

# 神经退行性疾病动物模型的建立与分析

郭祥玉<sup>1</sup>, 殷鹏<sup>1</sup>, 郑英慧<sup>1</sup>, 杨伟莉<sup>1</sup>, 王国昊<sup>1</sup>, 闫森<sup>1</sup>,  
涂著池<sup>1</sup>, 李世华<sup>2</sup>, 李晓江<sup>1,2</sup>



郭祥玉(博士后)

1. 中国科学院遗传与发育生物学研究所, 分子发育生物学国家重点实验室, 北京 100101;
2. 美国艾默瑞大学(Emory University), 人类遗传学系, 亚特兰大, 佐治亚州, 30322, 美国

神经退行性疾病是由神经元或其髓鞘的丧失所致, 随着年龄老化而恶化, 最终导致功能障碍, 如肌肉萎缩性侧索硬化症(ALS)、亨廷顿舞蹈症(HD)和帕金森氏病(PD)等。目前, 这类疾病的致病机理仍不清楚, 因此成功建立能够模拟人类相关疾病的动物模型将为研究其发病机制及药物筛选提供重要基础平台。中国科学院遗传发育所分子发育生物学国家重点实验室的李晓江研究组致力于通过建立各种转基因动物模型解析神经退行性疾病的发病机制, 探讨中枢神经系统的发育机理, 近期取得了多项突破性进展, 连续在 *Human Molecular Genetics*、*Neuron*、*PLoS Genetics*、*Journal of Neuroscience* 等国际权威期刊发表多篇学术论文。

继 2008 年用转基因方法建立了首例 HD 猕猴模型后, 李晓江研究员团队采用类似的方法, 与云南中科灵长类生物医学重点实验室季维智研究员实验室合作, 通过 4 年努力获得了 6 只携带突变  $\alpha$ -synuclein (A53T) 的转基因 PD 猕猴。年龄最大的转基因 PD 猴在 2.5 岁开始表现出认知记忆、精细动作障碍以及焦虑抑郁等类似帕金森病人的早期临床症状。该研究为帕金森病的早期发病机理研究及早期干预治疗提供了重要动物模型, 是国际上首例帕金森病的转基因猴模型。相关结果于 2014 年 12 月在线发表在 *Human Molecular Genetics* (DOI: 10.1093/hmg/ddu748)。为进一步分析突变  $\alpha$ -synuclein 蛋白的作用机理, 该研究组将表达人  $\alpha$ -synuclein(A53T) 的病毒载体注射入不同年龄的猕猴脑黑质部位, 首次证明了老龄化能够促进突变  $\alpha$ -synuclein 蛋白在灵长类动物脑组织中的聚集和神经毒性作用, 也为突变  $\alpha$ -synuclein 介导的神经病变提供一个新的治疗靶点。相关结果将于 2015 年 5 月在线发表于 *The Journal of Neuroscience* 杂志。

亨廷顿舞蹈症(HD)等一系列神经退行病均与衰老有关并在中晚年发病。这些疾病均由于变异蛋白在脑组织中的累积而导致, 但造成变异蛋白累积的机制目前尚不清楚。由于用短生命周期的小动物模型不能很好地揭示此发病机制, 因此该研究组采用不同年龄的猕猴的脑组织进行研究, 发现衰老可减少泛素-蛋白酶体活性, 也能增加突触体中泛素结合酶 UBE2N(Ubc 13)的水平。该研究表明随着年龄增加, UBE2N 在突变亨廷顿蛋白的突触体聚集中发挥关键作用, 该结果为研究与衰老相关的神经退行性疾病的发病机制和治疗提供重要依据, 于 2014 年 10 月在线发表在 *Human Molecular Genetics* (DOI:10.1093/hmg/ddu544)。

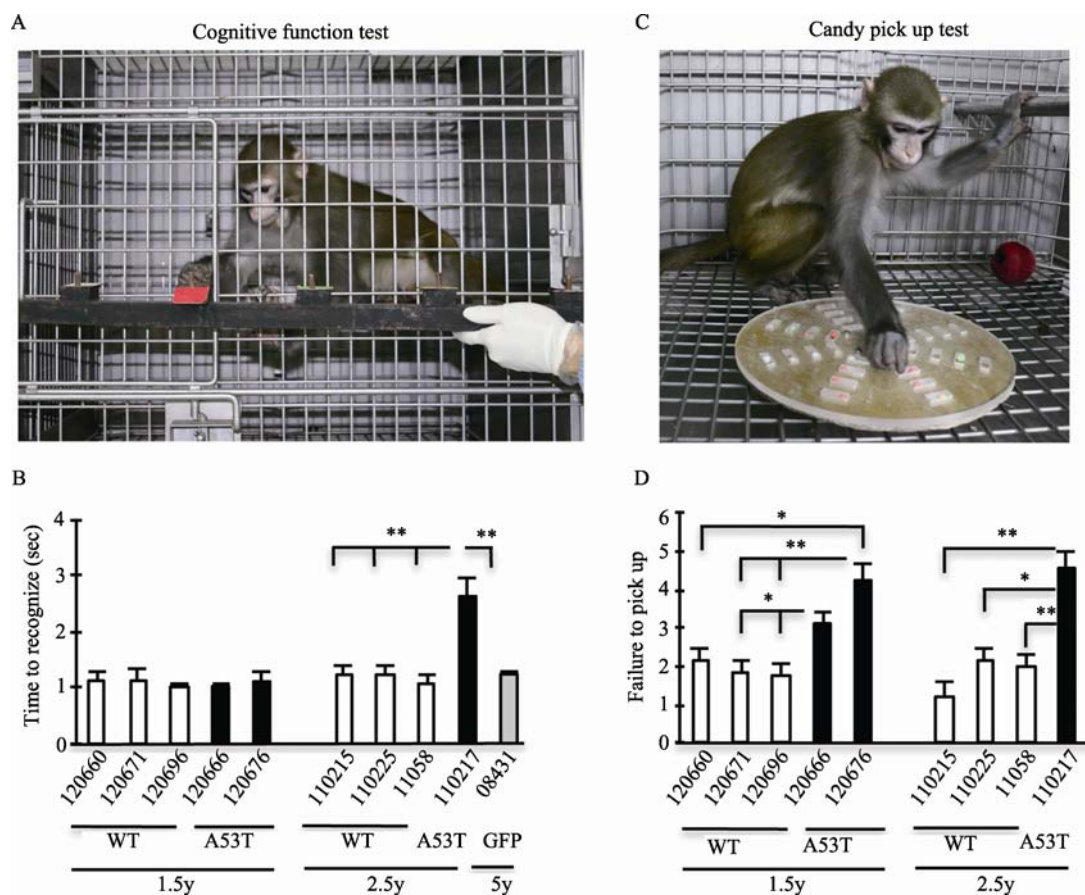
为阐明 HD 疾病中变性蛋白积累造成神经细胞损伤的机理, 李晓江研究组曾在美国 Emory 大学建立了在少突胶质细胞里能特异性地表达 HD 变异蛋白的新型转基因小鼠 HD 模型。进一步研究发现这些 HD 变异蛋白只影响成熟分化后的少突胶质细胞及髓鞘蛋白的产生, 从而导致神经轴突变性及小鼠神经运动障碍症状。此研究提示成年后少突胶质细胞的替代与功能修复可为治疗 HD 疾病提供新型治疗途径。该结果于 2015 年 3 月发表在 *Neuron* 杂志 (DOI:10.1016/j.neuron.2015.02.026)。

为探讨细胞内转运与早期神经系统的发育, 该研究组早期曾发现与亨廷顿蛋白互作的 HAP1 蛋白, 对于出生后发育非常关键。当 Hap1 结合蛋白 Ahil 的神经元缺乏时, 可导致成年小鼠的抑郁样表型。最近的研究进一步发现在出生后小鼠中选择性去除 Hap1 的表达, 也会导致成人抑郁样行为, 分析认为这与海马体中的出生后神经发生减少有关。这项研究首次在遗传学上证明, 出生后神经发生在成人抑

郁症中起着重要作用,为抑郁症的预防和治疗提供了可能的途径。该结果于2015年4月在线发表于 *PLoS Genetics* 杂志(DOI:10.1371/journal.pgen.1005175)。

最近李晓江研究组采用 CRISPR/Cas9 打靶技术建立了杜氏肌萎缩症疾病(DMD)猕猴模型。该模型表现出类似于 DMD 病人早期出现的肌肉细胞退化

的病理特征。该研究首次证明 CRISPR/Cas9 基因打靶技术可功能性地敲除猴基因,进而模拟病人病理变化。该研究结果于2015年4月在线发表于 *Human Molecular Genetics*(DOI:10.1093/hmg/ddv120)。目前李晓江研究组正利用 CRISPR/Cas9 建立数种重大疾病的猴模型。



帕金森病猴模型产生认知和运动协调缺陷的症状

$\alpha$ -synuclein(A53T)转基因猴及对照动物的行为学检测。A, B: A53T 转基因猴在做认知功能(A)和转盘食物捡取(B)的测试。C, D: 定量分析显示转基因猴比年龄相同的野生型对照猴要花更长时间从5种不同颜色的盒子中找到奖励性食物或从转盘上捡取食物。此图引自作者发表论文(*Human Molecular Genetics*, 2015, 24: 2308-2317)。