

24-脱氢胆固醇还原酶 DHCR24 的研究进展

侯芳芳¹ 刘振青¹ 刘剑利¹ 曹向宇¹ 高兵² 芦秀丽^{1*}

(¹ 辽宁大学生命科学院, 沈阳 110036; ² 沈阳医学院, 沈阳 110034)

摘要 *DHCR24* 基因编码 3 β -脱氢胆固醇- Δ 24 还原酶, 催化链甾醇到胆固醇的合成。最近的研究显示 *DHCR24* 还是一个具有抗细胞凋亡作用的多功能蛋白。它可以通过抑制 caspase-3 活性发挥抑制神经细胞凋亡的作用, 还能够作为雌激素、IGF-1 以及甲状腺激素等激素的调节子在激素的神经保护及神经细胞发育调节中发挥作用。此外, 研究表明 *DHCR24* 还能通过清除过氧化氢对抗氧化应激引起的细胞凋亡。因此 *DHCR24* 的抗细胞凋亡可能是通过多种途径实现的。深入研究 *DHCR24* 的抗细胞凋亡功能及其表达调控, 将为神经退行性疾病以及其他以氧化应激为分子机制的常见病的治疗提供新的思路和方法。

关键词 *DHCR24*; 抗细胞凋亡; 神经保护作用; 氧化应激

2000年, Greeve 等^[1]使用差异性 mRNA 展示技术首次鉴定出 *DHCR24* 基因。与阿尔茨海默症 (Alzheimer's disease, AD) 患者的未受损区域前皮层相比, *DHCR24* 基因在受损脑组织下颞叶皮层中的表达显著性下降, 而在未患病的患者脑中两个区域的表达相等, 暗示 *DHCR24* 具有神经保护作用^[2]。这个基因当时被命名为 *seladin-1* (selective Alzheimer's disease indicator-1)。2001年, 日本的研究小组等也发现在肾上腺肿瘤患者中, *DHCR24* 在肿瘤组织中的表达显著增加, 而且这种增加与肿瘤组织中降低的细胞凋亡密切相关, 暗示了 *DHCR24* 具有抗细胞凋亡作用, 而该基因也因为其结构与植物甾醇合成过程中的氧化还原酶类 DIMINUTO/DWARF1 同源而被命名为 human DIMINUTO/DWARF1。随即的研究发现 *DHCR24* 基因编码人类 3 β -脱氢胆固醇- Δ 24 还原酶 (3 β -hydro-xysteroid- Δ 24 reductase, *DHCR24*), 催化胆固醇生物合成过程中最后一步链甾醇转化为胆固醇的过程, 因此其基因名称在随后的研究中统一为 *DHCR24*。人类 *DHCR24* 基因的变异以血液中胆固醇的缺失和链甾醇的堆积为特征, 表现为严重的生长发育缺陷, 称为胆甾醇血症 (Desmosteroidosis, OMIM 602398)^[3]。近年来研究表明, *DHCR24* 除了具有胆固醇还原酶活性以外, 还发现它是一个具有抗细胞凋亡活性的多功能蛋白质。本文拟对 *DHCR24* 的基因结构, 组织分布以及其多样的抗细胞凋亡机制进行综述。

1 *DHCR24* 的结构和组织分布

DHCR24 基因大小约 46.4 Kb, 位于染色体 1p31.1-p33, 包含 9 个外显子和 8 个内含子, 编码一个含有 516 个氨基酸残基的开放阅读框架。生物信息学预测显示其肽链的 N 端存在跨膜信号肽 (图 1)。以表达 *DHCR24*-GFP 融合蛋白的质粒转染人类 H4 神经胶质瘤细胞的研究显示, *DHCR24* 大部分定位在内质网中, 说明了与生物信息学预测结果的一致性。*DHCR24* 序列中还含有与 FAD 等非共价结合的保守结构域, 表现出 FAD- 依赖型氧化还原酶类家族的特征^[4]。实际上, *DHCR24* 具有与植物甾醇氧化还原酶类序列明显的同源性的特征, 因此也被命名 human DIMINUTO/DWARF1。植物 DIMINUTO/DWARF1 参与油菜素甾醇类生物合成过程, 并且在甾醇新陈代谢中与 *DHCR24* 有近似的关键性作用^[5]。不过, *DHCR24* 蛋白的一级序列与已知的其它的人类或者酵母的甾醇还原酶类没有序列相似性, 也没有 NADPH 结合的共同序列, 暗示了 *DHCR24* 除了作为胆固醇合成还原酶以外, 可能还具有其他方面的生理功能。

除了脑组织, 还在许多其它的人类组织中发现 *DHCR24* mRNA 的存在, 并且在肾上腺、肝脏、肺和前列腺中显示出高水平的表达。其表达的广泛性, 暗示了 *DHCR24* 生理功能的广泛性和多样性。

收稿日期: 2010-01-19 接受日期: 2010-08-30

国家自然科学基金 (No.30800575) 和辽宁省教育厅自然科学基金 (No.2009A304) 资助项目

* 通讯作者。Tel: 024-62202232, E-mail: luxuliudr@gmail.com



Fig. 1 The amino acid sequences of DHCR24

2 DHCR24的生物学功能

2.1 DHCR24 通过合成胆固醇发挥其生理作用

2.1.1 DHCR24脱氢胆固醇还原酶活性 DHCR24催化还原所有的羊毛甾醇和链甾醇中间体 $\Delta 24$ 位双键的还原^[6], 特别是将羊毛甾醇还原成二氢羊毛醇, 链甾醇还原为胆固醇(图 2)。

2.1.2 DHCR24 通过合成胆固醇在人类的生长发育中发挥作用 在人类中, DHCR24突变体导致链甾醇血症(OMIM 602398), 这是一种少见并严重的常染色体隐性遗传畸形综合症, 其病理学特征为血浆和组织中积累链甾醇, 并且伴有多重的先天异常和严重的智力低下。目前, 已报导的能够独立降低 DHCR24活性的错义突变体有四个(E191K、N294T、K306N和Y471S)(图 1)^[3]。由于链甾醇血症患者的胆固醇前体物质链甾醇的原生质水平提高, 暗示了DHCR24催化 $\Delta 24$ 位双键还原酶的活性的降低, 导致链甾醇转化成Hedghog信号通路分子胆固醇的过程受阻^[7,8]。Hedghog通路是一个在胚胎阶段调控多种组织器官发

育的重要的信号通路。Hedghog蛋白是一种分泌蛋白, 需要胆固醇参与的自身修饰才能获得活性^[9]。胆固醇缺乏导致调节发育和分化过程Hedghog信号转导通路功能异常, 最终产生了严重的先天发育异常和智力低下症状。生物学家构建了DHCR24基因敲除小鼠^[10], 并发现DHCR24^{-/-}小鼠的血浆和组织中完全不含有胆固醇, 但是有显著的链甾醇的积累。这些DHCR24^{-/-}小鼠在出生时体积上比DHCR24^{+/+}小鼠和同窝出生的DHCR24^{+/+}小鼠要小25%左右, 随后因一种致命的皮肤病和一些其他的发育缺陷等而在出生几小时以后死亡^[11], 此发现与人类由于链甾醇血症产生的严重的表型缺陷相一致。

2.1.3 DHCR24 通过合成胆固醇发挥神经保护作用胆固醇在神经系统中的作用尚存在争议。一方面, 胆固醇在神经退行性疾病中可能是一种毒性因子。有报道称, 在AD的体外试验和众多的动物模型中, 升高的血浆胆固醇水平促进了 β -淀粉样蛋白的形成^[12]。而关于载脂蛋白E的 $\epsilon 4$ 等位变异(该变异导致载脂蛋

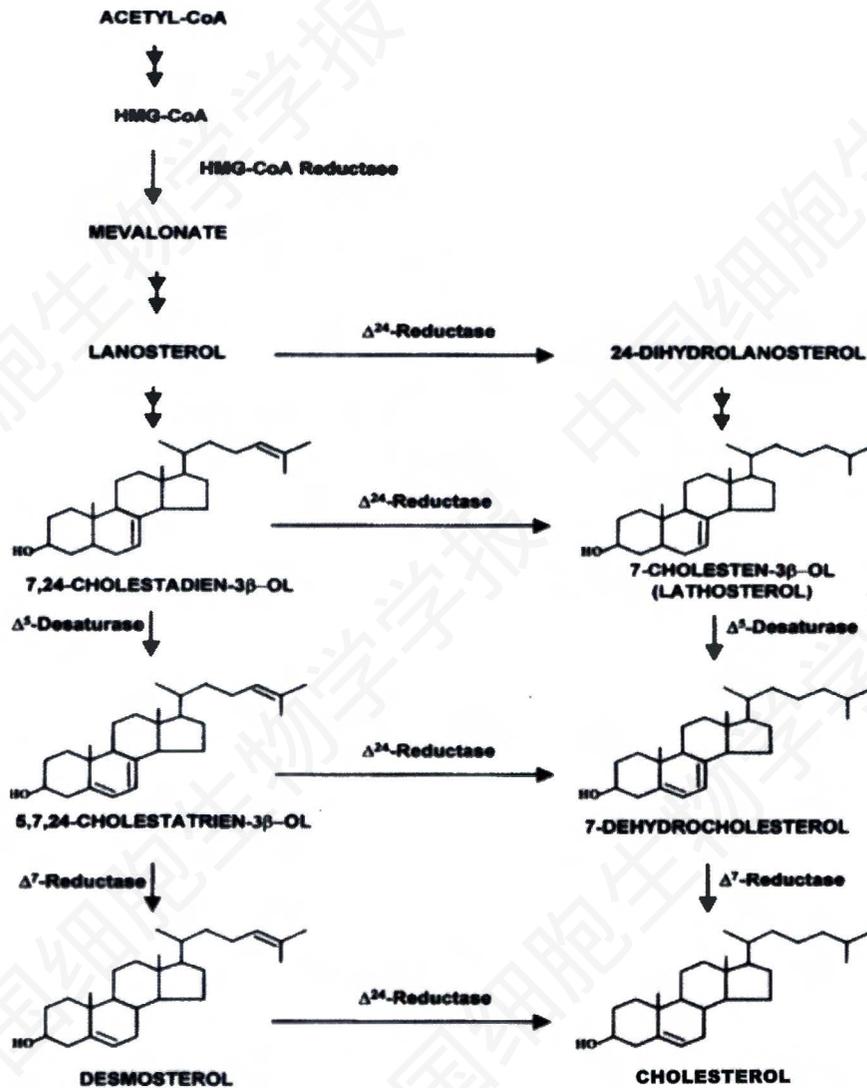


Fig. 2 DHCR24 catalyses cholesterol biosynthetic reaction

白携带胆固醇能力增强)作为一个AD主要的遗传风险因子的认识, 早已被广泛接受。相应的流行病学的研究暗示HMG-CoA Reductase(一种胆固醇合成限速酶)抑制剂 statin 类药物的治疗可能会通过降低胆固醇的合成来提供神经保护作用, 从而降低AD的发病率。然而另一方面, 更多的研究则认为胆固醇在神经系统中更多的时候发挥神经保护作用, 这是因为中央神经系统(CNS)是胆固醇代谢的唯一器官。事实上, 尽管CNS只占整个身体总量的2%, 但是它包含了整个身体中全部非酯化胆固醇的25%。毋庸置疑, 几个研究都指出了神经细胞内含有胆固醇的事实, 特别是神经细胞膜上胆固醇的含量比血浆胆固醇的含量高得多^[13]。在这种情况下, 膜胆固醇适当的含量可能会形成一个抵抗毒力损伤的屏障。如果去除细胞膜胆固醇, 将会抑制细胞膜与毒力因子例如 β -

淀粉样蛋白的相互作用, 从而影响一种不规则数量的膜钙离子通道, 导致钙的毒力水平的累积。

DHCR24可能是通过合成胆固醇而在胆固醇所致神经系统的生理病理过程中发挥效用。最新的研究表明, *DHCR24*基因的过表达或聚乙二醇-胆固醇的添加, 都是通过提高胆固醇的浓度而增加了对 β -淀粉样蛋白细胞毒性的抵抗作用, 并阻止了神经细胞的钙内流。与这个结果相一致的研究表明, 用DHCR24抑制剂处理以及施用甲基- β 环糊精(一种胆固醇螯合剂)均通过降低细胞膜胆固醇的浓度而增加了神经细胞对 β -淀粉样蛋白所致细胞凋亡的敏感性^[14]。此外, 有试验表明, 在AD患者的神经细胞膜上, 或者是啮齿类动物海马的神经元上, 胆固醇的适度减少促进了淀粉样蛋白形成酶 β -分泌酶和淀粉样蛋白前体蛋白APP的相互作用, 导致了 β -淀粉样蛋白的产生提

高,说明细胞胆固醇的含量也直接影响淀粉样化^[15]。进一步的小鼠试验结果表明,*DHCR24*缺陷导致的小鼠大脑胆固醇水平降低,伴随着APP和 β -淀粉样蛋白升高。相反,神经细胞瘤中*DHCR24*的高表达提高了胆固醇水平,降低了APP的产生^[16],这个结果暗示神经元上膜胆固醇的降低增加了膜和 β -淀粉样蛋白的相互作用,并且加重了AD中的淀粉样化(图3)。总之,关于*DHCR24*基因的神经保护作用的研究结果证实,细胞中胆固醇的最佳含量对于保持脑稳态是至关重要的。

除了通过胆固醇合成还原酶活性发挥神经保护作用以外,我们先前利用*DHCR24*基因敲除小鼠的胚胎纤维细胞原代培养的研究证实,*DHCR24*通过合成胆固醇,维持细胞器结构,从而在insulin-Akt-Bad信号级联中发挥细胞保护作用^[17]。由于细胞器/脂质筏在信号转导通路中发挥作用的广泛性,这一研究提示了*DHCR24*可能在其他组织细胞类型中也能发挥类似的细胞保护作用。

2.2 *DHCR24* 基因是一种新发现的雌激素介导的神经保护作用的效应物

AD是一种在妇女中比较常见的疾病。众所周之,绝经期妇女降低的雌激素水平是这种疾病的风险因子^[18]。体外试验证明,雌激素通过刺激神经妥乐平和神经存活因子产生向神经性和神经保护效应,增强突触可塑性,因而是一种抗氧化因子^[19],并且被认为是治疗AD的传统手段之一。尽管缺少共识,一些研究仍然暗示雌激素治疗可能会降低风险或者推迟绝经后妇女AD疾病的发生^[20]。事实上,人们已经开始研究一些选择性雌激素受体调节剂(Selective Estrogen Receptor Modulators, SERMs)的神经保护作用^[21]。例如,在大鼠神经元中发现两种常用的SER调节剂它莫昔芬(tamoxifen)和雷洛昔芬(raloxifene)具有神经保护作用,而且二者均可以抵抗 β -淀粉样蛋白的细胞毒性作用^[22,23]。

Greeve等^[1]的前期研究结果认为,*DHCR24*可以通过抑制caspase-3的活性来对抗神经细胞中氧化应激诱导的细胞凋亡。因此为了确定*DHCR24*是否是雌激素受体介导的神经保护通路中位于下游的一个效应靶点,Peri的研究小组^[24]采用人类胚胎神经元前体的唯一一种细胞模型,即能够表达雌激素受体

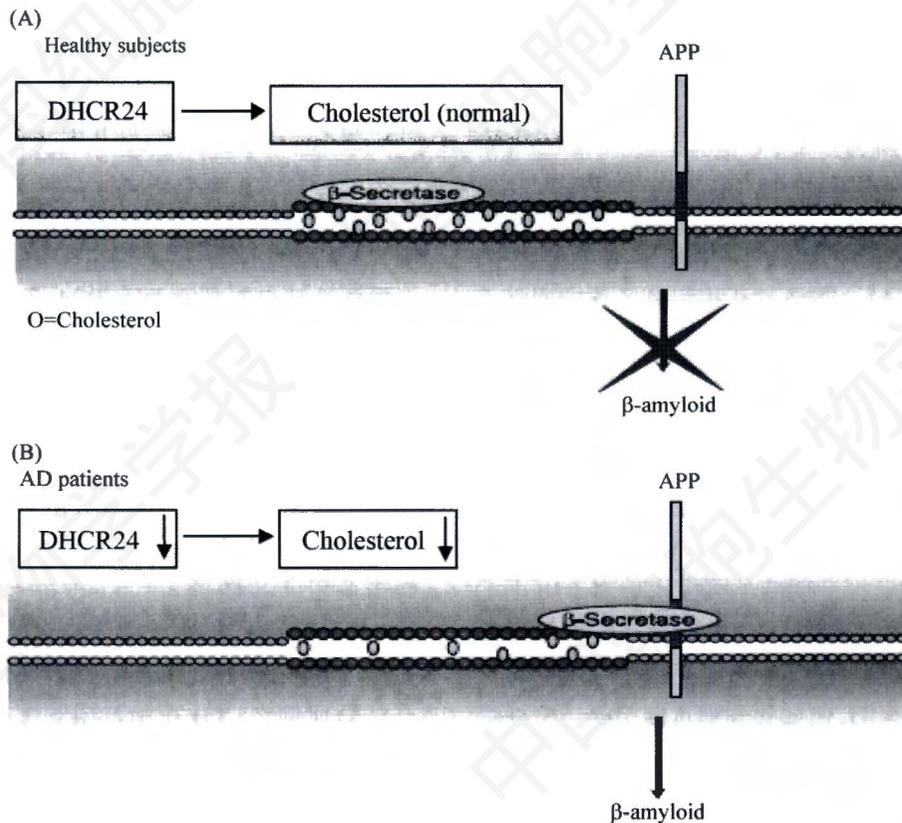


Fig. 3 The relationship between *DHCR24*, membrane cholesterol and β -amyloid protein generation

(estrogen receptor, ER) α 和 β 的胚胎神经上皮细胞(FNC)进行研究。FNC 细胞具有成熟的嗅觉受体神经元的特点^[25]。利用该细胞模型,研究者首先肯定了雌激素/SERMs 在脑中的神经保护作用。实际上,17 β -雌二醇也能够刺激细胞增殖并显著地抵抗 β -淀粉样蛋白和过氧化氢介导的细胞毒性^[24]。17 β -雌二醇、它莫昔芬以及低浓度的雷洛昔芬能够有效地保护 FNC 细胞免于 β -淀粉样蛋白的毒性。进一步的研究证实,FNC 细胞中 17 β -雌二醇有效地抑制了 β -淀粉样蛋白诱导的细胞凋亡。在接下来的研究中证明,FNC 细胞显现出组成型表达(constitutively express) *DHCR24* 基因,并且 17 β -雌二醇、它莫昔芬以及雷洛昔芬均能够增加 *DHCR24* mRNA 的含量。选择性 ER α 激动剂(propylpyrazole-triol)显著地增加了 *DHCR24* 的表达,而选择性 ER β 激动剂(diarylpropionitrile)增加 *DHCR24* 表达的效果却不够明显。这些发现暗示 ER α 在雌激素刺激诱导的 *DHCR24* 表达中发挥主要作用。由此可以推测, *DHCR24* 可能是作为雌激素/SERMs 神经保护作用的一个调节子(modulator)发挥作用。

最近发表的一项研究结果支持了这一假设^[26]。Luciani 等^[26]证明,应用 siRNA 干扰技术沉默 *DHCR24* 基因的表达后,由 17 β -雌二醇对 β -淀粉样蛋白和氧化应激所致细胞毒性的保护作用消失了。计算机辅助分析进一步显示了 *DHCR24* 编码区上游存在 half-EREs (Estrogen Responsive Elements, EREs)。研究者将这个区域跨度大约 1 500 bp 的序列克隆进荧光报告载体后,与 ER α 表达质粒共转染进 CHO 细胞。结果显示 17 β -雌二醇、雷洛昔芬和它莫昔芬均增强了荧光素酶的活性,证明了 *DHCR24* 基因启动子对雌激素的应答活性。这项研究为 *DHCR24* 基因是雌激素神经保护作用的一个重要的调节子提供了一个直接的证据。

2.3 *DHCR24* 是 IGF-1 保护存活效应的一个调节子

一些有力的证据证明胰岛素样生长因子(IGF-1)系统在神经系统例如神经元生长、代谢、存活以及再生中发挥重要的作用^[27]。然而高浓度葡萄糖对神经细胞可能是有害的,例如葡萄糖可能引起一些神经细胞的改变,包括改变转录和翻译、离子通道功能障碍、改变轴突运输、脱髓鞘、AGE 形成和损伤神经营养供给等^[28]。因此有学者认为某些糖尿病神经病变可能与直接的或间接的葡萄糖水平有关。有

证据证明,与持续地给予高糖相比,间断的高糖环境的暴露似乎更容易产生糖尿病,对细胞更加有害,这可以在内皮、肾小球系膜、肾小管细胞和成纤维细胞中观察到^[29]。然而,这些研究并没有考虑到间断的高糖浓度对神经细胞生长和 IGF 系统的作用。有趣的是,很多神经细胞中都同时表达 IGF-1 受体和雌激素受体,而且发现雌激素能够激活 IGF-1 受体及其信号转导通路。由于 *DHCR24* 被证明与雌激素介导的神经保护作用有关,有研究者推测 *DHCR24* 可能在 IGF-1 的神经保护作用中也发挥类似的作用,并再次使用 FNC 细胞作为体外细胞模型证实了这一点。他们证明 FNC 细胞表达 IGF-1 受体(IGF-1R),并且合成和释放 IGF-1、IGFBP2 和 IGFBP4,但是没有 IGFBP1、IGFBP3、IGFBP5 以及 IGFBP6^[30]。间断地给予高浓度葡萄糖刺激显著地降低了 FNC 细胞的生长,增加了其细胞凋亡的发生并且破坏了 IGF 系统。有意思的是,IGF-1 显著增加了 *DHCR24* 的表达,而相反高糖环境却降低了其表达。另外,17 β -雌二醇的添加也显著增加了细胞培养基 IGF-1 的释放。这些结果暗示了 *DHCR24* 也是 IGF-1 神经保护效应的调节子,而且在雌激素、IGF-1 与 *DHCR24* 之间可能存在着某种“对话(crosstalk)”。当然其详细机制需要进一步证明,例如在沉默 *DHCR24* 基因后评价 IGF-1 的神经保护作用以及高糖的细胞毒性所受影响等。总之,这些发现暗示 IGF-1 系统的破坏可能是葡萄糖毒性产生糖尿病性神经疾患的机制之一。*DHCR24*、雌激素和 IGF-1 之间的相互作用也需要进一步验证。特别需要指出的是,IGF-1 和 17 β -雌二醇都能够直接刺激 *DHCR24* 这一神经保护因子的表达,而且 17 β -雌二醇还能够通过增加 IGF-1 的释放,使 IGF-1 以一种自分泌环的形式反过来结合到 IGF-1 受体(IGF-1R)上增强 IGF 信号通路作用,从而间接地刺激 *DHCR24* 的表达。但是 IGF-1 刺激的 *DHCR24* 表达是通过 IGF-1/IGF-1R 结合的直接效果,还是由 IGF-1R 和 ER 复合体之间的相互作用所介导尚需要进一步验证。

2.4 *DHCR24* 基因作为促进脑发育过程中甲状腺激素(Thyroid Hormone, TH)效应的调节子

众所周之,TH 在胎儿期发挥重要的作用,特别是促进脑发育。TH 影响相关基因的表达,例如细胞迁移(如层粘连蛋白、键糖蛋白 C)、髓鞘形成(如髓磷脂碱基蛋白、蛋白脂蛋白、髓鞘相关糖蛋白)和神经元分化(如神经生长因子 NGF,脑源亲神经因子

BDNF)等过程相关的基因^[31]。因此,大鼠中早期的母源低甲状腺素血症改变了胚胎的脑组织发生和细胞构建^[32];在妇女妊娠早期中无法鉴别的甲状腺功能减退对后代神经生理的发展会产生不利影响^[33]。在胚胎和成熟的哺乳动物中也有证据支持 TH 在 AD 患者的前脑胆碱能神经元的生长和维护中发挥重要作用^[34]。因此,可以假设 DHCR24 可能是脑中 TH 效应的调节子。使用 FNC 细胞和人类间质干细胞(hMSC)作为细胞模型代表神经元前体细胞。选择 hMSC 细胞是由于这种细胞与神经元干细胞相比更易获得,可能会更容易地分化成神经元^[35]。形态学、免疫细胞化学和电生理学的综合证据首次证实 FNC 细胞和 hMSC 细胞都能够表达 TH 受体, T3 能够促进神经元表型的分化^[36]。另外, T3 和少量的 T4 显著增加了在这两种细胞中的 DHCR24 的表达,并且有效地抵抗了由喜树碱诱导的细胞凋亡。然而, hMSC 细胞与成熟的神经元细胞 hMSC-n 不同。成熟的神经元细胞中 DHCR24 的表达与未分化的细胞相比显著的降低,并且不受 TH 的影响。这个发现与动物体内研究的类似观察相一致,即大部分 TH 调节的基因只有在脑发育的有限的时间间隔内敏感^[37]。进一步的研究例如用 DHCR24 “沉默”细胞也许可以证实这个观点。然而, DHCR24 基因的抗凋亡作用也可以使我们得出这样的假设,即在发育的脑中增长的 DHCR24 基因的水平可能保护神经元前体细胞免于死亡。基于这种观点, DHCR24 基因可能会因此被认为是一种帮助年轻细胞和自我更新多能细胞维持生存的效应因子,从而使 TH 调节的其它的基因发挥活性,促进神经元表型的分化。

2.5 DHCR24 与氧化应激和内质网应激

氧化应激是生物体内活性氧生成系统亢进或清除系统低下引发的氧化能力增强、抗氧化能力减弱的状态。过剩的活性氧损伤脂质、蛋白质、DNA 等细胞的基本构成物质,从而引发细胞的机能障碍。Lu 等^[38]通过体内和体外研究证明, DHCR24 能够通过清除过氧化氢发挥抗氧化应激引起的细胞凋亡的作用。由 DHCR24 基因敲除小鼠(DHCR24^{-/-})得到的胚胎纤维细胞(Mouse Embryonic Fibroblast, MEFs)与野生型细胞相比,对于过氧化氢诱导的细胞凋亡更加敏感,而且伴随着应激信号通路 ASK1-p38(JNK)活性的增强;腺病毒介导的 DHCR24 过表达则保护了 DHCR24^{-/-} MEFs 免于氧化应激引起的细胞凋亡。用细胞内活性氧的荧光指示剂 H₂DCFDA 的实验证实,

在过氧化氢暴露后 DHCR24^{-/-} MEFs 中活性氧的浓度显著高于野生型 MEFs,暗示了 DHCR24 可能具有清除活性氧的作用。进一步的体外研究证实,提纯的 DHCR24 蛋白能够直接清除试管内的过氧化氢,从而使残留的过氧化氢与对照组相比显著减少,证明了 DHCR24 对于过氧化氢有直接的清除作用。DHCR24 的基因截短(domain deletion)实验显示, DHCR24 蛋白序列中 FAD 结合域对于 DHCR24 的过氧化氢清除作用至关重要。这一研究首次证明 DHCR24 是一个新发现的具有过氧化氢清除作用的酶。

目前已知存在几种具有过氧化氢清除作用的酶类,如过氧化氢酶、谷胱甘肽过氧化物酶(Glutathione peroxidase, Gpx)以及硫氧还原蛋白还原酶(thioredoxin reductase, Prs)等。它们在细胞内的局部定位,过氧化氢清除活性以及细胞内含量等方面有所不同。例如过氧化氢酶定位于过氧化物酶体,而 Gpx 和 Prs 则主要定位于细胞质和线粒体。DHCR24 作为新发现的过氧化氢清除酶,则定位于内质网^[38]。由于过氧化氢半衰期很短,如果不能在其产生部位及时得以清除,则很容易变成危害性更大的其他种类的活性氧,对细胞造成更大的损伤。上述这些酶类的不同的细胞内定位暗示了每种酶的过氧化氢清除作用可能有其细胞、器官特异性。因而, DHCR24 的过氧化氢清除作用的这一新发现,对于理解内质网微环境中氧化还原环境的维持机制可能相当重要。

各种原因导致的未折叠蛋白或者错误折叠蛋白在内质网腔内的蓄积引发内质网应激。内质网应激对糖尿病、动脉硬化症、阿尔茨海默病等常见病的发展及治疗中发挥重要作用。

内质网存在于真核细胞中,是蛋白质合成、折叠、运输以及细胞内钙离子储存的主要场所。钙平衡紊乱、糖基化抑制和二硫键合成减少,氧化还原环境改变等都会使内质网的微环境遭到破坏,蛋白质折叠异常,蓄积在内质网中而诱发内质网应激。内质网应激直接影响应激细胞的转归,如修复、损伤或凋亡。低浓度的内质网应激下的细胞会产生持续性的细胞机能障碍,而过度的内质网应激则会导致细胞的死亡^[39]。内质网内过剩的蛋白质折叠或二硫键的形成需要合适的 pH 值等内质网内环境及各种分子伴侣和氧化还原酶的作用;内质网外界过剩的活性氧会导致内质网环境和蛋白机能的损伤,产生内质网应激。另外,内质网内伴随过剩的蛋白质合成和错误的蛋白折叠反应而产生的活性氧,也可能诱发或者

恶化内质网应激。据此可以推测, DHCR24 在对抗内质网应激诱导的细胞凋亡中也可能发挥作用, 我们先前的研究结果也证实了这一点。DHCR24^{-/-} MEFs 细胞与野生型相比, 对衣霉素(一种蛋白糖基化抑制剂, 广泛用作内质网应激诱导剂)诱导的内质网应激所致细胞凋亡更加敏感。与此一致, 腺病毒介导的 DHCR24 过表达也保护了 MEFs 细胞免于内质网应激所致凋亡。

来自于不同研究小组的研究证实高血糖的细胞毒性作用是通过氧化应激或者是内质网应激从而诱导细胞凋亡而产生的。由于之前的研究证实高血糖诱导神经细胞的凋亡的同时, 降低了 DHCR24 的表达水平, 可以推测 DHCR24 水平的降低导致内质网过氧化氢清除作用的减弱有可能是高血糖细胞毒性的另一种解释^[29], 这有待于进一步的证明。

另有研究表明, 内源性的 DHCR24 水平由于严重的急性氧化应激的诱导被高度上调, 而氧化应激的慢性暴露则使其表达降低到很低的水平。DHCR24 细胞保护作用的准确分子机制还仍然不清楚, 因为其它的研究暗示, 这种多功能的蛋白质在细胞凋亡过程中还有更复杂的作用, 如最近的研究证明了 DHCR24 和肿瘤抑制蛋白 p53 的相互作用。实验数据证明 DHCR24 能够结合到 p53 特定的氨基酸残基结构域上, 并取代 p53 上的 E3 辅酶 Q 连接酶 Mdm2, 导致 p53 的累积。这些数据支持了 DHCR24 潜在的肿瘤抑制基因的作用, 暗示其低蛋白水平的表达增强了 p53 的降解, 从而抑制了细胞内 Ras/p53 介导的信号通路应答所致的细胞老化^[40]。

3 小结与展望

从 DHCR24 基因首次被发现开始, 研究者们在其基因的调控和功能研究的领域开阔了新的局面, 包括细胞胆固醇或者胆固醇浓缩的微膜区(例如脂质筏)的神经保护作用; 激素介导的神经保护作用保护或者治疗神经退行性疾病; IGF 系统和糖尿病神经病变之间的关系, 以及其他的神经病变; 干细胞神经发生和 TH 在脑发展中的作用; DHCR24 抗内质网应激作用和抗细胞凋亡作用的分子机制等等。在此基础上, 进一步的研究将会充分解释 DHCR24 在维持神经细胞的细胞内环境稳定中的作用。而由于内质网应激或者是氧化应激是很多常见病如糖尿病、高血压和癌症等的共同分子机制, DHCR24 表达的组织广泛性及其新发现的抗氧化应激和抗内质网应激功能的深入研究,

将会使 DHCR24 成为包括神经退行性疾病如 AD、糖尿病等常见病病理分子机制的理解和新药开发中的一个新的靶点, 为其治疗提供新的方法和思路。

参考文献(References)

- Greeve I, Hermans-Borgmeyer I, Brellinger C, Kasper D, Gomez-Isla T, Behl C, *et al.* The human DIMINUTO/DWARF1 homolog seladin-1 confers resistance to Alzheimer's disease-associated neurodegeneration and oxidative stress. *Neurosci* 2000; 20: 7345-52.
- Selkoe DJ. Alzheimer's disease: genes, proteins, and therapy. *Physiol Rev* 2001; 81: 741-66.
- Andersson HC, Kratz L, Kelley R. Desmosterolosis presenting with multiple congenital anomalies and profound developmental delay. *Med Genet* 2002; 113: 315-9.
- Mushegian AR, Koonin EV. A putative FAD-binding domain in a distinct group of oxidases including a protein involved in plant development. *Protein Sci* 1995; 4: 1243-4.
- Klahre U, Noguchi T, Fujioka S, Takatsuto S, Yokota T, Nomura T, *et al.* The Arabidopsis DIMINUTO/DWARF1 gene encodes a protein involved in steroid synthesis. *Plant Cell* 1998; 10: 1677-90.
- Waterham HR, Koster J, Romeijn GJ, Hennekam RC, Vreken P, Andersson HC, *et al.* Mutations in the 3beta-hydroxysterol Delta24-reductase gene cause desmosterolosis, an autosomal recessive disorder of cholesterol biosynthesis. *Hum Genet* 2001; 69: 685-94.
- Clouse SD, Sasse JM. Brassinosteroids: Essential regulators of plant growth and development. *Plant Physiol Plant Mol Biol* 1998; 49: 427-51.
- Takahashi T, Gasch A, Nishizawa N, Chua NH. The DIMINUTO gene of Arabidopsis is involved in regulating cell elongation. *Genes Dev* 1995; 9: 97-107.
- 金 刚, 代建国, 黄志立, 张丽君, 张 燕, 李世敏. 肿瘤细胞 Hedgehog 信号通路及其抑制剂. *细胞生物学杂志* 2008; 30(3): 312-6.
- Wechsler A, Brafman A, Shafir M, Heverin M, Gottlieb H, Damari G, *et al.* Generation of viable cholesterol-free mice. *Science* 2003; 302: 2087.
- Mirza R, Hayasaka S, Takagishi Y, Kambe F, Ohmori S, Maki K, *et al.* DHCR24 gene knockout mice demonstrate lethal dermatopathy with differentiation and maturation defects in the epidermis. *Invest Dermatol* 2006; 126: 638-47.
- Puglielli L, Tanzi RE, Kovacs DM. Alzheimer's disease: the cholesterol connection. *Nat Neurosci* 2003; 6: 345-51.
- Yanagisawa K. Cholesterol and pathological processes in Alzheimer's disease. *Neurosci Res* 2002; 70: 361-6.
- Cecchi C, Rosati F, Pensalfini A, Formigli L, Nosi D, Liguri G, *et al.* Seladin-1/DHCR24 protects neuroblastoma cells against Abeta toxicity by increasing membrane cholesterol content. *Cell Mol Med* 2008; 12: 1990-2002.
- Abad-Rodriguez J, Ledesma MD, Craessaerts K, Perga S, Medina M, Delacourte A, *et al.* Neuronal membrane cholesterol loss enhances amyloid peptide generation. *Cell Biol* 2004; 167: 953-60.

- 16 Di Stasi D, Vallacchi V, Campi V, Ranzani T, Daniotti M, Chiodini E, *et al.* DHCR24 gene expression is upregulated in melanoma metastases and associated to resistance to oxidative stress-induced apoptosis. *Cancer* 2005; 115: 224-30.
- 17 Lu X, Kambe F, Cao X, Yoshida T, Ohmori S, Murakami K, *et al.* DHCR24-knockout embryonic fibroblasts are susceptible to serum withdrawal-induced apoptosis because of dysfunction of caveolae and insulin-Akt-Bad signaling. *Endocrinology* 2006; 147: 3123-32.
- 18 Paganini-Hill A, Henderson VW. Estrogen deficiency and risk of Alzheimer's disease in women. *Epidemiol* 1994; 140: 256-61.
- 19 Turgeon JL, Carr MC, Maki PM, Mendelsohn ME, Wise PM. Complex actions of sex steroids in adipose tissue, the cardiovascular system, and brain: Insights from basic science and clinical studies. *Endocr Rev* 2006; 27: 575-605.
- 20 Fillit HM. The role of hormone replacement therapy in the prevention of Alzheimer disease. *Arch Intern Med* 2002; 162: 1934-42.
- 21 Dhandapani KM, Brann DW. Protective effects of estrogen and selective estrogen receptor modulators in the brain. *Biol Reprod* 2002; 67: 1379-85.
- 22 O'Neill K, Chen S, Brinton RD. Impact of the selective estrogen receptor modulator, raloxifene, on neuronal survival and outgrowth following toxic insults associated with aging and Alzheimer's disease. *Exp Neurol* 2004; 185: 63-80.
- 23 Yaffe K, Krueger K, Cummings SR, Blackwell T, Henderson VW, Sarkar S, *et al.* Effect of raloxifene on prevention of dementia and cognitive impairment in older women: the Multiple Outcomes of Raloxifene Evaluation (MORE) randomized trial. *Psychiatry* 2005; 162: 683-90.
- 24 Benvenuti S, Saccardi R, Luciani P, Urbani S, Deledda C, Cellai I, *et al.* Neuronal differentiation of human mesenchymal stem cells: changes in the expression of the Alzheimer's disease-related gene seladin-1. *Exp Cell Res* 2006; 312: 2592-604.
- 25 Vannelli GB, Ensoli F, Zonefrati R, Kubota Y, Arcangeli A, Becchetti A, *et al.* Neuroblast long-term cell cultures from human fetal olfactory epithelium respond to odors. *Neurosci* 1995; 15: 4382-94.
- 26 Luciani P, Ferruzzi P, Arnaldi G, Crescioli C, Benvenuti S, Nesi G, *et al.* Expression of the novel adrenocorticotropin-responsive gene selective Alzheimer's disease indicator-1 in the normal adrenal cortex and in adrenocortical adenomas and carcinomas. *Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 1332-9.
- 27 Mendez P, Wandosell F, Garcia-Segura LM. Cross-talk between estrogen receptors and insulin-like growth factor-I receptor in the brain: cellular and molecular mechanisms. *Front Neuroendocrinol* 2006; 27: 391-403.
- 28 Tomlinson DR, Gardiner NJ. Glucose neurotoxicity. *Nat Rev Neurosci* 2008; 9: 36-45.
- 29 Piconi L, Quagliaro L, Assaloni R, Da Ros R, Maier A, Zuodar G, *et al.* Constant and intermittent high glucose enhances endothelial cell apoptosis through mitochondrial superoxide overproduction. *Diabetes Metab Res Rev* 2006; 22: 198-203.
- 30 Giannini S, Benvenuti S, Luciani P, Manuelli C, Cellai I, Deledda C, *et al.* Intermittent high glucose concentrations reduce neuronal precursor survival by altering the IGF system: the involvement of the neuroprotective factor DHCR24 (Seladin-1). *Endocrinol* 2008; 198: 523-32.
- 31 Santisteban P, Bernal J. Thyroid development and effect on the nervous system. *Rev Endocr Metab Disord* 2005; 6: 217-28.
- 32 Lavado-Autric R, Ausó E, García-Velasco JV, Arufe Mdel C, Escobar del Rey F, Berbel P, *et al.* Early maternal hypothyroxinemia alters histogenesis and cerebral cortex cytoarchitecture of the progeny. *Clin Invest* 2003; 111: 1073-82.
- 33 Morreale de EG, Obregon MJ, Escobar del RF. Role of thyroid hormone during early brain development. *Eur J Endocrinol* 2004; 151(Suppl 3): U25-U37.
- 34 Calza L, Giardino L, Aloe L. Thyroid hormone regulates NGF content and p75LNGFR expression in the basal forebrain of adult rats. *Exp Neurol* 1997; 143: 196-206.
- 35 Benvenuti S, Saccardi R, Luciani P, Urbani S, Deledda C, Cellai I, *et al.* Neuronal differentiation of human mesenchymal stem cells: changes in the expression of the Alzheimer's disease-related gene seladin-1. *Exp Cell Res* 2006; 312: 2592-604.
- 36 Benvenuti S, Luciani P, Cellai I, Deledda C, Baglioni S, Saccardi R, *et al.* Thyroid hormones promote cell differentiation and up-regulate the expression of the seladin-1 gene in *in vitro* models of human neuronal precursors. *Endocrinol* 2008; 197: 437-46.
- 37 König S, Moura N. Thyroid hormone actions on neural cells. *Cell Mol Neurobiol* 2002; 22: 517-44.
- 38 Lu X, Kambe F, Cao X, Kozaki Y, Kaji T, Ishii T, *et al.* 3 beta-Hydroxysteroid-delta24 reductase is a hydrogen peroxide scavenger, protecting cells from oxidative stress-induced apoptosis. *Endocrinology* 2008; 149: 3267-73.
- 39 Sanchez-Ramos JR. Neural cells derived from adult bone marrow and umbilical cord blood. *Neurosci Res* 2002; 69: 880-93.
- 40 Woodbury D, Schwarz EJ, Prockop DJ, Black IB. Adult rat and human bone marrow stromal cells differentiate into neurons. *Neurosci Res* 2000; 61: 364-70.

Progress in Study on 3β -hydroxysteroid- Δ 24 Reductase (DHCR24)

Fang-Fang Hou¹, Zhen-Qing Liu¹, Jian-Li Liu¹, Xiang-Yu Cao¹, Bing Gao², Xiu-Li Lu^{1*}

(¹*The School of Life Science, Liaoning University, Shenyang 110036, China;*

²*Shenyang Medical College, Shenyang 110034, China)*

Abstract *DHCR24* encodes 3β -hydroxysteroid- Δ 24 reductase, catalyzing desmosterol to cholesterol. Recent studies suggest DHCR24 is the protein with multiple functions including anti-apoptosis. It exerts anti-neuronal apoptotic function by inhibiting the activity of caspase-3, and functions as the modulators of estrogen, IGF-1 and thyroid hormone when they play the neuronal protective roles and regulate neuronal development. On the other hand, DHCR24 also protects cells from oxidative stress-induced apoptosis through scavenging hydrogen peroxide. These studies suggest DHCR24 plays anti-apoptotic function through multiple pathways. The further studies on the anti-apoptotic role of DHCR24 and its expression regulation will provide new ideas and methods for the therapy of neurodegeneration disease and other common diseases in which oxidative stress contributes to their pathogenesis.

Key words DHCR24; anti-apoptosis; neuronal protection; oxidative stress

Received: January 19, 2010 Accepted: August 30, 2010

This work was supported by National Natural Science Foundation of China (No.30800575) and Liaoning Provincial Natural Science Foundation of China (No.2009A304)

*Corresponding author. Tel: 86-24-62202232, E-mail: luxuilidr@gmail.com