

5-羟甲基胞嘧啶与阿尔茨海默病关系的研究进展

蔚然 钱正康 柳艳松 黄月香 王妍 付晓倩

215137 苏州市广济医院

通信作者: 钱正康, Email: qianzk01@126.com

DOI: 10.3969/j.issn.1009-6574.2019.06.015

【摘要】 阿尔茨海默病的表观遗传机制日益受到重视, 5-羟甲基胞嘧啶参与的DNA甲基化是表观遗传修饰的重要手段, 目前研究认为5-羟甲基胞嘧啶参与了阿尔茨海默病的发生、发展, 这对进一步揭示阿尔茨海默病的发病机制有较高的参考价值。现就5-羟甲基胞嘧啶与阿尔茨海默病关系的研究进行综述。

【关键词】 阿尔茨海默病; 表观遗传; DNA甲基化; 5-羟甲基胞嘧啶; 综述

基金项目: 苏州市科技局产业技术创新专项(SYSD2017141); 苏州市医学重点学科建设项目(Szsk201515); 苏州市卫生计生委科技项目(LCZX201719)

Research progress on the relationship between 5-hydroxymethylcytosine and Alzheimer disease

Wei Ran, Qian Zhengkang, Liu Yansong, Huang Yuexiang, Wang Yan, Fu Xiaolian

Department of Clinical Psychology, Suzhou Guangji Hospital, Suzhou 215137, China

Corresponding author: Qian Zhengkang, Email: qianzk01@126.com

【Abstract】 The epigenetic mechanism of Alzheimer disease (AD) is attracting increasing attention, and 5-hydroxymethylcytosine involved DNA methylation is an important means of epigenetic modification. Recent studies believe that 5-hydroxymethylcytosine is involved in the occurrence and development of AD. This is a very valuable reference for the further revelation the pathogenesis of AD. This article reviews research on the relationship between 5-hydroxymethylcytosine and AD.

【Key words】 Alzheimer disease; Epigenetic; DNA methylation; 5-hydroxymethylcytosine; Review

Fund Programs: Suzhou Science and Technology Bureau Industrial Technology Innovation Project (SYSD2017141); Suzhou Medical Key Discipline Construction Project (Szsk201515); Science and Technology Project of Suzhou Health and Family Planning Committee (LCZX201719)

阿尔茨海默病(Alzheimer disease, AD)主要表现为记忆和认知功能的持续损害, 随着疾病的进展患者最终丧失劳动、生活能力, 给家庭、社会带来沉重负担^[1]。目前, AD的发病机制尚未完全明了, 国内外相关研究认为表观遗传(epigenetics)机制可能是导致AD的因素之一^[2-4]。表观遗传修饰由许多因素引起, 包括生长发育过程中的环境因素, 物理、化学因素, 生活方式和物质使用等。DNA甲基化是一种常见的表观遗传修饰手段, 以往对DNA甲基化的研究主要聚焦于5-甲基胞嘧啶(5-methylcytosine, 5-mC), 近年来, 有研究发现, 5-羟甲基胞嘧啶(5-hydroxymethylcytosine, 5-hmC)也是反映DNA甲基化程度的潜在有力指标^[5]。5-hmC主要分布于哺乳动物脑中, 被认为与多种精神疾病有关^[6]。本文旨在检索与回顾既往文献, 对5-hmC与AD间的关

系作一综述。

一、表观遗传是AD的重要发病机制

AD的主要病理表现包括β淀粉样蛋白(amyloid β-protein, Aβ)沉积形成的老年斑(seruleplaque, SP)、磷酸化的微管相关蛋白tau形成的神经原纤维缠结(neurofibrillary tangle, NFT)、颞叶和海马等部位神经元丢失等^[7]。AD的病因复杂, 迄今为止尚没有一种完整的理论能够完全阐明AD的发生、发展, 一般认为, AD与遗传、环境、代谢有关, 是多因素共同作用的结果。以往的遗传学研究发现多种AD的易感基因, 如早老素PSEN1、PSEN2和AβPP等^[8], 但这些研究并不能完全揭示AD的发病和转归。表观遗传是指在不改变基因组碱基序列的前提下发生调节基因表达改变表型或产生可遗传的表型变化的现象。表观遗传主要研究环境因素改变对遗

传的影响,一些研究已经发现氧化应激、神经炎症、衰老等因素能够改变AD患者基因的表达水平,并引起离子通道功能、突触结构的改变^[9-10],这提示环境能够影响遗传,这种环境与遗传共同作用的过程可能是导致AD发病的原因。表观遗传的调节方式主要包括DNA甲基化(DNA methylation)、组蛋白修饰和非编码RNA调控^[11]。其中DNA甲基化在胚胎发育、遗传印记、X染色体失活等过程中具有重要意义。DNA甲基化常见的形式是DNA分子中胞嘧啶环上的第5位碳原子在甲基转移酶的作用下形成5-mC,而发生在胞嘧啶-磷酸-鸟嘌呤(CpG)二核苷酸岛的胞嘧啶甲基化直接影响了其所在基因的转录。Lund等^[12]对老年男性Y染色体的研究发现Y染色体上有40~219个CpGs位点随年龄增长甲基化水平持续升高,Mancera-Páez等^[13]则发现ApoE上CpGs165、190和198的甲基化是老年人认知受损的危险因素。此外,Huo等^[4]通过大规模尸检研究发现,DNA甲基化明显与A β 沉积和NFT相关,并且参与了突触兴奋、神经元分化和离子转运等重要神经生物学功能,影响了AD的进展。

二、5-hmC在DNA甲基化过程中的作用

5-hmC由5-mC经TET(ten-eleven translocation)酶催化生成,其主要生成方式包括主动去甲基化和被动去甲基化两条途径,DNA序列中5-mC/5-hmC的比例调节了DNA甲基化/去甲基化水平。5-hmC广泛存在于哺乳动物中枢神经系统中,尤其在大脑皮层、海马部和小脑含量丰富,约占修饰胞嘧啶总量的40%。目前,关于5-hmC的具体功能和存在的意义尚未被完全阐明,但有证据表明5-hmC既可能是反映DNA甲基化程度的指标,也可能具有其独特功能^[6]。首先,与5-mC抑制基因表达相反,Wu等^[14]通过动物模型的研究发现小鼠大脑皮层和小脑神经细胞中5-hmC水平与基因的表达呈正相关,这提示5-hmC的存在可能促进了基因的转录与表达。其次,环境刺激能够改变实验动物中枢神经系统全基因组甲基化水平和5-hmC含量,并影响神经功能和产生可遗传的表型。Bihaci等^[15]的研究显示,早年暴露于富铅环境的灵长类动物的富含CpG非转录区基因发生改变,同时甲基转移酶表达降低;Sierksma等^[16]发现妊娠鼠暴露于应激环境中将影响子代表观遗传状态,其子代海马部5-hmC发生显著改变。再次,衰老(aging)与5-hmC密切相关,Dzitoyeva等^[17]通过对C57BL6小鼠的研究发现,随着年龄的增长,小鼠海马神经元的全基因组5-hmC水平升高,同时,与衰

老密切相关的鼠LOX-1基因5-hmC水平显著升高,他们的研究还证实氧化应激与5-hmC的升高无关,这表明衰老是5-hmC升高的关键因素。Chouliaras等^[18]的研究发现,随着年龄增长,小鼠海马部全基因组5-hmC水平逐渐升高。Huang等^[3]采用更高检测精度的LC-MS/MS法对转基因AD模型鼠进行检测,发现相比对照的野生型鼠,AD模型鼠的全基因组5-hmC水平显著升高,而且随着AD的进展这种升高是持续的。

三、5-hmC参与AD的发生与发展

动物实验已发现5-hmC与AD的发病密切相关,一些针对人体尸检样本的研究也发现AD患者的脑组织中存在5-hmC含量的变化。Condliffe等^[19]通过对死亡AD患者大脑的不同部位研究发现,与对照相比,AD患者组内嗅皮质和小脑中5-hmC显著降低。额中回、颞中回损害也常见于AD。Coppeters等^[20]发现,较之对照组,AD患者组额中回、颞中回5-hmC水平明显升高,他们推测5-hmC的升高反映了相关脑区全基因组甲基化水平,过度甲基化可能加速细胞凋亡;此外,这项研究还发现AD患者脑组织中A β 、NTF、泛素(ubiquitin)水平与5-hmC相关,他们指出,泛素广泛参与了神经系统蛋白质的合成、修饰,与A β 、NTF的产生密切相关,5-hmC参与的泛素水平紊乱可能使AD症状进一步恶化。

Bernstein等^[7]观察了AD患者325个含有差异羟甲基化基因座(differentially hydroxymethylated loci, DhMLs)的基因,这些基因座上的5-hmC含量、甲基化水平在AD患者组和对照组间存在差异,其中,106个基因座涉及编码35种蛋白,在这些蛋白中尤其与A β 形成有关。此外,Bernstein等通过对AD模型动物的进一步实验验证5-hmC通过调节基因表达和转录影响了神经发育,并发现一些表观遗传修饰因子调节了tau诱导的神经毒性。

Ellison等^[21]的研究发现,AD的不同发展阶段5-hmC的含量也有所不同,AD发展的早期,即轻度认知受损和亚临床AD阶段5-hmC即发生了明显的升高,此外,他们的研究发现AD患者小脑5-hmC含量较其他脑区升高。除了对神经细胞的研究外,Ellison等还观察了胶质细胞中5-hmC水平的改变,研究发现,与对照组相比,AD病例中星形胶质细胞的核5-hmC标记明显减少。但同时,Lashley等^[22]的全基因组甲基化研究并未发现AD患者5-hmC与健康对照存在差异。不同的实验导致相互矛盾的结果可能因实验方法不同所致,Lashley等的实验所采

用的检测方法为一种亚硫酸氢盐转化的DNA甲基化敏感限制酶Hpa II, Hpa II不区分5-mC与其羟甲基化形式,因此实验结果可能产生偏倚。

近来, Phipps等^[23]通过对不同胶质细胞和神经元的研究发现很大比例的NFT中包含核5-hmC,而A β 斑块中则未发现这种改变。通过脑全基因组甲基化分析, Zhao等^[24]发现多个差异性羟甲基化区域(differentially hydroxymethylated regions, DhMRs)与AD发病密切相关,其中517个DhMRs与神经炎症性斑块的形成显著相关,而60个DhMRs与NFT相关,这些结果进一步揭示了5-hmC在AD发病机制中的作用。

通过以上的文献综述,可以发现针对5-hmC的研究为探索AD的表观遗传学机制提供了新的思路,为进一步揭示AD的发病机制带来重要启示:(1)DNA甲基化作为一种常见的表观遗传修饰手段,与AD的发生、发展密切相关;(2)5-hmC在AD患者脑组织中含量与健康对照相比存在显著差异,且可能涉及SP、NTF等重要AD的特征性病理改变的形成。但目前针对5-hmC的研究上有一些不足之处需进一步克服:(1)实验对象方面,众所周知,AD是一种慢性、进行性疾病,目前以人类为试验样本的研究仅有尸体样本,是横断面的研究,不能从时间角度纵向观察AD与5-hmC的关系;(2)实验技术上,如研究所采用的实验试剂不能敏感地分辨5-hmC与5-mC,将为实验结果带来偏倚,影响实验结果。

综上,既往的研究发现了5-hmC与AD及AD的几种特征性病理改变相关,但并没有充分地揭示5-hmC引起AD的具体机制,并且这些研究在设计和实验方法上也存在不足。因此,在今后的研究中应当引入和AD密切相关的基因如PSEN1、A β PP,进一步探讨他们与5-hmC的关系,并采用能够更准确识别5-hmC的免疫组化手段作为实验方法,从神经发育和通道的角度进一步揭示5-hmC在AD发病过程中的具体机制。

利益冲突 文章所有作者共同认可文章无相关利益冲突

作者贡献声明 文献检索为黄月香、王妍,文献翻译为柳艳松、付晓倩,论文撰写为蔚然,钱正康审校

参 考 文 献

- [1] Götz J, Bodea LG, Goedert M. Rodent models for Alzheimer disease[J]. *Nat Rev Neurosci*, 2018, 19(10): 583-598. DOI: 10.1038/s41583-018-0054-8.
- [2] Jansen IE, Savage JE, Watanabe K, et al. Genome-wide meta-analysis identifies new loci and functional pathways influencing Alzheimer's disease risk[J]. *Nat Genet*, 2019, 51(3): 404-413. DOI: 10.1038/s41588-018-0311-9.
- [3] Huang Q, Xu S, Mo M, et al. Quantification of DNA methylation and hydroxymethylation in Alzheimer's disease mouse model using LC-MS/MS[J]. *J Mass Spectrom*, 2018, 53(7): 590-594. DOI: 10.1002/jms.4194.
- [4] Huo Z, Zhu Y, Yu L, et al. DNA methylation variability in Alzheimer's disease[J]. *Neurobiol Aging*, 2019, 76: 35-44. DOI: 10.1016/j.neurobiolaging.2018.12.003.
- [5] Lio CJ, Rao A. TET Enzymes and 5hmC in Adaptive and Innate Immune Systems[J]. *Front Immunol*, 2019, 10: 210. DOI: 10.3389/fimmu.2019.00210.
- [6] Al-Mahdawi S, Virmouni SA, Pook MA. The emerging role of 5-hydroxymethylcytosine in neurodegenerative diseases[J]. *Front Neurosci*, 2014, 8: 397. DOI: 10.3389/fnins.2014.00397.
- [7] Bernstein AI, Lin Y, Street RC, et al. 5-Hydroxymethylation-associated epigenetic modifiers of Alzheimer's disease modulate Tau-induced neurotoxicity[J]. *Hum Mol Genet*, 2016, 25(12): 2437-2450. DOI: 10.1093/hmg/ddw109.
- [8] Readhead B, Haure-Mirande JV, Funk CC, et al. Multiscale Analysis of Independent Alzheimer's Cohorts Finds Disruption of Molecular, Genetic, and Clinical Networks by Human Herpesvirus[J]. *Neuron*, 2018, 99(1): 64-82.e7. DOI: 10.1016/j.neuron.2018.05.023.
- [9] Zhang C, Rissman RA. Corticotropin-releasing factor receptor-1 modulates biomarkers of DNA oxidation in Alzheimer's disease mice[J]. *PLoS One*, 2017, 12(7): e0181367. DOI: 10.1371/journal.pone.0181367.
- [10] Cosin-Tomás M, Álvarez-López MJ, Companys-Aleman J, et al. Temporal Integrative Analysis of mRNA and microRNAs Expression Profiles and Epigenetic Alterations in Female SAMP8, a Model of Age-Related Cognitive Decline[J]. *Front Genet*, 2018, 9: 596. DOI: 10.3389/fgene.2018.00596.
- [11] Parodi F, Carosio R, Ragusa M, et al. Epigenetic dysregulation in neuroblastoma: A tale of miRNAs and DNA methylation[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2016, 1859(12): 1502-1514. DOI: 10.1016/j.bbagg.2016.10.006.
- [12] Lund JB, Li S, Christensen K, et al. Age-dependent DNA methylation patterns on the Y chromosome in elderly males[J]. *Aging Cell*, 2019, 21: e12907. DOI: 10.1111/ace1.12907.
- [13] Mancera-Páez O, Estrada-Orozco K, Mahecha MF, et al. Differential Methylation in APOE (Chr19; Exon Four; from 44, 909, 188 to 44, 909, 373/hg38) and Increased Apolipoprotein E Plasma Levels in Subjects with Mild Cognitive Impairment[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(6). DOI: 10.3390/ijms20061394.
- [14] Wu H, D'Alessio AC, Ito S, et al. Genome-wide analysis of 5-hydroxymethylcytosine distribution reveals its dual function in transcriptional regulation in mouse embryonic stem cells[J]. *Genes Dev*, 2011, 25(7): 679-684. DOI: 10.1101/gad.2036011.
- [15] Bihagi SW, Huang H, Wu J, et al. Infant exposure to lead (Pb) and epigenetic modifications in the aging primate brain: implications for Alzheimer's disease[J]. *J Alzheimers Dis*, 2011, 27(4): 819-833. DOI: 10.3233/JAD-2011-111013.
- [16] Sierksma AS, Prickaerts J, Chouliaras L, et al. Behavioral and neurobiological effects of prenatal stress exposure in male and female APP^{swe}/PS1^{dE9} mice[J]. *Neurobiol Aging*, 2013, 34(1): 319-337. DOI: 10.1016/j.neurobiolaging.2012.05.012.

· 综述 ·

计算机化和网络认知行为疗法在失眠症中的应用进展

李静茹 苑成梅

200030 上海交通大学医学院附属精神卫生中心

通信作者: 苑成梅, Email: yuanchengmei@yeah.net

DOI: 10.3969/j.issn.1009-6574.2019.06.016

【摘要】 认知行为治疗是失眠症最有效的治疗方法之一,但传统面对面的认知行为疗法存在空间限制、经济负担大等局限。计算机化和网络认知行为疗法是创新性的网络化互动疗法,凭借简便、经济等优势,提高了认知行为疗法的可用性和可接受性。现将对计算机化和网络认知行为疗法的理论基础、核心技术、治疗设置、治疗平台、评估指标、治疗效果和优势及局限性进行综述和介绍,为失眠症的治疗提供参考。

【关键词】 失眠症; 认知行为疗法; 计算机化; 网络; 综述

Application of computerized and internet-based cognitive behavioral therapy on insomnia Li Jingru, Yuan Chengmei

Shanghai Mental Health Center, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200030, China

Corresponding author: Yuan Chengmei, Email: yuanchengmei@yeah.net

【Abstract】 Cognitive behavioral therapy is one of the most effective treatments for insomnia, but traditional face-to-face cognitive behavioral therapy has limitations such as space constraints and economic burden. Computerized and Internet-based cognitive behavioral therapy are innovative, networked interactive therapy that enhances the availability and acceptability of cognitive behavioral therapy with simplicity and economics. This article reviews and introduces the theoretical basis, core technology, treatment settings, treatment platform, evaluation indicators, therapeutic efficacy, advantages and limitations of computerized and Internet-based cognitive behavioral therapy, and provide reference for the treatment of insomnia.

【Key words】 Insomnia; Cognitive behavioral therapy; Computerization; Network; Review

-
- [17] Dzitoyeva S, Chen H, Manev H. Effect of aging on 5-hydroxymethylcytosine in brain mitochondria[J]. Neurobiol Aging, 2012, 33(12): 2881-2891. DOI: 10.1016/j.neurobiolaging.2012.02.006.
- [18] Chouliaras L, Kenis G, Keitel S, et al. Age-related increase in levels of 5-hydroxymethylcytosine in mouse hippocampus is prevented by caloric restriction[J]. Curr Alzheimer Res, 2012, 9(5): 536-44. DOI: 10.2174/156720512800618035.
- [19] Condliffe D, Wong A, Troakes C, et al. Cross-region reduction in 5-hydroxymethylcytosine in Alzheimer's disease brain[J]. Neurobiol Aging, 2014, 35(8): 1850-1854. DOI: 10.1016/j.neurobiolaging.2014.02.002.
- [20] Coppieters N, Dieriks BV, Lill C, et al. Global changes in DNA methylation and hydroxymethylation in Alzheimer's disease human brain[J]. Neurobiol Aging, 2014, 35(6): 1334-1344. DOI: 10.1016/j.neurobiolaging.2013.11.031.
- [21] Ellison EM, Abner EL, Lovell MA. Multiregional analysis of global 5-methylcytosine and 5-hydroxymethylcytosine throughout the progression of Alzheimer's disease[J]. J Neurochem, 2017, 140(3): 383-394. DOI: 10.1111/jnc.13912.
- [22] Lashley T, Gami P, Valizadeh N, et al. Alterations in global DNA methylation and hydroxymethylation are not detected in Alzheimer's disease[J]. Neuropathol Appl Neurobiol, 2015, 41(4): 497-506. DOI: 10.1111/nan.12183.
- [23] Phipps AJ, Vickers JC, Taberlay PC, et al. Neurofilament-labeled pyramidal neurons and astrocytes are deficient in DNA methylation marks in Alzheimer's disease[J]. Neurobiol Aging, 2016, 45: 30-42. DOI: 10.1016/j.neurobiolaging.2016.05.003.
- [24] Zhao J, Zhu Y, Yang J, et al. A genome-wide profiling of brain DNA hydroxymethylation in Alzheimer's disease[J]. Alzheimers Dement, 2017, 13(6): 674-688. DOI: 10.1016/j.jalz.2016.10.004.

(收稿日期: 2019-03-25)

(本文编辑: 戚红丹)