

DOI: 10.13376/j.cbls/2016097

文章编号: 1004-0374(2016)07-0757-09

表观遗传修饰在阿尔兹海默病中的研究进展

陈紫微, 唐霖, 刘福和, 张莉静*

(浙江医药高等专科学校, 宁波 315000)

摘要: 表观遗传是指在不改变基因序列的情况下, 通过对基因进行可逆性修饰改变基因表达。阿尔兹海默病 (Alzheimer's disease, AD) 是一种最常见的神经退行性疾病, 表现为进行性记忆缺失、脑萎缩、脑内形成淀粉样斑块和神经纤维缠结。表观遗传学修饰在 AD 的发生发展中具有重要作用。综述了 DNA 甲基化、组蛋白乙酰化、microRNA 等表观遗传修饰对 AD 中的记忆缺失、APP 水解、A β 淀粉样斑块形成、Tau 蛋白磷酸化、氧化应激等现象的影响及其机制。

关键词: 阿尔兹海默病; 表观遗传; DNA 甲基化; 组蛋白修饰; microRNA

中图分类号: Q34; R742 **文献标志码:** A

Research progress of epigenetics in Alzheimer's disease

CHEN Zi-Wei, TANG Lin, LIU Fu-He, ZHANG Li-Jing*

(Zhejiang Pharmaceutical College, Ningbo 315000, China)

Abstract: Epigenetics refers to heritable changes in gene expression, caused by modifications which do not involve alterations in DNA sequence. Alzheimer's disease (AD) is the most common age-dependent neurodegenerative disorder and shows progressive memory loss and brain atrophy. Intraneuronal filaments composed of aggregated hyperphosphorylated tau protein, called neuro-fibrillary tangles, along with extracellular accumulations of amyloid β protein (A β), called senile plaques, are known to be the neuropathological hallmarks of AD. Recent studies have suggested that epigenetic mechanisms may play a pivotal role in AD course and development. In this review, we summarize recent advances on change of memory loss, APP hydrolysis, A β protein formation, tau protein phosphorylation, oxidative stress caused by common epigenetic modifications (DNA methylation, histone modifications, microRNA).

Key words: Alzheimer's disease; epigenetics; DNA methylation; histone modifications; microRNA

1 阿尔兹海默病

阿尔兹海默病 (Alzheimer's disease, AD) 是一种进行性大脑皮质神经系统病变性疾病, 临床病症为进行性记忆障碍、认知障碍、日常生活能力下降和神经/精神异常。AD 的组织病理学特征包括细胞外 β -淀粉样蛋白 (amyloid β -peptide, A β) 沉积形成的老年斑、细胞内高磷酸化 Tau 蛋白 (microtubule-associated protein τ , Tau) 自动折叠形成不溶性神经原纤维细丝 (neurofibrillary tangl, NFT) 和大脑皮质广泛性萎缩 (图 1)。AD 发病人数多, 波及范围广, 已经成为老年医学中亟待解决、也是最棘手的问题之一。

AD 是多因素导致的疾病, 发病机制尚不明确, 目前 AD 发病机制的假说主要有以下 5 种。(1) 胆碱能损伤假说: 这是目前较为公认的病因假说, 1982 年由 Bartu 等提出记忆功能紊乱的“胆碱能假说”, 该假说认为学习和记忆能力的丧失与前脑基底核与海马区胆碱能神经功能的下降有着密切的联系^[1]。老年性痴呆患者皮质胆碱能系统发生严重的溃变, 引起学习记忆减退和认知障碍, 产生痴呆症

收稿日期: 2015-12-30; 修回日期: 2016-02-24

基金项目: 宁波市自然科学基金项目(2016A610238)

*通信作者: E-mail: 710581327@qq.com; Tel: 0574-88222795

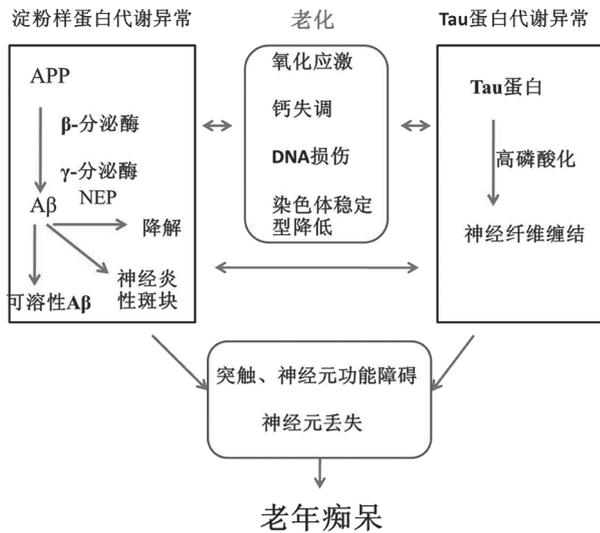


图1 AD病理生理改变

状。目前,基于“胆碱能假说”由FDA批准用于治疗AD的药物有他克林和多奈哌齐,这两种药物都是乙酰胆碱酯酶的抑制剂,可以提高脑内突触的乙酰胆碱水平,有助于减轻AD患者的症状,提高患者认知能力,但不能延缓疾病的病理进程。(2)β-淀粉样蛋白假说:Aβ介导的神经元毒性机制主要包括,自由基形成、钙离子代谢紊乱、诱导细胞凋亡、慢性炎症等^[2]。(3)基因突变学说:目前至少发现了4种不同的基因突变与AD有关,如21号染色体上的淀粉样前体蛋白(amyloid precursor protein, APP)、14号染色体上的早老素1(presenilin 1, PS1)、11号染色体上的PS2、19号染色体上的载脂蛋白E(apolipoprotein E, ApoE)^[3]。(4)自由基损伤假说:认为AD大脑处于广泛的氧化应激环境下,自由基与其下游产物能导致老年斑和神经纤维缠结形成、蛋白质修饰、肽链错误折叠、DNA突变、脂质过氧化等等,最终导致突触丢失和神经元死亡^[4]。(5)炎症假说。尽管目前针对AD的发病机制展开了广泛的研究,但AD发病机制仍不清楚,对AD的治疗也停留在改善症状的水平^[5]。

2 表观遗传学与AD

20世纪中叶,英国的生物学家Conrad Waddington提出“表观遗传学”;后来,Holliday对其进行了系统表述,即现在广为接受的表观遗传学概念。表观遗传指在基因的核苷酸序列不发生改变的情况下,基因表达发生可遗传变化的一门遗传学分支学科。研究证明,表观遗传修饰在调节细胞的正常生长、发育以及维持基因功能等方面都发挥重要作用。目

前表观遗传学的调节机制主要包括:DNA甲基化、组蛋白修饰、基因组印记、母体效应、基因沉默和RNA编辑等。表观遗传修饰可作为外界与基因组间的媒介,当机体在应激条件下或外界环境(营养条件、化学及情绪环境等)发生改变时引起细胞内表观遗传学修饰变化,从而导致基因转录或基因沉默。目前研究发现,表观遗传修饰参与多种疾病的发生发展,包括心血管疾病、糖尿病、血液疾病、神经退行性疾病、癌症等^[6]。近年来,随着对表观遗传学修饰调控基因表达机制的深入探究,表观遗传学修饰调控也为治疗相关疾病提供了新的途径^[7]。

AD是目前最为常见的一类痴呆疾病,全世界患病人数已超过3500万。据统计,早发型AD占AD总数5%~10%,目前认为早发型AD与部分基因突变有关,包括APP、PS1、PS2等,以上突变导致脑内Aβ含量升高,产生AD样病变且具有可遗传性。然而,90%以上AD患者为迟发型AD,与基因突变无确切关联^[8]。近年来越来越多的研究证明,表观遗传修饰在AD发病和病理进程中发挥重要作用。

2.1 DNA甲基化

DNA甲基化修饰是最典型、最稳定的表观遗传学修饰之一,其在调节基因表达中发挥重要作用。在机体的发育过程中,DNA甲基化修饰通过调节特定基因在特定时间、特定阶段的表达,促进细胞的分化和组织器官的形成;机体成熟以后,DNA的甲基化则保持动态的平衡,维持正常的生理功能。DNA甲基化异常可能造成老化相关疾病的发生,如恶性肿瘤、自身免疫疾病、神经退行性疾病等^[9]。

DNA甲基化主要发生在基因启动子中的CpG岛,CpG岛指长度500~1000bp的基因序列,其C、G含量占60%以上。甲基化修饰主要发生在胞嘧啶的5位碳原子上,甲基化胞嘧啶可阻碍转录因子与启动子结合,抑制基因转录,主要介导基因沉默。参与DNA甲基化的主要酶为DNA甲基转移酶(DNA methyltransferase, DNMT),包括DNMT1、DNMT2、DNMT3a、DNMT3b,其具体机制为DNMT将甲基供体SAM(S-adenosyl methionine)上的甲基转移到胞嘧啶上。SAM的合成和在体内的平衡依赖于Hcy(homocysteine)循环。DNMT1为脑内主要的DNA甲基化酶。

2.1.1 DNA甲基化与学习记忆能力

DNMTs对记忆形成具有重要作用,其通过调节reelin基因启动子区域甲基化水平参与学习记忆

的形成。文献报道, 小鼠海马与皮层组织中 Dnmt3a2 基因表达水平随着年龄的增加呈现下降趋势。条件性敲除小鼠前脑神经元中 Dnmt1 与 Dnmt3a 后, Morris 水迷宫测试显示: 与正常小鼠相比, 条件性敲除 Dnmt1 与 Dnmt3a 的小鼠表现出明显的记忆功能障碍; 外源性提高 DNMT3a2 蛋白水平能够逆转记忆功能减退^[10-11]。人体研究也证明, DNMT3a 参与改善中度认知障碍患者的认知功能^[12]。研究者通过分析 APP/PSEN1 与 3xTg-AD 两种 AD 模型小鼠脑内基因甲基化水平, 发现至少存在 3 种基因受到高甲基化修饰导致基因表达抑制, 包括 thromboxane A2 receptor (*Tbxa2r*)、sorbic acid 3 (*Sorbs3*)、spectrin β 4 (*Sptbn4*), 这 3 种基因沉默后引起 CREB 通路抑制, 影响神经元活性^[13]。此外, AD 患者外周血液单核细胞内胆碱能神经元激活前体蛋白 (cholinergic neurostimulating precursor protein, HCNppp) 甲基化发生改变, 而 HCNppp 参与胆碱能神经元的形成且与记忆密切相关, 这一发现提示 AD 患者体内表观遗传学改变可能参与影响中枢胆碱功能, 进一步影响学习记忆能力^[14]。

脑源性神经营养因子 (brain-derived neurotrophic factor, BDNF) 在促进生长发育和维持神经元功能方面具有重要作用。Nagata 等^[15]分析 AD 患者脑内 BDNF 基因中 CpG 位点甲基化程度时发现, AD 患者脑内 BDNF 基因的 CpG 位点甲基化显著高于正常同龄人, 且 BDNF 基因甲基化程度与患者的神经心理测试得分成负性相关。肝 X 受体 (liver X receptor, LXR) 属于核受体亚家族, 参与调控基因转录。研究显示, LXR 激动剂 GW3965 能够显著提高 3xTg-AD 小鼠认知能力, 该作用可能与 LXR 促进 ApoE、ATP 结合盒转运蛋白 A1 (ABCA1) 表达有关。最近, Sandoval-Hernandez 等^[16]的研究结果提示, LXR 激活后可能通过降低突触相关基因 (*Syp*、*Syn1*、*Dlg3*) 以及神经元再生基因 (*Hmgb3*、*Rbbp7*) 启动子的甲基化水平, 影响学习记忆形成。此外, 研究发现, AD 患者脑内某些炎症基因甲基化水平降低, 包括核因子- κ B (NF- κ B)、环氧合酶 2 等, 引起神经炎症。Di Francesco 等^[17]研究表明, 外周血中 DNA 甲基化检测是评价患 AD 风险的有效指标^[17]。

2.1.2 DNA甲基化与淀粉样斑块形成

De Jager 等^[18]研究证明, AD 患者脑内存在包括 ABCA7 和 BIN1 等基因上的 71 个 CpG 位点甲

基化与 AD 密切相关。Anderson 和 Turko^[19]研究发现, AD 患者与正常同龄人相比, 其皮质区组蛋白甲基化水平明显降低, 如 H2BK108、H4R55。进一步研究发现, 参与 A β 代谢的多种基因均受到 DNA 甲基化调节, 包括 APP、BACE1 (β -site APP-cleaving enzyme 1)、PS1 等。正常情况下, APP 基因启动子区域表现为高度甲基化, 随着年龄增长 APP 甲基化程度下降, APP 表达量升高。Mastroeni 等^[20]通过免疫染色技术对比 AD 患者与正常人脑内甲基化水平, 发现 AD 患者脑内甲基化胞嘧啶、DNMT1 和甲基化共阻遏复合物水平明显较正常人低。A β 不仅受到甲基化调控, 同时也参与调节其他基因的甲基化水平。Chen 等^[21]研究发现, A β 能够引起细胞内广泛性的低甲基化, 且提高脑啡肽酶 (neprilysin, NEP) 启动子甲基化水平, 促进 A β 生成。

SAM/HCY 循环是体内的甲基循环途径, 叶酸和维生素 B12 水平下降, 可导致 SAM/HCY 循环发生障碍^[22]。AD 患者脑脊液内叶酸水平显著低于正常值。Fuso^[23]应用 SK-N-SH 和 SK-N-BE 成神经瘤细胞系进行研究, 在培养基中移除叶酸和维生素 B12 以后, SAM 的合成减少, PS1 和 BACE1 基因表达增加 (γ -分泌酶为 PS1 或 PS2 依赖酶); 而当外源性增加 SAM 后, PS1 与 BACE1 mRNA 水平下降, PS1 基因的启动子高甲基化。2015 年, Roman^[24]研究提出, 亚甲基四氢叶酸还原酶基因突变很可能成为迟发性 AD 的重要标志, 这一发现为 AD 的治疗及预防提供了新的思路。

2.1.3 DNA甲基化与磷酸化Tau蛋白形成

Tau 蛋白受到 DNA 甲基化调控。正常成年人体内 Tau 蛋白启动子区域的 SP1 结合位点为非甲基化, 随着年龄增加 SP1 位点甲基化水平增加; GCF (一种转录抑制位点) 随着年龄增加其甲基化水平降低。此外, AD 患者体内 SAM 水平下降可能是导致 AD 患者体内蛋白磷酸酶 2A (protein phosphatase 2A, PP2A) 低甲基化的原因。PP2A 能将磷酸化 Tau 蛋白去磷酸化, 但其发挥去磷酸化功能依赖于其催化亚基上 L309 甲基化, 而该甲基化依赖 SAM 提供甲基。PP2A 甲基化水平降低引起磷酸化 Tau 蛋白聚积、APP 异构体增加、A β 分泌增加^[25]。

2.2 组蛋白修饰

核小体是染色体的基本单位, 每个核小体由 200 个碱基对组成的 DNA 和 5 种不同的组蛋白 (H1、H2A、H2B、H3、H4) 构成, 组蛋白在维持染色体构型上具有重要的作用。表观遗传通过各种修饰改

变染色体的构型,从而影响基因转录。组蛋白修饰包括乙酰化、甲基化、磷酸化、泛素化、苏素化、生物素酰化、羧基化、ADP核糖基化、糖基化等。

乙酰基团通过中和组蛋白中赖氨酸和精氨酸携带的正电荷,使组蛋白与DNA亲和力下降,染色体结构变松,利于各种转录因子及转录复合物与启动子结合,促进基因转录(图2)。参与组蛋白乙酰化的主要有组蛋白乙酰化酶(histone acetyltransferase, HAT)和组蛋白去乙酰化酶(histone deacetylase, HDAC)。HAT将乙酰辅酶A的乙酰基转移到组蛋白,与多种转录因子作用共同调节基因表达;相反,HDAC将乙酰基团移去,改变染色体空间构型,一般导致基因表达抑制(图2)。组蛋白乙酰化修饰参与多种信号转导通路的调控,包括细胞分化、凋亡、血管重构、炎症反应、免疫应答、代谢重组等生理过程。

2.2.1 组蛋白乙酰化与学习记忆能力

目前多项研究报道,组蛋白乙酰化紊乱与大脑学习记忆功能下降存在密切关联。Singh等^[26]研究表明,东莨菪碱降低动物学习记忆能力的作用与其促进DNMT与HDAC2表达有关。Bie等^[27]的研究结果显示,淀粉样蛋白原纤维能够抑制神经连接蛋白1(neurologin 1, NLGN1)基因启动子区域组蛋白H3乙酰化,并提高该区域胞嘧啶甲基化水平,从而引起记忆功能损伤。随后,Peleg等^[28]报道,H4K12乙酰化与小鼠学习记忆能力密切相关,认为H4K12低乙酰化阻碍了学习诱导相关基因表达,引起认知和记忆缺失。以上研究结果表明,组蛋白乙酰化程度降低抑制了与学习记忆功能密切相关的基因表达。因此,提高AD患者脑内组蛋白乙酰化程度成为改善AD患者记忆功能减退的新途径。

HDAC抑制剂(VPA、SAHA、TSA、丁酸钠等)

通过增加动物模型中的组蛋白乙酰化水平,提高记忆功能,从而改善神经退行性疾病症状^[29]。目前发现,18种HDACs,分为I、II、III和IV4型,其中I型中的HDAC2、II型中的HDAC6和II型中的SIRT1被认为与AD密切相关。HDAC2广泛分布于中枢神经系统,通过与突触-可塑性相关基因启动子结合抑制基因转录。尸检发现,AD患者脑内HDAC2蛋白显著增加。HDAC2特异性抑制剂BRD6688和BRD4884降低CK-p25小鼠大脑海马中HDAC2活性,明显改善小鼠的认知与记忆能力^[30]。Wang等^[31]研究发现,在C57Bl/6J小鼠脑内外源性增加APP能够增加HDAC2与Bdnf启动子区域结合能力,从而抑制该基因的转录。以上研究表明,HDAC2在调节染色体构型、突触可塑性、记忆形成等方面发挥重要作用。与正常同龄人相比,AD患者大脑皮层和海马中HDAC6蛋白含量分别提高了52%和91%,使用基因敲除技术降低APPPS1-21小鼠内源性HDAC6水平后,APPPS1-21小鼠记忆损伤程度得到明显改善^[32]。此外,Cook等^[33]研究发现,抑制HDAC6活性后显著降低Tau蛋白聚集、加速Tau蛋白清除,改善A β 引起的线粒体损伤。以上研究提示,AD患者脑内HDAC水平明显升高,引起学习记忆相关基因表达受到抑制,导致学习记忆功能减退,但目前还未在临床试验中证实HDAC抑制剂改善AD症状的作用。

与其他HDACs不同的是,与正常人相比,AD患者大脑皮层中SIRT1水平显著降低,AD脑内A β 淀粉样斑块形成和Tau蛋白聚集可能与SIRT1活性降低有关,但具体机制并不明确。白藜芦醇(SIRT1激动剂)在AD体内外模型中显示良好的神经保护作用,包括抑制Tau蛋白磷酸化、改善认知、抑制

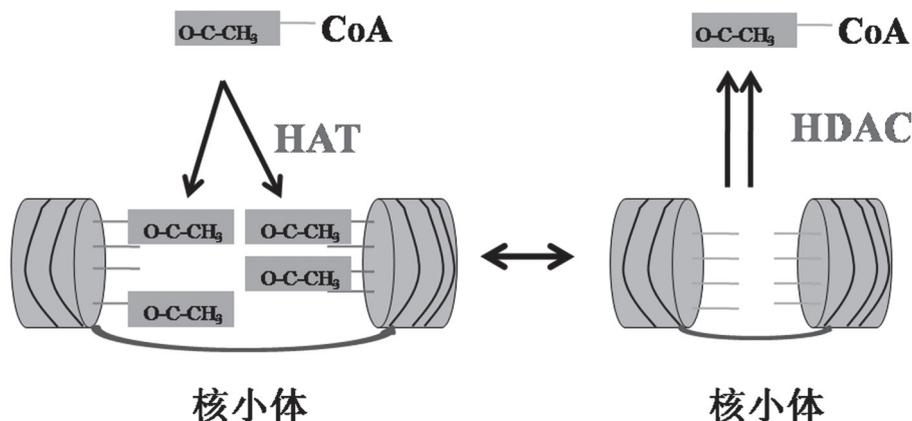


图2 组蛋白乙酰化对染色体空间构型的作用

A β 形成等^[34]; II 期临床试验结果显示, 白藜芦醇能够有效改善轻度至中度 AD 患者的认知、记忆功能, 减少脑脊液中 Tau 蛋白和 A β 含量。机制研究认为, 白藜芦醇除了具有良好的抗氧化、抗炎等作用外, 还能通过调控 mi-R134 和 mi-R124 促进突触可塑性与记忆形成^[35]。尽管白藜芦醇能够通过多种机制发挥抗 AD 作用, 但较低的生物利用度使其难以成为单一治疗 AD 的药物, 因此, 与其他化合物联用可能成为治疗 AD 的一条有效途径^[36]。由葛兰素史克公司研发的 SIRT 激动剂 SRT2104 和 SRT2379 目前已进入临床试验用于治疗 AD。

组蛋白乙酰化酶也参与记忆的形成。目前证实 CREB 结合蛋白 (CREB-binding protein, CBP)、P300 和 P300/CBP associated factor (PCAF) 3 种乙酰化酶参与记忆的形成^[37-39]。CBP 失去乙酰化功能后, 小鼠的短时程记忆转为长时程记忆功能受到损伤。同样, P300 缺乏 HAT 羧基末端能够影响小鼠的长时程认知记忆。Lu 等^[40] 研究发现, 姜黄素, 一种天然的选择性 P300 抑制剂, 通过降低 PS1 与 BACE1 基因启动子 H3 组蛋白乙酰化水平从而抑制 PS1 与 BACE1 表达。

目前已明确组蛋白乙酰化与学习、记忆功能密切相关, 多种调节组蛋白乙酰化的化合物均在动物实验中表现出良好的改善记忆、认知功能作用。然而, 大部分 HDAC 抑制剂并非选择性, 能同时影响细胞内大部分蛋白的乙酰化水平, 造成细胞功能紊乱, 因此, 基于现有 HDAC 抑制剂进行结构分析、改造, 研发专一、有效的 HDAC 抑制剂用于 AD 治疗成为该类药物的研究热点。

2.2.2 组蛋白乙酰化与淀粉样斑块形成

APP 代谢相关基因受到组蛋白乙酰化修饰影响。Lu 等^[40] 和 Marques 等^[41] 研究表明, BACE1 基因启动子区 H3 乙酰化程度升高, 促进 BAEC1 表达。此外, 在 N2a 细胞中转染 Swedish 突变 APP 后, BACE1 基因启动子中 H3 产生高度乙酰化, 类似情况也在 APP/PS1/Tau 三转基因小鼠中观察到。然而, 低氧刺激小鼠后发现, NEP 主要参与 A β 降解, 其基因启动子 H3 发生去乙酰化, 转录水平降低^[42]。

2.2.3 组蛋白乙酰化与 Tau 蛋白

乙酰化的磷酸化 Tau 蛋白贯穿于 AD 整个病理过程, 且在中度到重度阶段最为明显。乙酰化 Tau 蛋白可能通过抑制磷酸化 Tau 蛋白降解, 促进神经纤维缠结的形成, 抑制细胞微管稳定性, 参与 AD 发病, 如 CBP 将 Tau 蛋白 Lys280 位点乙酰化, 而

该位点恰为 Tau 蛋白与微管蛋白结合的部位, 从而破坏微管稳定性^[33,43-44]。

以上研究结果表明, 在 AD 疾病的发生发展中组蛋白乙酰化水平发生复杂的变化。目前报道普遍认为, 在 AD 体内外模型中与学习记忆相关基因的乙酰化水平降低, 从而抑制该类基因的转录; 另一方面, BACE1 高乙酰化、NEP 低乙酰化, 导致 A β 水平升高, 形成淀粉样斑块。因此, HDAC 抑制剂或 HAT 激动剂在应用于治疗 AD 时还需衡量其中利弊, 展开更广泛的研究。

2.2.4 组蛋白甲基化与 AD

组蛋白甲基化由组蛋白甲基转移酶和组蛋白去甲基化酶参与, 主要发生在组蛋白氨基酸序列的赖氨酸与丝氨酸位点。目前发现组蛋白中存在 24 个甲基化位点, 不同位点的甲基化对基因转录产生不同的影响。

组蛋白甲基化修饰较为普遍, AD 患者脑内与 AD 动物模型中都检测到组蛋白甲基化修饰水平发生改变。Mastroeni 等^[45] 研究表明, H3K4 三甲基化修饰通过抑制某些基因表达参与 AD 发病。DNA 甲基化和组蛋白修饰在调控基因表达方面具有协同作用, 如甲基化 CpG 与甲基 CpG 结合蛋白 2 (MECP2) 连接后, MECP2 能够与 HDACs 共同抑制基因表达, 不同情况下, DNA 甲基化与 HDACs 对基因作用不同; MECP2 能够参与 DNA 甲基化的同时也能够引起组蛋白甲基化^[46]。

2.3 microRNA

microRNA (miRNA) 是一种单链非编码 RNA, 一般由 19~25 个核苷酸组成。miRNA 是一种具有调节基因表达作用的 RNA, 在代谢、神经发育、神经可塑性、细胞凋亡和其他神经生物学过程具有重要作用。目前在人体中发现有 700~800 种 miRNA。miRNA 通过与其目的 mRNA 结合抑制 mRNA 的转录, 破坏 mRNA 稳定性。

2.3.1 microRNA 与淀粉样斑块形成

van Harten 等^[47] 研究发现, miRNA 在 AD 的发生发展中具有着重要作用, 并认为 AD 患者脑脊液中 miRNA 表达含量的变化能够影响 AD 病理进程, miRNA 表达量变化可能成为未来诊断和衡量 AD 治疗效果的指标。

比较 4 种不同程度 AD 患者脑内的 miRNA 水平发现, miR-107 表达量在 AD 发病早期就出现明显下降。计算机分析预测发现, miR-107 能够特异性靶定于 BACE1 mRNA。同一组样本研究发现,

miR-107 表达水平与 AD 患病的严重程度呈现正性相关, 且 miR-107 含量与 BACE1 mRNA 表达量呈负相关。以上研究结果提示, miR-107 很可能通过调节 BACE1 表达促进 AD 疾病进程^[48]。多项研究发现, 各种 miRNA 参与调节 APP 代谢和 BACE1 表达, 包括 miR-298、miR-384、miR-328、miR-29a、miR-29b-1、miR-29c、miR-15a、miR-101、miR-106a、miR-520c、miR-186、miR-193b 和 miR-106b 等(图 3)^[49-52]。此外, 体外实验提示, miR-20a、miR-17-5p 和 miR-106b 能够参与调节 APP 基因表达。此外, miR-106b 不仅能够抑制 APP 转录, 还能够通过影响 APP 转运、A β 清除, 促进胰岛素样生长因子(IGF1) 表达, 从而降低 A β 含量。部分 microRNA 表达也受到 A β 影响, 如 A β 能够诱导 miR-106b 表达^[53], 抑制 miR-9 与 miR-181C 合成^[54]。

2.3.2 microRNA与Tau蛋白

miR-138、miR-125b 通过促进 Tau 蛋白磷酸化, 影响认知功能^[55-56]。miR-128a 通过 BCL-associated athanogene 2 (BAG2) 协调神经元内的 Tau 蛋白水平, 抑制 NFT 形成^[57], 此外, miRNA 通过多种途径影响 Tau 蛋白代谢和磷酸化, 如在小鼠模型中 miR-15 水平下降, 可能通过 Erk1 通路增加 Tau 蛋白磷酸化。miR-219 则通过抑制 Tau 蛋白表达, 降低细胞内 NFT 含量^[58]。此外, miR-16、miR-132、miR-497、miR-9、miR-124、miR-137、miR-212、miR-454、miR-195、miR-495 和 miR-26a 等均参与调控 NFT 形成^[59]。

2.3.3 microRNA与AD其他病理改变

研究表明, miR206 干扰 BDNF 转录过程^[60]。

在 Tg2576 转基因小鼠第三脑室内注射 AM206 (miR-206 抑制剂), 发现 AM206 能够抑制 A β 42 对 BDNF 的损伤作用, 增加脑内 BDNF 表达, 有利于记忆形成, 增加海马区神经元再生, 增加突触可塑性。

分子生物学、遗传学、表观遗传学等方面的证据表明, AD 患者脑内至少存在 4 种 miRNA 的表达量发生进行性上调, 包括 miRNA-9、miRNA-125b、miRNA-146a 和 miRNA-155。这 4 种 miRNA 表达升高降低了补体因子 H (complement factor H, CFH) 表达^[61], CFH 表达下降可能导致炎症性神经退行性疾病。miRNA-146a、miR-101 通过调节多个基因, 如 IRAK1 和 TRAF6 进一步上调体内免疫和炎症反应^[62-63]。

let-7, 一种高度保守的 miRNA, 参与人体干细胞分化和神经再生。Lehmann 等^[64] 研究指出, let-7 能够引起神经退行性病变, 其机制可能是通过激活细胞凋亡通路, 如 caspase-3。在 AD 患者脑脊液中检测到 let-7 水平高于同龄正常人, 这提示 let-7 可能参与 AD 的发病或者疾病进展。

2.4 AD氧化应激与表观遗传

DNA 的氧化损伤对神经元的功能和存活极其有害。DNA 碱基中鸟嘌呤的氧化电位最低, 因此, 8-羟脱氧鸟苷 (8-OHdG) 为 DNA 氧化性损伤最主要的产物。当 8-OHdG 在 CCGG 区域取代鸟嘌呤时, 阻碍甲基化酶与 DNA 结合, 阻断 DNA 甲基化反应。8-OHdG 不易被体内校正酶识别, 易引起鸟嘌呤向腺嘌呤转换, 导致基因突变。在 AD 研究中发现,

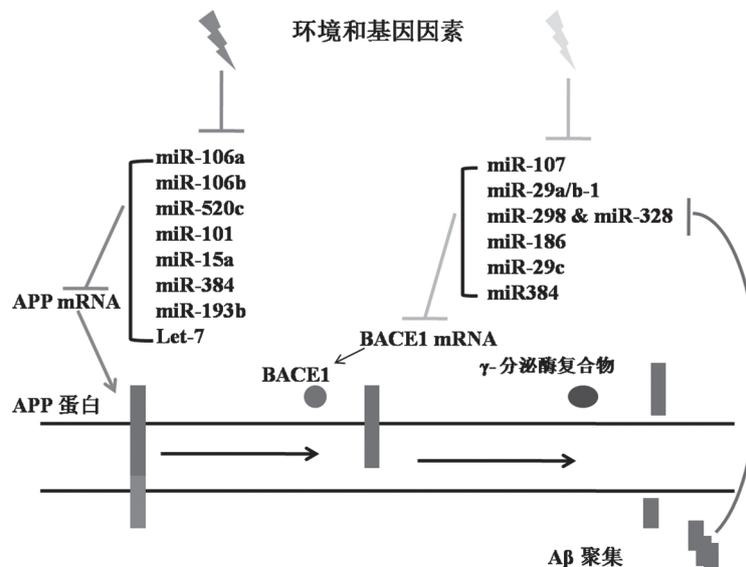


图3 MicroRNA作用于AD病理机制示意图

APP 与 BACE1 基因启动子区域分别含有 65 和 36 个 CpG 位点, 这意味着氧化应激引起的表观遗传修饰改变可能参与淀粉样斑块的产生。实验研究发现, 经 H_2O_2 处理的神经母细胞瘤, 其细胞内组蛋白乙酰化水平升高, DNA 甲基化水平降低, 进而导致 APP、BACE1 转录增加, 这可能与激活 NF- κ B 有关^[65]。

关于氧化应激与 DNA 甲基化有多种学说。如细胞为了避免氧化损伤降低了 GST (glutathione S-transferase) 合成量, 而合成 GST 能够消耗同型半胱氨酸, 进而降低细胞内 SAM 含量, 最终抑制 DNA 甲基化; 而 Wang 等^[66]认为, 8-OHdG 的产生改变了 DNA 构型, 影响了甲基结合蛋白 (MBP) 与 GpC 岛结合。

3 展望

表观遗传学修饰能够对基因表达和分子信号通路产生广泛的影响, 从而参与协调并使机体适应各种外界环境变化和内部机体老化, 甚至参与各种疾病的发生和发展。目前在表观遗传与 AD 方面已经有较多的研究报道, 并且发现表观遗传在 AD 方面具有广泛的作用, 包括参与 APP 代谢、 $A\beta$ 形成、Tau 蛋白磷酸化、机体氧化应激反应和细胞凋亡等。

早期诊断是 AD 治疗面临的主要挑战, 目前尚无有效的检测指标。表观遗传修饰水平变化为 AD 诊断提供了有效的检测指标, 尤其是在 AD 产生分子病理改变前就能够检测到的表观遗传学指标。多项研究表明, 表观遗传学治疗途径能逆转早期的 AD 病理改变。在 AD 早期确认这些相关指标, 通过表观遗传治疗手段就能够抑制相关基因表达, 阻止 AD 病情的恶化发展。

将表观遗传学作为治疗 AD 研究的同时, 也需关注表观遗传学修饰在不同细胞或其他信号通路中所引起的不良反应。因此, 筛选精确的治疗靶标以及选择性高的药物成为减少不良反应的有效手段。目前临床上应用的胍屈嗪(治疗高血压)、丙戊酸(治疗癫痫)等药物均通过改变体内表观遗传学水平达到治疗效果, 这意味着以上药物可应用于表观遗传相关疾病的治疗。

表观遗传修饰在 AD 中的作用已得到研究者的认可。未来, 它在病理学中的意义将更加清晰, 并为 AD 治疗提供更可靠的生物指标, 为研发新药和临床药物评估提供理论基础。

[参 考 文 献]

- [1] Ferreira-Vieira TH, Guimaraes IM, Silva FR, et al. Alzheimer's disease: targeting the cholinergic system. *Curr Neuropharmacol*, 2016, 14: 101-15
- [2] Jamasbi E, Wade JD, Separovic F, et al. Amyloid beta ($A\beta$) peptide and factors that play important roles in Alzheimer's disease. *Curr Med Chem*, 2016, 23: 884-92
- [3] Salazar C, Valdivia G, Ardiles AO, et al. Genetic variants associated with neurodegenerative Alzheimer disease in natural models. *Biol Res*, 2016, 49: 14
- [4] Nunomura A. Oxidative stress hypothesis for Alzheimer's disease and its potential therapeutic implications. *Rinsho Shinkeigaku*, 2013, 53: 1043-5
- [5] Salminen A, Haapasalo A, Kauppinen A, et al. Impaired mitochondrial energy metabolism in Alzheimer's disease: Impact on pathogenesis via disturbed epigenetic regulation of chromatin landscape. *Prog Neurobiol*, 2015, 131: 1-20
- [6] Zoghbi HY, Beaudet AL. Epigenetics and human disease. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2016, 8: a019497
- [7] Cacabelos R, Torrellas C. Epigenetics of aging and Alzheimer's disease: implications for pharmacogenomics and drug response. *Int J Mol Sci*, 2015, 16: 30483-543
- [8] Khanahmadi M, Farhud DD, Malmir M. Genetic of Alzheimer's disease: a narrative review article. *Iran J Public Health*, 2015, 44: 892-901
- [9] Khan S, Shukla S, Sinha S, et al. Epigenetic targets in cancer and aging: dietary and therapeutic interventions. *Expert Opin Ther Targets*, 2016: 1-15
- [10] Oliveira AM, Hemstedt TJ, Bading H. Rescue of aging-associated decline in Dnmt3a2 expression restores cognitive abilities. *Nat Neurosci*, 2012, 15: 1111-3
- [11] Levenson JM, Roth TL, Lubin FD, et al. Evidence that DNA (cytosine-5) methyltransferase regulates synaptic plasticity in the hippocampus. *J Biol Chem*, 2006, 281: 15763-73
- [12] Chouliaras L, Kenis G, Visser PJ, et al. DNMT3A moderates cognitive decline in subjects with mild cognitive impairment: replicated evidence from two mild cognitive impairment cohorts. *Epigenomics*, 2015, 7: 533-7
- [13] Sanchez-Mut JV, Aso E, Panayotis N, et al. DNA methylation map of mouse and human brain identifies target genes in Alzheimer's disease. *Brain*, 2013, 136: 3018-27
- [14] Okita K, Matsukawa N, Maki M, et al. Analysis of DNA variations in promoter region of HCNP gene with Alzheimer's disease. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009, 379: 272-6
- [15] Nagata T, Kobayashi N, Ishii J, et al. Association between DNA methylation of the BDNF promoter region and clinical presentation in Alzheimer's disease. *Dement Geriatr Cogn Dis Extra*, 2015, 5: 64-73
- [16] Sandoval-Hernandez AG, Hernandez HG, Restrepo A, et al. Liver X receptor agonist modifies the DNA methylation profile of synapse and neurogenesis-related genes in the triple transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *J Mol Neurosci*, 2016, 58: 243-53
- [17] Di Francesco A, Arosio B, Falconi A, et al. Global changes

- in DNA methylation in Alzheimer's disease peripheral blood mononuclear cells. *Brain Behav Immun*, 2015, 45: 139-44
- [18] De Jager PL, Srivastava G, Lunnon K, et al. Alzheimer's disease: early alterations in brain DNA methylation at ANK1, BIN1, RHBDF2 and other loci. *Nat Neurosci*, 2014, 17: 1156-63
- [19] Anderson KW, Turko IV. Histone post-translational modifications in frontal cortex from human donors with Alzheimer's disease. *Clin Proteomics*, 2015, 12: 26
- [20] Mastroeni D, Grover A, Delvaux E, et al. Epigenetic changes in Alzheimer's disease: decrements in DNA methylation. *Neurobiol Aging*, 2010, 31: 2025-37
- [21] Chen KL, Wang SS, Yang YY, et al. The epigenetic effects of amyloid- β (1-40) on global DNA and neprilysin genes in murine cerebral endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009, 378: 57-61
- [22] Schaevitz L, Berger-Sweeney J, Ricceri L. One-carbon metabolism in neurodevelopmental disorders: using broad-based nutraceuticals to treat cognitive deficits in complex spectrum disorders. *Neurosci Biobehav Rev*, 2014, 46: 270-84
- [23] Fusco A. The 'golden age' of DNA methylation in neurodegenerative diseases. *Clin Chem Lab Med*, 2013, 51: 523-34
- [24] Roman GC. MTHFR gene mutations: a potential marker of late-onset Alzheimer's disease? *J Alzheimers Dis*, 2015, 47: 323-7
- [25] Li W, Jiang M, Xiao Y, et al. Folic acid inhibits tau phosphorylation through regulation of PP2A methylation in SH-SY5Y cells. *J Nutr Health Aging*, 2015, 19: 123-9
- [26] Singh P, Konar A, Kumar A, et al. Hippocampal chromatin-modifying enzymes are pivotal for scopolamine-induced synaptic plasticity gene expression changes and memory impairment. *J Neurochem*, 2015, 134: 642-51
- [27] Bie B, Wu J, Yang H, et al. Epigenetic suppression of neuroligin 1 underlies amyloid-induced memory deficiency. *Nat Neurosci*, 2014, 17: 223-31
- [28] Peleg S, Sananbenesi F, Zovoilis A, et al. Altered histone acetylation is associated with age-dependent memory impairment in mice. *Science*, 2010, 328: 753-6
- [29] Lu X, Wang L, Yu C, et al. Histone acetylation modifiers in the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Front Cell Neurosci*, 2015, 9: 226
- [30] Wagner FF, Zhang YL, Fass DM, et al. Kinetically selective inhibitors of histone deacetylase 2 (HDAC2) as cognition enhancers. *Chem Sci*, 2015, 6: 804-815
- [31] Wang BY, Zhong Y, Zhao Z, et al. Epigenetic suppression of hippocampal BDNF mediates the memory deficiency induced by amyloid fibrils. *Pharmacol Biochem Behav*, 2014, 126: 83-9
- [32] Govindarajan N, Rao P, Burkhardt S, et al. Reducing HDAC6 ameliorates cognitive deficits in a mouse model for Alzheimer's disease. *EMBO Mol Med*, 2013, 5: 52-63
- [33] Cook C, Carlomagno Y, Gendron TF, et al. Acetylation of the KXGS motifs in tau is a critical determinant in modulation of tau aggregation and clearance. *Hum Mol Genet*, 2014, 23: 104-16
- [34] Du LL, Xie JZ, Cheng XS, et al. Activation of sirtuin 1 attenuates cerebral ventricular streptozotocin-induced tau hyperphosphorylation and cognitive injuries in rat hippocampi. *Age (Dordr)*, 2014, 36: 613-23
- [35] Zhao YN, Li WF, Li F, et al. Resveratrol improves learning and memory in normally aged mice through microRNA-CREB pathway. *Biochem Biophys Res Commun*, 2013, 435: 597-602
- [36] Braidy N, Jugder BE, Poljak A, et al. Resveratrol as a potential therapeutic candidate for the treatment and management of Alzheimer's disease. *Curr Top Med Chem*, 2016, 16: 1951-60
- [37] Vieira PA, Korzus E. CBP-dependent memory consolidation in the prefrontal cortex supports object-location learning. *Hippocampus*, 2015, 25: 1532-40
- [38] Amin HU, Malik AS, Kamel N, et al. P300 correlates with learning & memory abilities and fluid intelligence. *J Neuroeng Rehabil*, 2015, 12: 87
- [39] Wei W, Coelho CM, Li X, et al. p300/CBP-associated factor selectively regulates the extinction of conditioned fear. *J Neurosci*, 2012, 32: 11930-41
- [40] Lu X, Deng Y, Yu D, et al. Histone acetyltransferase p300 mediates histone acetylation of PS1 and BACE1 in a cellular model of Alzheimer's disease. *PLoS One*, 2014, 9: e103067
- [41] Marques SC, Lemos R, Ferreira E, et al. Epigenetic regulation of BACE1 in Alzheimer's disease patients and in transgenic mice. *Neuroscience*, 2012, 220: 256-66
- [42] Wang Z, Yang D, Zhang X, et al. Hypoxia-induced down-regulation of neprilysin by histone modification in mouse primary cortical and hippocampal neurons. *PLoS One*, 2011, 6: e19229
- [43] Cook C, Stankowski JN, Carlomagno Y, et al. Acetylation: a new key to unlock tau's role in neurodegeneration. *Alzheimers Res Ther*, 2014, 6: 29
- [44] Cohen TJ, Guo JL, Hurtado DE, et al. The acetylation of tau inhibits its function and promotes pathological tau aggregation. *Nat Commun*, 2011, 2: 252
- [45] Mastroeni D, Delvaux E, Nolz J, et al. Aberrant intracellular localization of H3K4me3 demonstrates an early epigenetic phenomenon in Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*, 2015, 36: 3121-9
- [46] Fuks F, Burgers WA, Brehm A, et al. DNA methyltransferase Dnmt1 associates with histone deacetylase activity. *Nat Genet*, 2000, 24: 88-91
- [47] van Harten AC, Mulders J, Scheltens P, et al. Differential expression of microRNA in cerebrospinal fluid as a potential novel biomarker for Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*, 2015, 47: 243-52
- [48] Wang WX, Rajeev BW, Stromberg AJ, et al. The expression of microRNA miR-107 decreases early in Alzheimer's disease and may accelerate disease progression through regulation of β -site amyloid precursor protein-cleaving enzyme 1. *J Neurosci*, 2008, 28: 1213-23
- [49] Kim J, Yoon H, Chung DE, et al. miR-186 is decreased in

- aged brain and suppresses BACE1 expression. *J Neurochem*, 2016, 137: 436-45
- [50] Liu CG, Wang JL, Li L, et al. MicroRNA-384 regulates both amyloid precursor protein and β -secretase expression and is a potential biomarker for Alzheimer's disease. *Int J Mol Med*, 2014, 34: 160-6
- [51] Lei X, Lei L, Zhang Z, et al. Downregulated miR-29c correlates with increased BACE1 expression in sporadic Alzheimer's disease. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8: 1565-74
- [52] Liu CG, Song J, Zhang YQ, et al. MicroRNA-193b is a regulator of amyloid precursor protein in the blood and cerebrospinal fluid derived exosomal microRNA-193b is a biomarker of Alzheimer's disease. *Mol Med Rep*, 2014, 10: 2395-400
- [53] Kim J, Yoon H, Ramirez CM, et al. MiR-106b impairs cholesterol efflux and increases A β levels by repressing ABCA1 expression. *Exp Neurol*, 2012, 235: 476-83
- [54] Schonrock N, Humphreys DT, Preiss T, et al. Target gene repression mediated by miRNAs miR-181c and miR-9 both of which are down-regulated by amyloid- β . *J Mol Neurosci*, 2012, 46: 324-35
- [55] Wang X, Tan L, Lu Y, et al. MicroRNA-138 promotes tau phosphorylation by targeting retinoic acid receptor α . *FEBS Lett*, 2015, 589: 726-9
- [56] Banzhaf-Strathmann J, Benito E, May S, et al. MicroRNA-125b induces tau hyperphosphorylation and cognitive deficits in Alzheimer's disease. *EMBO J*, 2014, 33: 1667-80
- [57] Carrettiero DC, Hernandez I, Neveu P, et al. The cochaperone BAG2 sweeps paired helical filament-insoluble tau from the microtubule. *J Neurosci*, 2009, 29: 2151-61
- [58] Santa-Maria I, Alaniz ME, Renwick N, et al. Dysregulation of microRNA-219 promotes neurodegeneration through post-transcriptional regulation of tau. *J Clin Invest*, 2015, 125: 681-6
- [59] Lardenoije R, Iatrou A, Kenis G, et al. The epigenetics of aging and neurodegeneration. *Prog Neurobiol*, 2015, 131: 21-64
- [60] Tian N, Cao Z and Zhang Y. MiR-206 decreases brain-derived neurotrophic factor levels in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *Neurosci Bull*, 2014, 30: 191-7
- [61] Lukiw WJ, Surjyadipta B, Dua P, et al. Common microRNAs (miRNAs) target complement factor H (CFH) regulation in Alzheimer's disease (AD) and in age-related macular degeneration (AMD). *Int J Biochem Mol Biol*, 2012, 3: 105-16
- [62] Perry MM, Williams AE, Tsitsiou E, et al. Divergent intracellular pathways regulate interleukin-1 β -induced miR-146a and miR-146b expression and chemokine release in human alveolar epithelial cells. *FEBS Lett*, 2009, 583: 3349-55
- [63] Vilardo E, Barbato C, Ciotti M, et al. MicroRNA-101 regulates amyloid precursor protein expression in hippocampal neurons. *J Biol Chem*, 2010, 285: 18344-51
- [64] Lehmann SM, Kruger C, Park B, et al. An unconventional role for miRNA: let-7 activates Toll-like receptor 7 and causes neurodegeneration. *Nat Neurosci*, 2012, 15: 827-35
- [65] Gu X, Sun J, Li S, et al. Oxidative stress induces DNA demethylation and histone acetylation in SH-SY5Y cells: potential epigenetic mechanisms in gene transcription in A β production. *Neurobiol Aging*, 2013, 34: 1069-79
- [66] Wang TC, Song YS, Wang H, et al. Oxidative DNA damage and global DNA hypomethylation are related to folate deficiency in chromate manufacturing workers. *J Hazard Mater*, 2012, 213-214: 440-6