 细胞中高表达的 Notch1 可激活细胞自噬,并且 Notch1 表达量越高,

自噬活性就越强^[34]。除此之外,Notch1 信号通路对于微血管形成非常必要,Notch1 信号通路介导的血流及营养功能的维持功能受到损害后,可出现神经突触、轴突、神经元丢失以及脑萎缩等AD相关表现^[35-36]。

值得注意的是,Notch1 信号通路同细胞内氧化应激亦密切相关。氧化应激可以上调 Notch1 信号通路,Notch1 信号的缺乏反过来可加重氧化应激。通过使用 γ -分泌酶抑制剂 GSI 或特异性敲除 Notch1 基因抑制 Notch1 信号通路,血管内皮细胞内氧化应激水平随之升高,而清除 ROS 可逆转细胞行为改变^[37]。此外,Notch1 信号本身也会随着年龄的增长和衰老的加重而逐渐下调,此时,在伴有过量的自由基损伤的环境下,Notch1 信号通路介导的自由基清除能力最终也逐渐减弱^[38],从而启动并加速神经细胞在结构上与功能上的改变。而这种改变对神经元的影响在很大程度上可能是通过影响神经元的自噬能力的改变,并最终导致海马神经元的死亡。

Notch1 信号通路的活化需要 Notch1 受体被 γ -分泌酶复合体在 S3 位点剪切水解产生游离的细胞内结构域 NICD,而 γ -分泌酶除了剪切 Notch1 受体之外,同时也负责 APP 的剪切,在病理情况下,APP 是经 β -分泌酶(β -Amyloid precursor protein cleavage enzyme 1, BACE-1)和 γ -分泌酶剪切后,裂解为 AICD 及 A β 。可见 APP 和 Notch1 存在底物竞争关系。当 Notch1 裂解减少时,APP 裂解增多,反之亦然^[19,39-40]。但是, γ -分泌酶并非总是处于活化状态,其所受到的调控受到广泛关注。有研究表明,在氧化应激情况下,ROS 能诱导 γ -分泌酶的表达上调,而此时活化的 γ -分泌酶可以介导 BACE-1 的上调^[41]。在 β -分泌酶和 γ -分泌酶两者共同作用下,Notch1 受体在与 APP 的底物竞争中处于劣势,剪切减少,导致 Notch 信号通路的活化减少甚至发生异常,而 A β 形成增多。过量的 A β 能进一步加重氧化应激,并能够破坏溶酶体降解系统导致自噬体形成异常、自噬体清除障碍^[42-44],而自噬功能异常又导致过度累积的 A β 不能被及时有效清除,从而形成一个不断放大的恶性循环,两者共同作用正反馈调节氧化应激,加速 AD 形成,并出现相应病理改变,由此可见 A β 可能是氧化应激作用下机体产生的适应性反应的产物。

此前, γ -分泌酶抑制剂 Semagacestat 作为治

疗AD药物的研究失败,有可能就是由于抑制 γ -分泌酶的同时影响了正常Notch1通路功能^[28, 39]。目前针对去除A β 聚集以试图改善AD的症状的研究失败可能不仅仅是在中断A β 蛋白神经毒性上失败,还可能是由于去除A β 的过程中阻碍了正常的脑内功能。

5 干预策略

明确氧化应激具体通过何种分子机制影响Notch1受体,Notch1通过何种信号通路调控A β 生成,以及ROS导致细胞自噬稳态的失衡中的细胞死亡的调控位点,将会延缓或阻止AD早期的病理发生和发展。

一些与 γ -分泌酶相互作用的蛋白可调节 γ -分泌酶的活性,极具临床应用价值。缺氧诱导因子-1 α (hypoxia-inducible factor-1 α , HIF-1 α)是细胞在缺氧以及应激反应中起重要作用的核转录因子,广泛参与细胞缺氧或氧化应激下的细胞适应性反应^[45-46]。HIF-1 α 可改善海马记忆功能,被认为是神经退行性疾病特别是AD发病的媒介^[45, 47]。HIF-1 α 在胞浆内表达,ROS对HIF-1 α 的调节起到了重要的作用。HIF-1的活性主要取决于HIF-1 α 亚基的活性和表达。HIF-1还可能是 γ -分泌酶的一个亚单位,HIF-1 α 可直接结合 γ -分泌酶的PS1亚基,通过激活酶原,转化为活性酶的方式调节 γ -分泌酶的活化与非活化状态的比例,影响APP和Notch1剪切^[45, 48],这提示HIF-1 α 是影响 γ -分泌酶活性调控Notch信号通路的重要因素,可能成为一个极具价值的干预靶点。

目前,许多研究认为PI3K/Akt/mTOR信号通路也参与调控自噬的主要通路之一。PI3K复合物可磷酸化磷脂酰肌醇,形成3-磷酸磷脂酰肌醇(PI3P),PI3P可将自噬相关基因(autophagy related genes, ATGs)蛋白募集到自噬体膜上,在自噬体的膜传递过程中也起重要作用。另外,PI3K复合物中的Beclin-1,是自噬小体形成所必需的蛋白,在AD患者脑内有明显减少^[49]。哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)是一种进化高度保守的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,可通过调节下游ATG的活性,从而抑制自噬的作用,mTOR被激活时可以磷酸化ATG1复合物的调节亚单位ATG13,阻止形成复合物,减少自噬体的

形成。mTOR也调节核糖体蛋白质S6(p70S6)的活性,后者可抑制自噬作用^[49-50]。在AD小鼠体内给予雷帕霉素(Rapamycin)治疗,可发现与对照组相比,治疗组小鼠认知功能改善,小鼠海马的A β 沉积显著减少,同时神经元内mTOR信号通路被抑制,p-mTOR和p-70S6K表达水平显著下调^[51]。可见,在AD模型中mTOR通路的适当抑制有利于激活神经细胞内自噬活性,加速清理细胞内变性堆积蛋白,对AD症状有缓解作用。

研究发现Notch1可能通过PI3K/Akt/mTOR信号通路调控A β 生成和海马神经元自噬稳态。在神经细胞、T细胞中,Notch1高表达激活PI3K/Akt/mTOR通路;Palomero等^[52]发现Notch1介导Hes1负调控其下游基因PTEN而诱导PI3K/Akt信号的上调,Zhao等^[53]证实Notch1的活化增加了p-Akt的表达,阻断Notch1可以抑制Akt/mTOR信号通路的活性。我们的研究发现海马神经元HT22细胞在早期ROS水平增加时,Notch1受体受剪切增多,与此同时细胞内自噬被激活,但是随着ROS作用时间和浓度的增加,Notch1受体受剪切减少,与此同时细胞内自噬小体减少。同时我们在研究A β 对神经元自噬的机制研究中也观察到PI3K/Akt/mTOR/p70S6K信号通路和自噬密切相关^[54]。以上研究结果提示在氧化应激的条件下,Notch1信号通路的确出现变化,同时可能通过PI3K/Akt/mTOR/p70S6K信号通路导致神经元自噬体形成异常、自噬体清除障碍或自噬性细胞死亡破坏神经元自噬稳态。这将为进一步调控AD脑内神经元自噬稳态提供新的干预靶点。

6 结论

AD的发病机制复杂,尽管A β 和tau蛋白在AD的病理发生和发展中起了核心作用,神经炎症、氧化应激、脂质代谢异常、溶酶体功能异常等多种因素也同样不可忽略。ROS可以引起细胞内核酸、脂质损伤,也可以影响多种蛋白质功能,这些蛋白质涉及能量代谢、蛋白质降解、神经炎症、突触功能等,也可以影响细胞对ROS的清除。此外,ROS造成的损伤随着病程进展而不断累积^[55],其在AD病理生理过程中具有相当的复杂性,具体的致病机制以及可能用于干预的靶点仍有待研究。

本文阐述了 ROS 可通过适应性活化 γ -分泌酶动态调节 Notch1 以及 APP 剪切, 并通过影响细胞内 PI3K/Akt/mTOR/p70S6K 等信号通路的表达引起自噬体形成异常、自噬体清除障碍, 抗氧化应激能力降低甚至丧失, 共同造成神经元自噬稳态

失衡, 最终导致神经元死亡增多并出现 AD 病理改变及临床症状。为今后探讨清除 ROS、精细调节自噬平衡、特异性调控 Notch1 剪切和适时使用 γ -分泌酶调节剂的多靶点联合防治 AD 提供了治疗新思路。

参考文献

- [1] Alzheimer's Association. 2020 Alzheimer's disease facts and figures [J]. *Alzheimers Dement*, 2020. doi:10.1002/alz.12068.
- [2] Jia J, Wei C, Chen S, et al. The cost of Alzheimer's disease in China and re-estimation of costs worldwide [J]. *Alzheimers Dement*, 2018, 14(4): 483-491.
- [3] Long JM, Holtzman DM. Alzheimer Disease: an update on pathobiology and treatment strategies [J]. *Cell*, 2019, 179(2): 312-339.
- [4] Simunkova M, Alwasel SH, Alhazza IM, et al. Management of oxidative stress and other pathologies in Alzheimer's disease [J]. *Arch Toxicol*, 2019, 93(9): 2491-2513.
- [5] Coronel R, Bernabeu-Zornoza A, Palmer C, et al. Role of amyloid precursor protein (APP) and its derivatives in the biology and cell fate specification of neural stem cells [J]. *Mol Neurobiol*, 2018, 55(9): 7107-7117.
- [6] Kim YC, Guan KL. mTOR: a pharmacologic target for autophagy regulation [J]. *J Clin Invest*, 2015, 125(1): 25-32.
- [7] Chen FZ, Zhao Y, Chen HZ. MicroRNA-98 reduces amyloid β -protein production and improves oxidative stress and mitochondrial dysfunction through the Notch signaling pathway via HEY2 in Alzheimer's disease mice [J]. *Int J Mol Med*, 2019, 43(1): 91-102.
- [8] Van Muiswinkel FL, Kuiperij HB. The Nrf2-ARE Signalling pathway: promising drug target to combat oxidative stress in neurodegenerative disorders [J]. *Curr Drug Targets CNS Neurol Disord*, 2005, 4(3): 267-281.
- [9] Salim S. Oxidative stress and the central nervous system [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2017, 360(1): 201-205.
- [10] Swomley AM, Forster S, Keeney JT, et al. Abeta, oxidative stress in Alzheimer disease: evidence based on proteomics studies [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2014, 1842(8): 1248-1257.
- [11] Jiang T, Sun Q, Chen S. Oxidative stress: a major pathogenesis and potential therapeutic target of anti-oxidative agents in Parkinson's disease and Alzheimer's disease [J]. *Prog Neurobiol*, 2016, 147: 1-19. doi:10.1016/j.pneurobio.2016.07.005.
- [12] Carvalho C, Cardoso S, Correia SC, et al. Metabolic alterations induced by sucrose intake and Alzheimer's disease promote similar brain mitochondrial abnormalities [J]. *Diabetes*, 2012, 61(5): 1234-1242.
- [13] Rosini M, Simoni E, Milelli A, et al. Oxidative stress in Alzheimer's disease: are we connecting the dots? [J]. *J Med Chem*, 2014, 57(7): 2821-2831.
- [14] Schrag M, Mueller C, Zabel M, et al. Oxidative stress in blood in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment: a meta-analysis [J]. *Neurobiol Dis*, 2013, 59: 100-110.
- [15] Butterfield DA, Swomley AM, Sultana R. Amyloid beta-peptide (1-42)-induced oxidative stress in Alzheimer disease: importance in disease pathogenesis and progression [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2013, 19(8): 823-835.
- [16] Zhao ZY, Luan P, Huang SX, et al. Edaravone protects HT22 neurons from H2O2-induced apoptosis by inhibiting the MAPK signaling pathway [J]. *CNS Neurosci Ther*, 2013, 19(3): 163-169.
- [17] He F, Luan P, He R, et al. Effect of edaravone on abeta1-40 induced enhancement of voltage-gated calcium channel current [J]. *CNS Neurosci Ther*, 2012, 18(1): 89-90.
- [18] He F, Cao YP, Che FY, et al. Inhibitory effects of

- edaravone in beta-amyloid-induced neurotoxicity in rats [J]. *Biomed Res Int*, 2014. doi:10.1155/2014/370368.
- [19] Drachman DA. The amyloid hypothesis, time to move on: Amyloid is the downstream result, not cause, of Alzheimer's disease [J]. *Alzheimers Dement*, 2014, 10(3): 372-380.
- [20] Xie H, Hou S, Jiang J, et al. Rapid cell death is preceded by amyloid plaque-mediated oxidative stress [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2013, 110(19): 7904-7909.
- [21] Nixon RA, Wegiel J, Kumar A, et al. Extensive involvement of autophagy in Alzheimer disease: an immunoelectron microscopy study [J]. *J Neuropathol Exp Neurol*, 2005, 64(2): 113-122.
- [22] Boland B, Kumar A, Lee S, et al. Autophagy induction and autophagosome clearance in neurons: relationship to autophagic pathology in Alzheimer's disease [J]. *J Neurosci*, 2008, 28(27): 6926-6937.
- [23] Lipinski MM, Zheng B, Lu T, et al. Genome-wide analysis reveals mechanisms modulating autophagy in normal brain aging and in Alzheimer's disease [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107(32): 14164-14169.
- [24] Xu YN, Cui XS, Sun SC, et al. Mitochondrial dysfunction influences apoptosis and autophagy in porcine parthenotes developing in vitro [J]. *J Reprod Dev*, 2011, 57(1): 143-150.
- [25] Nitatori T, Sato N, Waguri S, et al. Delayed neuronal death in the CA1 pyramidal cell layer of the gerbil hippocampus following transient ischemia is apoptosis [J]. *J Neurosci*, 1995, 15(2): 1001-1011.
- [26] Castello MA, Jeppson JD, Soriano S. Moving beyond anti-amyloid therapy for the prevention and treatment of Alzheimer's disease [J]. *BMC Neurol*, 2014, 14: 169. doi:10.1186/s12883-014-0169-0.
- [27] Giacobini E, Gold G. Alzheimer disease therapy--moving from amyloid-beta to tau [J]. *Nat Rev Neurol*, 2013, 9(12): 677-686.
- [28] Jones B. Neurodegenerative disease: Oxidative stress in cells near amyloid plaques linked to neuronal death [J]. *Nat Rev Neurol*, 2013, 9(6): 300.
- [29] Carrillo-Mora P, Luna R, Colin-Barenque L. Amyloid beta: multiple mechanisms of toxicity and only some protective effects? [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2014, 2014: 795375. doi:10.1155/2014/795375.
- [30] Sturgeon M, Davis D, Albers A, et al. The Notch ligand E3 ligase, Mind Bomb1, regulates glutamate receptor localization in *Drosophila* [J]. *Mol Cell Neurosci*, 2016, 70: 11-21. doi:10.1016/j.mcn.2015.11.004
- [31] Zhang J, Yin JC, Wesley CS. From *drosophila* development to adult: clues to Notch function in long-term memory [J]. *Front Cell Neurosci*, 2013, 7: 222. doi:10.3389/fncel.2013.00222.
- [32] Yoon KJ, Lee HR, Jo YS, et al. Mind bomb-1 is an essential modulator of long-term memory and synaptic plasticity via the Notch signaling pathway [J]. *Mol Brain*, 2012, 5: 40. doi:10.1186/1756-6606-5-40.
- [33] Bao J, Shi Y, Tao M, et al. Pharmacological inhibition of autophagy by 3-MA attenuates hyperuricemic nephropathy [J]. *Clin Sci (Lond)*, 2018, 132(21): 2299-2322.
- [34] Li B, Duan P, Han X, et al. NICD inhibits cell proliferation and promotes apoptosis and autophagy in PC12 cells [J]. *Mol Med Rep*, 2017, 16(3): 2755-2760.
- [35] Dickstein DL, Walsh J, Brautigam H, et al. Role of vascular risk factors and vascular dysfunction in Alzheimer's disease [J]. *Mt Sinai J Med*, 2010, 77(1): 82-102.
- [36] Yu HC, Bai L, Yue SQ, et al. Notch signal protects non-parenchymal cells from ischemia/reperfusion injury in vitro by repressing ROS [J]. *Ann Hepatol*, 2013, 12(5): 815-821.
- [37] Cai WX, Liang L, Wang L, et al. Inhibition of Notch signaling leads to increased intracellular ROS by up-regulating Nox4 expression in primary HUVECs [J]. *Cell Immunol*, 2014, 287(2): 129-135.
- [38] Paul MK, Bisht B, Darmawan DO, et al. Dynamic changes in intracellular ROS levels regulate airway

- basal stem cell homeostasis through Nrf2-dependent Notch signaling [J]. *Cell Stem Cell*, 2014, 15(2): 199-214.
- [39] Berezovska O, Jack C, Deng A, et al. Notch1 and amyloid precursor protein are competitive substrates for presenilin1-dependent gamma-secretase cleavage [J]. *J Biol Chem*, 2001, 276(32): 30018-30023.
- [40] Kamarehei M, Yazdanparast R. Modulation of notch signaling pathway to prevent H2O2/menadione-induced SK-N-MC cells death by EUK134 [J]. *Cell Mol Neurobiol*, 2014, 34(7): 1037-1045.
- [41] Jo DG, Arumugam TV, Woo HN, et al. Evidence that gamma-secretase mediates oxidative stress-induced beta-secretase expression in Alzheimer's disease [J]. *Neurobiol Aging*, 2010, 31(6): 917-925.
- [42] Zheng L, Roberg K, Jerhammar F, et al. Autophagy of amyloid beta-protein in differentiated neuroblastoma cells exposed to oxidative stress [J]. *Neurosci Lett*, 2006, 394(3): 184-189.
- [43] Zheng L, Kagedal K, Dehvari N, et al. Oxidative stress induces macroautophagy of amyloid beta-protein and ensuing apoptosis [J]. *Free Radic Biol Med*, 2009, 46(3): 422-429.
- [44] Zheng L, Roberg K, Jerhammar F, et al. Oxidative stress induces intralysosomal accumulation of Alzheimer amyloid beta-protein in cultured neuroblastoma cells [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2006, 1067: 248-251. doi:10.1196/annals.1354.032.
- [45] Jeong JH, Yum KS, Chang JY, et al. Dose-specific effect of simvastatin on hypoxia-induced HIF-1alpha and BACE expression in Alzheimer's disease hybrid cells [J]. *BMC Neurol*, 2015, 15: 127. doi:10.1186/s12883-015-0390-5.
- [46] Lonati E, Brambilla A, Milani C, et al. Pin1, a new player in the fate of HIF-1alpha degradation: an hypothetical mechanism inside vascular damage as Alzheimer's disease risk factor [J]. *Front Cell Neurosci*, 2014, 8: 1. doi:10.3389/fncel.2014.00001.
- [47] Adamcio B, Sperling S, Hagemeyer N, et al. Hypoxia inducible factor stabilization leads to lasting improvement of hippocampal memory in healthy mice [J]. *Behav Brain Res*, 2010, 208(1): 80-84.
- [48] Villa JC, Chiu D, Brandes AH, et al. Nontranscriptional role of Hif-1alpha in activation of gamma-secretase and notch signaling in breast cancer [J]. *Cell Rep*, 2014, 8(4): 1077-1092.
- [49] Li Q, Liu Y, Sun M. Autophagy and Alzheimer's disease [J]. *Cell Mol Neurobiol*, 2017, 37(3): 377-88.
- [50] Pei JJ, Hugon J. mTOR-dependent signalling in Alzheimer's disease [J]. *J Cell Mol Med*, 2008, 12(6b): 2525-2532.
- [51] Zhang L, Wang L, Wang R, et al. Evaluating the effectiveness of GTM-1, rapamycin, and carbamazepine on autophagy and Alzheimer disease [J]. *Med Sci Monit*, 2017, 23: 801-808. doi:10.12659/msm.898679.
- [52] Palomero T, Dominguez M, Ferrando AA. The role of the PTEN/AKT Pathway in Notch1-induced leukemia [J]. *Cell Cycle*, 2008, 7(8): 965-970.
- [53] Zhao N, Guo Y, Zhang M, et al. Akt-mTOR signaling is involved in Notch-1-mediated glioma cell survival and proliferation [J]. *Oncol Rep*, 2010, 23(5): 1443-1447.
- [54] Fan S, Zhang B, Luan P, et al. PI3K/AKT/mTOR/p70S6K Pathway is involved in abeta 25-35-induced autophagy [J]. *Biomed Res Int*, 2015, 2015: 161020. doi:10.1155/2015/161020.
- [55] Tramutola A, Lanzillotta C, Perluigi M, et al. Oxidative stress, protein modification and Alzheimer disease [J]. *Brain Res Bull*, 2017, 133: 88-96. doi:10.1016/j.brainresbull.2016.06.005.

(编辑 孙慧兰)