

- [5] “Eiken”《Radioimmunoassay Kit-instruction for use》. Eiken Chemical Co. Ltd. Tokyo Japan.
- [6] 周才人等. 医学检验正常值及临床意义. 人民军医出版社. 1986. 217.
- [7] 米昭曾, 许箴耕, 孙尚拱. 正常人血清钙、磷、降钙素、甲状旁腺素随年龄性别变化的观察. 中华医学杂志. 1987, 69: 444.
- [8] Mi ZZ, Xu ZG, Sun SG. Calcitonin in Normal Chinese. Chin med J 1988. 101 (7): 501.
- [9] Solgard. S. et al. Secretion of parathyroid hormone after surgical trauma. Acta orthop. scand. 1983. 54: 459.
- [10] 米昭曾, 米氏《钙代谢 15 点立论》(待发表).
- [11] 米昭曾, 罗永健, 白双法. 米氏说钙. 第一版 北京: 中央民族大学出版社, 2006. 108.
- [12] 关瑞芳, 刘文元, 米昭曾, 等. 增加“钙营养”是护理“下颌骨骨折”患者的重要手段. 中华临床医药杂志, 2004, 5 (23): 106.

脑胆固醇代谢对阿尔茨海默病的影响研究进展

毛敏 郭颖 刘嫣 综述 胡敏予 审校

(中南大学公共卫生学院 营养与食品卫生学系, 湖南 长沙 410008)

摘要: 阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 是以进行性认知功能障碍和行为损害为特点原因不明的中枢神经系统退行性疾病, 其发生发展与脂质代谢异常、淀粉样蛋白异常、血管炎症、神经递质异常、遗传变异等多种因素有关。本文主要针对脑胆固醇代谢对 AD 的影响研究进展进行综述。

关键词: 脑胆固醇代谢; 阿尔茨海默病; β -淀粉样蛋白; 载脂蛋白 E; 胆固醇-24S-羟化酶

中图分类号: R741 文献标识码: A

The effects of brain cholesterol metabolism on Alzheimer's disease

Mao Min Guo Ying Liu Yan Hu min-yu

(Nutrition and Food Hygiene Department, School of Public Health, Central south University, Hunan Changsha, 410008)

Abstract: Alzheimer's disease (AD) is a central nervous system degenerative disease characterized by progressive cognitive impairment and behavioral damage with unclear causes. Its occurrence and development are associated with abnormal lipid metabolism, abnormal amyloid protein, vascular inflammation, neurotransmitter abnormalities, genetic variation and other factors. This review focuses on brain cholesterol metabolism's effects on AD.

Keywords: Brain cholesterol metabolism Alzheimer's disease Amyloid- β ($A\beta$) Apolipoprotein E (ApoE) 24S-hydroxylase (CYP46)

阿尔茨海默病 (Alzheimer disease, AD) 是一种以进行性认知功能障碍和行为损害为特点原因不明的中枢神经系统退行性疾病, 其主要病理特征为大脑皮层和海马区域出现斑块及神经元纤维缠结。脑胆固醇代谢 Dietschy JM^[1]等在关于脑胆固醇代谢综

述中认为: 脑胆固醇代谢途径可能是血浆中的低密度脂蛋白 (LDL) 可能通过与血脑屏障 (Blood Brain Barrier, BBB) 上的低密度脂蛋白受体 (LDLR) 结合将 LDL 中包含的胆固醇酯转运至脑组织, 载脂蛋白 E (Apolipoprotein E, Apo E) 介导胆固醇

在神经元与星形胶质细胞之间转运，脑内的胆固醇主要通过生成 24S-羟胆固醇通过血脑屏障，最后经肝脏代谢排出体外。本文从脑胆固醇代谢主要途径综述对 AD 的影响。

1 脑胆固醇代谢

脑内胆固醇主要以非酯化形式存在于髓鞘、星形胶质细胞及神经细胞膜，主要参与髓鞘的构成。少量胆固醇存在于神经元、神经胶质细胞的生物膜和细胞外脂蛋白上，参与并维持神经细胞的正常生理功能。血浆中 LDL 胆固醇酯可能经 LDLR 转运至脑组织，经过代谢在胶质细胞和神经元细胞重新合成脑胆固醇。星形胶质细胞合成胆固醇远远大于神经元细胞，星形胶质细胞合成的胆固醇可供神经细胞利用，Elena Posse de Chaves 等^[2]的研究表明在脑组织内，胆固醇通过 Apo E 实现神经元与星形胶质细胞之间转运。脑内的胆固醇主要经胆固醇-24S-羟化酶 (CYP46) 转化为 24S-羟胆固醇自由扩散通过血脑屏障^[3]，经肝脏代谢排出体外。

1.1 LDLR 家族与脑胆固醇代谢

在大脑中主要表达的 LDLR 家族有：LRP1、LRP2、LRP8、LDLR 和 vLDLR 等。这些受体可以结合并内化脂蛋白，在胆固醇的转运和代谢过程中起到非常重要的作用。体外实验表明，LDLR 和 (或) 其家族成员在调节胆固醇通过血脑屏障 (brain blood barrier, BBB) 运输以供给神经元和胶质细胞利用的过程中发挥作用^[4]。LDLR 相关蛋白 (LRP) 是 BBB 转运 β -淀粉样蛋白 ($A\beta$) 的主要受体，Apo E 可与 LRP 的结合可以影响 $A\beta$ 通过 BBB 转运而影响脑内外的平衡。Fabien Gosselet^[5]等在细胞实验中观察到 LDLR 表达受到神经胶质细胞影响，培养基中有胶质细胞存在 LRP-1 的表达显著下调。

1.2 Apo E 与脑胆固醇代谢

Apo E 是机体内重要的载脂蛋白，在神经系统的胆固醇转运中也有重要作用。脑细胞维持胆固醇稳态是通过 Apo E 相关受体 (如 LDLR) 调节胆固醇合成来实现的^[6]，Apo E 在脂质进入神经元和胆固醇清除的过程中起到重要的调节作用^[7]。脑 Apo E 主要在星形胶质细胞内合成，生理状况下星形胶质细胞合成的 Apo E 最多^[8]，神经元在一定生理和病理条件下可以诱导 Apo E 合成^[9-10]。神经元和胶质细胞的脂质代谢变化可能影响膜结合蛋白如细胞外配体 Apo E 的表达^[8-10]。

1.3 24S-羟胆固醇与脑胆固醇代谢

在 CYP46 的作用下，脑胆固醇最终生成 24S-

羟胆固醇从脑中清除到外周血液循环系统^[11-13]，是脑胆固醇清除出脑的主要途径之一。有研究显示，动物的 CYP46 主要表达在脑组织中，更确切地说是在神经元中^[14]。24S-羟胆固醇是一种氧固醇，其通过脂质膜的速度要快于胆固醇，它可以直接通过 BBB 进入外周循环^[15]。Björkhem I^[15]等认为循环中 24S-胆固醇的水平可以被视为脑胆固醇转运出脑组织水平的一个标志。人类血浆中大约一半的 24S-胆固醇在肝脏被转化为胆汁，另一半与硫酸和葡萄糖醛酸结合转化为其它物质^[16]。研究发现胆固醇 24S-羟化酶基因敲除小鼠能抑制胆固醇的合成和影响其他非甾类异戊二烯的甲羟戊酸途径，表现出严重的空间、联系、运动认知和海马长时程电位 (LTP) 等缺陷，这种抑制作用和缺陷可以用香叶醇治疗改善^[13,17]。

2 脑胆固醇代谢对 AD 的影响

脑部不同区域胆固醇稳态的变化会影响相应区域脑部的功能。AD 患者 CNS 的胆固醇流动性会增加，而且与痴呆的严重程度成正比^[18]。脑胆固醇代谢异常可以影响 $A\beta$ 的生成、清除失衡，ApoE 基因表达及过度磷酸化的 tau 蛋白、24S-羟胆固醇的生成等。

2.1 $A\beta$ 与 AD

Shankar GM 等人的研究表明 $A\beta$ 是一种引起 AD 的主要因素，大脑中 $A\beta$ 形成与胆固醇浓度升高有关^[19]。正常情况下，APP 主要经过 α -分泌酶和 γ -分泌酶水解出可溶性片段而发挥生理作用，而经过 β -分泌酶和 γ -分泌酶水解的途径是次要途径。胆固醇能刺激 β -分泌酶和 γ -分泌酶催化 β -淀粉样前蛋白 (β -APP) 产生病理性的 $A\beta$ 片段^[20]，其中影响最多的是 $A\beta$ 寡聚体。胆固醇浓度的升高会导致 β -APP 的裂解相应的增多，产生的 $A\beta$ 寡聚体也相应的增多。 β -APP 是神经细胞表面具有受体样结构的跨膜糖蛋白，插入含胆固醇及磷脂组成的脂质双分子层中，这个脂质双分子层的局部特殊结构称“筏区”， β -分泌酶和 γ -分泌酶也存在于脂筏中，筏中胆固醇含量改变可能使该蛋白质的正常代谢受到干扰而产生 $A\beta$ 寡聚体。 $A\beta$ 寡聚体对神经元有毒性作用。 $A\beta$ 寡聚体沉积可以引发各种免疫反应和神经毒性级联反应，引起广泛的神经元变性，神经递质如乙酰胆碱和多巴胺递质减少，最终导致记忆和认知功能障碍。 $A\beta$ 积聚的机制尚不清楚。有研究表明， $A\beta$ 的增多与进入脑中的 27S-羟胆固醇增多有关，后者是通过改变胰岛素样生长因子 (IGF-1) 信号传导途

径起作用的^[21]。尚有研究发现 AD 患者大脑中 24S-羟胆固醇增多^[22-23]可促进 A β 生成。R. P. Jaya Prasanthi^[24] 等人发现 A β 积聚与 β -分泌酶 (BACE1)、糖基化终产物受体 (RAGE) 的水平增加和胰岛素降解酶 (IDE)、LRP-1 的水平降低有关。

2.2 Apo E 与 AD

Apo E 基因表达水平在 AD 中起着重要作用。Bales^[25] 在实验中观察到表达 Apo E 小鼠有 A β 斑块沉积, 而 Apo E -/- 小鼠没有表现出 A β 斑块沉积。在 AD 的转基因小鼠淀粉样变性模型中, 血浆总胆固醇的慢性升高可导致 Apo E 基因在脑的表达水平发生变化: 使神经胶质细胞胆固醇过载, 此时细胞内和细胞分泌的 ApoE 的水平也随之增加^[26]。Apo E 基因存在 3 个亚型: apo ϵ 2, apo ϵ 3, apo ϵ 4。研究认为, apo ϵ 4 等位基因过度表达是 AD 重要的危险因素^[27]。Apo ϵ 4 能与 A β 结合可促进淀粉样原纤维的形成, 介导神经损伤^[28]。游离 A β 主要通过 LRP 从大脑清除, A β -Apo E 复合物主要通过 VLDLR 清除, 速度相对缓慢, 易引起 A β 在大脑滞留而导致 A β 斑块沉积。进一步研究表明, apo ϵ 3-A β 、apo ϵ 2-A β 复合物比 apo ϵ 4-A β 在 BBB 清除速度要快^[29], 因此 apo ϵ 4-A β 可能是导致 A β 斑块沉积的主要因素之一。

2.3 24S-羟胆固醇与 AD

24S-羟胆固醇有明显的神经毒性。研究发现, 有轻度认知损害的病人脑脊液中 24S-羟胆固醇的浓度上升, 且 apo ϵ 4 基因表达水平与脑脊液 24S-羟胆固醇浓度呈剂量效应^[30]。脑脊液和血清中 24S-羟胆固醇浓度在 AD 患者中有显著差异。进一步研究表明, CYP46 基因多态性在这个过程中起主要作用。CYP46 基因多态性可以影响各个酶的功能和大脑中胆固醇代谢, CYP46 基因表达上调通过增加大脑 24S-羟胆固醇/胆固醇比值, 促进 AD 发展^[31]。有研究发现, AD 患者大脑额叶皮质的胆固醇合成和代谢与 24S-羟胆固醇密切相关^[22]。有研究显示 24S-羟胆固醇存在于神经炎症性斑块旁, 在神经元内可强有力地抑制 APP 裂解过程^[32]。也有人认为 24S-羟胆固醇可以通过非淀粉样蛋白源性 α -分泌酶增加 APP 裂解^[23]。

2.4 其他因素

tau 蛋白是神经细胞内一种细胞骨架蛋白。有研究表明, apo ϵ 4 不能与 tau 蛋白结合, 从而导致 tau 蛋白磷酸化增加^[33]。神经元中 Tau 蛋白的过度磷酸化使神经微丝和微管异常聚集, 促进神经元纤维缠结, 影响神经元骨架微管蛋白的稳定性^[34]; 而且

tau 蛋白磷酸化使 APP 的处理过程偏向 β -分泌酶途径, 致 A β 生成增加, 共同促进 AD 的发生。

ATP-结合盒转运子 (ATP-binding cassette transporter A1, ABCA1) 是在胆固醇膜运输的一个关键的调控因子, 主要介导 HDL 与 ApoE 的脂化, 是一种介导细胞内胆固醇转运至 HDL 的膜相关蛋白^[35]。ABCA1 含量提高能有效减少 AD 小鼠大脑斑块的形成。在 AD 病人大脑中 ABCA1 失调, 而且这种失调与 AD 的严重程度相关^[36]。

许多研究发现 AD 中 BBB 发生了结构改变或功能障碍、多种转运蛋白和酶的表达及活性改变^[37] 等。在 AD 病人脑中存在有毛细血管的损伤和老化, A β 和淀粉样沉淀积聚在基底膜外侧并引起局部神经炎症性血管响应。血胆固醇升高可引起大脑血管的损伤, 破坏血管内皮细胞, 可能加重这个过程。胆固醇引起血管损伤这一病理变化对 AD 的影响还有待进一步研究。

3 结论

AD 已成为影响老年人认知及行为活动的主要疾病之一。Apo E、24S-羟胆固醇、ABCA1 等异常可导致 A β 生成清除异常、Tau 胆固醇过度磷酸化、神经损伤等促进 AD 的发生发展。有研究显示脑组织产生 27S-羟胆固醇转化成 7 α -hydroxy-3-oxo-4-cholestenonic acid 然后通过 BBB 到血循环 [38], 此途径是否影响 AD 的发生、发展有待探讨。LDLR 是脑胆固醇代谢重要受体, 其对 AD 的影响鲜有报道; 作者目前没有收集到血胆固醇浓度直接影响脑胆固醇浓度及其代谢的相关研究资料。他汀类药物为一类羟甲基戊二酰辅酶 A (HMG-CoA) 还原酶抑制剂, 是治疗高脂血症的药物, 有研究显示其对 AD 也有一定的预防作用 [39], 作用机制不甚清楚。作者认为, 开展脑胆固醇代谢的深入研究及血脂异常对各代谢环节的影响研究将为 AD 的预防和治疗带来新的曙光。

参考文献

- [1] Dietschy JM, Turley SD. Thematic review series: brain lipids. Cholesterol metabolism in the central nervous system during early development and in the mature animal. *J Lipid Res* 2004. 45: 1375-1397.
- [2] Elena Posse de Chaves, Vasanthy Narayanaswami. Apolipoprotein E and cholesterol in aging and disease in the brain, *Future Lipidol*. 2008. October .3

(5): 505 – 530.

[3] Yu. L. , K. Von Bergmann, D. Lutjohann, et al. Selective sterol accumulation in ABCG5/ABCG8-deficient mice. *J. Lipid Res.* 2004. 45: 301 – 307.

[4] Dehouck B. , Fenart L. , Dehouck M. P. , et al. A new function for the LDL receptor: transcytosis of LDL across the blood – brain barrier. *J. Cell Biol.* 1997. 138: 877 – 889.

[5] Fabien Gosselet, Pietra Candela, Emmanuel Sevin, et al. Transcriptional profiles of receptors and transporters involved in brain cholesterol homeostasis at the blood – brain barrier: Use of an in vitro model, *Brain Research* 2009. 1249: 34 – 42.

[6] Funfschilling U, Saher G, Xiao L, et al. Survival of adult neurons lacking cholesterol synthesis in vivo. *BMC Neurosci* 2007. 8 (1): 1 – 9.

[7] Poirier J. ApolipoproteinE and cholesterol metabolism in the pathogenesis and treatment of Alzheimer's disease [J]. *Trends Mol Med* 2003, 9: 94 – 101.

[8] D. J. Stone, I. Rozovsky, T. E. Morgan, et al. Astrocytes and microglia respond to estrogen with increased apoE mRNA in vivo and in vitro, *Exp. Neurol.* 1997. 143: 313 – 318.

[9] R. E. Metzger, M. J. LaDu, J. B. Pan, et al. Neurons of the human frontal cortex display apolipoprotein E immunoreactivity: implications for Alzheimer's disease, *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 1996. 55: 372 – 380.

[10] P. T. Xu, J. R. Gilbert, H. L. Qiu, et al. Specific regional transcription of apolipoprotein E in human brain neurons, *Am. J. Pathol.* 1999. 154: 601 – 611.

[11] I. Bjorkhem. Crossing the barrier: oxysterols as cholesterol transporters and metabolic modulators in the brain, *J Intern Med* 2006. 260: 493 – 508.

[12] Bjorkhem I, Lutjohann D, Breuer O, et al. Importance of a novel oxidative mechanism for elimination of brain cholesterol turnover of cholesterol and 24 (S) -hydroxycholesterol in rat brain as measured with 18O2 techniques in vivo and in vitro. *J Biol Chem* 1997. 272: 30178 – 84.

[13] Lund EG, Xie C, Kotti T, et al. Knockout of the cholesterol 24-hydroxylase gene in mice reveals a brain-specific mechanism of cholesterol turnover. *J Biol Chem* 2003. 278: 22980 – 8.

[14] Lund EG, Guileyardo JM, Russell DW. cD-

NA cloning of cholesterol 24-hydroxylase, a mediator of cholesterol homeostasis in the brain. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999. 96: 7238 – 7243.

[15] Bjorkhem I, Lutjohann D, Diczfalusy U, et al. Cholesterol homeostasis in human brain: turnover of 24S-hydroxycholesterol and evidence for a cerebral origin of most of this oxysterol in the circulation. *J Lipid Res* 1998. 39: 1594 – 1600.

[16] Bjorkhem I, Andersson U, Ellis E, et al. From brain to bile: evidence that conjugation and ω -hydroxylation are important for elimination of 24S-hydroxycholesterol (cerebrosterol) in humans. *J Biol Chem.* 2001. 276: 37004 – 37010.

[17] Tiina Kotti, Daphne D. Head, Charles E. et al. Biphasic requirement for geranyl-geraniol in hippocampal long-term potentiation, *PNAS.* 2008 August 12, 105 (32): 11394 – 11399.

[18] Lutjohann D, Papassotiropoulos A, Bjorkhem I, et al. Plasma 24S-hydroxycholesterol (cerebrosterol) is increased in Alzheimer and vascular demented patients. *J Lipid Res* 2000. 41: 195 – 198.

[19] Shankar GM, Li S, Mehta TH et al. Amyloid-beta protein dimers isolated directly from Alzheimer's brains impair synaptic plasticity and memory. *NatMed* 2008. 14: 837 – 842.

[20] Vetrivel KS, Cheng H, Lin W, et al. Association of gamma-secretase with lipid rafts in post-Golgi and endosome membranes. *J Biol Chem* 2004. 279: 44945 – 54.

[21] Sunita Sharma, Jaya Prasanthi R. P. , Eric Schommer, et al. Hypercholesterolemia-induced A β accumulation in rabbit brain is associated with alteration in IGF-1 signaling, *Neurobiology of Disease.* 2008. 32: 426 – 432.

[22] M. Heverin, N. Bogdanovic, D. Lutjohann, et al. Changes in the levels of cerebral and extracerebral sterols in the brain of patients with Alzheimer's disease, *J. Lipid Res.* 2004. 45: 186 – 193.

[23] J. R. Prasanthi, A. Huls, S. Thomasson, et al. Differential effects of 24-hydroxycholesterol and 27-hydroxycholesterol on beta-amyloid precursor protein levels and processing in human neuroblastoma SH-SY5Y cells, *Mol. Neurodegener.* 2009. 4 (1): 1 – 8.

[24] R. P. Jaya Prasanthi, Eric Schommer, Sarah Thomasson, et al. Regulation of β -amyloid levels in the brain of cholesterol-fed rabbit, a model system for

sporadic Alzheimer's disease, *Mechanisms of Ageing and Development*. 2008. 129 : 649 – 655.

[25] Bales K. R. , Verina T. , Dodel R. C. , et al. Lack of apolipoprotein E dramatically reduces amyloid beta-peptide deposition. *Nat. Genet.* 1997. 17: 263 – 264.

[26] Petanceska, Steven DeRosa, Ali Sharma, et al. Changes in Apolipoprotein E Expression in Response to Dietary and Pharmacological Modulation of Cholesterol, *Journal of Molecular Neuroscience*. 2003. Volume 20.

[27] Dik M. G. , Jonker C. , Bouter L. M. , et al. APOE- ϵ 4 is associated with memory decline in cognitively impaired elderly. *Neurology*. 2000. 54 (7) : 1492 – 1497.

[28] Ofri Levi, Iftach Dolev, Haim Belinson, et al. Intra-neuronal amyloid- β plays a role in mediating the synergistic pathological effects of apoE4 and environmental stimulation, *Journal of Neurochemistry*. 2007. 103: 1031 – 1040.

[29] Deane R, Sagare A, Hamm K et al. apoE isoform-specific disruption of amyloid beta peptide clearance from mouse brain. *J Clin Invest*. 2008. 118: 4002 – 4013.

[30] A. Papassotiropoulos, D. Lütjohann M. Bagli, S. Locatelli, et al. 24S-hydroxycholesterol in cerebrospinal fluid is elevated in early stages of dementia, *Journal of Psychiatric Research*. 2002. 36: 27 – 32.

[31] H Kölsch, D Lütjohann, M Ludwig, et al. Polymorphism in the cholesterol 24S-hydroxylase gene is associated with Alzheimer's disease, *Molecular Psychiatry*. 2002. 7: 899 – 902.

[32] James Brown, Catherine Theisler, Simone

Silberman, et al. Differential Expression of Cholesterol Hydroxylases in Alzheimer's Disease, *The Journal of Biological Chemistry*. 2004. August 13. 279 (33) : 34674 – 34681.

[33] Atiqur Rahman, Susanne Akterina, Amilcar Flores-Morales, et al. High cholesterol diet induces tau hyperphosphorylation in apolipoprotein E deficient mice, *FEBS Letters*. 2005. 579 : 6411 – 6416.

[34] Qi-Wen Fan, Wei Yu, Takao Senda, et al. Cholesterol-dependent modulation of tau phosphorylation in cultured neurons, *Journal of Neurochemistry*, 2001, 76: 391 – 400.

[35] Wang N. , Tall A. R. , Regulation and mechanisms of ATP-binding cassette transporter A1-mediated cellular cholesterol efflux. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol*. 2003. 23: 1178 – 1184.

[36] Afia Akram, James Schmeidler, Pavel Katsel, et al. Increased expression of cholesterol transporter ABCA1 is highly correlated with severity of dementia in AD hippocampus, *brain research* .2010. 1318: 167 – 177.

[37] Zlokovic B. V. . The blood – brain barrier in health and chronic neurodegenerative disorders. *Neuron*. 2008. 57: 178 – 201.

[38] Steve Meaney, Maura Heverin, Ute Panzenboeck, et al. Novel route for elimination of brain oxysterols across the blood-brain barrier: conversion into 7 α -hydroxy-3-oxo-4-cholestenoic acid. *Journal of Lipid Research*. 2007. 48: 944 – 951.

[39] M D M Haag, A Hofman, P J Koudstaal, et al. Statins are associated with a reduced risk of Alzheimer disease regardless of lipophilicity. *The Rotterdam Study, J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 2009, 80: 13 – 17.