

Biomaterials, 2010, 31(6): 1316-1324.

- [17] Ao M, Wang ZG, Ran HT, et al. Gd-DTPA-loaded PLGA microbubbles as both ultrasound contrast agent and MRI contrast agent-A feasibility research[J]. J Biomedical Materials Res, 2010, 93(2): 551-556.
- [18] Anthony Z, Faranesh, Monet T, et al. In vitro release of vascular endothelial growth factor from Gadolinium-Doped biodegradable microspheres [J]. Magnetic Res Med, 2004, 51(9): 1265-1271.
- [19] Ratzinger G, Agrawal P, Körner W, et al. Surface modification of PLGA nanospheres with Gd-DTPA and Gd-DOTA for high-relaxivity MRI contrast agents[J]. Biomaterials, 2010, 31(33): 8716-8723.
- [20] Hamoudeh M, Kamleh MA, Diab R, et al. Radionuclides delivery systems for nuclear imaging and radiotherapy of cancer[J]. Advanced Drug Delivery Reviews, 2008, 60(10): 1329-1346.
- [21] 华楠, 孙皎, 吴元芳, 等. ¹²⁵I-PLGA 标记物的制备与鉴定[J]. 上海生物医学工程, 2005, 26(4): 229-231.
- [22] Xu JS, Huang JW, Qin RG, et al. Synthesizing and binding dual-mode poly (lactic-co-glycolic acid) (PLGA) nanobubbles for cancer targeting and imaging[J]. Biomaterials, 2010, 31(14): 1716-1722.
- [23] Yvonne K, Dipl-Food C, Christian K, et al. Preparation and biological evaluation of multifunctional PLGA-nanoparticles designed for photoacoustic imaging[J]. Nanomedicine, 2011, 7(2): 228-237.
- [24] 熊小强, 陈汝福, 汪峰, 等. PLGA-m-THPC 纳米型光敏剂的制备及光动力治疗肝癌细胞的研究[J]. 中华普通外科学文献, 2008, 2(1): 28-33.

(收稿日期: 2012-04-09 修回日期: 2012-05-21)

· 综 述 ·

肝脏 X 受体参与阿尔茨海默病胆固醇代谢异常机制的研究进展

王 凯¹, 唐永萍¹, 黄 伟², 徐海伟^{3△}综述, 范晓棠⁴审校

(第三军医大学: 1. 学员旅 17 队; 2. 生理学教研室; 3. 西南医院眼科; 4. 组织胚胎学教研室, 重庆 400038)

关键词: 阿尔茨海默病; 肝脏 X 受体; 胆固醇; 载脂蛋白类; ATP 结合转运蛋白 A1; 淀粉样蛋白

doi: 10.3969/j.issn.1671-8348.2012.30.040

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2012)30-3220-03

阿尔茨海默病(AD)是一种以记忆减退、认知、语言障碍及人格改变为主要症状的神经系统退行性疾病, 多发于 65 岁以上老年人, 病理改变以细胞外 β 淀粉样蛋白(β -amyloid peptide, A β)、老年斑或神经炎斑、神经元细胞质内出现神经纤维缠结为特征。AD 发病机制中 A β 瀑布学说(A β cascade theory)备受关注^[1]: A β 是各种细胞淀粉样前体蛋白(amyloid protein precursor, APP)加工的正常产物, 正常时 A β 产生与降解保持平衡, A β 产生与降解的失衡引起脑内 A β 沉积, APP 经 β 分泌酶和 γ 分泌酶一系列连续切割后形成分子长短不等的 A β 分子, A β 在 AD 脑中异常沉积后, 通过氧化损伤、神经细胞凋亡、炎症反应等发挥其神经毒性作用。胆固醇代谢通过影响 A β 的代谢过程而参与 AD 的发生和发展。其中重要的胆固醇代谢相关因子包括载脂蛋白 E(apolipoprotein E, ApoE)、ATP 结合转运蛋白 A1(ATP binding cassette transporter A1, ABCA1)等。肝脏 X 受体(liver X receptors, LXRs)可通过调控 ApoE、ABCA1 以及其他胆固醇代谢基因的表达而影响脑内胆固醇水平。近来报道内源性 LXRs 的激活可通过胆固醇代谢影响 APP 剪切生成 A β 以及 A β 清除的过程, 提示 LXRs 在 AD 的发生过程中发挥重要的作用, 有可能成为 AD 治疗的新靶点。本文就 LXRs 调节胆固醇代谢参与 AD 的发生进行综述。

1 胆固醇代谢异常在 AD 发生中的作用

脑内的胆固醇大部分属原位合成, 中年以后神经元的胆固醇合成能力逐渐下降, 脑内的胆固醇合成主要依赖于星形胶质细胞和少突胶质细胞。大部分脑内胆固醇通过 ApoE 介导出脑, 同时约 40% 脑内胆固醇依赖胆固醇 24 S-羟化酶 CYP46 转

变为 24 S-羟胆固醇, 进而穿过血脑屏障^[2], 上述途径维持着脑内胆固醇的动态平衡。

越来越多的实验表明, 胆固醇代谢异常在 A β 的产生和异常沉积过程具有核心作用。流行病学研究提示中年人群血浆胆固醇过高可能直接导致 AD 发病风险增加^[3], 高胆固醇促进脑内 A β 沉积的动物模型可被广泛复制。随着探索的不断深入, Abramov 等^[4]通过实验发现了影响 A β 沉积的因子不是脑内所有胆固醇, 而是神经元细胞膜上的胆固醇。而 Raja 等^[5]研究发现胆固醇乙酰基转移酶(A-cholesterol acyltransferase, ACAT)改变细胞膜胆固醇和胆固醇酯的比例, 抑制 ACAT 后胆固醇酯水平下降, 进而调控 APP 酶解途径减少 A β 合成, 提示 A β 与 ACAT、胆固醇脂水平的关系似乎比与胆固醇更为密切。

Fassbender 等^[6]利用环糊精选择性地移除海马区细胞膜胆固醇, 结果显示 A β 生成受抑, 提示脂筏(细胞膜上富含脂质和胆固醇的微结构域)可能是调控 A β 沉积的重要元件。膜筏作为一个结构和功能区域, 聚积着多种参与信号分子^[7]。 β 分泌酶和 γ 分泌酶介导的 APP 降解反应已从脂筏中被分离出, 说明脂筏可能通过调控 APP 剪切过程来影响 A β 沉积, APP 同时存在于膜筏内和膜筏外, 其中位于膜筏内的 APP 经由 A β 源途径产生 A β , 而在膜筏外的 APP 经由非 A β 源途径产生无毒性的片段。细胞膜上的胆固醇水平可以调节 γ 分泌酶活性, 低的胆固醇水平有利于 APP 经非 A β 源途径分解, 减少 A β 的产生。

作为胆固醇代谢中所有低密度载脂蛋白受体家族配体的 ApoE, 脑内细胞外胆固醇是通过 ApoE 微粒与神经元脂蛋白

受体相关蛋白结合后而转运^[8]。既往遗传学研究已认可 ApoE 基因是散发型 AD 发病最重要的遗传因子。有文献发现 ApoE 脂质化受 ABCA1 影响,而 ApoE 脂质化水平直接引起动物脑中 A β 负荷增加。Bell 等^[9]通过实验证实 ApoE 和 ApoJ 共同调节则 A β 从血脑屏障中清除,并且 ApoE 脂质化促进了 ApoE 协助 A β 清除的程度,同时也减少了小纤维形成和沉积。随后 Jiang 等^[10]证明无论是在体内环境还是体外介质,脂质化 ApoE 通过蛋白酶促进蛋白水解反应易化了可溶性 A β 的清除,进一步证明高脂质化程度的 ApoE 明显促进 A β 水解,其结果是减轻脑血管和组织的淀粉样沉积,即 ApoE 脂质化程度才是决定细胞代谢功能和稳定性最重要的参数。总而言之,目前,研究比较公认的是,低脂质化 ApoE 促使 A β 的沉积,而高脂质化 ApoE 加速 A β 降解^[11],脂质化 ApoE 水平是脑内 A β 沉积和清除的重要调节器。

ABCA1 是近来备受关注的转运蛋白,它通过其独特的超分子结构作用于 ApoA-I 而影响细胞内胆固醇的流出^[12]。多个实验组通过使用基因转染和基因敲除的方法控制模型动物脑内 APP 和 ABCA1 表达,证实了 ABCA1 的表达可以抑制 AD 发病。ATP 结合转运蛋白 G1 (ATP binding cassette transporter G1, ABCG1) 广泛地表达于中枢神经系统的神经元、星型胶质细胞和小胶质细胞。体外实验和基因敲除小鼠的研究均表明,ABCG1 基因的表达上调,可以促进细胞内胆固醇向高密度脂蛋白的转移,说明 ABCG1 与 ABCA1 一样,促进细胞内胆固醇外流^[13],进而影响 AD 发病。由此,ABCA1、ABCG1、ApoE 都是胆固醇代谢影响 AD 的关键因子。

2 LXR α 调节脑内胆固醇代谢

LXR α 是核受体家族成员,通过配体结合方式,作用于靶基因的调控区从而调节转录。哺乳动物 LXR α 有 2 种亚型:LXR α 和 LXR β 。LXR α 分子具有 5 个结构区域:(1)N 末端氨基末端配体非依赖的转录活化域(activation function domain, AF1);(2)含 2 个锌指的 DNA 结合域(DNA binding domain, DBD);(3)铰链区;(4)疏水的配体结合域(ligand binding domain, LBD);(5)C 末端羧基末端配体依赖的转录活化区域(AF2)^[14]。内源性的 LXR α 配体是胆固醇代谢衍生物,包括 22(R)-羟化胆固醇、20(S)-羟化胆固醇、24(S)-羟化胆固醇、27-羟化胆固醇。人工合成的 LXR α 配体包括 TO901317 和 GW3965 等。LXR α 与视黄醛 X 受体(retinoid X receptors, RXRs)结合形成异二聚体,能够被 LXR α 或 RXRs 配体激活后启动转录从而调节靶基因的转录。LXR α 的靶基因的转录激活步骤如下:(1)配体缺乏时,辅阻遏物(如 SMAT 和 N2CoR)与 LXR/RXR 结合抑制转录;(2)配体与 LXR/RXR 结合后,诱导构象发生改变,使辅阻遏物解离,产生基础转录;(3)辅激活物补充结合到活化的 LXR/RXR 上,转录被完全激活^[15]。

LXR α 是胆固醇敏感的感应器,胆固醇含量的升高可以触发 LXR α 发生一系列代谢效应以防止细胞内胆固醇超载,LXR α 激活后触发的效应包括:(1)胆固醇逆转运。胆固醇逆转运始于胆固醇超载刺激细胞产生羟化固醇,而羟化固醇是 LXR α 的内源性配体,活化内源性 LXR α 引起下游胆固醇转运因子(ABCA1 和 ABCG1)的改变,介导胆固醇转运出细胞。其中 ABCA1 促使其接受的胆固醇转移到高密度脂蛋白(high density lipoproteins, HDL)或者载脂蛋白 A-I 上,而 ABCG1 却只能促使胆固醇与 HDL 结合。LXR α 介导的这种胆固醇逆转运过程,保证了细胞内胆固醇的正常稳态。(2)减少小肠吸收胆固醇入血;LXR α 激动后可以上调小肠上皮 ABCG5 和 AB-

CG8 的表达,促进胆固醇从粪便排泄,使肠源性吸收的胆固醇含量变少。(3)抑制细胞对胆固醇的摄取与合成。LXR α 缺乏小鼠肝脏中甾醇调节元件结合蛋白-2(sterol regulatory element binding protein-2, SREBP-2)高度表达,而 SREBP-2 的靶基因参与 3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶 A(HMG-CoA)还原酶和合成酶的合成,从而影响胆固醇合成。最近发现,LXR α 可通过直接沉默 2 种胆固醇合成相关酶类:羊毛甾醇 14 α 去甲基化酶和鲨烯合成酶的表达而抑制胆固醇的生物合成^[16]。同样在脑内,LXR α 作为胆固醇重要调节器而备受关注,Zelcer 等^[17]通过激动脑内 LXR α ,观察到 ABCA1 和 ABCG1 的明显上调,ABCA1 介导细胞的胆固醇与载脂蛋白结合,ABCG1 介导胆固醇转变成 HDL,从而共同引起了细胞内胆固醇流出。Cao 等^[18]实验进一步证实了此过程,LXR α 上调神经元和胶质细胞内的 ABCA1 水平,继而引起胆固醇流出,此外,脑内 LXR α 通过配体结合方式调节神经元和胶质细胞中的 ABCA1 水平导致细胞内的胆固醇减少的同时,也促进星形胶质细胞和小胶质细胞的 ApoE 合成。相反,LXR α 敲除动物脑中一系列代谢因子缺陷导致了脑内胆固醇的聚集。

3 LXR α 通过调节胆固醇代谢影响 AD 的发生和进展

Fukumoto 等^[19]观察到 LXR α 激动剂可使 Neuro2A 细胞 A β 分泌增多,同时伴有 ABCA1 表达的上调;自 Koldamova 等^[20]研究发现,LXR α 激动剂 TO901317 作用于 APP23 小鼠后,ABCA1 表达上调,同时观察到 APP 剪切过程由 β 分泌酶途径向 α 分泌酶途径转换,最终导致脑 A β 生成量明显减少;与之矛盾的是 Riddell 等^[21]的研究,他们使用 LXR α 激动剂 TO901317 处理 20 周龄的 Tg2576 AD 小鼠,观察到海马区 ABCA1 和 ApoE 的增加,同时 A β 42 水平的降低,然而 APP 剪切过程未曾受抑,A β 水平降低的原因是 LXR α 激动后引起的脂质代谢改变直接促进了 A β 的清除;另一方面,ABCA1 缺乏的 APP/PS1 动物失去对 LXR α 激动剂 GW3965 的应答,证实 LXR α 影响 AD 过程中 ABCA1 的不可或缺^[22],同时提示了 LXR α 调控 AD 发病时中间因子不可忽略的作用。众多学者为阐明 LXR α 影响 AD 发病过程探索不息,虽然结果未完全一致,可以明确的是,ABCA1 和 ApoE 密切影响着 A β 的生成、转运和清除,LXR α 激动通过促进上述基因表达必将对 A β 沉积起到重要的调控作用,LXR α 影响 AD 与 ABCA1、ApoE、胆固醇代谢密切相关。LXR α -ABCA1-ApoE-A β 轴可能是 LXR α 对 A β 沉积的合理解释,令人遗憾的是,更进一步的分子机制和信号网络仍未阐明。

4 LXR α 抑制 AD 中的神经炎症反应

尽管免疫反应不是 AD 的标志,但是越来越多的证据却表明 A β 的沉积和 NFT 引起脑内一系列的神经炎症反应。例如,AD 脑组织中炎性介质水平明显升高,并可以检测到识别老年斑的抗体。局部炎症由老年斑周围聚集的活化小胶质细胞和反应性星形胶质细胞介导,小胶质细胞与 A β 反应导致了一系列炎性介质释放,神经炎症带来的直接结果是小胶质细胞作为一种吞噬细胞协助清除脑内 A β 的能力下降。此外,已被证实的是,ApoE 与胆固醇代谢都将参与炎症反应的调节。

Zelcer 等^[17]利用 APP/PS1 鼠体内实验对 LXR α 调节 AD 动物模型炎症反应进行探索后发现,LXR α 的激活可有效抑制由于 A β 刺激引起的炎症反应的发生,GW 作用于 BV2 细胞和小胶质细胞,明显减少由于 LPS 刺激引起的 iNOS 和 Cox2 蛋白的表达。Lefterov 等^[23]利用 A β 处理体外培养的小胶质细胞,iNOS 和炎性因子 IL-6 释放增加,而 LXR α 激动剂

TO901317 与 GW3695 能够反转这一效应。这些都暗示着 LXR_s 影响神经炎症的可能机制: LXR_s 是 A β 引起炎症反应的抑制剂, LXR_s 抑制炎症后带来小胶质细胞吞噬功能的恢复, 小胶质细胞又可以协助清除脑内沉积的 A β , LXR_s 抑制神经炎症可能引起一个良性循环。遗憾的是, LXR_s 调节神经炎症的信号通路至今仍未阐明。

5 LXR_s 激动剂治疗 AD 的应用前景

LXR_s 参与 AD 发生、发展的重要意义已被广泛接受, 鉴于目前世界范围内还没有针对 AD 的有效药物, LXR_s 激动剂的临床应用被寄予期望。目前的研究尚处在细胞和动物实验阶段, LXR_s 激动剂作为临床药物预防 AD 发病或改善 AD 症状的探索尚少, LXR_s 的亚型特异性、组织学特异性、配体的生物有效性等都是药物研发的关键点。值得关注的还有 LXR_s 激动剂作为药物的不良反应, 例如升高三酰甘油水平、增加冠心病风险、参与肝脏脂肪形成、引起肝脏肿大等。

参考文献:

- [1] Jucker M, Walker LC. Pathogenic protein seeding in Alzheimer disease and other neurodegenerative disorders[J]. *Ann Neurol*, 2011, 70(4): 532-540.
- [2] Milagre I, Olin M, Nunes MJ, et al. Marked change in the balance between CYP27A1 and CYP46A1 mediated elimination of cholesterol during differentiation of human neuronal cells[J]. *Neurochem Int*, 2011, 21(2): 268-270.
- [3] Shepardson NE, Shankar GM, Selkoe DJ. Cholesterol level and statin use in Alzheimer disease: I. Review of epidemiological and preclinical studies[J]. *Arch Neurol*, 2011, 68(10): 1239-1244.
- [4] Abramov AY, Ionov M, Pavlov E, et al. Membrane cholesterol content plays a key role in the neurotoxicity of beta-amyloid: implications for Alzheimer's disease[J]. *Aging Cell*, 2011, 10(4): 595-603.
- [5] Raja B, Kovacs DM. ACAT inhibition and amyloid beta reduction[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2010, 18(8): 960-965.
- [6] Fassbender K, Simons M, Bergmann C, et al. Simvastatin strongly reduces levels of Alzheimer's disease beta-amyloid peptides Abeta 42 and Abeta 40 in vitro and in vivo[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98(10): 5856-5861.
- [7] Korade Z, Kenworthy AK. Lipid rafts, cholesterol, and the brain[J]. *Neuropharmacology*, 2008, 55(8): 1265-1273.
- [8] Lee CY, Tse W, Landreth GE. ApoE promotes Abeta trafficking and degradation by modulating microglial cholesterol levels[J]. *J Biol Chem*, 2011, 15(1): 36-38.
- [9] Bell RD, Sagare AP, Friedman AE, et al. Transport pathways for clearance of human Alzheimer's amyloid beta-peptide and apolipoproteins E and J in the mouse central nervous system[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2007, 27(5): 909-918.
- [10] Jiang Q, Lee CY, Mandrekar S, et al. ApoE promotes the proteolytic degradation of Abeta[J]. *Neuron*, 2008, 58(5): 681-693.
- [11] Hirsch-Reinshagen V, Burgess BL, Wellington CL. Why lipids are important for Alzheimer disease? [J]. *Mol Cell Biochem*, 2009, 326(1-2): 121-129.
- [12] Koldamova R, Fitz NF, Lefterov I. The role of ATP-binding cassette transporter A1 in Alzheimer's disease and neurodegeneration[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2010, 1801(8): 824-830.
- [13] Wojcicka G, Jamroz-Wisniewska A, Horoszewicz K, et al. Liver X receptors(LXR_s). Part I: structure, function, regulation of activity, and role in lipid metabolism[J]. *Postepy Hig Med Dosw(Online)*, 2007, 61(3): 736-759.
- [14] Im SS, Osborne TF. Liver X receptors in atherosclerosis and inflammation[J]. *Circ Res*, 2011, 108(8): 996-1001.
- [15] Baranowski M. Biological role of liver X receptors[J]. *J Physiol Pharmacol*, 2008, 59(1): 31-55.
- [16] Woerner M, Melchior K, Monostory K, et al. The effects of rosuvastatin and the CYP51A1 inhibitor LEK-935 on the proteome of primary human hepatocytes[J]. *Drug Metab Dispos*, 2011, 38(3): 421-424.
- [17] Zelcer N, Khanlou N, Clare R, et al. Attenuation of neuroinflammation and Alzheimer's disease pathology by liver X receptors[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(25): 10601-10606.
- [18] Cao G, Bales KR, DeMattos RB, et al. Liver X receptor-mediated gene regulation and cholesterol homeostasis in brain: relevance to Alzheimer's disease therapeutics[J]. *Curr Alzheimer Res*, 2007, 4(2): 179-184.
- [19] Fukumoto H, Deng A, Irizarry MC, et al. Induction of the cholesterol transporter ABCA1 in central nervous system cells by liver X receptor agonists increases secreted Abeta levels[J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(50): 48508-48513.
- [20] Koldamova RP, Lefterov IM, Ikonovic MD, et al. 22R-hydroxycholesterol and 9-cis-retinoic acid induce ATP-binding cassette transporter A1 expression and cholesterol efflux in brain cells and decrease amyloid beta secretion[J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(15): 3244-3256.
- [21] Riddell DR, Zhou H, Comery TA, et al. The LXR agonist TO901317 selectively lowers hippocampal Abeta42 and improves memory in the Tg2576 mouse model of Alzheimer's disease[J]. *Mol Cell Neurosci*, 2007, 34(4): 621-628.
- [22] Donkin JJ, Stukas S, Hirsch-Reinshagen V, et al. ATP-binding cassette transporter A1 mediates the beneficial effects of the liver X receptor agonist GW3965 on object recognition memory and amyloid burden in amyloid precursor protein/presenilin 1 mice[J]. *J Biol Chem*, 2010, 285(44): 34144-34154.
- [23] Lefterov I, Bookout A, Wang Z, et al. Expression profiling in APP23 mouse brain: inhibition of Abeta amyloidosis and inflammation in response to LXR agonist treatment[J]. *Mol Neurodegener*, 2007, 2(1): 20-24.