



基底前脑胆碱能神经元功能异常在阿尔茨海默病中的作用相关研究进展

田由王雪艾静

哈尔滨医科大学药学院药理教研室, 哈尔滨, 150086, 中国

【摘要】 细胞外老年斑的沉积和细胞内神经纤维缠结被认为是阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 典型的病理改变。基底前脑胆碱能神经元 (basal forebrain cholinergic neurons, BFCNs) 功能异常导致的海马乙酰胆碱 (acetylcholine, ACh) 功能下降也被认为是 AD 发生的主要特征。该文介绍了 ACh 突触传递过程、BFCNs 投射系统、BFCNs 在调节认知功能中的作用以及 BFCNs 功能异常在 AD 中的作用和近期的研究进展。

【关键词】 阿尔茨海默病; 基底前脑; 胆碱能神经元; 乙酰胆碱

【中图分类号】 R338, R741.02 **【文献标识码】** A **DOI:** 10.3969/j.issn.2095-1396.2017.04.008

Research Progress of Basal Forebrain Cholinergic Dysfunction in Alzheimer's Disease

TIAN You, WANG Xue, AI Jing

Department of Pharmacology, Harbin Medical University, Harbin, 150086, China

【ABSTRACT】 Extracellular senile plaques deposits and intracellular neurofibrillary tangles are the typical neuropathologies of Alzheimer's disease (AD). AD is also characterized by cholinergic hypofunction in hippocampus caused by basal forebrain cholinergic neurons (BFCNs) dysfunction. This review focuses on ACh neurotransmission, BFCNs projective system, the regulatory roles of BFCNs in cognition and the progression of BFCNs dysfunction in AD.

【KEY WORDS】 Alzheimer's disease; basal forebrain; cholinergic neurons; acetylcholine

老年痴呆是一种高发于 65 岁以上人群的进行性, 致死性神经退行性疾病^[1]。其临床表现主要为认知障碍、记忆损伤、进行性日常活动能力丧失以及多种神经精神异常^[2]。据美国《World Alzheimer Report 2015》报告显示: 全球已有老年痴呆患者 4.7 千万, 预计到 2050 年将达到 1.31 亿。2016 年全球用于老年痴呆治疗的医疗费用已经达到 8 180 亿, 到 2030 年这部分支出将达到 2 万亿。因此, 寻找有效的老年痴呆治疗策略至关重要。阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 是老年痴呆最常见的类型, 占 60%~80%^[3]。神经元周围淀粉样斑块沉积和神经元内神经纤维缠结至今仍被认

为是 AD 典型的病理改变^[4]。值得注意的是, 在 AD 早期, 患者已经出现认知障碍, 然而, 脑内并未出现明显的淀粉样斑块沉积和神经纤维缠结^[5]。进一步的研究揭示, 胆碱能神经元突触传递功能异常在 AD 早期认知功能下降中扮演重要的角色。尸检报告显示, AD 患者海马和皮层乙酰胆碱 (acetylcholine, ACh) 含量明显降低、基底前脑胆碱能神经元 (basal forebrain cholinergic neurons, BFCNs) 大量丢失、ACh 合成蛋白胆碱乙酰转移酶 (choline acetyltransferase, ChAT) 表达下降以及突触后乙酰胆碱受体 (acetylcholine receptor, AChR) 的表达改变和功能异常^[6]。此外, 目前被美国食品药物

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (No.81271207, No.81471115, No.81671052)

作者简介: 田由, 女, 硕士研究生; 研究方向: 神经药理学; E-mail: 13225779116@163.com

通讯作者: 艾静, 女, 博士, 教授, 博士生导师; 研究方向: 神经药理学; Tel: +86-0451-86671354, E-mail: azhrbmu@126.com

管理局 (Food and Drug Administration, FDA) 批准的 5 个用于治疗 AD 药物中有 4 个是通过抑制胆碱酯酶 (acetylcholinesterase, AChE) 的活性, 提高 ACh 的浓度来改善认知功能和行为异常。然而, 这些药物的临床治疗效果仍不十分满意, 包括肝毒性 (他克林)、治疗局限性 (多奈哌齐仅对轻度和中度 AD 患者有效) 和恶心、呕吐等不良反应。因此, 深入探究 AD 胆碱能神经元功能改变的分子机制对于寻找有效的 AD 治疗策略具有重要的意义。本文就 AD 时 BFCNs 的功能改变和具体的分子机制进行介绍。

1 脑内 ACh 的突触传递过程

胆碱能神经元突触传递是胆碱能神经元和脑内其他神经元 [如谷氨酸能神经元、 γ -氨基丁酸 (γ -aminobutyric acid, GABA) 能神经元] 之间重要的交流方式。经合成、储存、转运和释放后, ACh 与邻近突触后膜上的 AChR 结合, 引起突触后神经元电位改变或激活细胞内信号通路。这一系列过程称为胆碱能神经元突触传递。

1.1 ACh 的合成、储存、释放与降解

1936 年, 英国生理学家 Sir Henry Dale 和德国药理学家 Otto Loewy 因首次发现 ACh 是一种神经递质共同获得了诺贝尔生理学 and 医学奖。ACh 在合成酶 ChAT 的催化下, 由两种底物胆碱和乙酰辅酶 A 通过乙酰基结合合成^[7]。钠离子依赖性高亲和力和胆碱转运体 1 (choline transporter 1, CHT1) 摄取胆碱的速率是决定 ACh 的合成水平的关键步骤^[8]。研究发现, CHT1 摄取胆碱的功能依赖于神经元的活动性^[9]。在神经元兴奋时, 轴突末端 CHT1 摄取胆碱的速率显著提高^[9]。CHT1 的功能可以被多种机制调节, 包括胆碱的水平、突触前膜 - 胞内转运机制、磷酸化水平、泛素化连接酶 Nedd-42 和前列腺凋亡反应蛋白-4 等^[8,10]。这些调节机制的异常将影响 ACh 的合成水平, 进而改变 ACh 的生物学功能。由于胆碱能神经元自身不具备合成胆碱的能力, 经 CHT1 摄取的胆碱约 50% 来自 ACh 的水解产物 (AChE 将 ACh 水解为胆碱和乙酸), 剩余部分主要通过食物摄取获得^[11]。ACh 的合成、储存、释放与降解过程如 Fig.1^[12]。

ACh 在神经元胞浆内合成后由囊泡乙酰胆碱转运蛋白 (vesicular acetylcholine transporter, VAChT) 转运至突触囊泡内储存, 在神经元兴奋时随突触囊泡释放至突触间隙^[13]。VAChT 基因位于 ChAT 基因第一个内含子内, 由同一启动子控制共同表达^[14]。这意味着 VAChT 和 ChAT 在转录水平可被同步调节。事实上, VAChT 和 ChAT 的表达可被维甲酸受体 α 和环腺苷磷

酸同步上调^[15]。ACh 的释放遵循经典的突触前电位改变和信号级联反应 (包括钠通道依赖性去极化和钙通道依赖性囊泡对接)。当神经冲动传递至神经终板时, 细胞内增加的钙离子触发含有 ACh 的突触小泡经锚定、启动和融合一系列过程将 ACh 释放至突触间隙^[16]。突触小泡与突触前膜的融合过程是调节 ACh 释放的关键步骤, 主要由 SNARE 复合物 (小突触囊泡蛋白、突触融合蛋白 1A 和突触小体相关蛋白 25) 和其调节蛋白 (突触结合蛋白、Munc18 和复合体) 介导完成^[17]。突触结合蛋白是一种钙感受器, 在神经元兴奋或自发放电时, 与内流的钙离子结合触发突触小泡与突触前膜融合^[18]。已有文献证实, 这些调节突触前 ACh 释放的蛋白的异常改变参与 AD 和帕金森症的疾病发展过程^[19-20]。

1.2 AChR: 种类、分布和靶细胞效应

根据与蕈毒碱和尼古丁的结合能力, AChR 被分为蕈碱型乙酰胆碱受体 (muscarinic AChR, mAChR) 和烟碱型乙酰胆碱受体 (nicotinic AChR, nAChR) 两大类型^[21]。AChR 激活引起的突触后效应取决于 AChR 的类型、细胞分布和所激活的不同下游信号级联反应^[21]。以往的研究证实, mAChR 和 nAChR 在脑内的分布极为广泛, 并参与多种认知过程^[22-23]。

1.2.1 mAChR

mAChR 属于代谢型 G 蛋白耦合受体, 通过激活异源三聚体 G 蛋白传导下游信号级联反应, 继而影响钾通道、钙通道和其他非选择性阳离子通道的开放、关闭、激活与失活等动力学特征^[21]。目前, 科学家们已在哺乳动物体内发现 5 种 mAChR 亚型 (M1-M5)^[22]。不同 AChR 亚型在脑内分布的差异决定了其发挥不同的生理功能。在大脑皮层区域, M1 型 AChR 主要分布在中间神经元的胞体树突区与 II/III 层和 V 层锥体细胞上, 调节神经元的兴奋性^[21]。M2 型 AChR 主要在神经元突触前膜上表达, 在胆碱能神经元轴突上表达时作为自调节受体控制 ACh 的释放, 在抑制性 GABA 能神经元轴突末端上表达时抑制 GABA 的释放^[21]。M4 型 AChR 主要在 IV 层锥体细胞胞体和树突结构表达^[22]。海马是参与认知过程的重要部位, 共有 CA1、CA2、CA3 和齿状回 (dentate gyrus, DG) 4 个亚区, 其中 M1 型 AChR 主要分布在 DG 区颗粒细胞的轴突上, 调节 T 型钙通道的活性^[21]。当 ACh 释放激活 DG 区颗粒细胞上的 M1 型 AChR 时, 钙通道开放增加, 引起细胞内钙离子浓度升高, 神经元的兴奋性增加^[24]。这一过程被认为是胆碱能突触传递改善认知功能的主要机制之一^[24]。

1.2.2 nAChR

nAChR 是一种非选择性阳离子通道, 被激活后, 离子通道迅速开放, 引起钾离子、钙离子和钠离子的

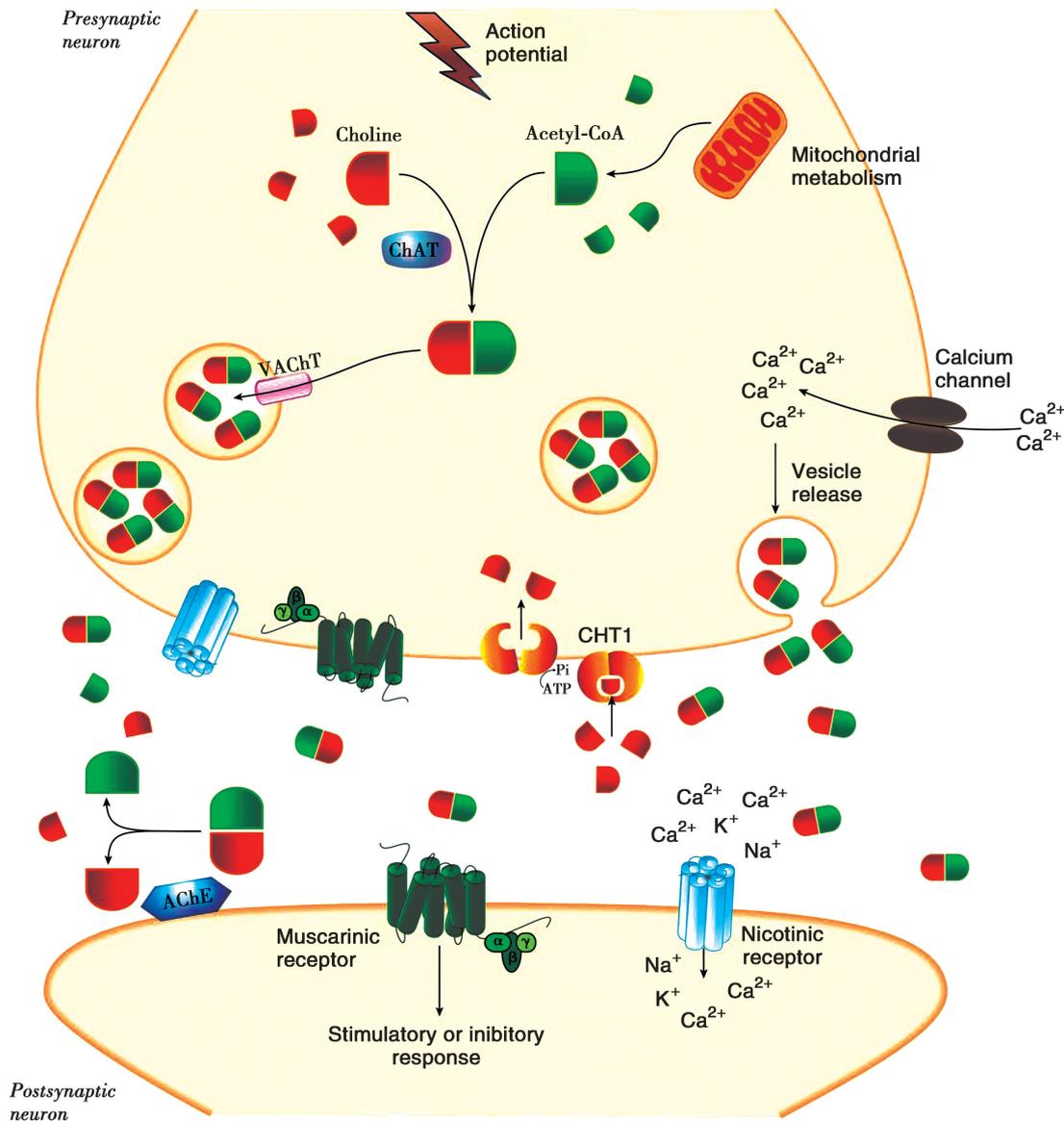


Fig.1 Schematic representation of biological aspects involving acetylcholine neurotransmission

Acetylcholine (ACh) is synthesized in cholinergic terminals from choline and acetyl-coenzyme A (acetyl-CoA) catalyzed by choline acetyltransferase (ChAT). ACh is then transported into synaptic vesicles via the vesicular acetylcholine transporter (VACHT) in synaptic vesicle membrane. Depolarization of the presynaptic neuron induces ACh release from synaptic vesicles into the synaptic cleft. The binding of ACh with nicotinic or muscarinic receptors leads to either stimulatory or inhibitory responses. ACh is rapidly hydrolyzed by acetylcholinesterase (AChE) in synaptic cleft, releasing acetate and choline. Choline is then reuptaken into the presynaptic cholinergic neuron via high-affinity choline transporter 1 (CHT1).

内流^[25]。因此,nAChR 激活引起的突触后反应往往比 mAChR 激活产生的突触后效应更加迅速^[22]。目前,脑内共发现 12 种不同的 nAChR 亚基($\alpha 2\sim\alpha 10$, $\beta 2\sim\beta 4$)^[25]。其中, $\alpha 7$ 和 $\alpha 4\beta 2$ nAChR 不仅在脑内分布最为广泛,也是参与认知功能调节的两种最重要的 nAChR 亚型。在中枢神经系统, $\alpha 7$ nAChR 广泛分布在颗粒细胞、锥体细胞和中间神经元的突触前膜与突触后膜, $\alpha 4\beta 2$ nAChR 主要在中间神经元的轴突上表达^[26-29]。突触前膜上的 nAChR 通过增加细胞内

钙离子的浓度促进脑内神经递质的释放,包括谷氨酸、GABA、多巴胺、ACh、去甲肾上腺素和 5-羟色胺^[30-32]。nAChR 对神经递质释放的调节具有亚型和脑区特异性。在腹侧被盖区, $\alpha 7$ nAChR 主要调节谷氨酸的释放,而 $\alpha 4\beta 2$ nAChR 主要调节 GABA 的释放^[33]。在丘脑-皮层投射通路中, $\alpha 4\beta 2$ nAChR 主要参与谷氨酸释放的调节^[34]。另外, $\alpha 4\beta 2$ 和 $\alpha 7$ nAChR 对钙离子的通透性、ACh 的亲合力、激动剂引起的去敏感化、变构调节因子的敏感性和内源性/外源性 nAChR 阻断剂的敏感性

存在显著差异^[21,25]。 $\alpha 7$ nAChR 具有较高的钙离子的通透性,而 $\alpha 4\beta 2$ nAChR 对 ACh 的亲和力相对较高^[25]。由于较高的钙离子通透性, $\alpha 7$ nAChR 在被激活后允许大量的钙离子流入突触前膜胞浆内,引起突触前递质释放的可能性增加,这也是 $\alpha 7$ nAChR 调节海马区和皮层区突触可塑性的重要机制^[35-36]。

2 基底前脑胆碱能神经元投射系统

在中枢神经系统,胆碱能神经元主要包括 BFCNs、脑干胆碱能神经元核团(脚间核、背侧外核和缰内侧核)以及纹状体(尾状核和壳核)无棘胆碱能中间神经元^[21]。其中,BFCNs 参与注意力、空间记忆和条件记忆等多种认知功能的调节,在 AD、帕金森症和亨廷顿(氏)舞蹈病中出现不同程度的损伤^[37-39]。

2.1 基底前脑胆碱能神经元核团

BFCNs 成簇聚集成脑内最大的胆碱能神经元核团^[40]。人类基底前脑约有 500 000 个胆碱能神经元,占基底前脑所有神经元数量的 50%~70%,与谷氨酸能神经元和抑制性中间神经元(GABA 能神经元)交织分布^[41]。长轴突投射和分支分布是 BFCNs 典型的结构特征^[42]。BFCNs 的轴突长度可达到 50 cm,在向其他区域延伸的过程中形成 1 000 多个分支点^[42]。这意味着单个胆碱能神经元可以同时调节不同脑区的神经元活动。例如,BFCNs 主要的投射区包括皮层、海马、嗅球和杏仁核^[43]。基底前脑主要由三部分组成:内侧

隔核(medial septum,MS)、Broca 斜角带核(diagonal band of broca,DBB)垂直肢(VDB)和水平肢(HDB)和基底前脑大细胞核群[Meynert 基底核(the nucleus basalis of meynert,NBM)、大细胞视前区、腹侧苍白球]^[12]。在灵长类动物中,Ch1=MS,Ch2=VDB,Ch3=HDB,Ch4=基底前脑大细胞核群^[12]。

2.2 基底前脑 - 海马胆碱能神经元投射通路

隔核 - 海马胆碱能神经元轴突投射是海马 ACh 的主要来源^[44]。隔核由 MS 和 Broca 斜角带核的 VDB 和 HDB 组成^[30]。MS 和 VDB 区胆碱能神经元轴突经穹窿和伞部投射至海马,调节海马 ACh 的释放,并参与学习与记忆过程^[26]。逆向追踪技术的发展推动了实验人员研究特异类型神经元的空间分布,尤其是长轴突投射神经元。利用此项技术,结合免疫组织化学和穹窿损伤实验,研究人员发现 BFCNs 投射的空间分布并非杂乱无章而是有一定的组织规律^[45]。隔核 - 海马胆碱能神经元投射沿中间外侧延喙尾轴分布,即位于外侧隔核的胆碱能神经元轴突投射至海马腹侧区,位于延喙区的胆碱能神经元轴突投射至海马延喙尾区^[45]。细胞水平上,隔核至海马的胆碱能神经元轴突投射呈层状分布^[46]。背侧海马 CA1 区锥体细胞层和 DG 区颗粒细胞层主要接受来自 VDB 中线区域的胆碱能神经元轴突投射^[46];CA1 区和 CA3 区始层主要接受来自中间隔核的胆碱能神经元轴突投射^[46];紧邻 DBB 中线的内侧区胆碱能神经元轴突投射至海马尾状区的所有

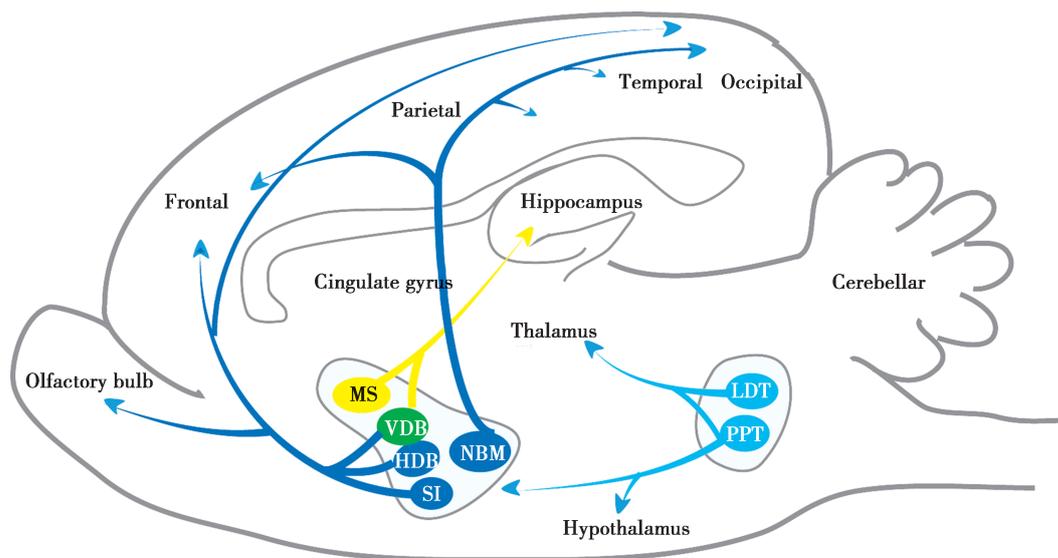


Fig.2 Projection patterns of basal forebrain cholinergic system

Cholinergic neurons in medial septum (MS) and vertical limbs of the diagonal band of Broca (VDB) project to hippocampus, whereas cholinergic neurons in VDB, horizontal limbs of the diagonal band of Broca (HDB), substantia innominata (SI) and nucleus basalis of Meynert (NBM) project to olfactory bulb and cortical regions. Cholinergic pontomesencephalon neurons include laterodorsal tegmental (LDT) and pedunculopontine tegmental nuclei (PPT) which project to basal forebrain, thalamus, and hypothalamus.

CA区^[46];腹侧海马胆碱能神经元轴突投射主要来源于中间外侧隔核和DBB^[46]。

2.3 基底前脑-皮层胆碱能神经元投射通路

与MS区不同,NBM和DBB区胆碱能神经元轴突主要投射至皮层(额叶、顶叶、枕叶和颞叶)^[47]。中央额叶的胆碱能神经元轴突投射主要来自基底前脑中央区和前侧区的胆碱能神经元核团^[48];前额叶主要接受DBB区胆碱能神经元轴突投射^[48];前额叶腹侧区胆碱能神经元轴突投射主要来自基底前脑外侧区胆碱能神经元核团^[48];位于基底前脑喙区的胆碱能神经元轴突主要投射至额叶浅层和深层区域,而尾侧胆碱能神经元轴突主要投射至额叶皮层深层区^[48]。

NBM-皮层胆碱能神经元投射通路在调节认知功能中的作用与投射区密切相关。BFCNs轴突投射至额叶,可调节人体的随意运动和工作记忆^[49];投射至顶叶,可调节人体的逻辑思维和感觉功能^[50];投射至枕叶,主要负责视觉信息的处理^[51];投射至颞叶,主要参与听觉信息的处理^[51]。有关研究表明,损伤NBM区胆碱能神经元的功能可导致注意力缺陷和认知功能障碍^[12]。

3 基底前脑胆碱能神经元投射系统在调节认知功能中的作用

通过生理、药理、损伤和基因干预的实验方法,研究人员发现ACh参与多种形式的认知过程,包括注意力、空间学习与记忆、恐惧记忆、情感记忆、奖赏和适应等^[21,52]。海马是参与空间学习与记忆形成、储存与回忆的重要部位^[52]。本文主要就乙酰胆碱信号通路在调节海马空间学习与记忆中的作用和相应的分子机制进行介绍。

3.1 ACh在调节海马空间学习与记忆中的作用

在空间记忆的形成和储存过程中,隔核-海马胆碱能神经元突触传递发挥重要的调节功能^[21]。通过微量渗析实验,研究人员发现在执行记忆相关的任务过程中,小鼠海马区ACh的释放增加^[53-54]。外源性给予ACh或内源性刺激ACh的释放能够明显改善小鼠海马区的长时程增强(long term potentiation, LTP)和空间记忆能力^[55]。相反地,局部海马脑注射东莨菪碱后,小鼠的记忆形成和巩固过程明显受损^[56]。目前有关nAChR在空间记忆中的作用的研究结果并不一致。有研究报道,小鼠海马区nAChR的表达水平与小鼠的空间记忆功能呈正相关,尼古丁可以改善海马依赖性的短期记忆和长期记忆^[55,57]。然而,也有研究结果显示尼古丁对记忆的影响较小甚至损伤记忆能力^[55,58]。

3.2 ACh调节认知功能的细胞机制

海马神经环路的突触可塑性是记忆形成的重要的细胞机制。以往的研究结果揭示M1 AChR和 $\alpha 7$ nAChR介导的胆碱能信号通路参与海马LTP的形成和维持,这一过程被认为是ACh改善学习与记忆能力的主要的细胞机制^[21]。值得注意的是,ACh调节海马突触可塑性的过程具有精准的时间特异性^[59]。2011年,Zhenglin Gu团队利用光遗传技术结合电刺激阐明了MS区胆碱能神经元调节海马CA1区突触可塑性的时间依赖性特征^[59]。此团队发现,在光激活MS区胆碱能神经元100 ms后,电刺激谢弗侧枝(Schaffer collateral, SC)可引起海马CA1区产生 $\alpha 7$ nAChR依赖性的LTP^[59]。然而,当胆碱能神经元和SC的刺激间隔缩短至10 ms时,海马CA1区产生 $\alpha 7$ nAChR依赖性的短时程抑制(short term depression, STD)^[59]。更有趣的是,若胆碱能神经元的激活发生在SC兴奋后10 ms,海马CA1区产生的LTP依赖于mAChR^[59]。

目前的研究结果认为,突触前和突触后 $\alpha 7$ nAChR激活引发的钙离子内流和M1 AChR激活继发的SK通道失活是ACh调节海马CA1区LTP的主要机制^[21]。另外,也有研究报道 $\alpha 7$ nAChR可以通过稳定树突棘上的GluA1受体的表达来增强海马神经元间的突触传递^[60]。2015年,Martinello K团队发现基底前脑胆碱能神经元信号通路通过增加颗粒细胞轴突的兴奋性引发DG区LTP,并且这一过程由M1 AChR介导产生^[24]。也有研究表明,阻断mAChR能够抑制海马区AMPA/NMDA受体比值的增加,这暗示mAChR在调节海马突触可塑性中的重要作用^[53]。

4 阿尔茨海默病与胆碱能神经元功能障碍

直至1960s晚期和1970s早期科学家们才开始系统地研究AD患者脑内化学物质的改变^[61]。1970s中期,科学家们发现AD患者皮层胆碱能神经元标志性蛋白ChAT的表达降低^[62]。此后不久,大量有关胆碱能神经元功能与AD的研究不断涌现。几乎所有的研究得出一致的结果:阻断脑内AChR的激活,动物出现AD样记忆损伤,而促进胆碱能神经元功能明显延缓认知功能的下降^[63]。随着研究的不断深入,ACh合成障碍、AChR(M1 AChR, $\alpha 7/\alpha 4\beta 2$ nAChR)功能异常和BFCNs丢失等在AD认知功能障碍中重要的作用以及其具体的分子机制被逐渐揭示^[64]。胆碱酯酶抑制剂同时也是目前治疗AD最主要的药物。

4.1 胆碱能神经元突触前ACh的合成障碍

AD患者皮层、海马和杏仁核等与认知功能密切相关的脑区ACh水平下降已经被大家熟知^[65]。目前

临床上用于治疗 AD 的药物主要通过抑制 ACh 的降解来提高脑内 ACh 的浓度。已被 FDA 批准的 4 种胆碱酯酶抑制剂仅对轻度认知障碍 (mild cognitive impairment, MCI) 和早期 AD 患者的临床症状有明显的改善作用。重度或晚期 AD 患者在服用胆碱酯酶抑制剂后认知功能障碍和行为异常并未得到缓解。目前尚未有明确的分子机制解释这一现象。PET 体内成像结果显示 MCI 和早期 AD 患者脑内 AChE 的活性仅轻微降低甚至未发生改变^[66]。然而在已出现广泛的老年斑沉积和神经纤维缠结的晚期 AD 患者大脑皮层中 AChE 的活性显著降低^[66]。说明,在 AD 晚期,内源性 AChE 活性抑制已经无法维持正常的胆碱能神经元功能。因此,其他胆碱能神经元异常机制可能主要参与 AD 的认知损伤过程,包括 ACh 的合成障碍和 AChR 受体功能异常。

4.1.1 ChAT 异常

AD 患者脑中 BFCNs 的丢失和轴突退变意味着其突触前功能相关蛋白的表达可能出现异常。据以往报道,AD 患者额叶、颞叶和海马等多个脑区 ChAT 的活性广泛下降,降低水平与痴呆的严重程度呈显著的正相关关系。Ikonovic 团队阐明 MCI 患者初级视皮质中 ChAT 活性降低能够导致视觉信息处理异常和认知功能障碍^[67]。但也有学者得出相反的结论。他们认为 ChAT 的活性在痴呆患者脑内未发生改变,甚至表达增加^[68]。ChAT 的活性升高是由于皮层胆碱能神经元投射系统出现代偿性或可塑性反应^[68]。因此,ChAT 表达异常可能不是导致 AD 认知障碍的主要原因^[6]。

4.1.2 CHT1 异常

在胆碱能神经元轴突末端,突触前膜 CHT1 摄取胆碱过程是 ACh 合成的限速步骤^[8]。CHT1 在调节 ACh 水平和认知功能中的重要作用已被多篇文献证实,但是有关 CHT1 在 AD 中的作用报道较少^[69-72]。1983 年, R. J. RYLET 等人首次利用氚 3 放射性同位素技术检测 AD 患者脑内 CHT1 的胆碱摄取活性^[73]。AD 患者额叶皮层和海马 CHT1 转运胆碱的速率均显著下降,但存在明显的区域差异性,额叶皮层下降 50%,而海马仅下降 20%^[73]。CHT1 在突触前膜与突触小泡之间的动态转运过程是调节突触前膜 CHT1 的表达和胆碱摄取活性的重要机制^[69]。研究人员发现在过表达淀粉样前体蛋白 (amyloid precursor protein, APP) 和 CHT1 的 HEK293 细胞系中,APP 羧基端与突触前膜 CHT1 结合,引起 CHT1 从突触前膜内吞到早期核内体^[74]。更重要的是,在大鼠海马突触小体中 CHT1 能够被 β -淀粉样蛋白 (β -amyloid protein, A β) 免疫共沉淀^[10]。因此,A β 和 APP 可能通过促进 CHT1 向细胞内转运引起

AD 脑中 CHT1 的分布异常和胆碱摄取活性下降。但这一机制是否是导致 AD 脑内 ACh 水平下降和认知功能障碍的主要原因需要更多的研究证实。

基于现有的研究成果可知,靶向增加细胞表面 CHT1 的表达和活性的药物有望改善 AD 患者的认知功能。但目前开发靶向 CHT1 的药物仍面临一定的困难,一方面是难以研制通过血脑屏障的 CHT1 特异性配体,另一方面是由于脑内存在复杂的调节 CHT1 的细胞机制^[10,75]。另外,需要考虑的是,目前有关 AD 疾病下 CHT1 的异常改变研究都在体外进行,而在神经元兴奋时,细胞内 CHT1 向突触前膜的转运增加^[8]。因此,在神经网络激活的状态下,AD 脑内 CHT1 摄取胆碱的功能是否同样下降需要进一步探究。

4.2 AChR 功能异常在 AD 中的作用

ACh 参与认知功能的调节依赖于 AChR 激活产生的突触后效应。Counts SE 团队利用单细胞基因表达微阵列分析法发现 AD 患者基底前脑胆碱能神经元内只有 $\alpha 7$ nAChR 的 mRNA 表达升高,其他 AChR 的基因表达水平与正常对照组之间无显著差异^[76]。与此项研究结果一致:AD 患者的海马神经元,胶质细胞和外周血白细胞中 $\alpha 7$ nAChR 的表达升高^[77-79]。更重要的是,AD 患者的认知功能评分与 $\alpha 7$ nAChR 的表达量呈现显著的反比例关系,说明 $\alpha 7$ nAChR 的异常改变参与 AD 的认知障碍过程^[76]。研究认为, $\alpha 7$ nAChR 是 A β 产生细胞毒性的直接作用靶点^[62,80]。体外实验表明,pM 浓度范围内的 A β (生理状态下)与 $\alpha 7$ nAChR 结合,促进海马神经元释放谷氨酸^[81]。但当 A β 的浓度增加到 nmol·L⁻¹ 数量级时,A β 作为 $\alpha 7$ nAChR 的阻断剂抑制钙离子内流和谷氨酸以及 ACh 的释放^[81]。更有趣的是, $\alpha 7$ nAChR 促进 A β 在细胞内聚集,这可能进一步加剧 A β 的细胞毒性作用^[80]。另外,研究发现, $\alpha 7$ nAChR 的表达上调能够直接引起神经元死亡,而神经元死亡是 AD 患者常出现的病理改变之一^[6]。目前,已被 FDA 批准的用于 AD 治疗的 AChR 变构性增强剂加兰他敏在临床应用中取得良好的认知功能与生活活动能力改善作用(通过促进脑内 ACh 的释放实现)。

尽管 AD 患者脑内 M1 型 AChR 的表达水平与正常受试者无明显差异,M1 AChR 激活所耦联的细胞内信号通路被证实与 AD 的多种临床和病理改变相关,包括认知功能损伤、胆碱能神经元功能低下、A β 的沉积和 tau 蛋白的过度磷酸化^[6,82]。体外实验表明,M1 AChR 的激活能够显著降低 A β 兴奋性神经毒性(动作电位发放和兴奋性突触后电流)^[83]。M1 AChR 的激活促进 APP 被 α -分泌酶水解,从而抑制其被 β 和 γ 分泌酶剪切,产生具有神经毒性的 A β ^[84]。另外,mAChR 可保护

神经元免受凋亡,并提高认知水平和学习能力^[85]。因此,M1 AChR被认为是治疗AD的重要药物靶点之一。目前,三种M1型AChR部分选择性激动剂(AF102B、AF150(S)和AF267Bi)已被成功研制出,并在动物模型中展开研究^[86]。在经慢性给予AF267Bi药物处理后,3x转基因AD小鼠的认知功能得到改善,并且其海马和皮层A β_{42} 的表达水平和tau蛋白的磷酸化程度明显降低^[87]。进一步的研究发现,AF267Bi对AD的改善作用通过多种机制实现,包括肿瘤坏死因子 α 转化酶ADAM17/TACE的激活、糖原合成酶激酶3 β 活性被抑制以及 β 分泌酶1表达下调^[87]。但是,AF267Bi是否能够被用于AD的临床治疗仍需进一步的验证。

4.3 基底前脑胆碱能神经元退变

基底前脑萎缩伴随BFCNs丢失是AD的标志性特征之一^[88]。AD的病理改变最早起始于内嗅皮层还是基底前脑是科学家们一直争论的问题^[89-90]。2016年,Taylor W. Schmitz团队利用高分辨磁共振成像技术检测不同AD阶段患者的基底前脑和内嗅皮层神经元退变情况^[91]。此团队的研究结果显示,脑脊液A β_{1-42} 升高但无认知功能障碍的AD(pre-symptomatic AD)患者基底前脑(Ch4)体积缩小,但内嗅皮层未出现萎缩,即基底前脑退变发生在皮层出现病理改变之前^[91]。这一结果强调了基底前脑损伤在AD早期阶段中的重要作用。2017年,M Aghourian团队利用高敏感性和高特异性胆碱能神经元PET放射性追踪剂FEOBV(与VACHT结合)首次实现AD患者体内胆碱能神经元成像^[92]。AD患者皮层胆碱能神经元轴突显著退变,损伤程度与AD患者的认知功能评分(MMSE和MoCA认知评估)呈反比^[92]。这些研究结果说明,BFCNs退变在AD临床前阶段到晚期阶段持续存在,并且参与AD的发生和发展过程。然而AD时并非所有的基底前脑核团发生退变。据以往的报道,相对于同龄且健康的受试者,AD患者基底前脑Ch4区神经元明显丢失而Ch2区神经元尚能完整保留^[93-95]。这解释了AD时皮层胆碱能神经元轴突退变而海马齿状回未受影响的现象^[96]。有关基底前脑不同核团对AD敏感性差异的机制目前尚不清楚。

4.4 神经生长因子/酪氨酸激酶A通路异常

已有的研究结果认为神经生长因子(neuron growth factor,NGF)/酪氨酸激酶A(tyrosine kinase A,TrkA)通路失调可能是导致AD患者BFCNs退变的主要原因^[97]。NGF/TrkA通路的激活已经被证实参与前脑相关的认知过程^[97]。在BFCNs轴突末端,NGF与高亲和力受体TrkA结合促进神经元的存活,而与低亲和力受体p^{75NTR}结合促进神经元的凋亡^[98]。通过尸

检和动物实验研究,Cuello团队发现AD脑中NGF的蛋白水平下降,主要是由NGF前体(NGF precursor,proNGF)向NGF成熟体的转换过程受阻和NGF成熟体的降解增加引起^[98-99]。与之一致的是,AD患者脑组织中proNGF的表达升高,进一步证实了Cuello团队的研究结果^[41]。表达上调的proNGF与TrkA或p^{75NTR}结合激活凋亡信号通路^[41]。另外,单细胞基因表达谱分析结果显示MCI和AD患者基底前脑和皮层区胆碱能神经元中TrkA的mRNA水平明显下降,而p^{75NTR}的mRNA水平与健康受试者之间无显著差异^[100]。因此,AD脑中低表达的NGF和TrkA以及高表达的proNGF可能导致细胞内神经保护信号向凋亡信号转变,进而引起BFCNs退变^[97]。

4.5 A β 与胆碱能神经元功能障碍

尽管A β 沉积、神经纤维缠结和BFCNs退变被认为是AD典型的病理改变,但是有关A β 与BFCNs损伤之间关系的研究报道相对较少。2015年,Alaina Baker-Nigh团队通过免疫组织化学染色实验揭示AD患者BFCNs内出现大量A β 的沉积,并且A β 寡聚体的形成显著高于健康受试者^[101]。同年,来自昆士兰大学的Georg M Kerbler研究团队利用活体磁共振成像和正电子成像技术进一步证实了这一结果^[64]。此团队的研究结果发现,MCI和AD患者的基底前脑萎缩程度与新皮层内A β 的沉积量呈显著正相关关系^[64]。动物实验结果显示,局部脑室注射A β 能够引起胆碱能神经元功能受损,包括BFCNs丢失、ChAT的表达降低、CHT1的活性下降和AChE的活性增加^[102-103]。这些研究结果说明,AD患者脑中过表达的A β 在胆碱能神经元功能障碍中发挥重要作用。

目前的研究结果认为,A β 对BFCNs的神经毒性作用主要通过两种途径产生^[41]。第一种途径是:A β 与BFCNs细胞膜上的p^{75NTR}受体结合,激活下游caspase-8/3通路、氧化应激反应和活性氧中间体的产生,直接引起胆碱能神经元死亡^[41]。另外一种途径主要涉及:A β 激活小胶质细胞,使其释放肿瘤坏死因子 α 、白介素-1 β 和细胞因子,从而引发局部炎症反应,间接损伤胆碱能神经元功能^[41]。这两种方式并非独立存在,而是以相互协同的方式促进A β 介导的细胞毒性作用^[41]。

5 小结与展望

迄今为止,胆碱酯酶抑制剂是临床上用于治疗AD的主要药物。然而,这些药物存在一定的治疗局限性,无法持续维持脑内正常的ACh浓度。因此,深入探究AD时BFCNs功能障碍的分子机制为AD的药物研

发提供理论依据。以往的研究结果揭示 BFCNs 丢失、胆碱摄取活性下降、ACh 释放障碍、AChE 活性下降和 AChR (M1 AChR, $\alpha 7/\alpha 4\beta 2$ nAChR) 功能异常在 AD 认知功能障碍中具有重要的作用。近年来, NGF/TrkA 通路异常和 A β 介导的胆碱能神经元功能损伤机制被逐渐揭示。这些研究成果为 AD 的临床治疗提供新的药物靶点, 例如靶向增加细胞膜 CHT1 的药物、 $\alpha 7$ nAChR 激动剂、M1 AChR 激动剂和增加基底前脑 NGF 的表达等。这些为 AD 的临床治疗带来曙光。然而如何精准地靶向提高 BFCNs 的功能以降低外周胆碱能神经元兴奋引起的不良反应仍然是我们目前面临的挑战之一。

参考文献

- [1] Alzheimer's Association. 2015 Alzheimer's disease facts and figures [J]. *Alzheimers Dement*, 2015, 11 (3): 332-384.
- [2] Bruno Dubois, Howard H Feldman, Claudia Jacova, *et al.* Revising the definition of Alzheimer's disease: a new lexicon [J]. *Lancet Neurol*, 2010, 9 (11): 1118-1127.
- [3] Deborah E Barnes, Kristine Yaffe. The projected effect of risk factor reduction on Alzheimer's disease prevalence [J]. *Lancet Neurol*, 2011, 10 (9): 819-828.
- [4] Matthew R Brier, Brian Gordon, Karl Friedrichsen, *et al.* Tau and A β imaging, CSF measures, and cognition in Alzheimer's disease [J]. *Sci Transl Med*, 2016, 8 (338): 338ra66.
- [5] Karl Herrup. The case for rejecting the amyloid cascade hypothesis [J]. *Nat Neurosci*, 2015, 18 (6): 794-799.
- [6] Elliott J Mufson, Scott E Counts, Sylvia E Perez, *et al.* Cholinergic system during the progression of Alzheimer's disease: therapeutic implications [J]. *Expert Rev Neurother*, 2008, 8 (11): 1703-1718.
- [7] Hermona Soreq. Checks and balances on cholinergic signaling in brain and body function [J]. *Trends Neurosci*, 2015, 38 (7): 448-458.
- [8] Haga Tatsuya. Molecular properties of the high-affinity choline transporter CHT1 [J]. *J Biochem*, 2014, 156 (4): 181-194.
- [9] Takashi Okuda, Tatsuya Haga, Yoshikastu Kanai, *et al.* Identification and characterization of the high-affinity choline transporter [J]. *Nat Neurosci*, 2000, 3 (2): 120-125.
- [10] Stefanie A G Black, R Jane Rylett. Choline transporter CHT regulation and function in cholinergic neurons [J]. *Cent Nerv Syst Agents Med Chem*, 2012, 12 (2): 114-121.
- [11] Francesco Amenta, Seyed Khosrow Tayebati. Pathways of acetylcholine synthesis, transport and release as targets for treatment of adult-onset cognitive dysfunction [J]. *Curr Med Chem*, 2008, 15 (5): 488-498.
- [12] Talita H Ferreira-Vieira, Isabella M Guimaraes, Flavia R Silva, *et al.* Alzheimer's disease: targeting the cholinergic system [J]. *Curr Neuropharmacol*, 2016, 14 (1): 101-115.
- [13] Stanley M Parsons, Ben A Bahr, Lawrence M Gracz, *et al.* Acetylcholine transport: fundamental properties and effects of pharmacologic agents [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 1987, 493220-493233.
- [14] Kota Banzai, Takeshi Adachi, Susumu Izumi. Comparative analyses of the cholinergic locus of ChAT and VAChT and its expression in the silkworm *bombyx mori* [J]. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol*, 2015, 1851-1859.
- [15] Brygdia Berse, Jan Krzysztof Blusztajn. Coordinated up-regulation of choline acetyltransferase and vesicular acetylcholine transporter gene expression by the retinoic acid receptor alpha, cAMP, and leukemia inhibitory factor/ciliary neurotrophic factor signaling pathways in a murine septal cell line [J]. *J Biol Chem*, 1995, 270 (38): 22101-22104.
- [16] Clarissa L Waites, Craig C Garner. Presynaptic function in health and disease [J]. *Trends Neurosci*, 2011, 34 (6): 326-337.
- [17] Dragomir Milovanovic, Reinhard Jahn. Organization and dynamics of SNARE proteins in the presynaptic membrane [J]. *Front Physiol*, 2015, doi.org/10.3389/fphys.2015.00089.
- [18] Mitsuharu Midorikawa, Takeshi Sakaba. Imaging exocytosis of single synaptic vesicles at a fast CNS presynaptic terminal [J]. *Neuron*, 2015, 88 (3): 492-498.
- [19] Martijn C De Wilde, Cassia R Overk, Sijben J. W., *et al.* Meta-analysis of synaptic pathology in Alzheimer's disease reveals selective molecular vesicular machinery vulnerability [J]. *Alzheimers Dement*, 2016, 12 (6): 633-644.
- [20] Benjamin H M Hunn, Stephanie J Cragg, J Paul Bolam, *et al.* Impaired intracellular trafficking defines early Parkinson's disease [J]. *Trends Neurosci*, 2015, 38 (3): 178-188.
- [21] Elizabeth C Ballinger, Mala Ananth, Talmage D. A., *et al.* Basal forebrain cholinergic circuits and signaling in cognition and cognitive decline [J]. *Neuron*, 2016, 91 (6): 1199-1218.

- [22] Alexander Thiele. Muscarinic signaling in the brain [J]. *Annu Rev Neurosci*, 2013, 36(1): 36271-36294.
- [23] Agnes J Jasinska, Todd Zorick, Arthur L Brody, *et al.* Dual role of nicotine in addiction and cognition: a review of neuroimaging studies in humans [J]. *Neuropharmacology*, 2014, 84: 111-122.
- [24] Katuscia Martinello, Huang Zhuo, Rafael Lujan, *et al.* Cholinergic afferent stimulation induces axonal function plasticity in adult hippocampal granule cells [J]. *Neuron*, 2015, 85(2): 346-363.
- [25] John A Dani, Daniel Bertrand. Nicotinic acetylcholine receptors and nicotinic cholinergic mechanisms of the central nervous system [J]. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2007, 47: 699-729.
- [26] Leonor M Teles-Grilo Ruivo, Jack R Mellor. Cholinergic modulation of hippocampal network function [J]. *Front Synaptic Neurosci*, 2013, 5: 2.
- [27] Ruth Fabian-Fine, Paul Skehel, Mick L Errington, *et al.* Ultrastructural distribution of the alpha7 nicotinic acetylcholine receptor subunit in rat hippocampus [J]. *J Neurosci*, 2001, 21(20): 7993-8003.
- [28] Karen A Bell, Hoon Shim, Chen Ching-Kang, *et al.* Nicotinic excitatory postsynaptic potentials in hippocampal CA1 interneurons are predominantly mediated by nicotinic receptors that contain alpha4 and beta2 subunits [J]. *Neuropharmacology*, 2011, 61(8): 1379-1388.
- [29] Hill J A, Zoli M, Bourgeois J P, *et al.* Immunocytochemical localization of a neuronal nicotinic receptor: the beta 2-subunit [J]. *J Neurosci*, 1993, 13(4): 1551-1568.
- [30] Marina R Picciotto, Michael J Higley, Yann S Mineur, Acetylcholine as a neuromodulator: cholinergic signaling shapes nervous system function and behavior [J]. *Neuron*, 2012, 76(1): 116-129.
- [31] McGehee D S, Heath M J, Gelber S, *et al.* Nicotine enhancement of fast excitatory synaptic transmission in CNS by presynaptic receptors [J]. *Science*, 1995, 269(5231): 1692-1696.
- [32] Susan Wonnacott S. Presynaptic nicotinic ACh receptors [J]. *Trends Neurosci*, 1997, 20(2): 92-98.
- [33] Huibert D Mansvelder, J Russel Keath, Daniel S McGehee. Synaptic mechanisms underlie nicotine-induced excitability of brain reward areas [J]. *Neuron*, 2002, 33(6): 905-919.
- [34] Vinay Parikh, Ji Jin-zhao, Michael W Decker, *et al.* Prefrontal beta2 subunit-containing and alpha7 nicotinic acetylcholine receptors differentially control glutamatergic and cholinergic signaling [J]. *J Neurosci*, 2010, 30(9): 3518-3530.
- [35] Crisculo C, Accorroni A, Domenici L, *et al.* Impaired synaptic plasticity in the visual cortex of mice lacking alpha7-nicotinic receptor subunit [J]. *Neuroscience*, 2015, 294: 166-171.
- [36] Vesna Lazarevic, Sandra Fienko, Maria Andres-Alonso, *et al.* Physiological concentrations of amyloid beta regulate recycling of synaptic vesicles via alpha7 acetylcholine receptor and CDK5/calcineurin signaling [J]. *Front Mol Neurosci*, 2017, 10: 221.
- [37] Arendt T, Bigl V, Arendt A, *et al.* Loss of neurons in the nucleus basalis of Meynert in Alzheimer's disease, paralysis agitans and Korsakoff's Disease [J]. *Acta Neuropathol*, 1983, 61(2): 101-108.
- [38] Aquilonius S M, Eckernas S A, Sundwall A, Regional distribution of choline acetyltransferase in the human brain: changes in Huntington's chorea [J]. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 1975, 38(7): 669-677.
- [39] Bruno Dubois, Merle Ruberg, France Javoy-Agid, *et al.* A subcortico-cortical cholinergic system is affected in Parkinson's disease [J]. *Brain Res*, 1983, 288(1-2): 213-218.
- [40] Elliott J Mufson, Stephen D Ginsberg, Milos D Ikonovic, *et al.* Human cholinergic basal forebrain: chemoanatomy and neurologic dysfunction [J]. *J Chem Neuroanat*, 2003, 26(4): 233-242.
- [41] Giancarlo Pepeu, Maria Grazia Giovannini. The fate of the brain cholinergic neurons in neurodegenerative diseases [J]. *Brain Res*, 2017, 1670: 173-184.
- [42] Wu Hao, John Williams, Jeremy Nathans, Complete morphologies of basal forebrain cholinergic neurons in the mouse [J]. *Elife*, 2014, 3: e02444.
- [43] Dayan Knox, Samantha M Keller. Cholinergic neuronal lesions in the medial septum and vertical limb of the diagonal bands of Broca induce contextual fear memory generalization and impair acquisition of fear extinction [J]. *Hippocampus*, 2016, 26(6): 718-726.
- [44] Patrick Dutar, Marie-Helene Bassant, Marie-Claude Senut, *et al.* The septohippocampal pathway: structure and function of a central cholinergic system [J]. *Physiol Rev*, 1995, 75(2): 393-427.
- [45] Amaral D G, Kurz J. An analysis of the origins of the cholinergic and noncholinergic septal projections to the hippocampal formation of the rat [J]. *J Comp Neurol*,

- 1985,240(1):37-59.
- [46] Nyakas C, Luiten P G, Spencer D G, *et al.* Detailed projection patterns of septal and diagonal band efferents to the hippocampus in the rat with emphasis on innervation of CA1 and dentate gyrus [J]. *Brain Res Bull*, 1987, 18(4): 533-545.
- [47] Ehren L Newman, Kishan Gupta, Jason R Climer, *et al.* Cholinergic modulation of cognitive processing: insights drawn from computational models [J]. *Front Behav Neurosci*, 2012, doi.org/10.3389/fnbeh.2012.00024.
- [48] Bernard Bloem, Luc Schoppink, Diana C Rotaru, *et al.* Topographic mapping between basal forebrain cholinergic neurons and the medial prefrontal cortex in mice [J]. *J Neurosci*, 2014, 34(49): 16234-16246.
- [49] Neven Henigsberg, Petra Kalember, Pero Hrabac, *et al.* 1-H MRS changes in dorsolateral prefrontal cortex after donepezil treatment in patients with mild to moderate Alzheimer's disease [J]. *Coll Antropol*, 2011, 35 (Suppl): 1159-1162.
- [50] Vanessa Krause, Shahid Bashir, Bettina Pollok, *et al.* 1 Hz rTMS of the left posterior parietal cortex (PPC) modifies sensorimotor timing [J]. *Neuropsychologia*, 2012, 50(14): 3729-3735.
- [51] Michelle L Tomaszycycki, Eldin Dzibur. 17beta-Hydroxysteroid dehydrogenase type IV, a Z-linked gene, is higher in females than in males in visual and auditory regions of developing zebra finches [J]. *Brain Res*, 2013, 1520: 95-106.
- [52] Patricia H Janak, Kay M Tye. From circuits to behaviour in the amygdala [J]. *Nature*, 2015, 517(7534): 284-292.
- [53] Dai Mitsushima, Akane Sano, Takuya Takahashi. A cholinergic trigger drives learning-induced plasticity at hippocampal synapses [J]. *Nat Commun*, 2013, 4: 2760.
- [54] Jessica J Roland, Amanda L Stewart, Kellie L Janke, *et al.* Medial septum-diagonal band of Broca (MSDB) GABAergic regulation of hippocampal acetylcholine efflux is dependent on cognitive demands [J]. *J Neurosci*, 2014, 34(2): 506-514.
- [55] Munir Gunes Kutlu, Thomas J Gould. Nicotinic modulation of hippocampal cell signaling and associated effects on learning and memory [J]. *Physiol Behav*, 2016, 155: 162-171.
- [56] Siyoung Lee, Jisung Kim, Sang Gwon Seo, *et al.* Sulforaphane alleviates scopolamine-induced memory impairment in mice [J]. *Pharmacol Res*, 2014, 85: 23-32.
- [57] Saraswathi Subramanian, Seok Heo, Sudarshan Patil, *et al.* A hippocampal nicotinic acetylcholine alpha 7-containing receptor complex is linked to memory retrieval in the multiple-T-maze in C57BL/6j mice [J]. *Behav Brain Res*, 2014, 270: 137-145.
- [58] Gould R W, Dencker D, Grannan M, *et al.* Role for the M1 muscarinic acetylcholine receptor in top-down cognitive processing using a touchscreen visual discrimination task in mice [J]. *ACS Chem Neurosci*, 2015, 6(10): 1683-1695.
- [59] Gu Zheng-lin, Jerrel L Yakel. Timing-dependent septal cholinergic induction of dynamic hippocampal synaptic plasticity [J]. *Neuron*, 2011, 71(1): 155-165.
- [60] Andrew W Half, David Gomez-Varela, Danielle John, *et al.* A novel mechanism for nicotinic potentiation of glutamatergic synapses [J]. *J Neurosci*, 2014, 34(6): 2051-2064.
- [61] Paul T Francis, Alan M Palmer, Michael Snape, *et al.* The cholinergic hypothesis of Alzheimer's disease: a review of progress [J]. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 1999, 66(2): 137-147.
- [62] Schliebs R, Arendt T. The significance of the cholinergic system in the brain during aging and in Alzheimer's disease [J]. *J Neural Transm (Vienna)*, 2006, 113(11): 1625-1644.
- [63] Marco Fuenzalida, Miguel Angel Perez, Hugo R Arias. Role of nicotinic and muscarinic receptors on synaptic plasticity and neurological diseases [J]. *Curr Pharm Des*, 2016, 22(14): 2004-2014.
- [64] Kerbler G M, Fripp J, Rowe C C, *et al.* Alzheimer's disease neuroimaging initiative, basal forebrain atrophy correlates with amyloid beta burden in Alzheimer's disease [J]. *Neuroimage Clin*, 2015, 7: 105-113.
- [65] Laura A Craig, Nancy S Hong, Robert J McDonald. Revisiting the cholinergic hypothesis in the development of Alzheimer's disease [J]. *Neurosci Biobehav Rev*, 2011, 35(6): 1397-1409.
- [66] Linda M Bierer, Vahram Haroutunian, Steve Gabriel, *et al.* Neurochemical correlates of dementia severity in Alzheimer's disease: relative importance of the cholinergic deficits [J]. *J Neurochem*, 1995, 64(2): 749-760.
- [67] Milos D Ikonovic, Elliott J Mufson, Joanne Wu, *et al.* Reduction of choline acetyltransferase activity in primary visual cortex in mild to moderate Alzheimer's disease [J]. *Arch Neurol*, 2005, 62(3): 425-430.
- [68] Steven T Dekosky, Milos D Ikonovic, Scot D Styren, *et al.* Upregulation of choline acetyltransferase activity in

- hippocampus and frontal cortex of elderly subjects with mild cognitive impairment [J]. *Ann Neurol*, 2002, 51 (2): 145-155.
- [69] Fabiola M Ribeiro, Stefanie A G Black, Vania F Prado, *et al.* The “ins” and “outs” of the high-affinity choline transporter CHT1 [J]. *J Neurochem*, 2006, 97 (1): 1-12.
- [70] Martin Sarter, Vinay Parikh. Choline transporters, cholinergic transmission and cognition [J]. *Nat Rev Neurosci*, 2005, 6 (1): 48-56.
- [71] Daniel J Payette, Xie Jun, Guo Qing, Reduction in CHT1-mediated choline uptake in primary neurons from presenilin-1 M146V mutant knock-in mice [J]. *Brain Res*, 2007, 1135 (1): 12-21.
- [72] Hideki Iwamoto, M Wade Calcutt, Randy D Blakely. Differential impact of genetically modulated choline transporter expression on the release of endogenous versus newly synthesized acetylcholine [J]. *Neurochem Int*, 2016, 98: 138-145.
- [73] R J Rylett, M J Ball, E H Colhoun. Evidence for high affinity choline transport in synaptosomes prepared from hippocampus and neocortex of patients with Alzheimer’s disease [J]. *Brain Res*, 1983, 289 (1-2): 169-175.
- [74] Leah K Cuddy, Claudia Seah, Stephen H Pasternak, *et al.* Differential regulation of the high-affinity choline transporter by wild-type and Swedish mutant amyloid precursor protein [J]. *J Neurochem*, 2015, 134 (4): 769-782.
- [75] Michael R Kilbourn. Small Molecule PET Tracers for Transporter Imaging [J]. *Semin Nucl Med*, 2017, 47 (5): 536-552.
- [76] Counts S E, He B, Che S, *et al.* Alpha7 nicotinic receptor up-regulation in cholinergic basal forebrain neurons in Alzheimer disease [J]. *Arch Neurol*, 2007, 64 (12): 1771-1776.
- [77] Leung-Wing Chu, Ma E S K, Kam Yiu Lam, *et al.* Increased alpha 7 nicotinic acetylcholine receptor protein levels in Alzheimer’s disease patients [J]. *Dement Geriatr Cogn Disord*, 2005, 19 (2-3): 106-112.
- [78] Ewa Hellstrom-Lindahl, Malahat Mousavi, Zhang-ga Xiao, *et al.* Regional distribution of nicotinic receptor subunit mRNAs in human brain: comparison between Alzheimer and normal brain [J]. *Brain Res Mol Brain Res*, 1999, 66 (1-2): 94-103.
- [79] Thanasak Teaktong, Alison Graham, Jennifer Court, *et al.* Alzheimer’s disease is associated with a selective increase in alpha7 nicotinic acetylcholine receptor immunoreactivity in astrocytes [J]. *Glia*, 2003, 41 (2): 207-211.
- [80] Robert G Nagele, Michael Robert D’andrea, William J Anderson, *et al.* Intracellular accumulation of beta-amyloid (1-42) in neurons is facilitated by the alpha 7 nicotinic acetylcholine receptor in Alzheimer’s disease [J]. *Neuroscience*, 2002, 110 (2): 199-211.
- [81] Daniela Puzzo, Lucia Privitera, Elena Leznik, *et al.* Picomolar amyloid-beta positively modulates synaptic plasticity and memory in hippocampus [J]. *J Neurosci*, 2008, 28 (53): 14537-14545.
- [82] Scott E Counts, Bin He, Che Shao-li, *et al.* Galanin hyperinnervation upregulates choline acetyltransferase expression in cholinergic basal forebrain neurons in Alzheimer’s disease [J]. *Neurodegener Dis*, 2008, 5 (3-4): 228-231.
- [83] Gu Zheng-lin, Zhong Ping, Yan Zhen, Activation of muscarinic receptors inhibits beta-amyloid peptide-induced signaling in cortical slices [J]. *J Biol Chem*, 2003, 278 (19): 17546-17556.
- [84] Abraham Fisher, Zipora Pittel, Rachel Haring, *et al.* M1 muscarinic agonists can modulate some of the hallmarks in Alzheimer’s disease: implications in future therapy [J]. *J Mol Neurosci*, 2003, 20 (3): 349-356.
- [85] Ma Ke, Yang Zhi-hui, Yang Li-min, *et al.* Activation of M1 mAChRs by lesatropane rescues glutamate neurotoxicity in PC12 cells via PKC-mediated phosphorylation of ERK1/2 [J]. *Bosn J Basic Med Sci*, 2013, 13 (3): 146-152.
- [86] Abraham Fisher, Rachel Brandeis, Rachel Haring Nira Bar-Ner, *et al.* AF150 (S) and AF267B: M1 muscarinic agonists as innovative therapies for Alzheimer’s disease [J]. *J Mol Neurosci*, 2002, 19 (1-2): 145-153.
- [87] Antonella Caccamo, Salvatore Oddo, Lauren M Billings, *et al.* M1 receptors play a central role in modulating AD-like pathology in transgenic mice [J]. *Neuron*, 2006, 49 (5): 671-682.
- [88] Stefan Teipel, Helmut Heinsen, Edson Amaro, *et al.* and Alzheimer’s Disease Neuroimaging Initiative, Cholinergic basal forebrain atrophy predicts amyloid burden in Alzheimer’s disease [J]. *Neurobiol Aging*, 2014, 35 (3): 482-491.
- [89] Thomas Arendt, Martina K Bruckner, Markus Morawski, *et al.* Early neurone loss in Alzheimer’s disease: cortical or subcortical? [J]. *Acta Neuropathol Commun*, 2015, 3: 10.
- [90] Marsel Mesulam. The cholinergic lesion of Alzheimer’s

- disease:pivotal factor or side show? [J]. Learn Mem, 2004, 11 (1):43-49.
- [91] Schmitz T W, Nathan Spreng R. Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative, Basal forebrain degeneration precedes and predicts the cortical spread of Alzheimer's pathology [J]. Nat Commun, 2016, 7: 13249.
- [92] Aghourian M, Legault-Denis C, Soucy J P, *et al.* Quantification of brain cholinergic denervation in Alzheimer's disease using PET imaging with [18F]-FEOBV [J]. Mol Psychiatry, 2017, 22 (11): 1531-1538.
- [93] Stephane Lehericy, Etienne C Hirsch, Pascale Cervera-Pierot, *et al.* Heterogeneity and selectivity of the degeneration of cholinergic neurons in the basal forebrain of patients with Alzheimer's disease [J]. J Comp Neurol, 1993, 330 (1): 15-31.
- [94] Elliott J Mufson, Elizabeth Cochran, William Benzing, *et al.* Galaninergic innervation of the cholinergic vertical limb of the diagonal band (Ch2) and bed nucleus of the stria terminalis in aging, Alzheimer's disease and Down's syndrome [J]. Dementia, 1993, 4 (5): 237-250.
- [95] Hiroshige Fujishiro, Hiroyuki Umegaki, Daisuke Isojima, *et al.* Depletion of cholinergic neurons in the nucleus of the medial septum and the vertical limb of the diagonal band in dementia with Lewy bodies [J]. Acta Neuropathol, 2006, 111 (2): 109-114.
- [96] Maxime J Parent, Marc-Andre Bedard, Arturo Aliaga, *et al.* Cholinergic Depletion in Alzheimer's Disease Shown by [(18 F)] FEOBV Autoradiography [J]. Int J Mol Imaging, 2013, 2013: 205045.
- [97] Viviana Triaca, Pietro Calissano. Impairment of the nerve growth factor pathway driving amyloid accumulation in cholinergic neurons: the incipit of the Alzheimer's disease story? [J]. Neural Regen Res, 2016, 11 (10): 1553-1556.
- [98] M Florencia Iulita, Augusto Claudio Cuello. The NGF Metabolic Pathway in the CNS and its Dysregulation in Down Syndrome and Alzheimer's Disease [J]. Curr Alzheimer Res, 2016, 13 (1): 53-67.
- [99] M Florencia Iulita, A Claudio Cuello. Nerve growth factor metabolic dysfunction in Alzheimer's disease and Down syndrome [J]. Trends Pharmacol Sci, 2014, 35 (7): 338-348.
- [100] Elliott J Mufson, He Bin, Muhammad Nadeem, *et al.* Hippocampal proNGF signaling pathways and beta-amyloid levels in mild cognitive impairment and Alzheimer disease [J]. J Neuropathol Exp Neurol, 2012, 71 (11): 1018-1029.
- [101] Alaina Baker-Nigh, Shahrooz Vahedi, Elena Goetz Davis, *et al.* Neuronal amyloid-beta accumulation within cholinergic basal forebrain in ageing and Alzheimer's disease [J]. Brain, 2015, 138 (Pt 6): 1722-1737.
- [102] Tomas Petrasek, Martina Skurlova, Kristyna Maleninska, *et al.* A Rat Model of Alzheimer's Disease Based on Abeta42 and Pro-oxidative Substances Exhibits Cognitive Deficit and Alterations in Glutamatergic and Cholinergic Neurotransmitter Systems [J]. Front Aging Neurosci, 2016, 8: 83.
- [103] Maliheh Soodi, Soodabeh Saeidnia, Mohammad Sharifzadeh, *et al.* Satureja bachtiarica ameliorate beta-amyloid induced memory impairment, oxidative stress and cholinergic deficit in animal model of Alzheimer's disease [J]. Metab Brain Dis, 2016, 31 (2): 395-404.