贺云,赵宏伟,齐冬梅,等. ApoE4 转基因小鼠在阿尔茨海默病研究中的应用进展［J］. 中国实验动物学报, 2022, 30(8): 1128-1140.
He Y, Zhao HW, Qi DM, et al. Progress in application of ApoE4 transgenic mice in research into Alzheimer's disease［J］. Acta Lab Anim Sci Sin, 2022, 30(8): 1128-1140.
Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2022.08.016

ApoE4 转基因小鼠在阿尔茨海默病研究中的应用进展

贺云[1],赵宏伟[2],齐冬梅[2],程肖蕊[2*],刘西建[1*]

(1.山东中医药大学中医学院,济南　250355;2.山东中医药大学中医药创新研究院,济南　250355)

【摘要】 载脂蛋白 E(apolipoprotein E,ApoE)在脑中参与胆固醇和脂质代谢,将胆固醇输送到神经元,并清除脂质碎片以促进髓鞘修复。ApoE4 是 ApoE 三种亚型之一,为散发型阿尔茨海默病(sporadic Alzheimer's disease,SAD)最主要的遗传危险因素。其发病机制可能涉及增加脑内 β-淀粉样蛋白(β-amyloid,Aβ)沉积并减少其清除率、Tau 蛋白过度磷酸化、脂质代谢异常和血脑屏障损伤。ApoE4 转基因小鼠最早在 2 ~ 4 月龄出现 Aβ 相关病理表型,4 月龄时海马总 Tau 蛋白和磷酸化 Tau 蛋白含量增加,且发生神经元丢失、树突损坏及突触减少,9 月龄空间学习记忆能力下降。ApoE4 转基因小鼠广泛用于 AD 防治药物的研究,如胆碱酯酶抑制剂利斯的明、谷氨酰胺酶拮抗剂 JHU-083、GABA 能神经元受体增强剂戊巴比妥、改善脑血管功能障碍的表皮生长因子、二十二碳六烯酸、菊粉和姜黄素等。本综述可为 ApoE4 转基因小鼠在 AD 研究中的应用提供参考与借鉴作用。

【关键词】 阿尔茨海默病;载脂蛋白 E;ApoE4 转基因小鼠;学习记忆;脂质代谢
【中图分类号】Q95-33　**【文献标识码】**A　**【文章编号】**1005-4847（2022）08-1128-13

Progress in application of ApoE4 transgenic mice in research into Alzheimer's disease

HE Yun[1], ZHAO Hongwei[2], QI Dongmei[2], CHENG Xiaorui[2*], LIU Xijian[1*]

(1. School of Chinese Medicine, Shandong University of Chinese Medicine, Jinan 250355, China.
2. Chinese Medicine Innovation Research Institute, Shandong University of Chinese Medicine, Jinan 250355)
Corresponding author: CHENG Xiaorui. E-mail: cxr916@163.com; LIU Xijian. E-mail: Liuxijian6500@126.com

【Abstract】 The apolipoprotein E (ApoE) is involved in cholesterol and lipid metabolism in the brain, transporting cholesterol to neurons and removing lipid debris to facilitate myelin repair. ApoE4, one of three subtypes of ApoE, is the most important genetic risk factor for sporadic Alzheimer's disease (AD). ApoE4 increases the deposition and reduces the clearance rate of Aβ, enhances hyperphosphorylation of Tau protein, induces abnormal lipid metabolism in the brain, and impairs the brain and blood-brain barrier. ApoE4 transgenic mice were used to study AD pathogenesis and prevention. ApoE4 transgenic mice showed decreased abilities in spatial learning and memory at the age of 9 months and a pathological phenotype related to β-amyloid at 2 ~ 4 months. At 4 months, total Tau and phosphorylated Tau levels increased, and a loss of neurons and damage to dendrites and synapses occurred in the hippocampus. *ApoE*4 transgenic mice have been used to study the prevention and treatment of AD drugs such as the GABA neuronal receptor agonist pentobarbital, the glutamine antagonist JHU-083, epidermal growth factor, inulin, and curcumin. This review provides a reference for those applying ApoE4 transgenic mice in AD research.

【Keywords】 Alzheimer's disease; ApoE4; ApoE4 transgenic mice; Learning and memory; Lipid metabolism
Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

[基金项目]国家自然科学基金青年基金(82205078)。
Fund by the National Natural Science Foundation Youth Fund (82205078).
[作者简介]贺云(1996—),女,在读硕士研究生,神经药理学。Email: hy2020110070@163.com
[通信作者]程肖蕊,博士,博士生导师,研究方向:中药药理研究。Email: cxr916@163.com;
刘西建,博士,硕士生导师,研究方向:方剂效用机制及针药结合研究。Email: liuxijian6500@126.com。
*共同通信作者

阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)是一种常见的神经退行性疾病,主要表现为渐进性认知功能退化、记忆丧失、人格和行为改变等,AD 患者占 AD 及其他痴呆者的 63% ~ 70%[1-2]。脑内 Aβ 沉积导致的斑块和 Tau 蛋白过度磷酸化形成的神经纤维缠结及神经元丢失是该病的主要病理特征[3]。AD 发病机制复杂,迄今尚不明确,临床亦无有效治疗药物。大量临床和实验研究结果表明,ApoE4 等位基因是散发型 AD 最强、最主要的遗传危险因素[4-5],但 ApoE4 诱导 AD 发病机制尚不清楚。ApoE4 转基因小鼠也被广泛用于 AD 发病机制和防治药物的研究。本文对 ApoE4 转基因小鼠的 AD 样性状及其在 AD 研究中的应用进行系统综述,为 AD 相关研究提供借鉴。

1　ApoE4 转基因小鼠

1.1　载脂蛋白 E 与 AD 发生的关系

ApoE 是一种由 299 个氨基酸残基组成的糖蛋白,分子量约为 34×10^3,主要在肝合成,通过介导肝清除脂蛋白颗粒而在血浆胆固醇稳态中发挥关键作用[6],同时也在大脑中产生,过去认为主要是在星形胶质细胞中产生[7],近期发现小胶质细胞及神经元中的表达量也增多[8-10]。在大脑中主要是参与胆固醇和脂质代谢,主要作用是将胆固醇输送到神经元,并且清除脂质碎片以促进髓鞘修复[11]。

ApoE 具有 3 种主要亚型:ApoE2、ApoE3 和 ApoE4(表 1)。ApoE2 参与脂蛋白代谢、激活水解脂肪的酶类、免疫调节及神经组织的再生,ApoE2 降低胆固醇,运转脂质到神经胶质细胞;ApoE3 参与脂质和脂蛋白代谢,促进清除循环中残留的富含甘油三酯的脂蛋白,通过促进巨噬细胞胆固醇外排,在脂蛋白代谢中发挥关键作用,降低血浆脂质水平[12],ApoE3 还能促进神经元突起的生长[13];ApoE4 则可以优先富集甘油三酯脂蛋白,在体外培养中,表达 ApoE4 的星形胶质细胞、神经元胆固醇和磷脂的分泌减少,脂质结合能力下降,并且细胞内 ApoE4 降解增加[12]。ApoE4 在体外和体内均有抑制神经元突起生长和脊柱发育的功能[14],ApoE4 激活血管周细胞中亲合素 A 介导的促炎症通路,该通路可导致脑血管完整性丧失和血脑屏障破坏[15]。与 ApoE3 相比,ApoE4 促进了更多的生长素反应因子(ARF6)表达,在晚期内涵体中捕获 ATP 结合盒转运体 A1(ATP-binding cassette transporter A1, ABCA1),并阻碍其在细胞膜上的循环,脂质性差的 ApoE4 更倾向于聚集,降低了 ABCA1 膜的循环利用及其脂化 ApoE 的能力[16]。并且,ApoE4 等位基因以剂量依赖的方式增加 AD 的风险,每增加一个拷贝的 ε4,其携带者的 AD 患病风险将会增加 2 ~ 6 倍,AD 的发病年龄提前 7 ~ 9 年[17]。ApoEε2 则是一种保护性等位基因,即使存在 ApoEε4 等位基因也可以降低约 50%的 AD 发生风险[18]。ApoEε4 女性携带者相比男性患 AD 风险更高,研究发现 ApoEε4 基因对女性认知能力影响更大[19]。通过对 5 万多名参与者的分析发现,年龄在 65 ~ 75 岁之间、携带 ApoEε4 基因的人群中,女性患 AD 的风险是男性的 4 倍[20]。

1.2　ApoE4 转基因小鼠的生物学特性

目前,已经建立了几个表达人类 ApoE3 或 ApoE4 的转基因小鼠品系(表 2),主要有:NSE-ApoE3、NSE-ApoE4、ApoE4、ApoE3、GFAP-ApoE4 和 GFAP-ApoE3 品系,其中 NSE-ApoE4 和 GFAP-ApoE4 转基因小鼠在 12 月龄时出现空间学习记忆能力的障碍,而 ApoE4 转基因小鼠则在 9 月龄表现出空间学习记忆缺陷[21]。在这些品系中,ApoE4 转基因小鼠是最常用的,本文主要综述该品系小鼠在 AD 中的应用研究进展。

1.2.1　ApoE4 转基因小鼠的学习记忆功能

Kim 等[30]通过 Morris 水迷宫(morris water maze, MWM)实验对 5 月龄雌性小鼠进行检测发现,ApoE4 转基因小鼠与野生型(wild type, WT)即 C57BL/6J 小鼠空间学习记忆能力无差异,而 Kou 等[21]发现 9 月龄雌、雄性 ApoE4 转基因小鼠相较于 WT 小鼠,其学习期逃避潜伏期延长,检测期穿环次数减少、目标象限停留时间和目标象限运动距离均缩短。Hartman 等[31]、Chouinard-Watkins 等[32]研究显示 12 月龄 ApoE4 转基因小鼠与 WT 小鼠在空间学习记忆方面无差别。Wang 等[33]通过 Morris 水迷宫和放射迷宫(radial maze, RM)实验研究 13 ~ 24 月龄 ApoE4 转基因小鼠均有空间学习记忆功能的损伤。Chouinard-Watkins 等[32]通过新异物体识别(natural object recognition, NOR)实验检测 12 月龄 ApoE4 转基因小鼠发现与 ApoE3 转基因小鼠相比,ApoE4 转基因小鼠运动距离延长、辨识别指数降低,提示其新异物体识别能力发生损伤。Siegel 等[34]通过避暗实验(passive avoidance, PA)发现,10 ~ 13 月龄 ApoE4 转基因小鼠相较于 ApoE2 转基因小鼠,错误次数减少,进入暗室的逃避潜伏期缩短,说明

被动回避反应能力未受到损害。Siegel 等[34]高架十字迷宫(elevated plus maze, EPM)实验结果表明,10 ~ 13 月龄 ApoE4 转基因小鼠相较于 ApoE3 和 ApoE2 转基因小鼠,在开臂停留时间(open-arms time, OE)短,但是 Lin 等[35]也有研究发现 12 月龄 ApoE4 转基因小鼠与 ApoE3 转基因小鼠开臂停留时间和进入开臂的次数(open-arms entries, OT)无差异。明暗箱实验[32](light-dark box, LDB)检测结果中 12 月龄 ApoE4 转基因小鼠相较于 ApoE3 转基因小鼠在明箱停留时间长,说明尚不能肯定 ApoE4 小鼠是否有焦虑情绪。悬尾实验(tail suspension tes, TST)结果表明,3 月龄和 12 月龄小鼠 ApoE4 转基因小鼠与 ApoE3 转基因小鼠僵直不动时间无差异[35],糖水偏好实验(sucrose preference test, SPT)结果 3 月龄 ApoE4 转基因小鼠与 ApoE3 转基因小鼠糖水偏爱指数无差异,说明其没有抑郁情绪。

另外,转棒实验(rota-rod test, RRT)表明 12 ~ 14 月龄 ApoE4 转基因小鼠相较于 WT 小鼠,在转棒上停留时间缩短,说明其运动协调能力差[35]。

这些研究结果表明,ApoE4 转基因小鼠学习记忆功能的显著损伤出现在 13 月龄以后,主要包括空间学习记忆能力和物体识别记忆能力,但其不表现焦虑与抑郁情绪(表 3)。

1.2.2 ApoE4 转基因小鼠的病理特征

对于 AD 的特征性病理变化 Aβ 斑块,有研究采用 DAB 染色的免疫组化(immunohistochemistry, IHC)技术检测雌性 3 月龄 ApoE4 转基因小鼠的皮层,发现 ApoE4 转基因小鼠有少量的 Aβ 沉积,10 月龄 ApoE4 转基因小鼠皮层中有显著 Aβ 沉积[39]。

Tau 蛋白过度磷酸化是形成 AD 另一特征性病理 NFT 的原因,Liraz 等[40]采用 mAb AT8IHC 检测 4 月龄 ApoE4 和 ApoE3 转基因小鼠海马中磷酸化 Tau 蛋白和总 Tau 蛋白含量,发现 CA3 和 CA1 区锥体神经元以及 DG 区颗粒神经元中的磷酸化 Tau 和总 Tau 水平明显高于 ApoE3 转基因小鼠。

对于脑体积变化,通过免疫组化技术检测 9 月龄的小鼠发现,WT 小鼠与 ApoE4 转基因小鼠大脑体积无差异,未出现萎缩[41]。Wang 等[33]使用 7T 磁共振成像检测 12 和 24 月龄小鼠脑体积比例的变化,发现 12 月龄 ApoE4 转基因小鼠与 ApoE3 转基因小鼠海马和皮层体积分别占全脑体积的比例无差异。而与 24 月龄 ApoE3 转基因小鼠相比,同龄

表 1 载脂蛋白 E 各亚型的生物学信息

Table 1 Biological information on subtypes of apolipoprotein E

亚型 Subtypes	基因型 Genotype	碱基对应位点 Base pair site	氨基酸 Amino acids	分子量 ($\times10^3$) Formula weight ($\times10^3$)	表达部位 Express parts	受体 Receptor	表型 Pheno-typic	在人群中的分布 Distribution in the population	参与的疾病 Disease of participation
		Rs429358/ Rs7412	112 158						
ApoE2	ε2/ε2 ε2 /ε3	TT/TT TT/TC	Cys Cys	34.3	神经元、星形胶质细胞、肝、心、肺、脾、胃、小肠、胸腺、膀胱、子宫、血液、动脉 Neurons, astrocytes, liver, heart, lung, spleen, stomach, small intestine, thymus, bladder, uterus, blood, arteries	HDL	降低 AD 发病率 Reduce AD incidence rate	8%	不易患 AD、冠心病,易患黄斑变性 Not susceptible to AD, coronary heart disease, but macular degeneration
ApoE3	ε3 /ε3 ε2 /ε4	TT/CC TC/TC	Cys Arg	34.0	除不在动脉中表达,其余与 ApoE2 相同 It is identical with ApoE2 except that it is not expressed in artery	HDL、LDL	正常基因 Normal gene	77%	常见基因 Common gene
ApoE4	ε3/ε4 ε4/ε4	TC/CC CC/CC	Arg Arg	34.1	神经元、星形胶质细胞、肺、脾、卵巢 Neurons, astrocytes, lung, spleen ovary	LDL VLDL	增加 AD 发病率 Increase incidence rate of AD	15%	易患 AD、冠心病、脑梗塞、视网膜色素变性 Not susceptible to Coronary heart disease、Cerebral infarction、retinitis pigmentosa

表 2　不同品系 ApoE4 转基因小鼠的空间学习记忆能力

Table 2　Spatial learning and memory ability of ApoE4 transgenic mice

基因来源 Crystalsapien	基因型 Genotype	启动子 Promoter	对照小鼠品系 Control mouse strain	月龄 Month ages	检测方法 Testing methog	检测时期 Period of detection	指标 Index	变化 Change
人 Human	ApoE4-TR	ApoE	ApoE3	9[22-25]	ApoE3	学习期 Learning period	逃避潜伏期 Escape latency	↑
						检测期 Detection period	逃避潜伏期 Escape latency	↑
					BM	检测期 Detection period	逃避潜伏期 Escape latency	↑
	NSE-ApoE4	NSE	ApoE3	6[26-27]	WMW	检测期 Detection period	逃避潜伏期 Escape latency	↑
				18[26-27]	WMW	检测期 Detection period	逃避潜伏期 Escape latency	↑
	GFAP-ApoE4	GFAP	ApoE3	8[21,28]	YM	学习期后间隔 1 h 检测 1 hour interval after learning period	进入新臂的次数 Number of times to enter the new arm	↓
						学习期后间隔 24 h 检测 24 hour interval after learning period	进入新臂的次数 Number of times to enter the new arm	−
			WT	12[21,29]	WMW	学习期 Learning period	逃避潜伏期 Escape latency	↑
						检测期 Detection period	穿环次数、目标象限停留时间、目标象限运动距离 Number of platform crossing Time spent in the targeted quadrant Distance in the targeted quadrant	↓

注：↑：升高或增加；↓：降低或减少；−：无差异。（下表同）

Note. ↑. Indicates increase or extension. ↓. Indicates decrease or decrease. −. Indicates no difference. (The same in the following tables)

ApoE4 转基因小鼠的皮层、海马的体积分别占全脑体积的比例均降低，说明皮层和海马萎缩严重[33]。Dolejší 等[42]进一步通过 IHC 检测 4 月龄 ApoE4 与 ApoE3 转基因小鼠海马突触前囊泡乙酰胆碱转运体（vesicular acetylcholine transporter, VAChT），发现 ApoE4 与 ApoE3 转基因小鼠突触前 VAChT 水平相似，但是对 ApoE4 转基因小鼠 CA3 和 CA1 海马亚区中突触前囊泡谷氨酸转运体（glutamatergic vesicular transporter, VGlut）的染色强度相较于 ApoE3 转基因小鼠低，说明 ApoE4 转基因小鼠海马中谷氨酸能神经元减少[40]。对于 GABA 能神经元，Andrews-Zwilling 等[43]、Li 等[44]通过脑切片 IHC 抗 GAD67 和抗生长抑素染色对 6、12 ~ 13、16 月龄的小鼠海马的 GABAergic 中间神经元定量分析发现，6、12 ~ 13、16 月龄时相较于 ApoE3 转基因小鼠，ApoE4 转基因小鼠齿状回 GABAergic 神经元均显著减少，16 月龄的 ApoE3 转基因小鼠与 ApoE4 转基因小鼠 CA1 区 GABAergic 神经元未出现差异。Sun 等[45]、Klein 等[46]通过生物素染色（biocytin staining, BS）法研究结果显示，相较于 ApoE3 转基因小鼠，ApoE4 转基因小鼠在 4 月龄时其海马神经元的树突分枝少、长度短且树突棘密度低，在 7 月龄时其杏仁核神经元的树突分枝也少且长度短。Li 等[44]通过共聚焦显微镜成像（confocal microscopic images, CMI）研究结果发现，与野生型小鼠相比，6 ~ 7 月龄 ApoE4 转基因小鼠海马新生神经元树突长度短而分枝少。Zhu 等[47]通过免疫荧光（immunofluorescence, IF）染色分别检测 3 月龄和 9 月龄 ApoE3 和 ApoE4 转基因小鼠海马和皮层突触体中突触结合蛋白 1（synaptojanin 1, synj1）发现 3 月龄 ApoE3 和 ApoE4 转基因小鼠海马和皮层 synj1 无差异，但是 9 月龄 ApoE4 转基因小鼠海马和皮层 synj1 表达水平比 ApoE3 转基因小鼠高。这些研究结果提示，谷氨酸能与 GABA 能神经元的丢失、神经元中树突与突触减少是导致 ApoE4 转基因小鼠脑萎缩的原因。

表 3 ApoE4 转基因小鼠的认知功能

Table 3 Cognitive function of ApoE4 transgenic mice

认知类型 Cognitive type	方法 Methods	月龄 Month ages	性别 Sex	对照小鼠品系 Control mouse strain	检测时期 Period of detection	指标 Index	变化 Change
空间学习记忆 Spatial learning and memory	MWM	5[30]	雄 Male	WT	学习期 Learning period	逃避潜伏期 Escape latency	–
					检测期 Detection period	逃避潜伏期 Escape latency	–
		9[21]	雄 Male	WT	学习期 Learning period	逃避潜伏期 Escape latency	↑
					检测期 Detection period	穿环次数、目标象限停留时间 Number of platform crossing, time in the target quadrant	↓
		12[33,35]	雄 Male	ApoE3	学习期 Learning period	逃避潜伏期 Escape latency	↑
						游泳速度 Swimming speed	–
					检测期 Detection period	目标象限停留时间 Time in the target quadrant	↓
		24[33,35]	雄 Male	ApoE3	学习期 Learning period	逃避潜伏期 Escape latency	↑
						游泳速度 Swimming speed	–
					检测期 Detection period	目标象限停留时间 Time in the target quadrant	↓
						穿环次数 Number of platform crossing	–
		16[33,35]	雄 Male	ApoE3	学习期 Learning period	逃避潜伏期 Escape latency	↑
					检测期 Detection period	目标象限停留时间 Time in the target quadrant	↓
						逃避潜伏期 Escape latency	–
		12[35]	雌、雄 Female, male	ApoE3	学习期 Learning period	逃避潜伏期、游泳速度 Escape latency, swimming speed	–
					检测期 Detection period	目标象限停留时间、穿环次数 Time in the target quadrant, number of platform crossing	–
		13 ~19[36]	雌 Female	ApoE3	学习期 Learning period	逃避潜伏期 Escape latency	↑
		15 ~18[37]	雌、雄 Female, male	WT	学习期 Learning period	目标象限游泳距离 Target quadrant swimming distance	↑
					检测期 Detection period	目标象限停留时间 Time in the target quadrant	↓
	RM	12 ~14[38]	雌、雄 Female, male	WT	学习期 Learning period	错误次数、逃避潜伏期 Escape latency, escape latency	↑
					检测期 Detection period	错误次数、逃避潜伏期 Error times, escape latency	↑
	BZ	12[32]	雌、雄 Female, male	ApoE3	学习期 Learning period	逃避潜伏期、错误次数 Escape latency, error times	–
					检测期 Detection period	逃避潜伏期、错误次数 Escape latency, error times	–
新异物体识别能力 New object recognition ability	NOR	12[32]	雌、雄 Female, male	ApoE3	–	运动距离 Moving distance	↑

续表3

认知类型 Cognitive type	方法 Methods	月龄 Month ages	性别 Sex	对照小鼠品系 Control mouse strain	检测时期 Period of detection	指标 Index	变化 Change
被动回避反应能力 Passive avoidance ability	PA	10 ~ 13[34]	雌、雄 Female, male	ApoE2	–	错误次数 Error times	↓
焦虑情绪 Anxiety	EPM	3[35]	雌、雄 Female, male	ApoE3	–	开臂停留时间,进入开臂次数 Open-arms time, open-arms entries	– –
		12[35]	雌、雄 Female, male	ApoE3	–	开臂停留时间, 进入开臂次数 Open-arms time, open-arms entries	– –
		10 ~ 13[34]	雌、雄 Female, male	ApoE3, ApoE2	–	开臂停留时间 Open-arms time	↓
	LDB	12[32]	雌、雄 Female, male	ApoE3	–	明箱停留时间 Open box residence time	↑
	SPT	3[35]	雌、雄 Female, male	ApoE3	–	糖水偏爱指数 Sucrose preference index	–
抑郁情绪 Depression	TST	3[35]	雌、雄 Female, male	ApoE3	–	僵直不动时间 Freezing time	–
		12[35]	雌、雄 Female, male	ApoE3	–	僵直不动时间 Freezing time	–
运动协调能力 Motor coordination ability	RRT	12 ~ 14[35]	雌、雄 Female, male	WT	–	转棒上停留时间 The time stayed on the rod	↓

综合以上研究结果发现,ApoE4 转基因小鼠早在 3 月龄皮层中 Aβ 蛋白就有少量沉积,在 10 月龄 Aβ 蛋白显著增多,4 月龄时海马 Tau 蛋白磷酸化水平就显著升高,谷氨酸能和 GABA 能神经元减少、成熟与新生神经元的树突分枝少长度短且树突棘密度低从而使其在老年时呈现脑萎缩。这些研究表明,ApoE4 转基因小鼠具有 AD 的典型病理特征(表 4)。

1.2.3　ApoE4 转基因小鼠的生理生化表型

ApoE4 转基因小鼠除了呈现 AD 样认知行为学与病理学特征外,其生理生化也表现出一些特有变化(表 5),如:相较于 ApoE3 转基因小鼠,ApoE4 转基因小鼠在 2.3 ~ 3 月龄时,海马星形胶质细胞中 Ca^{2+} 兴奋性增强[48];在 4 和 12 月龄时其海马突触可塑性降低,且 12 月龄与 4 月龄 ApoE4 转基因小鼠相比其突触活性降低[45];7 月龄时,杏仁核中神经元突触传递减弱,锥体样神经元自发兴奋性突触后电流(spontaneous excitatory post-synaptic currents, sEPSCs)间隔时间延长,兴奋性传递损伤[46]。另外,与 ApoE3 转基因小鼠相比,ApoE4 转基因小鼠海马和皮层中 ApoE、ApoER2 的表达(12 月龄)[35]及免疫球蛋白 G(IgG)水平(10 月龄)[39]显著降低,同时海马中的磷酸肌醇二磷酸(phosphoinositol biphosphate, PIP_2)(9 月龄)[47]、胆固醇(12 月龄)[47]、三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)(16 月龄)[49]也显著降低,而 $A\beta_{42}$ 水平显著升高(2 ~ 4 月龄)[50]。

2　ApoE4 参与 AD 的发病机制

目前的研究结果表明,ApoE4 参与 AD 的发病机制可能涉及增加脑内 Aβ 沉积并减少其清除率、Tau 蛋白过度磷酸化、血脑屏障损伤及脂质代谢异常,下面对其进行详述。

2.1　ApoE4 参与 AD 中 Aβ 病理的形成

Aβ 从大脑中清除主要通过细胞摄取和酶降解、血脑屏障(blood brain barrier, BBB)和血脑脊液屏障(blood cerebrospinal fluid barrier, BCSFB)运输、间质液(interstitial fluid, ISF)引流通路以及脑脊液(cerebrospinal fluid, CSF)吸收进入淋巴循环系统[51]。LDL 受体相关蛋白 1(LDL receptor related protein1, LRP1)是大脑中 ApoE 的主要受体,该蛋白在多种脑细胞类型特别是神经元中大量表达,通过与其他跨膜蛋白偶联,LRP1 能够识别并高效结合 30 多种结构和功能不同的配体,包括 ApoE、淀粉样前体蛋白和 Aβ[52]。LRP1 已经被证明可以介导神经元[53]、星形胶质细胞[54]、小胶质细胞[55]、血管平滑肌细胞和内皮细胞对[56] Aβ 的清除。ApoE 各个亚型与 LRP1 结合的能力是 ApoE4 > ApoE3 >>

ApoE2,提示 ApoE4 与 Aβ 竞争性结合 LRP1,而导致 Aβ 被细胞清除的几率下降。另有研究表明,高浓度的 ApoE 可以形成高分子量的 Aβ 共聚集体,其中 ApoE4 比 ApoE3 更容易促进 Aβ 聚集,ApoE 还以异构体依赖的方式增加 Aβ 寡聚体的水平(ApoE4 > ApoE3 > ApoE2)[57-58]。此外,ApoE4 比 ApoE3 和 ApoE2 更能稳定 Aβ 寡聚体[59],在携带 ApoE4 基因型的 AD 患者的临床症状出现前几十年,Aβ 就开始沉积在大脑中[60-61]。这些研究表明,ApoE4 可加剧 Aβ 的沉积。

表 4 ApoE4 转基因小鼠的病理特征

Table 4 Pathological characteristics of ApoE4 transgenic mice

指标 Index	方法 Methods	对照小鼠品系 Control mouse strain	月龄 Month ages	部位 Part	变化 Change
Aβ 沉积 Aβ aggregation	IHC	ApoE3	3[39]	皮层 Cerebral cortex	↑
		ApoE3	10[39]	皮层 Cerebral cortex	↑
p-Tau	IHC	ApoE3	4[40]	海马 Hippocampus	↑
	IHC	WT	9[41]	大脑 Brain	–
脑萎缩 Brain atrophy	7T MRI	ApoE3	12[33]	海马、皮层 Hippocampus, cerebral cortex	–
			24[33]	海马、皮层 Hippocampus, cerebral cortex	↑
VAChT	IHC	ApoE3	4[42]	海马 Hippocampus	–
VGlut1	IHC	ApoE3	4[40]	海马 Hippocampus	↓
synj1	IF	ApoE3	3[47]	海马、皮层 Hippocampus, cerebral cortex	–
			9[47]	海马、皮层 Hippocampus, cerebral cortex	↑
GABAergic	IHC	WT	6[43-44]	齿状回 Dentate gyrus	↓
		ApoE3	12 ~ 13[43-44]	齿状回 Dentate gyrus	↓
		ApoE3	16[43-44]	齿状回 Dentate gyrus	↓
			16[43-44]	海马 CA1 区 Hippocampal CA1 region	–
树突长度、树突棘密度 Dendritic length, dendritic spine density	BS	ApoE3	4[46,48]	海马 Hippocampus	↓
突触数量 Number of synapses	BS	ApoE3	7[45-46]	杏仁核 Amygdala	↓
神经元树突 Neuronal dendrites	CMI	WT	6 ~ 7[44]	海马 Hippocampus	↓

表 5 ApoE4 转基因小鼠的生理生化表型

Table 5 Physiological and biochemical phenotypes of ApoE4 transgenic mice

生化指标 Biochemical phenotype	方法 Methods	月龄 Month ages	部位 Part	检测结果 Results
$A\beta_{42}$	ELISA	2 ~ 4[40]	海马 Hippocampus	↑
		18[50]	大脑 Brain	–
突触传递强度 Synaptic transmission intensity	电生理 Electrophysiology	4[45]	海马 Hippocampus	↑
		12[45]	海马 Hippocampus	↓
		7[46]	杏仁核 Amygdala	↑
PIP_2	高效液相色谱法 High performance liquid chromatography	9[47]	海马 Hippocampus	↓
胆固醇 Cholesterol	气相色谱法 Gas chromatography	12[32]	海马 Hippocampus	↓
ATP	ATP 浓度测定 Determination of ATP concentration	16[49]	大脑 Brain	↓
ApoE、ApoER2 的蛋白表达 Protein expression of ApoE and ApoER2	Western Blot	12[35]	海马、皮层 Hippocampus, cerebral cortex	↓
Ca^{2+} 信号 Ca^{2+} signal	钙成像技术 Calcium imaging	2.3 ~ 3[48]	海马 Hippocampus	↑
IgG	ELISA	10[39]	海马、皮层 Hippocampus, cerebral cortex	↓
			丘脑 Hypothalamus	–

2.2　ApoE4 参与 AD 中 Tau 蛋白过度磷酸化病理的形成

Tau 蛋白过度磷酸化可导致 Tau 蛋白自我组装成成对的螺丝状丝，即神经纤维缠结（neurofibrillary tangles，NFTs）。研究发现，在患有原发性 Tau 病变患者中，ApoE 中 ε4 等位基因与大脑区域神经退行性病变严重程度的增加有关[62]。在神经元中表达人类 ApoE4 的转基因小鼠，Tau 蛋白的磷酸化水平升高，而在星形胶质细胞中表达 ApoE4 则没有显示 Tau 蛋白的磷酸化水平升高[63]，这提示 ApoE4 在神经元中对 Tau 蛋白的磷酸化发挥作用。

2.3　ApoE4 参与 AD 中血脑屏障的破坏

最近的研究表明，无论生物标志物 Aβ 和 Tau 如何变化，患有早期认知功能障碍的个体都会在海马体中发生脑毛细血管和 BBB 损伤[64-65]，因此，BBB 损伤被认为是认知功能障碍的早期生物标志物[64]。基于周皮细胞损伤的生物标志物可溶性血小板生长因子受体-β（soluble platelet-derived growth factor receptor-β，sPDGFRβ），研究发现 ApoE4 携带者 CSF 中 sPDGFRβ 水平增加，且其增加与海马和海马旁回中 BBB 通透性的增加相关，提示 CSF 中 sPDGFRβ 基线水平升高与 BBB 和周皮细胞细胞损伤有关[65]。临床痴呆评分（clinical dementia rating，CDR）分析发现 ApoE4 携带者伴认知障碍的 CSF 中 sPDGFRβ 增加，但 ApoE3 携带者却无变化[65]。而且发现 BBB 损伤的分子生物标志物白蛋白 CSF/血浆熵（CSF/plasmaquotient）、以及 CSF 纤维蛋白原和纤溶酶原水平升高。这些研究结果提示，ApoE4 可导致 BBB 损伤和脑毛细血管周皮细胞的退化[66]。

2.4　ApoE4 导致 AD 脂质代谢异常

AD 是一种缓慢进展的疾病，生活方式、习惯和营养模式可以通过影响不同的认知区域导致整体智力退化，脂质代谢失调参与 AD 的发病机制[67]。研究发现，AD 患者和 ApoE4 携带者大脑和脑脊液中二十二碳六烯酸（DHA）水平降低[68-69]。进一步的研究表明，ApoE4 基因可导致血脑屏障的破坏[70]、磷脂和胆固醇的失调[47]。相较于 ApoE3 转基因小鼠，ApoE4 转基因小鼠早在 8 ~ 20 周龄其血浆胆固醇、甘油三酯水平显著升高[71]。与 ApoE3/APP 小鼠相比，12 月龄 ApoE4/APP 小鼠脑中磷脂酰肌醇浓度降低[72]，15 月龄 ApoE4/APP 小鼠脑中磷脂酰甘油较低而鞘磷脂较高，且 12 月龄和 15 月龄的 ApoE4/APP 小鼠的磷脂酰胆碱也较高[72]。另外，高脂饮食（high fat diet，HFD）可增加 ApoE3 和 ApoE4 转基因小鼠的脂质和葡萄糖代谢紊乱，但雄性 HFD-ApoE4 转基因小鼠葡萄糖代谢速度和效率显著低于同性别 HFD-ApoE3 转基因小鼠[36-73]。同时研究发现，标准饮食时，ApoE4 转基因小鼠的 CA1 炎症明显多于 WT 小鼠，而 HFD 降低 ApoE4 转基因小鼠 CA1 中的 CD68 的表达[74]。这些结果提示 ApoE4 可能通过调节脂质与葡萄糖代谢及神经炎症进而影响血浆和脑中低密度膜结构域中的脂质组成。

3　ApoE4 转基因小鼠在 AD 防治药物研发中的应用

由于 ApoE4 转基因小鼠具有 AD 典型的认知行为学与病理特征，并参与 AD 的发病机制，其已被用于各类 AD 防治药物的研究中（见表 6）。

Guardia-Escote 等[75]通过给予 10 日龄大 C57、ApoE3、ApoE4 小鼠毒死蜱（溶于玉米油）灌胃 5 d，同时对照组小鼠给予 5 d 玉米油，2 个月后进行新物体识别检测，ApoE4 转基因小鼠相较于 ApoE3、C57 小鼠，学习记忆能力出现损伤，2 月龄小鼠给药乙酰胆碱酯酶抑制剂利斯的明（0.25 mg/kg），4 个月后 ApoE4 转基因雄性小鼠相较于对照组小鼠学习记忆能力改善，雌性小鼠无改善作用。

已有文献表明 ApoE4 转基因小鼠用于贝沙罗汀、睾酮、谷氨酰胺酶拮抗剂 JHU-083、水杨胺（salicylamide，SA）、戊巴比妥（pentobarbital，PB）等的评价。用类视黄醇 X 受体激动剂贝沙罗汀（100 mg/（kg · d））口服治疗 4 月龄雄性 ApoE4 转基因小鼠 10 d，能够缩短其在 MWM 中的逃避潜伏期[76]。睾酮（160 mg/（kg · d））腹腔注射 6 月龄 ApoE4 转基因小鼠可延长其在 Morris 水迷宫实验中的目标象限停留时间[77]，而皮下注射雄激素受体拮抗剂羟氟他胺却缩短其目标象限停留时间、延长逃避潜伏期[77]。Hollinger 等[78]研究发现 6 月龄雌性 ApoE4 转基因小鼠给予 JHU-083（每周 1.83 mg/kg 共 3 次）灌胃 4 ~ 5 个月，可缩短其在巴恩斯迷宫中学习期和检测期的逃避潜伏期、加快发现目标的速度。Davies 等[38]研究表明在 4 月龄雌、雄 ApoE4 转基因小鼠开始饲喂 1 g/L SA，持续到小鼠 12 ~ 14 月龄，可减少其在六臂放射性水迷宫实验中的错误次数、缩短逃避潜伏期。对 9 月龄雌、雄小鼠分别注

表 6 ApoE4 转基因小鼠用于 AD 防治药物药效评价的研究

Table 6 Study on the efficacy evaluation of apoE4 transgenic mice in the prevention and treatment of AD

药物种类 Drug types	药物名称 Drug name	给药剂量 Administration dosage	给药方式 Administration mode	月龄 Month ages	给药时长 Administration duration	方法 Methods	检测时期 Period of detection	检测结果 Results	变化 Change
	利斯的明 Rivastigmine	0.25 mg/kg	皮下注射 Subcutaneous injections	2[75]	2 月 2 months	NOR	检测期 Detection period	偏爱指数 Preference index	↑
	贝沙罗汀 Bexarotene	100 mg/(kg·d)	灌胃 Gavage	4[76]	10 d	MWM	检测期 Detection period	逃避潜伏期 Escape latency	↓
	睾酮 Testosterone	160 mg/(kg·d)	皮下注射 Subcutaneous injections	6[77]	13 d	MWM	检测期 Detection period	目标象限停留时间 Time in the target quadrant	↑
	羟氟他胺 Hydroxyflutamide	–	–	6[77]	–	MWM	检测期 Detection period	目标象限停留时间、逃避潜伏期 Time in the target quadrant, Escape latency	↑
化学药 Chemical drugs	JHU-083	1.83 mg/(kg·w)×3	灌胃 Gavage	11[78]	4 ~ 5 月 4 ~ 5 months	BM	学习期 Learning period	逃避潜伏期 Escape latency	↓
							检测期 Detection period	逃避潜伏期 Escape latency	↓
	SA	1 g/L	灌胃 Gavage	12 ~ 14[38]	8 ~ 10 月 8 ~ 10 months	RM	检测期 Detection period	逃避潜伏期 Escape latency	↓
							检测期 Detection period	错误次数、逃避潜伏期 Error times, Escape latency	↓
	BHB ACA	600 mg/(kg·d) 150 mg/(kg·d)	皮下注射 Subcutaneous injections	12[79]	3 月 3 months	MWM	学习期 Learning period	逃避潜伏期 Escape latency	↓
	PB	20 mg/(kg·d)	BM	16[80]	2 周 2 weeks	MWM	学习期 Learning period	逃避潜伏期 Escape latency	↓
				8、10[83-84]	2 月 2 months	NOR	检测期 Detection period	新物体识别时间 New object recognition time	↑
生物药 Biological drugs	EGF	300 μg/(kg·w)	皮下注射 Subcutaneous injections			YM	检测期 Detection period	新臂停留时间 Duration of arm visits in the novel	↑
				8.5[84-85]	2 月 2 months	NOR	检测期 Detection period	新物体识别时间 New object recognition time	↑
						YM	检测期 Detection period	新臂停留时间 New object recognition time	↑

续表6

药物种类 Drug types	药物名称 Drug name	给药剂量 Administration dosage	给药方式 Administration mode	月龄 Month ages	给药时长 Administration duration	方法 Methods	检测时期 Period of detection	检测结果 Results	变化 Change
	DHA	0.7 g DHA/100 g feed	–	12[32]	8 月 8 months	NOR	–	新物体偏爱指数 New object preference index	↑
中药 Traditional Chinese medicine	菊粉 Inulin	8% kcal/g	灌胃 Gavage	7[82]	4 月 4 months	MWM	检测期 Detection period	逃避潜伏期 Escape latency	–
	姜黄素 Curcumin	40 mg/(kg·d)	皮下注射 Subcutaneous injections	9[21,81]	1 月 1 months	MWM	学习期 Learning period	逃避潜伏期 Escape latency	↓

射酮类(β-羟丁酸 600 mg/(kg·d);乙酰乙酸 150 mg/(kg·d))3 个月,可缩短其在 MWM 中的逃避潜伏期、增加穿环次数、延长目标象限停留时间[79]。Tong 等[80]研究发现,给予 15.5 月龄 ApoE4 转基因雌性小鼠 2 周 GABAA 受体增强剂 PB(20 mg/kg),可使其在 Morris 水迷宫测试中逃避潜伏期缩短、目标象限停留时间延长。这些基于 ApoE4 转基因小鼠的研究表明,贝沙罗汀、睾酮、JHU-083、SA、酮类、PB 具有改善空间学习记忆能力的作用,提示它们可能具有防治 AD 的潜能。

文献报道,王明辉[81]研究发现多酚物质姜黄素(40 mg(kg·d))处理 9 月龄 ApoE4 转基因小鼠能缩短其在 Morris 水迷宫实验中的逃避潜伏期缩短、穿环次数增加。而在雌和雄性 $E4FAD^{+}$、$E4FAD^{-}$小鼠 3 月龄时喂养添加菊粉饲料至 7 月龄,发现对其空间学习记忆能力无作用[82]。

另外,Zaldua 等[83]研究发现无论是给 6 月龄 $E4FAD^{-}$和 $E4FAD^{+}$小鼠表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)(每周 300 μg/kg)腹腔注射 2.5 个月,还是给与 8 月龄 $E4FAD^{-}$和 $E4FAD^{+}$小鼠 EGF 治疗 2 个月,均可延长其在新物体识别实验中对新物体关注的时间、在 Y 迷宫实验中的新臂停留时间,说明 EGF 具有改善空间学习记忆的能力。Chouinard-Watkins 等[32]喂食 4 月龄 ApoE4 转基因小鼠二十二碳六烯酸(docosahexaenoic acid, DHA)饲料 8 个月后发现 ApoE4 转基因小鼠在巴恩斯迷宫实验中逃避潜伏期曲线下面积变小,新物体识别实验中,对新物体偏爱指数增加。

4　小结

大量研究证实携带 ApoE4 基因会使 AD 的发生提前,是 SAD 的最大危险因素。本文通过系统综述 ApoE4 转基因小鼠的认知功能损伤、病理特征及生理生化表型,分析 ApoE4 参与 AD 的发病机制途径,列举使用 ApoE4 转基因小鼠进行 AD 防治药物药效的评价研究,以期为利用 ApoE4 转基因小鼠进行 AD 相关研究提供参考。但是就目前文献报道来看,ApoE4 转基因小鼠的空间学习记忆、物体识别记忆、被动回避反应、主动回避反应、恐惧学习记忆等在内的认知能力还缺乏各个月龄的系统性研究,对于 AD 的特征性病理变化也缺乏充实的数据,其用于 AD 防治药物的研究也远不及 AD 其他动物模型如 APP、PS1、Tau 基因修饰类小鼠及快速老化模型小鼠(SAMP8)。但基于 ApoE 的生物学功能,ApoE4 转基因小鼠对于脂质代谢异常相关的 AD 发病机制研究是一个相对理想的工具。

参　考　文　献(References)

[1] Slot RER, Sikkes SAM, Berkhof J, et al. Subjective cognitive decline and rates of incident Alzheimer's disease and non-Alzheimer's disease dementia [J]. Alzheimers Dement, 2019, 15(3): 465-476.

[2] Vinciguerra F, Graziano M, Hagnäs M, et al. Influence of the Mediterranean and ketogenic diets on cognitive status and decline: a narrative review [J]. Nutrients, 2020, 12(4): 1019.

[3] Naseri NN, Wang H, Guo J, et al. The complexity of tau in Alzheimer's disease [J]. Neurosci Lett, 2019, 705: 183-194.

[4] Masterman T, Hillert J. The telltale scan: APOE epsilon4 in multiple sclerosis [J]. Lancet Neurol, 2004, 3(6): 331.

[5] Corder EH, Saunders AM, Strittmatter WJ, et al. Gene dose of apolipoprotein E type 4 allele and the risk of Alzheimer's disease in late onset families [J]. Science, 1993, 261(5123): 921-923.

[6] Yamazaki Y, Liu CC, Yamazaki A, et al. Vascular ApoE4 impairs behavior by modulating gliovascular function [J]. Neuron, 2021, 109(3): 438-447.e6.

[7] Zhang Y, Sloan SA, Clarke LE, et al. Purification and

characterization of progenitor and mature human astrocytes reveals transcriptional and functional differences with mouse [J]. Neuron, 2016, 89(1): 37-53.

[8] Lin YT, Seo J, Gao F, et al. APOE4 causes widespread molecular and cellular alterations associated with Alzheimer's disease phenotypes in human iPSC-derived brain cell types [J]. Neuron, 2018, 98(6): 1294.

[9] Mathys H, Davila-Velderrain J, Peng Z, et al. Single-cell transcriptomic analysis of Alzheimer's disease [J]. Nature, 2019, 570(7761): 332-337.

[10] Keren-Shaul H, Spinrad A, Weiner A, et al. A unique microglia type associated with restricting development of Alzheimer's disease [J]. Cell, 2017, 169(7): 1276-1290.

[11] Suidan GL, Ramaswamy G. Targeting apolipoprotein E for Alzheimer's disease: an industry perspective [J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(9): 2161.

[12] Mahley RW. Central nervous system lipoproteins: ApoE and regulation of cholesterol metabolism [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2016, 36(7): 1305-1315.

[13] Nathan BP, Bellosta S, Sanan DA, et al. Differential effects of apolipoproteins E3 and E4 on neuronal growth *in vitro* [J]. Science, 1994, 264(5160): 850-852.

[14] Jain S, Yoon SY, Leung L, et al. Cellular source-specific effects of apolipoprotein (Apo) E4 on dendrite arborization and dendritic spine development [J]. PLoS One, 2013, 8(3): e59478.

[15] Zlokovic BV. Cerebrovascular effects of apolipoprotein E: implications for Alzheimer disease [J]. JAMA Neurol, 2013, 70(4): 440-444.

[16] Rawat V, Wang S, Jian S, et al. ApoE4 alters ABCA1 membrane trafficking in astrocytes [J]. J Neurosci, 2019, 39(48): 9611-9622.

[17] Genin E, Hannequin D, Wallon D, et al. APOE and Alzheimer disease: a major gene with semi-dominant inheritance [J]. Mol Psychiatry, 2011, 16(9): 903-907.

[18] Nagy Z, Esiri MM, Jobst KA, et al. Influence of the apolipoprotein E genotype on amyloid deposition and neurofibrillary tangle formation in Alzheimer's disease [J]. Neuroscience, 1995, 69(3): 757-761.

[19] Corder EH, Saunders AM, Risch NJ, et al. Protective effect of apolipoprotein E type 2 allele for late onset Alzheimer disease [J]. Nat Genet, 1994, 7(2): 180-184.

[20] Neu SC, Pa J, Kukull W, et al. Apolipoprotein E genotype and sex risk factors for alzheimer disease: a meta-analysis [J]. JAMA Neurol, 2017, 74(10): 1178-1189.

[21] Kou J, Wang M, Shi J, et al. Curcumin reduces cognitive deficits by inhibiting neuroinflammation through the endoplasmic reticulum stress pathway in apolipoprotein E4 transgenic mice [J]. ACS Omega, 2021, 6(10): 6654-6662.

[22] Rodriguez GA, Burns MP, Weeber EJ, et al. Young APOE4 targeted replacement mice exhibit poor spatial learning and memory, with reduced dendritic spine density in the medial entorhinal cortex [J]. Learn Mem, 2013, 20(5): 256-266.

[23] Salomon-Zimri S, Boehm-Cagan A, Liraz O, et al. *Hippocampus*-related cognitive impairments in young apoE4 targeted replacement mice [J]. Neurodegener Dis, 2014, 13(2/3): 86-92.

[24] Reverte I, Klein AB, Ratner C, et al. Behavioral phenotype and BDNF differences related to apoE isoforms and sex in young transgenic mice [J]. Exp Neurol, 2012, 237(1): 116-125.

[25] Sullivan PM, Mezdour H, Aratani Y, et al. Targeted replacement of the mouse apolipoprotein E gene with the common human APOE3 allele enhances diet-induced hypercholesterolemia and atherosclerosis [J]. J Biol Chem, 1997, 272(29): 17972-17980.

[26] Raber J, Wong D, Buttini M, et al. Isoform-specific effects of human apolipoprotein E on brain function revealed in ApoE knockout mice: increased susceptibility of females [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1998, 95(18): 10914-10919.

[27] Raber J, Wong D, Yu GQ, et al. Apolipoprotein E and cognitive performance [J]. Nature, 2000, 404(6776): 352-354.

[28] Meng FT, Zhao J, Fang H, et al. The influence of chronic stress on anxiety-like behavior and cognitive function in different human GFAP-ApoE transgenic adult male mice [J]. Stress, 2015, 18(4): 419-426.

[29] van Meer P, Acevedo S, Raber J. Impairments in spatial memory retention of GFAP-ApoE4 female mice [J]. Behav Brain Res, 2007, 176(2): 372-375.

[30] Kim JH, Jung H, Lee Y, et al. Surgery performed under propofol anesthesia induces cognitive impairment and amyloid pathology in ApoE4 knock-In mouse model [J]. Front Aging Neurosci, 2021, 13: 658860.

[31] Hartman RE, Wozniak DF, Nardi A, et al. Behavioral phenotyping of GFAP-ApoE3 and-ApoE4 transgenic mice: apoE4 mice show profound working memory impairments in the absence of Alzheimer's-like neuropathology [J]. Exp Neurol, 2001, 170(2): 326-344.

[32] Chouinard-Watkins R, Vandal M, Léveillé P, et al. Docosahexaenoic acid prevents cognitive deficits in human apolipoprotein E epsilon 4-targeted replacement mice [J]. Neurobiol Aging, 2017, 57: 28-35.

[33] Wang C, Wilson WA, Moore SD, et al. Human apoE4-targeted replacement mice display synaptic deficits in the absence of neuropathology [J]. Neurobiol Dis, 2005, 18(2): 390-398.

[34] Siegel JA, Haley GE, Raber J. Apolipoprotein E isoform-dependent effects on anxiety and cognition in female TR mice [J]. Neurobiol Aging, 2012, 33(2): 345-358.

[35] Lin LY, Zhang J, Dai XM, et al. Early-life stress leads to impaired spatial learning and memory in middle-aged ApoE4-TR mice [J]. Mol Neurodegener, 2016, 11(1): 51.

[36] Jones EA, Gillespie AK, Yoon SY, et al. Early hippocampal sharp-wave ripple deficits predict later learning and memory impairments in an Alzheimer's disease mouse model [J]. Cell Rep, 2019, 29(8): 2123-2133.

[37] Bour A, Grootendorst J, Vogel E, et al. Middle-aged human

apoE4 targeted-replacement mice show retention deficits on a wide range of spatial memory tasks [J]. Behav Brain Res, 2008, 193(2): 174-182.

[38] Davies SS, Bodine C, Matafonova E, et al. Treatment with a γ-ketoaldehyde scavenger prevents working memory deficits in hApoE4 mice [J]. J Alzheimers Dis, 2011, 27(1): 49-59.

[39] Zhang L, Xu J, Gao J, et al. Decreased immunoglobulin G in brain regions of elder female APOE4-TR mice accompany with Aβ accumulation [J]. Immun Ageing, 2019, 16(1): 2.

[40] Liraz O, Boehm-Cagan A, Michaelson DM. ApoE4 induces Aβ42, tau, and neuronal pathology in the hippocampus of young targeted replacement apoE4 mice [J]. Mol Neurodegener, 2013, 8: 16.

[41] Shi Y, Yamada K, Liddelow SA, et al. ApoE4 markedly exacerbates tau-mediated neurodegeneration in a mouse model of tauopathy [J]. Nature, 2017, 549(7673): 523-527.

[42] Dolejší E, Liraz O, Rudajev V, et al. Apolipoprotein E4 reduces evoked hippocampal acetylcholine release in adult mice [J]. J Neurochem, 2016, 136(3): 503-509.

[43] Andrews-Zwilling Y, Bien-Ly N, Xu Q, et al. Apolipoprotein E4 causes age- and Tau-dependent impairment of GABAergic interneurons, leading to learning and memory deficits in mice [J]. J Neurosci, 2010, 30(41): 13707-13717.

[44] Li G, Bien-Ly N, Andrews-Zwilling Y, et al. GABAergic interneuron dysfunction impairs hippocampal neurogenesis in adult apolipoprotein E4 knockin mice [J]. Cell Stem Cell, 2009, 5(6): 634-645.

[45] Sun GZ, He YC, Ma XK, et al. Hippocampal synaptic and neural network deficits in young mice carrying the human APOE4 gene [J]. CNS Neurosci Ther, 2017, 23(9): 748-758.

[46] Klein RC, Mace BE, Moore SD, et al. Progressive loss of synaptic integrity in human apolipoprotein E4 targeted replacement mice and attenuation by apolipoprotein E2 [J]. Neuroscience, 2010, 171(4): 1265-1272.

[47] Zhu L, Zhong M, Elder GA, et al. Phospholipid dysregulation contributes to ApoE4-associated cognitive deficits in Alzheimer's disease pathogenesis [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2015, 112(38): 11965-11970.

[48] Larramona-Arcas R, González-Arias C, Perea G, et al. Sex-dependent calcium hyperactivity due to lysosomal-related dysfunction in astrocytes from *APOE*4 versus *APOE*3 gene targeted replacement mice [J]. Mol Neurodegeneration, 2020, 15(1): 35.

[49] Chin D, Hagl S, Hoehn A, et al. Adenosine triphosphate concentrations are higher in the brain of APOE3-compared to APOE4-targeted replacement mice and can be modulated by curcumin [J]. Genes Nutr, 2014, 9(3): 397.

[50] Morishima-Kawashima M, Han X, Tanimura Y, et al. Effects of human apolipoprotein E isoforms on the amyloid beta-protein concentration and lipid composition in brain low-density membrane domains [J]. J Neurochem, 2007, 101(4): 949-958.

[51] Tarasoff-Conway JM, Carare RO, Osorio RS, et al. Clearance systems in the brain-implications for Alzheimer disease [J]. Nat Rev Neurol, 2015, 11(8): 457-470.

[52] Herz J, Strickland DK. LRP: a multifunctional scavenger and signaling receptor [J]. J Clin Invest, 2001, 108(6): 779-784.

[53] Kanekiyo T, Zhang J, Liu Q, et al. Heparan sulphate proteoglycan and the low-density lipoprotein receptor-related protein 1 constitute major pathways for neuronal amyloid-β uptake [J]. J Neurosci, 2011, 31(5): 1644-1651.

[54] Koistinaho M, Lin S, Wu X, et al. Apolipoprotein E promotes astrocyte colocalization and degradation of deposited amyloid-β peptides [J]. Nat Med, 2004, 10(7): 719-726.

[55] Laporte V, Lombard Y, Levy-Benezra R, et al. Uptake of β1-40- and Abeta 1-42-coated yeast by microglial cells: a role for LRP [J]. J Leukoc Biol, 2004, 76(2): 451-461.

[56] Yamada K, Hashimoto T, Yabuki C, et al. The low density lipoprotein receptor-related protein 1 mediates uptake of amyloid β peptides in an *in vitro* model of the blood-brain barrier cells [J]. J Biol Chem, 2008, 283(50): 34554-34562.

[57] Castellano JM, Kim J, Stewart FR, et al. Human apoE isoforms differentially regulate brain amyloid-β peptide clearance [J]. Sci Transl Med, 2011, 3(89): 89ra57.

[58] Mawuenyega KG, Sigurdson W, Ovod V, et al. Decreased clearance of CNS beta-amyloid in Alzheimer's disease [J]. Science, 2010, 330(6012): 1774.

[59] Nuriel T, Angulo SL, Khan U, et al. Neuronal hyperactivity due to loss of inhibitory tone in APOE4 mice lacking Alzheimer's disease-like pathology [J]. Nat Commun, 2017, 8(1): 1464.

[60] Bateman RJ, Xiong C, Benzinger TLS, et al. Clinical and biomarker changes in dominantly inherited Alzheimer's disease [J]. N Engl J Med, 2012, 367(9): 795-804.

[61] Perrin RJ, Fagan AM, Holtzman DM. Multimodal techniques for diagnosis and prognosis of Alzheimer's disease [J]. Nature, 2009, 461(7266): 916-922.

[62] Wood H. Alzheimer disease: ApoE4 implicated in tau-mediated neurodegeneration [J]. Nat Rev Neurol, 2017, 13(12): 706-707.

[63] Tesseur I, Van Dorpe J, Spittaels K, et al. Expression of human apolipoprotein E4 in neurons causes hyperphosphorylation of protein tau in the brains of transgenic mice [J]. Am J Pathol, 2000, 156(3): 951-964.

[64] Nation DA, Sweeney MD, Montagne A, et al. Blood-brain barrier breakdown is an early biomarker of human cognitive dysfunction [J]. Nat Med, 2019, 25(2): 270-276.

[65] Montagne A, Nation DA, Sagare AP, et al. APOE4 leads to blood-brain barrier dysfunction predicting cognitive decline [J]. Nature, 2020, 581(7806): 71-76.

[66] Hultman K, Strickland S, Norris EH. The *APOE* ε4/ε4 genotype potentiates vascular fibrin(ogen) deposition in amyloid-laden vessels in the brains of Alzheimer's disease patients [J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2013, 33(8): 1251-1258.

[67] Hirsch-Reinshagen V, Burgess BL, Wellington CL. Why lipids are important for Alzheimer disease? [J]. Mol Cell Biochem, 2009, 326(1): 121-129.

[68] Belkouch M, Hachem M, Elgot A, et al. The pleiotropic effects of omega-3 docosahexaenoic acid on the hallmarks of Alzheimer's disease [J]. J Nutr Biochem, 2016, 38: 1-11.

[69] Nock TG, Chouinard-Watkins R, Plourde M. Carriers of an apolipoprotein E epsilon 4 allele are more vulnerable to a dietary deficiency in omega-3 fatty acids and cognitive decline [J]. Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids, 2017, 1862(10): 1068-1078.

[70] Yassine HN, Braskie MN, Mack WJ, et al. Association of docosahexaenoic acid supplementation with alzheimer disease stage in apolipoprotein E ε4 carriers: a review [J]. JAMA Neurol, 2017, 74(3): 339-347.

[71] Knouff C, Hinsdale ME, Mezdour H, et al. Apo E structure determines VLDL clearance and atherosclerosis risk in mice [J]. J Clin Invest, 1999, 103(11): 1579-1586.

[72] Howard R, McShane R, Lindesay J, et al. Donepezil and memantine for moderate-to-severe Alzheimer's disease [J]. N Engl J Med, 2012, 366(10): 893-903.

[73] Zhao N, Liu CC, Van Ingelgom AJ, et al. Apolipoprotein E4 impairs neuronal insulin signaling by trapping insulin receptor in the endosomes [J]. Neuron, 2017, 96(1): 115-129.

[74] Janssen CIF, Jansen D, Mutsaers MPC, et al. The effect of a high-fat diet on brain plasticity, inflammation and cognition in female ApoE4-knockin and ApoE-knockout mice [J]. PLoS One, 2016, 11(5): e0155307.

[75] Guardia-Escote L, Basaure P, Peris-Sampedro F, et al. APOE genetic background and sex confer different vulnerabilities to postnatal chlorpyrifos exposure and modulate the response to cholinergic drugs [J]. Behav Brain Res, 2019, 376: 112195.

[76] Boehm-Cagan A, Michaelson DM. Reversal of ApoE4-driven brain pathology and behavioral deficits by bexarotene [J]. J Neurosci, 2014, 34(21): 7293-7301.

[77] Raber J, Bongers G, LeFevour A, et al. Androgens protect against apolipoprotein E4-induced cognitive deficits [J]. J Neurosci, 2002, 22(12): 5204-5209.

[78] Hollinger KR, Zhu X, Khoury ES, et al. Glutamine antagonist JHU-083 normalizes aberrant hippocampal glutaminase activity and improves cognition in APOE4 mice [J]. J Alzheimers Dis, 2020, 77(1): 437-447.

[79] Yin J, Nielsen M, Li S, et al. Ketones improves Apolipoprotein E4-related memory deficiency via sirtuin 3 [J]. Aging, 2019, 11(13): 4579-4586.

[80] Tong LM, Yoon SY, Andrews-Zwilling Y, et al. Enhancing GABA signaling during middle adulthood prevents age-dependent GABAergic interneuron decline and learning and memory deficits in ApoE4 mice [J]. J Neurosci, 2016, 36(7): 2316-2322.

[81] 王明辉. 姜黄素抑制 APOE4 介导的神经炎症机制研究 [D]. 开封: 河南大学; 2020.
Wang MH. Study on the anti-inflammatory mechanism of curcumin inhibiting APOE4-mediated neuroinflammation [D]. Kaifeng: Henan University; 2020.

[82] Hoffman JD, Yanckello LM, Chlipala G, et al. Dietary inulin alters the gut microbiome, enhances systemic metabolism and reduces neuroinflammation in an APOE4 mouse model [J]. PLoS One, 2019, 14(8): e0221828.

[83] Zaldua S, Damen FC, Pisharody R, et al. Epidermal growth factor treatment of female mice that express APOE4 at an age of advanced pathology mitigates behavioral and cerebrovascular dysfunction [J]. Heliyon, 2020, 6(5): e03919.

[84] Thomas R, Zuchowska P, Morris AWJ, et al. Epidermal growth factor prevents APOE4 and amyloid-beta-induced cognitive and cerebrovascular deficits in female mice [J]. Acta Neuropathol Commun, 2016, 4(1): 111.

[85] Thomas R, Morris AWJ, Tai LM. Epidermal growth factor prevents APOE4-induced cognitive and cerebrovascular deficits in female mice [J]. Heliyon, 2017, 3(6): e00319.

[收稿日期] 2022-04-11