

剂量时可使脑脊液中 A $\beta$ 42 水平明显下降, 执行功能明显改善, 但记忆功能改善不明显。

**3.2 NFT 抑制剂** Rember<sup>TM</sup> (MTC) 是一种 NFT 抑制剂。1890 年 MT 的氯化物盐 MTC 作为止痛药上市, 1996 年发现 Rember 对 NFT 中的双股螺旋丝有解聚作用, 因其左旋溴化物能透过血-脑脊液屏障且无血液系统毒性作用而被用于为期 24 周的 II 期轻中度 AD 患者 (MMSE 10~25 分) 的临床试验研究, 结果显示 60 mg 时中度 AD 患者认知功能改善有统计学意义 ( $P=0.0132$ ), 虽对轻度患者的认知功能无改善作用, 但第 20 周时 SPECT 显示治疗组轻度 AD 患者脑血流灌注改善有统计学差异, 第 50 周时 60 mg 治疗组轻中度 AD 患者的认知功能改善均有统计学差异。

**3.3 NMDAR 及钙离子通道拮抗剂多靶点药物** Dimebon (Medivation) 在 20 世纪 80 年代作为抗组胺剂在俄罗斯被应用, 目前被认为是一种新型小分子 NMDAR 及钙离子通道拮抗剂而用于 AD 治疗, 现已有学者在俄罗斯的 11 个中心针对 183 例 AD 患者进行了为期 1 年的 II 期临床试验研究,

结果显示治疗组患者 70% 临床症状有平稳改善。

**3.4 特异性中枢神经系统烟碱受体激动剂 (NNR)** AZD3480 是一种特异性作用于中枢神经系统乙酰胆碱能受体的烟碱受体激动剂, 2009 年在澳大利亚、加拿大、德国及英国等国家的 84 个中心针对 558 例轻中度 AD 患者 (MMSE 分别为 12~20 分、21~26 分) 进行为期 14 周的临床试验研究, 并以多奈哌齐及安慰剂作对照, 应用该药 20 mg 治疗时临床 ADAS-Cog、MMSE 及 ADCS-CGIC 量表评分改善均有统计学差异, 头晕及疲乏现象较安慰剂组略高, 但低于多奈哌齐组。

有关 AD 的治疗研究成果很多, 药物品种亦很多, 但不管是 FDA 批准已上市的 AChEI 和 NMDAR 拮抗剂, 还是仍处于 II 或 III 期临床研究的针对 AD 病理改变及发病机制的药物, 均不能治愈或明显改善临床症状, 而只能延缓 AD 病情进展或使症状轻微好转, 因此早期诊断 AD 尤为重要。

(收稿日期: 2010-06-14)

(本文编辑: 邹展双)

## 表观遗传学与阿尔茨海默病研究趋势

盛树力

关键词: 阿尔茨海默病; 表观遗传学

中图分类号: R743.9 文献标识码: C 文章编号: 1006-2963 (2010) 06-0395-04

表观基因组学和表观遗传学调节机制可以决定机体各种类型细胞的表型, 目前倾向认为其在一定程度上对中枢神经系统 (CNS) 的功能和疾病发生具有决定性作用。截至 2000 年 3 月, 有关人类基因组项目的研究已经完成, 标志着人类疾病研究已进入更复杂的后基因组的表观遗传学 (epigenetics) 时代。根据表观遗传学原理, 散发性阿尔茨海默病 (SAD) 很可能属于表观遗传学疾病, 因而对于阿尔茨海默病 (AD) 今后的研究趋势需要从表观遗传学角度进行考虑。

doi:10.3969/j.issn.1006-2963.2010.06.004

作者单位: 100050 首都医科大学宣武医院北京老年病医疗研究中心

通讯作者: 盛树力, Email: shengshulibeijing@163.com

### 1 表观遗传学

表观遗传学是研究基因表达因被修饰而发生改变、但不涉及基因序列变化的科学。其中具有修饰作用的标识称为表观遗传学标识 (epigenetic marks), 表观遗传学密码 (codes) 即由这些标识构成。基因是遗传的基本功能单位, DNA 序列提供了合成蛋白质的密码, 并通过表观遗传学调节机制对这些密码进行选择表达而使细胞出现不同的表型, 即基因组提供了合成蛋白质的模板, 表观遗传学信息提供了合成蛋白的指令 (形成表型)。细胞在染色质水平的编码信息可传递给子代。在个体发育过程中, 表观遗传学编码维持了系谱内分裂细胞的同一性, 也可表现为代间性状或疾病易感性等表型的传递, 即表观遗传学遗传 (epigenetic

inheritance)。表观基因组(epigenome)是研究人体 210 多种细胞类型的表观遗传学标识的组合,其数以百万计,在不同类型的细胞中均有不同。

表观遗传学调节可决定基因是否沉默或激活,并最终反映细胞、器官和机体的表型。每一种分化的细胞均有其各自独特的蛋白质表达模式。表观遗传学机制不仅为细胞定向分化和组织形成(发育过程)所必需,而且构成了将环境刺激转换为基因表达调节的动态细胞内加工体系。表观遗传学调节包括基因 DNA 启动子甲基化、组蛋白修饰(如乙酰化、甲基化、磷酸化等)、染色体重塑以及 miRNAs 负调。上述调节过程均需通过相关酶的表达来实现,这些酶包括 DNA 甲基移换酶、DNA 去甲基酶、组蛋白去甲基酶、组蛋白甲基移换酶、组蛋白乙酰移换酶、组蛋白脱乙酰化酶(HDAC)、组蛋白激酶和 Dicer 酶等<sup>[1]</sup>。

现有研究表明,表观遗传学调节具有如下特点:(1)蛋白质表达量的改变是 DNA 启动子甲基化、组蛋白乙酰化和 miRNA 三者协同作用的结果,个别表观遗传学标识物对基因转录并不起决定性作用。单一基因表达依赖于该基因 DNA 启动子低甲基化和组蛋白高乙酰化,上述过程可使核转录因子结合到靶基因而引起 mRNA 转录,反之 mRNA 转录将减少。miRNA 是 mRNA 的负调节物。众多基因过度激活或沉默可出现表观遗传学疾病,如发育畸形、肿瘤、糖尿病、肥胖、心脑血管病和神经元变性病等,其实质是表观遗传学相关酶的表达和功能异常所导致的不同表型。(2)每种表观遗传学调节酶和 miRNA 均为同一家族的成员,其靶基因谱均存在差异,每个成员可调节多个基因表达,而每个基因表达又受不同成员的调节。miRNA 是非编码基因的转录产物,人类基因组至少有 1000 多种 miRNA。成熟 miRNAs 一般由 19~22 个核苷酸组成,它可通过部分互补结合到靶 mRNAs,使 mRNA 降解成为翻译抑制或沉默基因表达的负调因子<sup>[2]</sup>。(3)功能关联的蛋白质表达的调节是复杂连锁的级联反应过程。机体的任何生理病理过程中的表象均涉及表观遗传学固定的协同模式的调节制约,如 A $\beta$ 42 合成增加的基础,一定是  $\beta$  淀粉样肽前体蛋白( $\beta$ -amyloid precursor protein, APP)和产生 A $\beta$ 42 的酶表达增加与降解 A $\beta$ 42 的酶表达减少并存。

## 2 CNS 功能的表观遗传学调节与 SAD

### 2.1 CNS 和表观遗传学的相关性 CNS 的功能

特点为神经和精神活动具有部位和神经元类型的相对特异性,这与表观遗传学调节的相关酶的分布相一致,即表观遗传学标识决定神经元的不同表型,如胆碱能神经元的乙酰胆碱合成酶基因的充分表达,是其基因受表观遗传学相关酶调控的结果。CNS 具有充分的对内外界刺激因素反应的能力,其对内外界刺激因素的瞬间反应依赖于神经系统的电和化学事件调节。而与认知功能有关的神经元可塑性的分子学基础是神经元针对内外界刺激因素进行相关基因的表观遗传学调节的结果,如染色质的修饰,特别是组蛋白乙酰化涉及记忆形成。神经元特异表达的 HDAC2 基因 DNA 启动子低甲基化能减少树突棘的密度、突触数及突触可塑性,所以 HDAC2 是学习、记忆功能和神经环路长期改变的负调因子,其抑制剂可增强野生型和神经变性病小鼠的学习和记忆功能<sup>[3]</sup>。

**2.2 精神活动与表观遗传学的关系** 近年对精神活动的分子学基础的研究表明精神活动与表观遗传学有关。抑郁症在 AD 患者中比较常见,其机制可能与脑内胰岛素信号转导障碍有关。兴奋性和抑制性突触传递、单胺类神经递质在精神活动方面的作用逐渐受到关注。某些基因如 Reelin 和 Carm 1 (coactivator-associated arginine methyltransferase-1) 正常的表观遗传学调控或正常的蛋白质表达为正常精神活动所必需。因此,对于存在长期心理或精神行为障碍的 AD 患者必须考虑存在表观遗传学调节障碍的可能<sup>[1]</sup>。

**2.3 SAD 与表观遗传学调节的关系** 近年来 SAD 被认为是一种表观遗传学疾病<sup>[1]</sup>。它是没有任何基因突变引起的显性遗传,但具有 200 多种基因表达异常。

**2.3.1 甲基化:**老年脑基因的 DNA 整体表现为低甲基化,但一些 AD 相关基因甲基化程度呈现出选择性差别,如 APP 和产生 A $\beta$ 42 的  $\beta$ -和  $\gamma$ -分泌酶基因(PS1 或 PS2)DNA 低甲基化,降解 A $\beta$ 42 的胰岛素降解酶和 Nepilysin DNA 高甲基化。

**2.3.2 miRNA:**理解 miRNA 和神经系统疾病间关系的最好例子是脆性 X 精神迟缓,该病患者缺乏脆性 X 精神迟缓 1 蛋白,而且其 Dicer 和 RISC 功能受损。这两种功能为 miRNA 介导的突触可塑性和树突发育所必需,灭活小鼠 CNS 的 Dicer 酶可使其神经元树突形成、存活能力受损,并逐渐发生变性。科学家们研究发现,AD 脑中的 400 多种 miRNA 中有些发生了明显的量变,提示脑内

miRNA 参与了神经系统某些基因表达的调节。

miRNA 可影响突触可塑性和记忆功能,与 AD 发病有关。其中 miRNA29a、miRNA29b-1、miRNA29c、miR-106b、miR-107、R-298 和 R-328 等可通过下调 mRNA 调节 APP、 $\beta$  位- $\beta$  淀粉样肽前体蛋白裂解酶 1 (BACE1)、BACE2、Aph1A、Tau、CD147 和  $\alpha$ -Synuclein 等蛋白的表达。而研究表明上述 miRNA 在 AD 脑内存在部位和阶段特异的调节失常。另有研究表明 miR-9、miR-125b 和 miR-128 在 AD 患者的海马区增加,也提示 miRNA 的调节失常和特殊类型 miRNA 的变化同样可能在 AD 的发病过程中起作用<sup>[5]</sup>。

**2.3.3 组蛋白修饰:人神经元特异 HDAC2 过表达能减少树突棘密度、突触数、突触可塑性和记忆形成,即 HDAC2 对记忆形成和突触可塑性具有负调作用。HDAC1 不具有上述作用。研究表明,AD 小鼠去乙酰基能力仅为正常小鼠的一半。HDAC 抑制剂能增加组蛋白乙酰化和基因转录、恢复正常记忆功能,提示某些表观遗传学相关的酶与突触可塑性相关。**

### 3 从表观遗传学看 AD 研究趋势

**3.1 发病机制** 遗传和环境因素可通过影响表观遗传学调节导致正常脑老化向病理性脑老化转变。目前认为 SAD 是以脑内 APP 产生 A $\beta$ 42 增加并形成可溶性寡聚体为中心的多种蛋白质代谢障碍为表型的表观遗传学疾病<sup>[1]</sup>。因此,相关基因如何出现表观遗传学标识的选择性改变是 SAD 的发病机制,其中 A $\beta$ 42 增加的上游相关基因(如胰岛素信号转导蛋白)的表观遗传学调节可能是研究的首选目标,而有关 SAD 基因多态性的研究可能意义不大。

**3.2 药物开发** 由于对 AD 发病机制缺乏了解而难以确定有效治疗靶位,全球现已开发的 200 多种治疗 AD 的药物基本属于有限改善生活质量的对症治疗药物。相对于遗传学缺陷,表观遗传学缺陷有可能通过药物干预而发生逆转,因此表观遗传学治疗将是 AD 药物开发的重要方向。根据表观遗传学原理,可用校正表观遗传学调节障碍的药物,包括酶抑制剂/激动剂或 siRNA (small interfering RNA) 治疗 AD。表观遗传学药物是指进入体内能控制基因转录的“开”或“关”,通过影响相关酶的活性,改变疾病相关基因的 DNA 甲基化和/或组蛋白乙酰化程度而影响基因表型但不影响 DNA 编

码的化合物。目前美国已有表观遗传学药物进入临床试验治疗 AD。

改善记忆是 AD 治疗的重点之一。记忆是一个动态过程,在记忆获得过程的生理时程内 DNA 甲基化不断改变。通过相关药物可使脑能够记录新的记忆,在此过程中脑内神经元需合成新的蛋白质,这首先需要打开和读取含有合成蛋白质指令的 DNA。为此,神经元需去除组蛋白乙酰基以增加 DNA 可及性。研究表明 HDAC2 可能是 HDAC 抑制剂的最适靶位,它能改善突触可塑性和促进记忆形成。因此,HDAC 抑制剂可作为治疗 AD 的候选药物<sup>[6-7]</sup>,而且现已证实对异常修饰的基因转录激活和组蛋白乙酰化稳态水平失衡的校正是其神经保护作用的两种机制。

AD 脑神经化学改变是一个持续恶化的过程,目前为方便药物开发的研究,人为地将其分为 3 个阶段:以 A $\beta$ 42 增加并形成可溶性稳定寡聚体为中心的中游阶段(或称临床前隐匿期),其上游阶段为体内外和脑内局部因素促使 A $\beta$ 42 表达增加的致病因子积聚期,下游阶段为 A $\beta$ 42 寡聚体影响突触可塑性而引起突触传递障碍进而导致认知功能减退的时期(或称发病期),临床上在发病期方可诊治 AD。防治 AD 应选择各个阶段的靶位进行多靶位治疗,以达到“标本”兼治。根据上述研究结果推测,有效治疗靶位应存在于上述 3 个阶段中相关基因的表观遗传学调节的异常标识中。目前认为,对 AD 而言治疗靶位相对明确,siRNA 是理想的靶向治疗药物,但在应用上尚有许多难点需要解决<sup>[8]</sup>。

**3.3 生物标识物** 近年来国际上涉及临床的研究将神经影像学视为目前唯一可信的客观的生物标识物(biomarker)<sup>[9]</sup>,但在发展中国家应用受到很大限制。当前,有关研究者十分关注以血液中可测定成分作为生物标识物的可能性。由于蛋白质易受酶的降解,因此稳定的 miRNA 是目前惟一可能的选择。有报导称血浆和血单核细胞中可检出血 miRNA 谱的改变,这种改变能够反映疾病状态。大多数 AD 患者外周血单核细胞 miRNA,包括 let-7f、miR-371、miR-517、miR-520 h、miR-34a 和 miR-200a 等表达上调与其在 AD 脑中高表达相似。目前已有科学家对血 miRNA 表达水平作为诊断、评估干预措施效果和预后的生物标识物持乐观态度<sup>[10]</sup>。

**3.4 精神行为学研究** 精神行为方面的反常是 AD 患者的主要临床表现之一,其中有些反常行为

常不能为社会所理解和容忍。因此研究精神行为的分子学基础十分必要,以便为区分道德和病态行为提供客观标准,进而采取正确干预措施。某些表观遗传学药物可能作为精神疾病的治疗药物是表观遗传学最令人兴奋的新研究方向之一,不影响 DNA 编码的小分子 DNA 甲基转移酶抑制剂,如曲古抑菌素 A (TSA)、丙戊酸盐 (valproate) 和 MS-275 现已进入临床试验,这些物质能使分裂后的脑神经元去甲基化,可用于脑神经元变性病和记忆损害患者的治疗。

**3.5 延缓脑老化** 与青年人比较,老年人脑组织中的表观基因组学标识存在明确差别,其脑组织基因 DNA 总体低甲基化且 miRNA 谱发生明显改变。这种差别主要是由于生命早期(胚胎、胎儿和婴儿)所建立的表达程序(Programming)的存在。因而从表观遗传学角度考虑,对包括 AD 在内的表观遗传学疾病进行干预应始于孕前,并使子代所生存的体内外环境维持良好,以使表观基因组学标识呈正常模式表达。

目前研究者都倾向认为糖尿病、肥胖、心脑血管病、高血压等都是 AD 的危险因素,其实它们也是表观遗传学疾病,都具有表观遗传学调节障碍的共同基础。因此,防治上述疾病应通过改善表观遗传学调节障碍而延缓脑老化,由于脑老化是机体全身老化的一部分,这需从机体整体角度考虑其可能性。除提供食物中足够的甲基供体外,现有干预措施似乎均缺乏足够的科学依据,而且食物可以持续影响人体健康,因此,食品安全将是防治慢性病的重大公共卫生问题。

表观遗传学开创了防治成人慢性病的“omics”〔基因组学 (genomics)、表观基因组学 (epigenomics)、转录组学 (transcriptomics)、蛋白组学 (proteomics)、营养基因组学 (nutrigenomics) 和代谢组学 (metabolomics)〕新时代。食物成分和“omics”之间的相互关系的研究将有助于人们从表观遗传学角度开发新的干预措施<sup>[11]</sup>。

## 4 展望

表观遗传学将引领医药学进入新的发展高峰。表观基因组学和表观遗传学将是巨大的系统工程和具有长远意义的民生工程。绘制表观基因组图

谱(epigenome map)有益于生命科学发展和人类健康,也是人类生命科学的巨大挑战<sup>[12]</sup>,这要求在科技界需要多专业合作绘制表观基因组学图谱。在医学领域,也需要多学科联合研究表观遗传学和表观遗传学疾病。表观遗传学原理可能使 AD 研究进入新的阶段,但需要我们认真总结吸取发达国家优秀管理经验,优化学术界的科研环境,全面规划和集有限的人力和财力于重点项目的攻关。

## 参考文献:

- [1] 林华型,盛树力. 阿尔采默病发病机制与表观遗传学研究进展[J]. 中国药理学通报,2010,26:570.
- [2] Swaminathan V, Reddy BA, Ruthrotha Selvi B, et al. Small molecule modulators in epigenetics: implications in gene expression and therapeutics[J]. Subcell Biochem,2007,41: 397-428.
- [3] Crews D. Epigenetics, brain, behavior, and the environment [J]. Hormones (Athens), 2010,9(1): 41-50.
- [4] Grayson DR, Jia X, Chen Y, et al. Reelin promoter hypermethylation in schizophrenia [J]. Proc Natl Acad Sci USA,2005,102(26):9341-9346.
- [5] Chuang DM, Leng Y, Marinova Z, et al. Multiple roles of HDAC inhibition in neurodegenerative conditions[J]. Trends Neurosci,2009,32(11):591-601.
- [6] Guan JS, Haggarty SJ, Giacometti E, et al. HDAC2 negatively regulates memory formation and synaptic plasticity[J]. Nature, 2009,459(7243):55-60.
- [7] Kilgore M, Miller CA, Fass DM, et al. Inhibitors of class 1 histone deacetylases reverse contextual memory deficits in a mouse model of Alzheimer's disease [J]. Neuropsychopharmacology, 2010, 35(4): 870-880.
- [8] Gonzalez-Alegre P. Therapeutic RNA interference for neurodegenerative diseases: From promise to progress[J]. Pharmacol Ther, 2007,114(1):34-55.
- [9] Schipper HM. The role of biologic markers in the diagnosis of Alzheimer's disease [J]. Alzheimer's Dementia, 2007, 3(4): 325-332.
- [10] Schipper HM, Maes OC, Chertkow HM, et al. MicroRNA expression in Alzheimer blood mononuclear cells [J]. Gene Regul Syst Bio, 2007,1: 263-274.
- [11] Milner JA. Nutrition in the "omics" era [J]. Forum Nutr, 2007, 60: 1-24.
- [12] Esteller M. The necessity of a human epigenome project [J]. Carcinogenesis,2006,27(6): 1121-1125.

(收稿日期:2010-07-05)

(本文编辑:邹晨双)