

eases. *Microbes Infect*, 2009, 11(5): 625-630.

- [25] Axtell RC, de Jong BA, Boniface K, et al. T helper type 1 and 17 cells determine efficacy of interferon-beta in multiple sclerosis and experimental encephalomyelitis. *Nat Med*, 2010, 16(4): 406-412.
- [26] Komiyama Y, Nakae S, Matsuki T, et al. IL-17 plays an important role in the development of experimental autoimmune

encephalomyelitis. *J Immunol*, 2006, 177(1): 566-573.

- [27] Das SJ, Ciric B, Marek R, et al. Functional interleukin-17 receptor A is expressed in central nervous system glia and up-regulated in experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Neuroinflammation*, 2009, 6: 14.

## 组蛋白去乙酰化酶抑制剂在神经系统变性疾病中的治疗作用及其机制

臧雪风 综述 徐运 审校

南京大学医学院附属鼓楼医院神经科, 江苏省南京市 210008

**摘要:**组蛋白乙酰化在基因转录和表达方面具有关键作用,并与多种神经变性疾病的病理过程相关,因此,组蛋白去乙酰化酶抑制剂成为近年来的研究热点。本文概述了组蛋白去乙酰化酶抑制剂分类及其作用,并对组蛋白去乙酰化酶抑制剂在神经变性疾病中治疗作用的可能机制,如神经细胞的保护作用、促进神经营养因子的释放以及与疾病相关蛋白调节作用等方面进行综述。

**关键词:**组蛋白去乙酰化酶抑制剂;组蛋白去乙酰化酶;神经保护;神经变性疾病;细胞凋亡;神经营养因子;疾病相关蛋白

神经系统变性疾病(neurological degenerative diseases)是指遗传性或内源性原因造成的神经元变性和继发脱髓鞘病理性变化的慢性进展性疾病<sup>[1]</sup>。包括阿尔茨海默病(Alzheimer's Disease, AD)、帕金森病(Parkinson's Disease, PD)、脊髓小脑变性、运动神经元病(motor neuron disease, MND)、多系统萎缩(multiple system atrophy, MSA)等,具有起病隐袭、进展缓慢、病程迁延、临床表现多样化等特点。其发病机制复杂,目前尚无治愈方法。较多研究发现,组蛋白去乙酰化酶抑制剂(histone deacetylase inhibitor, HDACI)在多种神经系统变性疾病的模型中具有神经保护作用<sup>[2]</sup>。

### 1 HDACI 及其分类

许多疾病的发生与基因的转录异常相关,转录及转录后水平的修饰是治疗疾病的重要手段。组蛋白乙酰化在基因转录过程中具有重要的调控作用,而其水平的高低受到组蛋白乙酰化酶(histone

acetylation enzymes, HATs)和去乙酰化酶(histone deacetylases enzymes, HDACs)的共同调节。两种酶的相互作用维持生理性的组蛋白乙酰化水平。提高组蛋白乙酰化水平能够促进转录因子与特定的基因启动子相互作用,从而激活基因表达。而HDACs不仅引起染色质的压缩,并且经常作为转录阻遏复合物的一部分,起到抑制基因表达的作用<sup>[3]</sup>。因此,HDACI通过增强组蛋白乙酰化促进基因表达。

哺乳动物有18种HDAC,主要分为4型<sup>[4]</sup>:I型为HDAC 1、2、3和8;II型为HDAC 4、5、6、7、9和10;III型为SIRT1-SIRT7;IV型为HDAC-11。目前研究较多HDACI依据结构主要有以下几种<sup>[5]</sup>:①短链脂肪酸:包括丙戊酸、丁酸钠、苯丁酸等;②异羟肟酸(氧肟酸)类:包括曲古菌素A(TSA)、vorinostat和tubacin等;③环四肽类:包括depsipeptide(FK228)和缩酚酸肽等;④苯甲酰胺类:包括MS-

基金项目:国家自然科学基金(30670739)

收稿日期:2012-04-09;修回日期:2012-06-18

作者简介:臧雪风(1985-),男,在读硕士,主要从事神经系统疾病诊疗转化医学研究。

通讯作者:徐运(1961-),女,医学博士,主任医师教授,博士生导师,主要从事脑血管病与神经系统变性疾病基础及临床研究。

275 和 CI-994 等。⑤其他:烟酰胺和 AKG2 等。依据其选择性可以分为两大类:一类是对多种  $Zn^{2+}$  依赖型的 HDAC 亚型有抑制作用的“泛 HDAC”抑制剂,另一类是对特定 HDAC 亚型有抑制作用的“选择性抑制剂”。而目前大多数 HDACI 均为“泛 HDAC”抑制剂:TSA 和 vorinostat 可抑制大多数的  $Zn^{2+}$  依赖型的 HDACs (包括 HDAC6);丁酸钠和苯丁酸可抑制大部分的 I 型和 II 型 HDACs;丙戊酸可抑制 I 型和 IIa 型 HDAC,但对 IIb 型 HDAC 没有效果;烟酰胺可抑制 III 型 HDACs<sup>[2]</sup>。

既往的研究表明,HDACI 具有抑制肿瘤细胞生长<sup>[6]</sup>、减少脑卒中患者神经元损伤和促进其功能恢复<sup>[7]</sup>等治疗作用。近年来,更多的研究集中对神经系统变性疾病的作用及机制探讨。

## 2 HDACI 对神经系统变性疾病的治疗作用及其机制

HDACI 对神经系统变性疾病的作用机制较复杂,目前研究主要涉及:对神经细胞的保护作用,促进神经营养因子生成,对疾病相关蛋白的调节作用等。

### 2.1 HDACI 对神经细胞的保护作用

神经系统特定区域选择性的神经细胞凋亡是神经系统变性疾病的重要病理特征。在钾剥夺引起细胞凋亡模型中,HATs 表达减少且组蛋白乙酰化水平降低<sup>[8]</sup>。敲除秀丽隐杆线虫亨廷顿疾病 (Huntington's Disease, HD) 模型 *had-3* 基因可促进组蛋白乙酰化,并抑制 HTT-Q150 引起的神经退行性变<sup>[9]</sup>,可见组蛋白乙酰化水平对神经细胞存活具有重要意义。体外研究发现,HDACI (丙戊酸、丁酸钠和 TSA) 可以抑制  $MPP^{+}$  诱发的多巴胺能神经元的死亡<sup>[10]</sup>;Ryu 等<sup>[11]</sup>发现上述 HDACI 还可以保护谷胱甘肽缺乏诱发的大脑皮质神经元氧化应激损伤,其保护机制涉及 Sp1 的 DNA 结合活性区域的转录激活和组蛋白乙酰化。

各种神经系统变性疾病的动物研究也相继证实了 HDACI 的神经保护作用:在表达突变的亨廷顿蛋白的果蝇模型中,HDACI (vorinostat, TSA) 可以抑制神经元的变性和死亡;HDAC Rpd3 及 HDAC Sir2 (Sirt2) 分别是果蝇的锌离子依赖 HDAC 和烟酰胺腺嘌呤二核苷酸 (NAD) 依赖的 III 型 HDAC。Pallos 等<sup>[12]</sup>利用果蝇 HD 模型发现,分别抑制 HDAC Rpd3 或 HDAC Sir2 (Sirt2) 的表达可以提高果蝇的生存率和感光神经元的存活率,而当 Rpd3 和 Sir2

被同时抑制时,神经保护作用更为显著。Bea 等<sup>[13]</sup>利用 HDACI (苯丁酸钠) 治疗小鼠 PD 模型,显著改善了多巴胺的消耗和黑质神经元的丢失。

### 2.2 HDACI 对神经营养因子的促进作用

多种神经系统变性疾病存在神经营养因子的表达减少,如脑源性神经营养因子 (BDNF)、胶质细胞源性生长因子 (GDNF),从而抑制了神经细胞、髓鞘及突触的修复,加速疾病的进展<sup>[14]</sup>。Yasuda 等<sup>[15]</sup>发现利用 HDACI (丙戊酸,丁酸钠或者 TSA) 刺激体外培养的大鼠大脑皮质神经元,BDNF 分泌显著增加,其机制可能与 BDNF 启动子 IV 的激活相关。丙戊酸还可以通过刺激 GDNF 的释放从而发挥保护多巴胺能神经元的作用<sup>[16]</sup>。BDNF 和 HSP70 的缺失参与 HD 发病的病理生理过程<sup>[17]</sup>,I 型和 II 型 HDAC 抑制剂能够上调 BDNF 和 HSP70 水平,TSA 和 vorinostat 通过抑制 HDAC6 增强微管蛋白的乙酰化作用,从而增加 BDNF 的泡膜转运<sup>[18]</sup>,改善 HD 模型中 BDNF 的转运缺陷。但是,HDAC6 在 HD 的发病机制中也具有一定的有益作用,其可以通过调节微管蛋白和动力蛋白的运输增强自噬-溶酶体系统清除突变的亨廷顿蛋白<sup>[19]</sup>,起到神经保护作用。由此可见 HDACI 在各种神经变性疾病中促进了神经营养因子的表达。

### 2.3 HDACI 对疾病相关蛋白的调节作用

在阿尔茨海默病、帕金森病、脊髓性肌萎缩症 (spinal muscular atrophy, SMA) 等疾病中存在蛋白的异常表达,HDACI 对其具有调控作用,其机制不尽相同。

在 Tg2576 大鼠的 AD 模型中,HDACI (苯丁酸) 能够清除神经元内的淀粉样蛋白聚集物,减轻内质网应激,增加海马 CA1 部位锥体神经元的树突棘密度,从而显著改善学习和记忆能力<sup>[20]</sup>。同样,在 APP23 转基因小鼠的 AD 模型中,每天注射低剂量的丙戊酸明显减少  $A\beta$  斑块的数量,并改善记忆能力<sup>[21]</sup>。而烟酰胺可以选择性减少 Tau 蛋白 Thr231 位点的磷酸化水平,增加乙酰化的  $\alpha$ -微管蛋白 (SIRT2 的主要底物),抑制 Tau 蛋白形成,改善记忆功能<sup>[22]</sup>。丙戊酸可增加 SMA 的 SMN 蛋白、抗凋亡蛋白 Bcl-2 和 Bcl-XL 的水平,从而减轻 SMA 模型小鼠的病理损害,延长其生存年限<sup>[23]</sup>。

家族性 PD 与  $\alpha$ -同型核蛋白的突变相关,细胞核的  $\alpha$ -同型核蛋白和组蛋白结合,抑制包括 CBP、p300 和 P/CAF 在内的 HATs 的活性,引起人类神

经母细胞瘤组蛋白的低乙酰化和细胞的凋亡<sup>[24]</sup>。但是,  $\alpha$ -同型核蛋白在细胞质的积累对神经具有保护作用。体内及体外试验均证实 HDACI (丁酸钠, vorinostat) 可以增加细胞质内  $\alpha$ -同型核蛋白的表达<sup>[24]</sup>; SIRT2 的选择性抑制剂 AGK2 能够抑制果蝇 PD 模型中  $\alpha$ -同型核蛋白在细胞核内的表达, 抑制多巴胺能神经元的变性<sup>[25]</sup>。

## 2.4 其他

谷氨酸盐的过度表达引起的兴奋性氨基酸中毒, 参与许多神经变性疾病病理生理发展过程。Leng 等<sup>[26]</sup>研究证实利用丙戊酸、苯丁酸和 TSA 可以治疗由谷氨酸盐引起的小脑神经元细胞的兴奋性神经毒性, 并伴随转录激活和  $\alpha$ -同型核蛋白的表达增加。HDAC4 从肌肉神经节点转移到细胞核, 可下调 MEF2 相关基因表达, 最终引起肌萎缩侧索硬化 (amyotrophic lateral sclerosis, ALS) 和肌肉损害<sup>[27]</sup>, 因此, 选择性抑制 HDAC4 可能有助于整个运动单位的健全, 改善 ALS 症状。Guan 等<sup>[28]</sup>发现过度表达 HDAC2 而不是 HDAC1 的小鼠表现出树突棘密度、突触可塑性和突触数量的降低, 以及记忆力障碍的形成。经过 vorinostat 治疗后, 小鼠的记忆力障碍得到改善。这些发现强调了突触可塑性和记忆形成的调节与 HDAC2 的染色质修饰作用相关。

然而, 并非所有 HDAC 亚型的抑制都具有神经保护作用。有些基因在 HDAC 抑制剂的作用下产生导致细胞中毒和死亡的产物<sup>[29]</sup>。对秀丽隐杆线虫的 HD 模型研究发现, 敲除 had-1 基因 (线虫的 HDAC-1) 增强了多聚谷氨酰胺的神经毒性<sup>[28]</sup>。Kim 等<sup>[30]</sup>也认为 HDAC1 的失活诱发了异常的细胞周期活动和 DNA 双链的断裂, 加速了神经元的凋亡, 提示 HDAC1 具有明显的神经保护作用。

## 3 HDACI 的临床应用

目前, HDACI 对神经变性疾病临床研究为数尚少, 一方面原因是 HDACI 对神经变性疾病的作用机制不清, 另一方面, 许多神经变性疾病本身病程比较长, 给临床试验带来了一定的难度。但是在为数不多的临床研究中也发现了 HDACI 潜在的治疗作用: 在 AD 患者的大脑皮质发现  $A\beta$  和高度磷酸化的 tau 蛋白的聚集与 SIRT1 的减少具有密切相关性<sup>[31]</sup>, 提示 SIRT1 很可能对 AD 有治疗效果。在美国, 苯丁酸钠治疗 ALS 病人已进入临床二期试验。对 26 位参加者进行 20 周的用药, 控制在每天

9 ~ 20 g 的剂量范围内, 没有出现明显的不良反应, 同时血液中的组蛋白乙酰化水平升高<sup>[32]</sup>。然而, 亦有研究发现 HDACI 对神经退行性疾病并无改善作用。例如, Piepers 等<sup>[33]</sup>就丙戊酸治疗 ALS 病人进行了临床试验, 结果是丙戊酸并没有延缓 ALS 病人的进展。这也再次提示组蛋白去乙酰化酶抑制剂对某种神经变性疾病作用机制的复杂性和多样性。

## 4 总结与展望

综上所述, HDACI 通过多种机制参与了神经变性疾病病理生理过程。尽管研究结果不尽相同, 但是大部分 HDACI 具有显著的神经保护作用。然而目前的研究也存在一定的局限性, 主要表现在: ①大多数是对泛 HDACI 的研究, 而缺少对选择性 HDACI 的研究; ②神经系统变性疾病病程较长, 缺乏对病程各阶段的组蛋白乙酰化水平及其抑制剂的研究; ③尚未进行大规模的临床试验及 HDACI 不良反应研究。因此, 我们期待更多对 HDACI 的基础和临床研究, 为神经系统退行性疾病的治疗提供新的临床思路。

## 参 考 文 献

- [1] Mai A, Rotili D, Valente S, et al. Histone deacetylase inhibitors and neurodegenerative disorders: holding the promise. *Curr Pharm Des*, 2009, 15 (34): 3940-3957.
- [2] Chuang DM, Leng Y, Marinova Z, et al. Multiple roles of HDAC inhibition in neurodegenerative conditions. *Trends Neurosci*, 2009, 32 (11): 591-601.
- [3] Huang Y, Marton LJ, Woster PM, et al. Polyamine analogues targeting epigenetic gene regulation. *Essays Biochem*, 2009, 46: 95-110.
- [4] Carey N, La Thangue NB. Histone deacetylase inhibitors: gathering pace. *Curr Opin Pharmacol*, 2006, 6 (4): 369-375.
- [5] Itoh Y, Suzuki T, Miyata N. Isoform-selective histone deacetylase inhibitors. *Curr Pharm Des*, 2008, 14 (6): 529-544.
- [6] Hoshino I, Matsubara H. Recent advances in histone deacetylase targeted cancer therapy. *Surg Today*, 2010, 40 (9): 809-815.
- [7] Langley B, Brochier C, Rivieccio MA. Targeting histone deacetylases as a multifaceted approach to treat the diverse outcomes of stroke. *Stroke*, 2009, 40 (8): 2899-2905.
- [8] Rouaux C, Jokic N, Mbebi C, et al. Critical loss of CBP/p300 histone acetylase activity by caspase-6 during neurodegeneration. *EMBO J*, 2003, 22 (24): 6537-6549.

- [9] Bates EA, Victor M, Jones AK, et al. Differential contributions of *Caenorhabditis elegans* histone deacetylases to huntingtin polyglutamine toxicity. *J Neurosci*, 2006, 26 (10): 2830-2838.
- [10] Wu X, Chen PS, Dallas S, et al. Histone deacetylase inhibitors up-regulate astrocyte GDNF and BDNF gene transcription and protect dopamine ergic neurons. *Int J Neuropsychopharmacol*, 2008, 11 (8): 1123-1134.
- [11] Ryu H, Lee J, Olofsson BA, et al. Histone deacetylase inhibitors prevent oxidative neuronal death independent of expanded polyglutamine repeats via an Spl-dependent pathway. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100 (7): 4281-4286.
- [12] Pallos J, Bodai L, Lukacsovich T, et al. Inhibition of specific HDAC's disease. *Hum Mol Genet*, 2008, 17 (23): 3767-3775.
- [13] Gardian G, Yang L, Cleren C, et al. Neuroprotective effects of phenylbutyrate against MPTP neurotoxicity. *Neuromolecular Med*, 2004, 5 (3): 235-241.
- [14] Hibi Y, Nitta A, Nabeshima T, et al. Possible relation of BDNF and GDNF to neuropsychiatric disorders. *Nihon Shinkei Seishin Yakurigaku Zasshi*, 2009, 29 (2): 85-89.
- [15] Yasuda S, Liang MH, Marinova Z, et al. The mood stabilizers lithium and valproate selectively activate the promoter IV of brain-derived neurotrophic factor in neurons. *Mol Psychiatry*, 2009, 14 (1): 51-59.
- [16] Chen PS, Peng GS, Li G, et al; Valproate protects dopaminergic neurons in midbrain neuron/glia cultures by stimulating the release of neurotrophic factors from astrocytes. *Mol Psychiatry* 2006, 11 (12): 1116-1125.
- [17] Wacker JL, Huang SY, Steele AD, et al. Loss of Hsp70 exacerbates pathogenesis but not levels of fibrillar aggregates in a mouse model of Huntington's disease. *J Neurosci*, 2009, 29 (28): 9104-9114.
- [18] Gao YS, Hubbert CC, Yao TP. The microtubule-associated histone deacetylase 6 (HDAC6) regulates epidermal growth factor receptor (EGFR) endocytic trafficking and degradation. *J Biol Chem*, 2010, 285 (15): 11219-11226.
- [19] Pandey UB, Nie Z, Batlevi Y, et al. HDAC6 rescues neurodegeneration and provides an essential link between autophagy and the UPS. *Nature*, 2007, 447 (7146): 859-863.
- [20] Ricobaraza A, Cuadrado-Tejedor M, Marco S, et al. Phenylbutyrate rescues dendritic spine loss associated with memory deficits in a mouse model of Alzheimer disease. *Hippocampus*, 2012, 22 (5): 1040-1050.
- [21] Qing H, He G, Ly PT, et al. Valproic acid inhibits Abeta production, neuritic plaque formation, and behavioral deficits in Alzheimer's disease mouse models. *J Exp Med*, 2008, 205 (12): 2781-2789.
- [22] Green KN, Steffan JS, Martinez-Coria H, et al. Nicotinamide restores cognition in Alzheimer's disease transgenic mice via a mechanism involving sirtuin inhibition and selective reduction of Thr231-phosphotau. *J Neurosci*, 2008, 28 (45): 11500-11510.
- [23] Avila AM, Burnett BG, Taye AA, et al. Trichostatin A increases SMN expression and survival in a mouse model of spinal muscular atrophy. *J Clin Invest*, 2007, 117 (3): 659-671.
- [24] Kontopoulos E, Parvin JD, Feany MB. Alpha-synuclein acts in the nucleus to inhibit histone acetylation and promote neurotoxicity. *Hum Mol Genet*, 2006, 15 (20): 3012-3023.
- [25] Outeiro TF, Kontopoulos E, Altmann SM, et al. Sirtuin 2 inhibitors rescue alpha-synuclein-mediated toxicity in models of Parkinson's disease. *Science*, 2007, 317 (5837): 516-519.
- [26] Leng Y, Chuang DM. Endogenous alpha-synuclein is induced by valproic acid through histone deacetylase inhibition and participates in neuroprotection against glutamate-induced excitotoxicity. *J Neurosci*, 2006, 26 (28): 7502-7512.
- [27] Cohen TJ, Barrientos T, Hartman ZC, et al. The deacetylase HDAC4 controls myocyte enhancing factor-2-dependent structural gene expression in response to neural activity. *FASEB J*, 2009, 23 (1): 99-106.
- [28] Guan JS, Haggarty SJ, Giacometti E, et al. HDAC2 negatively regulates memory formation and synaptic plasticity. *Nature*, 2009, 459 (7243): 55-60.
- [29] Glaser KB, Li J, Staver MJ, et al. Role of class I and class II histone deacetylases in carcinoma cells using siRNA. *Biochem Biophys Res Commun*, 2003, 310 (2): 529-536.
- [30] Kim D, Frank CL, Dobbin MM, et al. Deregulation of HDAC1 by p25/Cdk5 in neurotoxicity. *Neuron*, 2008, 60 (5): 803-817.
- [31] Julien C, Tremblay C, Emond V, et al. Sirtuin 1 reduction parallels the accumulation of tau in Alzheimer disease. *J Neuropathol Exp Neurol*, 2009, 68 (1): 48-58.
- [32] Cudkovic ME, Andres PL, Macdonald SA, et al. Phase 2 study of sodium phenylbutyrate in ALS. *Amyotroph Lateral Scler*, 2009, 10 (2): 99-106.
- [33] Echaniz-Laguna A, Bousiges O, Loeffler JP, et al. Histone deacetylase inhibitors: therapeutic agents and research tools for deciphering motor neuron diseases. *Curr Med Chem*, 2008, 15 (13): 1263-1273.