

· 综 述 ·

单核苷酸多态性与阿尔茨海默病的研究进展

郑雪丽, 钟 远

(上海交通大学附属第六人民医院老年病科, 上海 200233)

【摘 要】 本文主要介绍了遗传因素参与阿尔茨海默病(AD)发病机制的研究进展, 阐述了近年来国内外研究较多的与AD发病机制不同环节相关的易感基因, 并从表观遗传学、基因或药物治疗方面, 综述了如何阻断某些易感基因的表达通路, 来抑制或延缓AD的发病进程。除了家族性AD的几个基因和载脂蛋白E的研究比较明确, 其余的散发性AD易感基因尚有争议, 其中种族差异性与样本量大小也是原因之一, 故有待于进一步研究, 为AD的早期诊断与基因治疗提出方向。

【关键词】 单核苷酸多态性; 阿尔茨海默病

【中图分类号】 R749.1

【文献标识码】 A

【DOI】 10.3724/SP.J.1264.2011.00023

Single nucleotide polymorphism and Alzheimer's disease

ZHENG Xueli, ZHONG Yuan

(Department of Geriatrics, Sixth People's Hospital Affiliated to Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200233, China)

【Abstract】 Genetic factors play important roles in the development of Alzheimer's disease(AD). We mainly introduced some genes, which has been reported in recent years, predisposing to different aspects of AD. Besides, from the aspects of epigenetics, gene or drug therapy, we also discussed how to block the expression pathway of some predisposing genes, so as to inhibit or delay the development of AD. Except several genes related to familial AD and apolipoprotein E, some other predisposing genes related to sporadic AD remains controversial. Racial diversity and sample size might explain the disagreement of various researches. Therefore, further studies are needed for better diagnosis and gene therapy of AD.

【Key words】 single nucleotide polymorphism; Alzheimer's disease

单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)主要是指在基因水平上由单个核苷酸的变异所引起的DNA序列多态性, 它是人类可遗传的变异中最常见的一种, 在人类基因组中广泛存在。阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)亦称老年性痴呆, 是以进行性痴呆为临床特征的神经退行性变性疾病, 其神经病理特征为细胞外广泛的淀粉样斑块(amyloid plaques, AP)沉积和细胞内神经原纤维缠结。大约10%的AD为家族遗传性的(familial AD, FAD), 其余大多是散发性的(sporadic AD, SAD)。目前关于AD的发病机制尚不清楚, 其可能的发病机制包括自由基学说、淀粉样蛋白斑块假说、神经原纤维缠结假说、炎症机制、胆碱能机制等, 但都不能很好地解释该病的全部病变。越来越多的证据表明遗传因素参与了AD的发病过程, 目前对于SNP与AD的相关性研究正成为

热点, 该文将当前的研究进展综述如下。

1 FAD 相关基因

到目前为止, 研究发现与FAD相关的编码基因有三个: β -淀粉样前体蛋白(amyloid-precursor protein, APP)基因、早老素1(presenilin 1, PS1)基因、早老素2(presenilin 2, PS2)基因。

1.1 APP

APP基因位于21号染色体上, 表达APP, 它有两种降解途径: 一是在 β -和 γ -分泌酶的共同作用下生成 β -淀粉样多肽 $A\beta_{40}$ 和 $A\beta_{42}$ 。 $A\beta_{42}$ 是一种不溶性多肽, 比 $A\beta_{40}$ 更易导致淀粉样物质生成, 是构成 $A\beta$ 沉积斑的核心蛋白; 其二是在 α -分泌酶作用下, 在 $A\beta$ 第16位和第17位之间进行裂解, 产生可溶性 α APPs和C83片段多肽。已经证实, 在AD患者脑中 $A\beta_{42}$ 的沉积是构成老年斑的主要成分。研

研究者发现的第 1 例 *APP* 基因变异是编码区的 717 位异亮氨酸替代了缬氨酸, 该位点的 SNP 增加了 AD 的发病率。

目前学者正在研究哪些药物可以清除患者脑中的 $A\beta$, 或许可以通过该机制阻止 AD 的进一步发展。Hara 等^[1]给予 *APP* 转基因小鼠口服中草药 JTT (Juzen-taiho-to) 一段时间后检测发现该药物可以激活外周巨噬细胞, 通过血脑屏障清除脑内的 $A\beta$, 使小鼠大脑匀浆中的 $A\beta$ 水平降低。该药的临床试验正在进行中, 其有望成为治疗 AD 的潜在药物。

某些研究发现胆固醇代谢参与了神经退行性疾病的发病机制, 包括 $A\beta$ 的沉积。在生物化学反应中, 存在两种酶酰基辅酶 A-胆固醇酰基转移酶 (acyl coenzyme A-cholesterol acyltransferase, ACAT) 1 和 2, 作用是转移游离的胆固醇为胆固醇酯, 所以 ACAT 抑制剂也被作为研究热点。Bryleva 等^[2]发现切除了 ACAT1 基因片段的转基因 AD 大鼠表达的 APP 下降约 60%, 并且改善了认知功能。4 个月后发现 AD 大鼠脑中胆固醇合成下降了 28%, 使神经元中羟甲基戊二酰辅酶 A 还原酶降低了 65%。该研究为降脂药治疗 AD 提供了一定的依据。

目前有许多研究认为 DNA 的甲基化和组蛋白乙酰化作用也参与了 APP 的合成过程。Tchantchou 等^[3]发现由于 AD 患者叶酸和维生素 B_{12} 的缺乏导致的高半胱氨酸血症和降低的 S 腺苷甲硫氨酸可能减低 APP 启动子区的甲基化作用, 从而增强了 APP 的表达, 加重 $A\beta$ 在脑中的沉积。Kim 等^[4]研究发现在体外培养的大脑皮层神经元中, APP 可以诱导组蛋白 H3 和 H4 高度乙酰化, 并且上调细胞毒性基因的表达, 加速神经元的凋亡。这些研究都表明降低 APP 的合成可以阻止 AD 的进一步病变。

1.2 *PS1* 和 *PS2*

PS1 基因位于 14 号染色体长臂上, 与 *PS1* 基因具有同源性的 *PS2* 基因, 位于 1 号染色体的长臂上的 31~42 位点, 它们分别表达 PS1 和 PS2。目前很多研究都表明早老素在神经元发生过程中起着关键作用, 且在 80%FAD 患者中普遍存在 *PS1* 和 *PS2* 基因的变异, 最近学者 Veeraraghavalu 等^[5]利用 *PS1* 变异的转基因小鼠实验表明异常 PS1 可导致海马神经祖细胞增殖受限, 小胶质细胞分泌细胞因子和生长因子水平改变。由于 FAD 的基因表现型具有多样性, 某些临床特征与 SAD 明显不同, 故针对表型的研究也成为了热点, Ryan 等^[6]进行了该方面的研究, 阐明了一些 FAD 的病理基础, 为未来更好地治疗 AD 提供了一些思路。

2 SAD 相关基因

2.1 *ApoE*

载脂蛋白 E (Apolipoprotein E, ApoE) 基因是目前唯一证实的一个与 SAD 和晚发型家族性 AD (late-onset familial AD, LOFAD) 发病有关的基因^[7], 它位于 19q13.32, 该位点有 3 个等位基因 ($\epsilon 2$, $\epsilon 3$, $\epsilon 4$)。Rebeck 等^[8]首先研究了 AD 患者中该基因多态性, 发现 *ApoE* $\epsilon 4$ 在 LOFAD 和 SAD 患者的基因频率远大于对照组; 此后相继共有 38 个研究组织对不同人种进行了研究, 通过对研究样本的 Meta 分析, 得出 *ApoE* $\epsilon 4$ 是 AD 发病的危险性因素, 而 *ApoE* $\epsilon 2$ 是其保护性因素。

目前已经明确 *ApoE* $\epsilon 4$ 在 AD 的发生和进展中的重要作用, 一些学者正在研究该基因与治疗 AD 的药物之间的相关性, Poirier^[9]对加拿大 AD 患者进行临床药物试验, 结果得出雌激素、吲哚美辛 (消炎镇痛药)、普罗布考 (调节血脂和抗动脉粥样硬化药) 和罗格列酮 (降血糖药) 在基因亚型为 *ApoE* $\epsilon 3$ 患者中疗效较好, 而在 *ApoE* $\epsilon 4$ 患者中并没有明显效果。

2.2 *CLU*

CLU (clusterin) 基因位于 8p21.1, 编码丛生蛋白, 该蛋白与 β 淀粉样蛋白结合, 存在于神经斑块中, 可以增强脑内 $A\beta$ 的清除, 调节胆固醇的转运。Tycko 等^[10]在 1996 年就研究了 *CLU* 与 AD 的相关性, 发现两个基因位点 (外显子 7 和外显子 2) 的基因频率在非洲人群中较常见, 但在白种人中罕见; 随后对于该基因的研究稀少, 直到 2009 年 Lambert 等^[11]对欧洲人群中的 AD 患者, 进行了病例对照研究, 发现 *CLU* 的 3 个 SNP (rs2279590, rs11136000, rs9331888) 表现出与 AD 的重要相关性, 且在 *ApoE* $\epsilon 4$ 携带的患者中表现更为显著; 随后 Harold 等^[12]的研究结果与此相似; 但是 Giedraitis 等^[13]在研究瑞典人群时却未得到阳性结果。

对于该蛋白的药物研究也在进行中, 发现组蛋白脱乙酰基酶 (histone deacetylase, HDAC) 抑制剂可以诱导神经细胞瘤和胶质细胞瘤细胞中的丛生蛋白的表达, 随后 Nuutinen 等^[14]研究证实治疗剂量的丙戊酸, 为一种有效的 HDAC 抑制剂, 可以诱导人类星型胶质细胞中丛生蛋白的表达; Qing 等^[15]证实丙戊酸可以减少转基因 AD 小鼠大脑中的 $A\beta$ 的沉积、神经斑块的形成及减慢记忆力的丧失。但是丙戊酸对 AD 患者的临床试验结果并不一致, 仍有待于大样本的临床药物试验来检测。

2.3 PICALM

PICALM 的基因位于 11q14.2, 编码的蛋白质为磷脂酰肌醇结合的网格蛋白装配蛋白, 分布在突触结构前后, 参与了网格蛋白介导的细胞内吞作用, 在神经递质的传递方面起重要作用, 在 AD 患者的大脑中发现突触数量减少, 生化分析显示突触密度的降低对患者认知功能的影响大于淀粉样斑块和神经原纤维的作用。所以研究者进一步猜测这个基因是否与 AD 也有相关性。Reiman 等^[16]和 Li 等^[17]先后在美国和加拿大做了病例对照研究, 他们研究的 SNP 位点是 (rs541458, C/T), 但是并未得到相关的结果。后 Lambert 等^[11]研究了法国人群, 并且增大了样本量, 对两个 SNP 位点 (rs541458, C/T; rs3851179, A/G) 进行了研究, 结果表明, 前一位点与 AD 具有相关性。而后在 Harold 等^[12]进行了更大样本的多中心临床研究, 结果在上述两个位点都发现了与 AD 的相关性, 并且 Seshadri 等^[18]的实验结果与此一致。

2.4 SORL1

SORL1 基因位于 11q24.1, 表达一种神经元上与 Sortilin 相关的受体蛋白, 该蛋白参与了 APP 的运输和加工处理, 若该基因表达异常, 会改变和调整 APP 的转运, 基于这样的推理, Rogaeve 等^[19]首先研究了 *SORL1* 与 AD 的相关性, 他们的研究对象是白种人, 分析了 *SORL1* 的 29 个 SNP 位点, 证明有 10 个位点与晚发性 AD 相关。随后有许多学者相继进行了复制性的研究, 但得出的结果却不一致; Tan 等^[20]对中国汉族人群的 *SORL1* 基因进行了研究, 得出了阳性结果; Shibata 等^[21]对日本人群也做了研究但未得到阳性结果, 然而 Kimura 等^[22]也对日本人群做了该方面的研究, 却得到了阳性结果。

2.5 GRIN2B

位于突触后膜的 *N*-甲基-*D*-天冬氨酸 (*N*-methyl-*D*-aspartate, NMDA) 受体是离子型谷氨酸受体的一个亚型, 其功能主要是参与学习和记忆活动, 并介导兴奋性神经损伤。*N*-甲基-*D*-天冬氨酸受体 2B (*N*-methyl-*D*-aspartate receptor 2B, NR2B) 是 NMDA 受体的重要功能单位^[23]。目前关于 *NR2B* 基因 *GRIN2B* 变异与 AD 的相关性引起了一些学者的关注, 江汉秋等^[24]发现在中国汉族人群中 *GRIN2B* 启动子区存在 4 个 SNPs, -200T/G (rs10193), -421C/A (rs3764028), -1447T/C (rs10557853) 和 -1497G/A (rs12368476), 研究表明只有 -421C/A 多态性与 SAD 有相关性, 且此多态性是独立于 *ApoE* $\epsilon 4$ 而影响 SAD 发病的。Seripa 等^[25]对 -200T/G 位点与 SAD

关系进行了研究, 结果表明两者不相关, 这点与江汉秋等^[24]的研究是一致的。但是此类研究证据尚少, 只能说明, C 等位基因可能增加了 AD 的发病风险, 但其复杂机制尚待进一步研究。

2.6 TNF- α

有学者研究证明, 大脑的炎症作用是 AD 的主要病理特征, 炎症反应包括小胶质细胞、星形胶质细胞和补体系统的激活, 以及细胞因子和急性相关蛋白的表达增加。已经研究了一些因子如白细胞介素 (interleukin, IL)-1 α 、IL-1 β 、IL-6 和肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor α , TNF- α) 的基因多态性与 AD 的相互关系, 发现这些 SNPs 能够增加 AD 的发病危险性^[26]。最受学者关注的是多向性促炎症细胞因子 TNF- α , Collins 等^[27]以在基因组扫描中发现在染色体 6p21.3 区域 (在 *TNF- α* 基因 20 cM 附近) 与 AD 发病相关; Tarkowski 等^[28]证实在 AD 患者鞘膜内 TNF- α 水平升高; Blasko 等^[29]在体外实验证实 TNF- α 能够增加 β 淀粉样蛋白的产生。全基因组分析显示 TNF- α 共有 5 个 SNPs: -850, -308, -863, -238, -1031, 但是 Di Bona 等^[30]对 TNF- α 与 AD 的众多研究进行了 Meta 分析, 结果认为只有 -850 位点的 *TT* 基因型与 AD 有显著相关性; 对 -308 位点的研究存在高度异质性, 其他位点未发现相关性。这为 AD 的抗 TNF 治疗提供了一定的依据, 但尚待进一步论证。

3 总 结

根据 AD 基因数据库 (<http://www.alzgene.org/>) 的最近更新显示目前研究的相关基因有 662 个, 基因多态性位点有 2837 个, 研究组织有 1348 个, 可见目前对于该领域的研究很是热门。但是除了上述介绍的几个家族性基因和 *ApoE* 基因的研究已经明确, 其余均未得到全面的证实。

该文介绍的这些基因的 SNPs 与 AD 的相关性相对较大, 主要是通过影响 AD 的病理与生化过程的不同环节, 如 tau 蛋白的磷酸化或 β 淀粉样蛋白的沉积等来发挥作用。但是研究结果却不尽一致, 究其原因, 可能与以下因素有关: 基因的种族差异性; 样本量大小的不同; 实验过程中的随机误差; 实验对象的年龄、性别差异以及入组条件的不同等。总之该领域的研究仍相对薄弱, 有待于国内外学者的进一步阐述, 以便为 AD 的早期诊断和基因治疗提出新的方向。

【参考文献】

- [1] Hara H, Kataoka S, Anan M, et al. The therapeutic effects of

- the herbal medicine, Juzen-taiho-to, on amyloid- β burden in a mouse model of Alzheimer's disease[J]. *J Alzheimers Dis*, 2010, 20(2): 427-439.
- [2] Bryleva EY, Rogers MA, Chang CC, *et al.* ACAT1 gene ablation increases 24(S)-hydroxycholesterol content in the brain and ameliorates amyloid pathology in mice with AD[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107(7): 3081-3086.
 - [3] Tchantchou F, Graves M, Ortiz D, *et al.* S-adenosyl methionine: A connection between nutritional and genetic risk factors for neurodegeneration in Alzheimer's disease[J]. *J Nutr Health Aging*, 2006, 10(6): 541-544.
 - [4] Kim HS, Kim EM, Kim NJ, *et al.* Inhibition of histone deacetylation enhances the neurotoxicity induced by the C-terminal fragments of amyloid precursor protein[J]. *J Neurosci Res*, 2004, 75(1): 117-124.
 - [5] Veeraghavalu K, Choi SH, Sisodia SS. Expression of familial Alzheimer's disease-linked human presenilin 1 variants impair enrichment-induced adult hippocampal neurogenesis[J]. *Neurodegener Dis*, 2010, 7(1-3): 46-49.
 - [6] Ryan NS, Rossor MN. Correlating familial Alzheimer's disease gene mutations with clinical phenotype[J]. *Biomark Med*, 2010, 4(1): 99-112.
 - [7] Avramopoulos D. Genetics of Alzheimer's disease: recent advances[J]. *Genome Med*, 2009, 1(3): 34.
 - [8] Rebeck GW, Reiter JS, Strickland DK, *et al.* Apolipoprotein E in sporadic Alzheimer's disease: allelic variation and receptor interactions[J]. *Neuron*, 1993, 11(4): 575-580.
 - [9] Poirier J. Apolipoprotein E represents a potent gene-based therapeutic target for the treatment of sporadic Alzheimer's disease[J]. *Alzheimers Dement*, 2008, 4(1 Suppl 1): S91-S97.
 - [10] Tycko B, Feng L, Nguyen L, *et al.* Polymorphisms in the human apolipoprotein-J/clusterin gene: ethnic variation and distribution in Alzheimer's disease[J]. *Hum Genet*, 1996, 98(4): 430-436.
 - [11] Lambert JC, Heath S, Even G, *et al.* Genome-wide association study identifies variants at CLU and CR1 associated with Alzheimer's disease[J]. *Nat Genet*, 2009, 41(10): 1094-1099.
 - [12] Harold D, Abraham R, Hollingworth P, *et al.* Genome-wide association study identifies variants at CLU and PICALM associated with Alzheimer's disease[J]. *Nat Genet*. 2009, 41(10): 1088-1093.
 - [13] Giedraitis V, Kilander L, Degerman-Gunnarsson M, *et al.* Genetic analysis of Alzheimer's disease in the Uppsala Longitudinal Study of Adult Men[J]. *Dement Geriatr Cogn Disord*, 2009, 27(1): 59-68.
 - [14] Nuutinen T, Suuronen T, Kauppinen A, *et al.* Valproic acid stimulates clusterin expression in human astrocytes: Implications for Alzheimer's disease[J]. *Neurosci Lett*, 2010, 475(2): 64-68.
 - [15] Qing H, He G, Ly PT, *et al.* Valproic acid inhibits A β production, neuritic plaque formation, and behavioural deficits in Alzheimer's disease mouse models[J]. *J Exp Med*, 2008, 205(12): 2781-2789.
 - [16] Reiman EM, Webster JA, Myers AJ, *et al.* GAB2 alleles modify Alzheimer's risk in APOE ϵ 4 carriers[J]. *Neuron*, 2007, 54(5): 713-720.
 - [17] Li H, Wetten S, Li L, *et al.* Candidate single-nucleotide polymorphisms from a genomewide association study of Alzheimer disease[J]. *Arch Neurol*, 2008, 65(1): 45-53.
 - [18] Seshadri S, Fitzpatrick AL, Ikram MA, *et al.* Genome-wide analysis of genetic loci associated with Alzheimer's disease[J]. *JAMA*, 2010, 303(18): 1832-1840.
 - [19] Rogaeva E, Meng Y, Lee JH, *et al.* The neuronal sortilin-related receptor SORL1 is genetically associated with Alzheimer's disease[J]. *Nat Genet*, 2007, 39(2): 168-177.
 - [20] Tan EK, Lee J, Chen CP, *et al.* SORL1 haplotypes modulate risk of Alzheimer's disease in Chinese[J]. *Neurobiol Aging*, 2009, 30(7): 1048-1051.
 - [21] Shibata N, Ohnuma T, Baba H, *et al.* Genetic association between SORL1 polymorphisms and Alzheimer's disease in a Japanese population[J]. *Dement Geriatr Cogn Disord*, 2008, 26(2): 161-164.
 - [22] Kimura R, Yamamoto M, Morihara T, *et al.* SORL1 is genetically associated with Alzheimer disease in a Japanese population[J]. *Neurosci Lett*, 2009, 461(2): 177-180.
 - [23] Verkhratsky A, Kirchhoff F. NMDA receptors in glia[J]. *Neuroscientist*, 2007, 13(1): 28-37.
 - [24] 江汉秋, 张晓君, 刘 瑾, 等. N-甲基-D-天冬氨酸受体 2B 基因(GRIN2B)启动子区多态性与散发性阿尔茨海默病的相关性分析[J]. *中国老年学杂志*, 2010, 30(1): 1-4.
 - [25] Seripa D, Matura MG, Franceschi M, *et al.* Association analysis of GRIN2B, encoding N-methyl-D-aspartate receptor 2B subunit, and Alzheimer's disease[J]. *Dement Geriatr Cogn Disord*, 2008, 25(3): 287-292.
 - [26] Mrak RE, Griffin WS. Glia and their cytokines in progression of neurodegeneration[J]. *Neurobiol Aging*, 2005, 26(3): 349-354.
 - [27] Collins JS, Perry RT, Watson B Jr, *et al.* Association of a haplotype for tumor necrosis factor in siblings with late-onset Alzheimer disease: the NIMH Alzheimer disease genetics initiative[J]. *Am J Med Genet*, 2000, 96(6): 823-830.
 - [28] Tarkowski E, Liljeroth AM, Nilsson A, *et al.* TNF gene polymorphism and its relation to intracerebral production of TNF alpha and TNF beta in AD[J]. *Neurology*, 2000, 54(11): 2077-2081.
 - [29] Blasko I, Marx F, Steiner E, *et al.* TNF alpha plus IFN gamma induce the production of Alzheimer beta-amyloid peptides and decrease the secretion of APPs[J]. *FASEB J*, 1999, 13(1): 63-68.
 - [30] Di Bona D, Candore G, Franceschi C, *et al.* Systematic review by meta-analyses on the possible role of TNF- α polymorphisms in association with Alzheimer's disease[J]. *Brain Res Rev*, 2009, 61(2): 60-68.

(编辑: 周宇红)