CH25H 与阿尔茨海默病

王璐璐　张孟仁

摘　要　胆固醇 25 - 羟基氢化酶(cholesterol 25 - hydroxylase,CH25H)基因位于染色体 10q23,编码 CH25H,参与合成 25 羟基胆固醇(25 - hydroxycholesterol,25HC),是与阿尔茨海默病发病密切相关的基因之一。研究表明,25HC 可刺激 $sPLA_2$ - ⅡA 的分泌、诱导 caspase - 3 的表达等以引起少突胶质细胞凋亡,可以通过增加大脑内 β - 淀粉样蛋白负荷、调节胆固醇脂代谢、提高载脂蛋白 E 的表达等,影响认知功能障碍。

关键词　CH25H　25HC　阿尔茨海默病　认知功能障碍

中图分类号　R74　　**文献标识码**　A　　**DOI**　10.11969/j.issn.1673-548X.2015.04.049

随着现今科技医疗水平的飞速发展,人们对于生活质量的要求也日益提高,对于认知功能障碍相关疾病的研究与治疗,正在全面展开,其相关的致病基因也在逐渐被人们认知和了解[1]。阿尔茨海默病(Alzheimer's disease,AD)是其中最为常见的老年认知功能改变,是一种起病隐匿的进行性发展的神经系统退行性病变,主要表现为记忆力、计算力、判断力、注意力、抽象思维能力、语言功能的减退,情感和行为障碍,独立生活和工作能力的丧失,是严重威胁现代老人健康水平和生活质量的疾病之一,严重影响着患者的日常生活。AD 主要病理学改变为 β - 淀粉样蛋白(β - amyloid,Aβ)的沉积、神经元纤维缠结(neurofi - briillary tangles,NFTs)等,其病理机制除 Aβ 假说、tau 蛋白磷酸化假说外,脂蛋白、胆固醇等在 AD 发病过程中的作用及其相关基因也正逐渐被认识[2]。

一、CH25H 与 AD 发病密切相关

Papassotriopoulos 等[3] 研究发现,位于染色体 10q23 的基因编码产物胆固醇 25 - 羟化酶(cholesterol 25 - hydroxylase,CH25H)可能与 AD 发病相关。研究采用 PCR 定量技术,以 5′ - GGT CAA CTG GCT CG - 3′(正向引物)及 5′ - CAC CAG TCT GTG AGT GGA CCA A - 3′(反向引物)为模版引物,在 AD 患者大脑颞叶及海马区等 AD 发生退化的神经元主要集中的大脑区域测得高表达的 CH25H mRNA。研究对基因组测序后观察其单核苷酸多态性(SNPs),并将基因分为不同单体型,发现其中出现频率较高的 3 种常见单体型 CH25Hχ2、CH25Hχ3,CH25Hχ4。Papassotiropoluos 等[3]通过不同 SNPs 及各单体型基因对大脑中 Aβ 沉积及脑脊液中可溶 Aβ42 水平影响的测定,从而证明 CH25H 与 AD 发病的病理学改变相关。其中,AD 患者 CH25Hχ4 单体的含量与正常人相比明显增多,并且含有 CH25Hχ4 单体型基因的脑脊液中胆固醇前体的表达含量比不含 CH25Hχ4 的脑脊液中胆固醇前体的含量明显增高,且 CH25Hχ3、CH25Hχ4 可增加大脑中 β - 淀粉样蛋白负荷,导致脑脊液中 Aβ42 水平下降,其中尤以 AD 患者含 CH25Hχ4 单体基因表达的脑脊液中 Aβ42 水平下降最为明显。

研究发现,CH25H 的等位基因 SNP rs13500(CH25H * 1)在 AD 患者脑组织中的含量也明显高于正常人,被认为与 AD 发病风险相关。rs13500 位于 CH25H 起始密码子上游区,与胆固醇脂肪酶(cholesterol ester lipase,LIPA)位点接近。此外,位于 CH25H 基因下游的 SPN rs17117126 也被认为与 AD 发病风险相关[4]。Riemenschneider 等[5] 认为 CH25H、LIPA 与 AD 发病相关,但二者之间是否存在关联性不明,研究发现在分离 CH25H 和 LIPA 的染色体段上包含几个转录因子结合位点及 CpG 岛(cpG33),可能起到推动 CH25H 表达的作用[5,6]。

二、25HC 影响神经细胞病理改变

CH25H 参与合成 25 羟基胆固醇(25 - hydroxycholesterol,25HC),Zerbinatti 等[7] 研究发现 25 羟基胆固醇在体外能通过改变淀粉样前体蛋白(APP)的运输和加工而改变 Aβ 的水平。25HC 是一种强有力的基因转录调节因子,参与胆固醇和脂质代谢相关基因的转录调节。载脂蛋白 E(apolipoprotein E,ApoE)

作者单位:100730　中国医学科学院/北京协和医学院北京协和医院中医科

通讯作者:张孟仁,电子信箱:xhzhmr425@sina.com

是胆固醇运输密切相关的基因表达产物，是与 AD 关系密切的多态性蛋白，可提高 AD 发病风险并降低发病年龄[8]。Gueguen 等[9]认为 25HC 可能通过胆固醇调节元件结合蛋白（sterol regulatory element binding protein，SREBP）通路影响 ApoE 的表达，研究以 25HC（2.5μg/ml）培养星形细胞瘤细胞系细胞，48、96h 后观察到其 ApoE 表达含量较未予 25HC 处理的空白对照组明显升高，说明 25HC 可促进 ApoE 的表达。

Trousson 等[10]研究羟固醇与糖皮质激素对磷脂酶 A_2（phopholipase A_2，PLA_2）分泌的调节及对少突胶质细胞凋亡的影响时发现，$sPLA_2$ type Ⅱ A（$sPLA_2$ - Ⅱ A）参与星形胶质细胞的氧化应激、炎症等反应，可以诱导神经细胞的死亡，25HC 可刺激 $sPLA_2$ - Ⅱ A 的分泌，并诱导少突胶质细胞凋亡，而糖皮质激素地塞米松（dexamethasone，Dex）可以抑制 25HC 对 $sPLA_2$ - Ⅱ A 的刺激分泌作用[11]。其机制为糖皮质激素受体（glucocorticoid receptor，GR）减少羟固醇受体孕烷 X 受体（pregnane X receptor，PXR）的表达，并且通过过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 辅激活因子 1α（peroxisome proliferators - activated receptor γ coactivator - 1α，PGC - 1α）干扰羟固醇信号通路。

Trousson 以 GR 的干扰 RNA 探针处理组（SiGR）抑制 GR mRNA 的表达，未行 siGR 处理的空白模型对照组（NT）与 SiGR 组分别予乙醇、25HC、Dex 及 Dex + 25HC 处理，24h 后检测其 $sPLA_2$ - Ⅱ A 启动因子的转化活动度，发现 NT 组中 25HC 组与乙醇组相比较，$sPLA_2$ - Ⅱ A 明显升高超出 1 倍（$P = 0.000$），而 NT Dex 组较 NT 乙醇组中 $sPLA_2$ - Ⅱ A 表达降低了 30%（$P < 0.05$），说明 25HC 可以促进 $sPLA_2$ - Ⅱ A 的分泌，而 Dex 可抑制 $sPLA_2$ - Ⅱ A 的表达。SiGR 乙醇组与 NT 乙醇组相比较，$sPLA_2$ - Ⅱ A 活动明显升高，说明 GR 可抑制 $sPLA_2$ - Ⅱ A 活动。SiGR Dex 组与 NT Dex 组相比，$sPLA_2$ - Ⅱ A 表达的升高差异无统计学意义，说明 Dex 的抑制作用减弱。而 SiGR 25HC 组与 NT 25HC 组相比较，$sPLA_2$ - Ⅱ A 的表达明显升高，说明 GR 对 25HC 诱导 $sPLA_2$ - Ⅱ A 的表达有抑制作用。

三、25HC 与细胞凋亡

Trousson 等[10]还检测了 25HC 与细胞凋亡之间的关系，予 25HC 处理后，少突胶质细胞形态上可观察到其面积、体积的缩小，还可观察到其细胞中线粒体、高尔基体及内质网形态的改变。25HC 处理 24、48h 后，细胞中线粒体膜低电位及 caspase - 3 活性表达均比未予 25HC 处理的对照组明显增多，而加入 Dex 治疗后细胞线粒体膜低电位及 caspase - 3 表达未见明显改变。线粒体膜电位的下降是细胞凋亡在早期便出现的主要变化，caspase - 3 是细胞凋亡重要的执行酶，由此可见，25HC 可通过激活 caspase - 3 介导的信号途径导致细胞凋亡[12,13]。而除激活 caspase - 3 介导的凋亡途径外，暂无其他明显实验研究表明 25HC 对胶质细胞其他路径介导的神经细胞的凋亡，但在其他类型细胞中，确实存在 25HC 对多种细胞凋亡途径的影响。Calleros 等[14]研究胆固醇耗竭对细胞凋亡的影响时发现，以缺乏脂蛋白的血清（lipoprotein - deficient serum，LPDS）及正常胚胎血清培养小鼠胚胎成纤维细胞，并分别加入 25HC，发现 LPDS、25HC 均可增加细胞中胆固醇的消耗，减少细胞内脂蛋白的含量，增加细胞凋亡水平，尤以 LPDS + 25HC 培养的细胞中胆固醇含量的减低最为明显，72h 后细胞凋亡水平升高最为显著。

免疫印迹法亦监测到 LPDS、25HC、LPDS + 25HC 培养下细胞中 caspase - 3 的表达。Laura 发现，LPDS、25HC 促使细胞内低胆固醇水平下，除可促使丝裂原活化蛋白激酶（mitogen activated protein kinase，MAPK）、细胞外调节蛋白激酶（extracellular regulated protein kinases，ERK）磷酸化，激活 p38 MAPK、ERK 信号转导通路外，还可激活 c - Jun 氨末端激酶（c - Jun N - terminal kinase，JNK），通过 JNK 通路促进细胞凋亡。研究发现，在另几种类型组织细胞中，除激活蛋白激酶路径外，25HC 还可通过促进细胞色素 C 的释放、下调 Bcl - 2 的表达等途径促进细胞的凋亡[15~17]。由此可见，AD 患者神经细胞中 CH25H 表达的增多，除参与脂质代谢的调节，还可能通过促进多种途径激活神经细胞的凋亡，从而促进神经细胞退行性改变，促进 AD 的形成。

四、25HC 与细胞免疫调节

在静息状态下，小角质细胞通过免疫监控、分泌可调节细胞增殖和局势细胞吞噬活性的免疫分子等支持神经元，而当慢性神经退行性病变时，小角质细胞从静息状态转化为激活状态，过度增殖和活化的同时合成和释放大量炎性细胞因子，诱导炎症阶段，进一步促进 AD 的形成[18~20]。CH25H 不仅参与调节脂质代谢及基因表达，还可激活免疫调节系统[21,22]。研究发现，免疫反应诱导细胞因子的释放可调节 CH25H 的表达，但不同于干扰素（interferon，IFN）参与免疫调节的机制，Liu 等认为 CH25H 参与合成的

25HC,其产生的可溶性因子并非 IFN 本身,而是通过融合细胞后改变其细胞膜结构的变化而参与免疫调节,而 IFN 激活巨噬细胞免疫应答反应时,亦增加细胞中 CH25H 的表达[23,24]。Blanc 观察到细胞在 INF－β、INF－γ 的脱脂介质中培养 24h 后,细胞中 25HC 的合成与分泌较对照组明显增多,IFN 激活的信号转导与转录激活因子 1(signal transducers and activators of transcription 1,STAT1)可直接促进 CH25H 转录表达。Gueguen 亦曾研究白细胞介素及肿瘤坏死因子等不同因子介导下 25HC 对星形细胞 ApoE 表达的影响,而暂无明显数据研究显示 CH25H 的表达本身对细胞因子合成及释放的影响,故而 AD 形成过程中 CH25H 的表达与多种细胞因子之间是否存在相互影响甚至双向调节的作用仍有待于进一步研究。

综上所述,CH25H 作为 AD 相关风险基因,参与合成 25HC,参与胆固醇和脂质的代谢的调节,增加大脑内 β－淀粉样蛋白负荷,促进 ApoE 蛋白的表达,促进胶质细胞的凋亡,从而促进痴呆的发病。然而除 AD 外,CH25H 是否参与血管性痴呆、糖尿病脑病等其他疾病造成的认知功能障碍形成过程暂不可知,故而 CH25H 在认知功能障碍中的影响还需要进一步探查,CH25H 在认知功能障碍疾病中的预防和治疗作用也有待于进一步明确。

参考文献

1 Bertram L,Tanzi RE. Thirty years of Alzheimer's disease genetics: the implications of systematic meta－analyses[J]. Nature Reciews Neuroscience,2008,9(10):768－778

2 Liu XY,Yue CX, Xu Z,*et al*. Association study of candidate gene polymorphisms with amnestic mild cognitive impairment in a Chinese population[J]. PLoS One,2012,7(7):e41198

3 Papassotiropoulos A,Lambert JC,De Vrièze FW,*et al*. Cholesterol 25－hydroxylase on chromosome 10q is a susceptibility gene for sporadic Alzheimer's disease[J]. Neuro－degenerative Diseases,2005,2(5):233－241

4 Feulner TM, Laws SM, Friedrich P,*et al*. Examination of the current top candidate genes for AD in a genome－wide association study[J]. Molecular Psychiatry,2010,15(7):756－766

5 Reimenschneider M,Mahmoodzadeh S,Eisele T,*et al*. Assoioation analysis of genes involved in cholesterol metabolism located within the linkage region on chromosome 10 and Alzheimer's disease[J]. Neurobiol Aging,2004, 25(10):1305－1308

6 Holmes RS,VandeBerg JL, Cox LA. Genomics and proteomics of vertebrate cholesterol ester lipase(LIPA) and cholesterol 25－hydroxylase (CH25H)[J]. 3 Biotech. 2011,1(2):99－109

7 Zerbinatti CV, Cellina V, Cordy Joanna M, *et al*. Oxysterol－binding protein－1(OSBP1) modulates processing and traffieking of the amyloid precursor protein [J]. Molecular Neurodegeneration,2008,3(1):1－12

8 Thal DR, Papassotiropoulos A,Saido TC, *et al*. Capillary cerebral amyloid angiopathy identifies a distinct APOEε4－associated subtype of sporadic Alzheimer's disease[J]. Acta Neuropathol,2010,120(2):169－183

9 Gueguen Y,Bertrand P,Ferrari L, *et al*. Control of apolipoprotein E secretion by 25－hydroxycholesterol and proinflammatory cytokines in the human astrocytoma cell line CCF－STTG1[J]. Cell Biology and Toxicology,2001,17(3):191－199

10 Trousson A,Makoukji J,Petit PX,*et al*. Cross－talk between oxysterols and glucocorticoids: differential regulation of secreted phopholipase A_2 and impact on oligodendrocyte death[J]. PLoS One, 2009,4(11):e8080

11 Sun GY,Xu X,Jensen MD,*et al*. Phospholipase A2 in astrocytes: responses to oxidative stress, inflammation,and G protein－coupled receptor agonists[J]. Molecular Neurobiology,2005,1(3): 27－41

12 Wei X,Ross B,Levina D,*et al*. Ultrastructural changes in endothelium during apoptosis indicate low microembolic potential[J]. Journal of Vascular Research, 2005,42(5): 377－387

13 Kevin A,Roth MD. Caspases, apoptosis, and Alzheimer disease: causation, correlation, and confusion[J]. Journal of Neuropathology and Experimental Neurology,2001,60(9):829－838

14 Calleros L,Lasa M,Francisco J,*et al*. RhoA and p38 MAPK mediate apoptosis induced by cellular cholesterol depletion[J]. Apoptosis, 2006,11(7):1161－1173

15 Rusinol AE,Thewke D,Liu J,*et al*. AKT/protein kinase B regulation of BCL family members during oxysterol－induced apoptosis[J]. The Journal of Biological Chemistry,2004,279(2):1392－1399

16 Yang L,Sinensky MS. 25－Hydroxycholesterol activates a cytochrome c release－mediated caspase cascade[J]. Biochem Biophys Res Commun,2000,278(3):557－563

17 Lim HK,Kang HK,Yoo ES,*et al*. Oxysterols induce apoptosis and accumulation of cell cycle at G(2)/M phase in the human monocytic THP－1 cell line[J]. Life Sci, 2003,72(12):1389－1399

18 Morgan D, Gordon MN, Tan J, *et al*. Dynamic complexity of the microglial activation response in transgenic models of amyloid deposition: implications for Alzheimer therapeutics[J]. J Neuropathol Exp Neurol,2005, 64(9):743－753

19 Galasko D,Montine TJ. Biomakers of oxidative damage and inflammation in Alzheimer's Disease[J]. Biomark Med, 2010,4(1):27－36

20 Teeling JL, Perry VH. Systemic infection and inflammation in acute CNS injury and chronic neurodegeneration: underlying mechanisms [J]. Neuroscience,2009, 158(3):1062－1073

21 Park K,Scott AL. Cholesterol 25－hydroxylase production by dendritic cells and macrophages is regulated by type I interferons[J]. Journal of Leukocyte Biology,2010,88(6): 1081－1087

22 Richard L,Alexandra S,Yuri K. Atherosclerosis and Alzheimer－diseases with a common cause ? Inflammation, oxysterols, vasculature [J]. BMC Geriatrics. 2014,14(36):1－30

23 Liu YS,Aliyari R,Chikere K,*et al*. Interferon－inducible cholesterol－25－hydroxylase broadly inhibits viral entry by production of 25－hydroxycholesterol[J]. Immunity,2013,38 (1): 92－105

24 Mathieu B, Wei YH, Kevin A, *et al*. The transcription factor STAT－1 couples macrophage synthesis of 25－hydroxycholesterol to the interferon antiviral response[J]. Immunity,2013,38 (1): 106－118

(收稿日期:2014－12－01)
(修回日期:2014－12－16)