

唐氏综合征小鼠模型的遗传背景和应用

孟晓伟¹, 汪洁^{1,2}, 马晴雯^{1,2}

1. 上海交通大学附属儿童医院, 上海市儿童医院, 上海交通大学医学遗传研究所, 上海 200040

2. 卫生部医学胚胎分子生物学重点实验室暨上海市胚胎与生殖工程重点实验室, 上海 200040

摘要: 唐氏综合征(Down syndrome, DS)是最常见的常染色体异常疾病,由人类 21 号染色体(human chromosome 21, Hsa21)的重复引起。由于 Hsa21 的直系同源基因分散于小鼠 16、17 和 10 号染色体上,所以用小鼠模拟人类唐氏综合征并不容易。早期的 Ts65Dn 小鼠虽然具有 DS 表型特征,但其重复片段由电离辐射产生,未包含所有 Hsa21 直系同源基因。2004 年,Cre/LoxP 重组酶系统介导的染色体编辑技术在 Ts1Rhr 小鼠中的成功应用,解决了特定片段重复化的难题,使 DS 小鼠模型在基因重复和表型模拟方面实现了精准化。本文从同源基因重复和 DS 表型模拟两方面简要介绍了不同时期 DS 小鼠模型的优势和局限,为科研人员在 DS 研究中对不同小鼠模型的选用提供了参考。

关键词: 唐氏综合征; 小鼠模型; 基因重复; 表型模拟

The genetic background and application of Down syndrome mouse models

Xiaowei Meng¹, Jie Wang^{1,2}, Qingwen Ma^{1,2}

1. Shanghai Institute of Medical Genetics, Shanghai Children's Hospital, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200040, China

2. Key Laboratory of Embryo Molecular Biology, Ministry of Health & Shanghai Key Laboratory of Embryo and Reproduction Engineering, Shanghai 200040, China

Abstract: Down syndrome (DS), trisomy chromosome 21 (Hsa21), is the most common genetic disease caused by chromosome aberration in the human genome. Modeling DS in mice has been challenging since the orthologs of Hsa21 genes map to separate segments of three mouse chromosomes, Mmu16, Mmu17, and Mmu10. Although the early Ts65Dn mouse model exhibited various DS phenotypes, the duplicated fragments were randomly generated by ionizing radiation and did not include all Hsa21 orthologs. In 2004, the successful use of the Cre/LoxP recombination technique in chromosomal engineering in the construction of the Ts1Rhr mouse strain solved the problem of duplication of specific chromosome segment, resulting in the establishment of specific DS mouse models with accurate triplication of particular genes and asso-

收稿日期: 2017-08-22; 修回日期: 2017-12-05

基金项目: 国家重点研发计划项目(编号: 2016YFC1000503)[Supported by the National Key Research and Development Program of China (No. 2016-YFC1000503)]

作者简介: 孟晓伟, 硕士研究生, 专业方向: 遗传学。E-mail: xwmeng_@sjtu.edu.cn

通讯作者: 马晴雯, 博士, 副研究员, 研究方向: 遗传病机理研究。E-mail: maqingwen@hotmail.com

DOI: 10.16288/j.ycz.17-279

网络出版时间: 2018/2/27 15:42:58

URI: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1913.R.20180227.1542.001.html>

ciated phenotypes. In this review, we briefly introduce the different DS mouse models and discuss their advantages and limitations by focusing on the triplication of Hsa21 orthologs and manifestations of DS phenotypes, thereby providing some references for the selection of specific mouse models in DS research.

Keywords: Down syndrome; mouse models; gene duplication; phenotype simulation

唐氏综合征(Down syndrome, DS)又名 21 三体综合征或先天愚型,是目前最常见的染色体异常疾病,主要由配子减数分裂时 21 号染色体不分离造成。1866 年,Langdon Down 首次描述了 DS 的临床表现^[1];1959 年 Lejeune 等^[2]首次揭示其发病原因。DS 患者表型特征主要包括:外貌异于常人(头颅小而圆、鼻扁平、眼距过宽),智力低下(平均智商 20~25 之间),无生活自理能力,发育较正常儿童迟缓,男性患者无生育能力,女性患者部分可育。常见的 DS 伴发疾病主要包括先天性心脏缺陷(congenital heart defects, CHD)^[3](如房室间隔缺损(atrientricular septal defects, AVSD)、室间隔缺损(ventricular septal defects, VSD)、房间隔缺损(atrial septal defects, ASD)和法洛四联症(tetralogy of Fallot, TOF)、消化器官畸形、急性白血病和早发性阿尔茨海默病等^[4]。按核型的不同可以将 DS 分为 3 类亚型^[5]:典型的 21 三体(47, +21),该亚型最为常见,约占 94%;易位型,主要为罗伯逊易位,约占 3%~4%;嵌合型(47, +21/46),约占 2%~3%。

目前对 DS 的研究主要集中在细胞水平和动物模型上,这不仅推进了疾病本身的检测和治疗,同时也为研究其他染色体异常综合征提供了参考。在动物模型选用方面,小鼠(*Mus musculus*)和人类(*Homo sapiens*)基因同源性高达 95%,是理想的疾病动物模型。理论上,采用合适手段在小鼠体内重复人类 21 号染色体(human chromosome 21, Hsa21)同源片段,可以在一定程度上模拟 DS 表型并满足研究需要。自 1990 年至今,科学家们已陆续制备了多种 DS 小鼠模型,满足了科学研究和药物测试的需求。本文首先介绍了 Hsa21 的结构及其小鼠直系同源片段在染色体中的分布,重点介绍了不同时期 DS 小鼠模型的优势和局限,以期为科研人员在 DS 研究中对不同小鼠模型的选用提供参考。

1 人类 21 号染色体及其在小鼠染色体中的同源片段

Hsa21 是人类染色体组中最小的常染色体,总长约为 46.7 Mb。根据着丝粒位置可将其分为短臂和长臂两部分,分别以 21p 和 21q 表示,大小约为 10.6 Mb 和 33.7 Mb(参照公共数据库 Ensembl Genome Browser, <http://www.ensembl.org/index.html>)。21p 包含 15 个蛋白编码基因,其中 11 个在 21q22.3 上存在重复拷贝,相对而言 21q 包含了更多的蛋白编码基因,并且这些基因具有进化保守性。因而 DS 研究的关键在于分析 21q 的重复对表型的影响。

目前研究表明 21q 约含 218 个蛋白编码基因,其中 49 个编码角蛋白关联蛋白(keratin associated proteins, KAPs),主要是为毛发纤维提供结构支持并维持其稳定性^[6],位于 21q22.11 和 21q22.3 区间;164 个编码转录因子、智障相关蛋白、阿尔茨海默病相关蛋白、RNA 加工蛋白等已知蛋白^[7];5 个编码结构和功能未知的新蛋白。此外,21q 上还包含 280 个非编码基因,目前对这些基因的研究相对较少。

21q 在小鼠中的直系同源基因主要分布于 16、17、10 号染色体上(Mmu16、17、10)。如图 1 所示,21q 在 Mmu16 上的直系同源基因分布于 *Lipi* 基因和端粒之间,区间大小约为 27.9 Mb;在 Mmu17 上的直系同源基因分布于 *Umodl1* 和 *Rrp1b* 基因之间,区间大小约为 1.63 Mb;在 Mmu10 上的直系同源基因分布于 *Prmt2* 和 *Pdxk* 基因之间,区间大小约为 2.95 Mb^[8]。这些直系同源基因包括 KAPs 的两个基因簇和 158 个蛋白编码基因:KAPs 的两个基因簇分别位于 Mmu16 和 Mmu10 上;158 个蛋白编码基因中有 102 个位于 Mmu16 上,19 个位于 Mmu17 上,37 个位于 Mmu10 上^[9]。

21q 上的基因和其小鼠直系同源基因的差异在于:(1) 21q 上 5 个新蛋白编码基因和一些非编码基

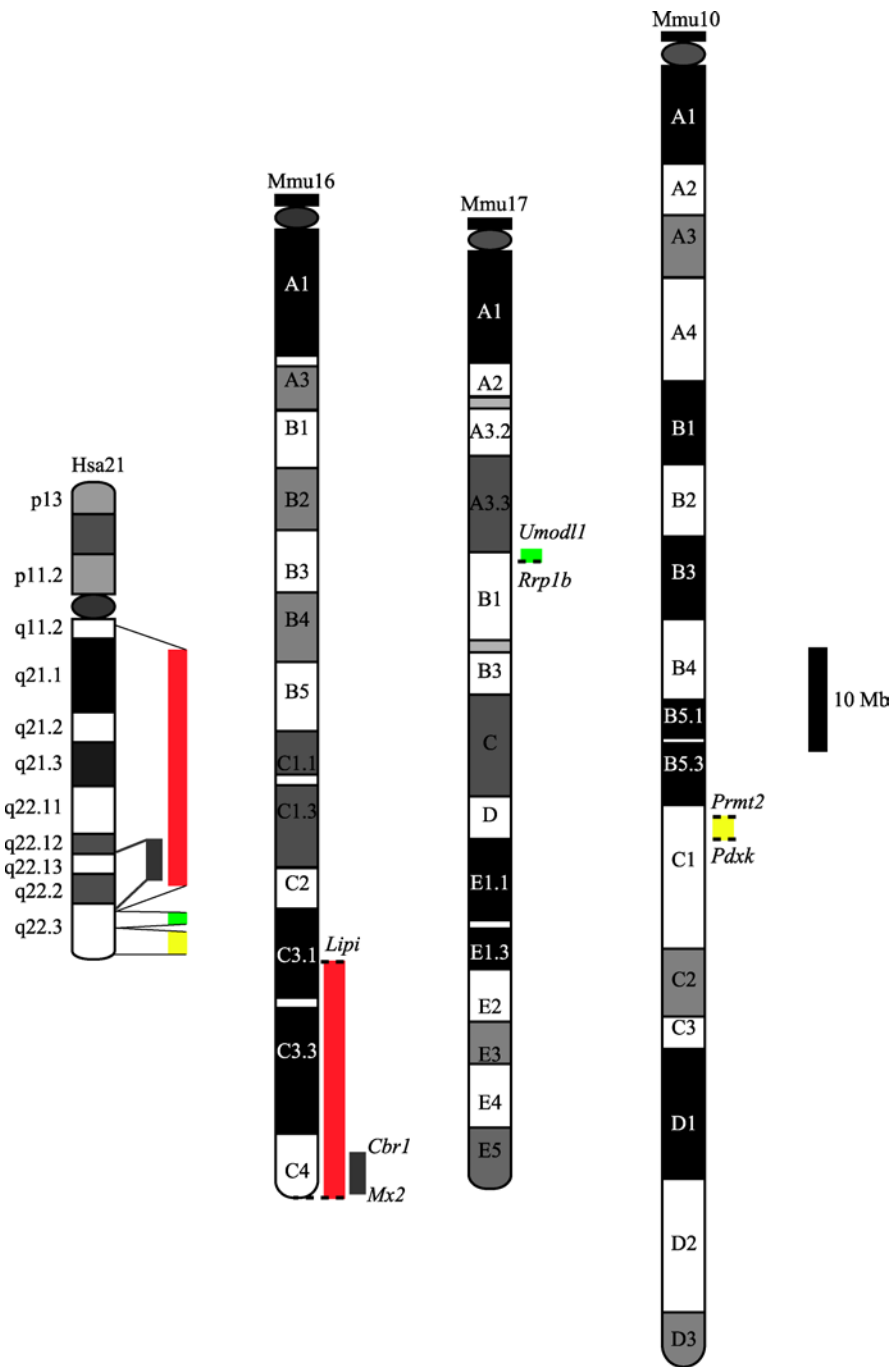


图 1 人类 21 号染色体(Hsa21)和小鼠染色体的同源性比较

Fig.1 Human chromosome 21 (Has21) and its orthologs in mouse chromosomes

红色矩形表示 Mmu16 上的 Hsa21 直系同源区,位于 *Lipi* 基因和端粒之间;绿色矩形表示 Mmu17 上的 Hsa21 直系同源区,位于 *Umod1l* 和 *Rrp1b* 基因之间;黄色矩形表示 Mmu10 上的 Hsa21 直系同源区,位于 *Prmt2* 和 *Pdxk* 基因之间;灰色矩形表示 Mmu16 上与 Hsa21 上唐氏综合征关键区(Down syndrome critical region, DSCR)直系同源的区域,位于 *Cbr1* 和 *Mx2* 基因之间。

因在鼠中没有直系同源物^[10,11]; (2) Mmu16 上直系同源基因分布区内的部分基因,如 *ITGB2L*(integrin beta 2-like)蛋白编码基因和 3 个未知蛋白的编码基因在 21q 中没有直系同源物。

识别特定基因的三体性对 DS 表型的贡献是研究人员一直追求的目标,根据小鼠基因与 Hsa21 的同源性,采用单基因敲除和转基因技术建立重复不同片段的 DS 小鼠模型,在克服伦理限制的同时也

能对特定基因进行针对性研究。但小鼠模型亦有其不足之处：首先，小鼠与人之间存在种间差异，基因组背景并不相同，造成特定基因对表型的影响程度不同；其次，小鼠中一些三体基因的组合会导致死胎情况出现，致使该基因组合的漏缺。因此，在使用 DS 小鼠模型进行研究前要对不同小鼠模型进行基因型和表型评估。

2 常用 DS 小鼠模型

自 1990 年第一只可用的 DS 小鼠模型——Ts65Dn 小鼠建立至今，已发展出数种不同功能特点的 DS 小鼠模型。每种小鼠模型都具有其独特的遗传学和表型特征(表 1)，在智障表型模拟、DS 相关 CHD 模拟和认知类药物筛选等方面发挥着各自独特的作用。

2.1 Ts65Dn 小鼠

Ts65Dn 小鼠是第一个用于 DS 研究的小鼠模型，由 Davisson 等^[12]于 1990 年通过电离辐射 DBA/2J

雄性小鼠，随后选育包含 Mmu16 易位产物子代而建立的，是使用最广泛的 DS 小鼠模型，同时也是目前唯一用于临床认知类药物测试的小鼠模型^[21]。在表型模拟方面，Ts65Dn 小鼠具有认知障碍、先天性心脏缺陷、颅面部畸形和记忆功能损伤等 DS 特征表型；在基因型方面，Ts65Dn 小鼠携带额外的易位染色体 Mmu17¹⁶。如图 2 所示，Mmu17¹⁶ 由 Mmu16 上 *Mrpl39* 基因前端断裂点到端粒约 13.4 Mb 片段和 Mmu17 上 *Pde10a* 基因后端断裂点到着丝粒约 9.4 Mb 片段融合而成，其中 Mmu16 重复区与 Hsa21 同源，包含 130 个直系同源基因，而 Mmu17 重复区则与人类 6 号染色体(human chromosome 6, Hsa6)同源，包含 60 个基因，其中 35 个为蛋白编码基因^[22]。Ts65Dn 小鼠成为目前应用最广泛的 DS 小鼠模型，其主要原因在于：(1) Ts65Dn 小鼠能较好地模拟人类 DS 患者出现的认知障碍和记忆功能缺陷等表型；(2) Ts65Dn 小鼠具有的颅面部畸形、体重减轻等特点，可方便地与普通小鼠区分。但 Ts65Dn 小鼠所携带的部分 Mmu16 和 Mmu17 重复片段中缺失了一部

表 1 常见 DS 小鼠模型一览表

Table 1 Brief introduction of DS mouse models

编号	简称	建立时间(年)	重复片段(Mb)	主要表型	参考文献
1	Ts65Dn	1990	22.8	体重减轻、颅面异常、记忆损伤、认知障碍、先天性心脏缺陷	[12]
2	Ts1Cje	1998	10.3	颅面异常、认知障碍	[13]
3	Ts1Rhr	2004	3.9	—	[14]
4	Tc1	2005	42	体重减轻、短期记忆损伤、认知障碍、先天性心脏缺陷	[15]
5	Dp(16)1Yu	2007	22.9	先天性心脏缺陷、胃肠道异常	[16]
6	Dp(16)2Yey	2011	5.4	先天性心脏缺陷(发病率较低)	[17]
7	Dp(16)4Yey	2014	3.7	先天性心脏缺陷(发病率较低)	[18]
8	Dp(10)1Yey	2010	2.3	—	[19]
9	Dp(17)1Yey	2010	1.1	—	[19]
10	TTS	2010	32.5	脑积水、先天性心脏缺陷、肌张力低下	[19]
11	Dp1Tyb	2016	23	先天性心脏缺陷	[20]
12	Dp2Tyb	2016	2.5	先天性心脏缺陷(发病率较低)	[20]
13	Dp3Tyb	2016	4.9	先天性心脏缺陷	[20]
14	Dp4Tyb	2016	1.5	—	[20]
15	Dp5Tyb	2016	1.8	—	[20]
16	Dp6Tyb	2016	1.6	—	[20]
17	Dp9Tyb	2016	15.6	—	[20]

TTS 表示 Dp(10)1Yey/+; Dp(16)1Yey/+; Dp(17)1Yey/+小鼠；“—”表示未报道。

分 Hsa21 直系同源基因,同时又重复了一部分 Hsa6 同源基因,由此带来两个问题:(1)未重复的 Hsa21 直系同源基因是否对 DS 表型有潜在的影响;(2)重复的 Hsa6 同源基因是否对 DS 表型有干扰。

诸多证据表明, Ts65Dn 小鼠中未重复的 Hsa21 直系同源基因对 DS 表型具有潜在影响。例如:热休克蛋白 HSPA13(heat shock 70-kDa protein member 13)在泛素途径中扮演着重要角色,具有调节神经元细胞 pH 的作用^[23],可能与认知功能相关;核受体相互作用蛋白 NRIP1(nuclear receptor interacting protein 1, 亦称 RIP140, receptor-interacting protein 140)参与糖皮质激素和雌激素等受体转录活性的调控,同时也与肌细胞的新陈代谢和脂肪细胞功能调节相关^[24];神经细胞粘附分子 NCAM2(neural cell adhesion molecule 2)可以调节神经细胞轴突和树突间的相互作用^[25]。Ts65Dn 小鼠中过表达的非 Hsa21 直系同源基因对 DS 表型的影响也很明显,如:SNX9(sorting nexin 9)参与网格蛋白介导的胞吞作用,过表达会造成海马区神经元突触小泡内吞失调^[26];DYNLT1(dynein light chains Tctex-type 1)主要参与信号分子的逆向转导,过表达会改变信号分子的组成并降低信号转导效率^[27]。此外,雄性 Ts65Dn 小鼠存在减数分裂异常和不育问题,其种系的保持依赖正常二倍体雄性和雌性 Ts65Dn 小鼠的杂交,因此 DS 母体对胚胎发育具有潜在影响。

2.2 Ts1Rhr 小鼠

Ts1Rhr 小鼠是 Olson 等^[14]于 2004 年首次使用 Cre 重组酶介导不同染色体 LoxP 位点间重组得到的 DS 小鼠模型。如图 2 所示,该小鼠模型重复了 Mmu16 上 *Cbr1* 和 *Mx2* 基因间约 3.9 Mb 片段,即 DSCR 同源序列区。DSCR 位于 Hsa21 上分子标记 *D21S55* 和 *MX1* 基因之间约 5.4 Mb 大小区域^[14,28]。DSCR 假说认为 DS 的主要表型是由少数剂量敏感型基因调控的,而这些基因所在区域即 DSCR 区。为验证 DSCR 假说,Olson 团队建立了 Ts1Rhr 小鼠,使用相同生长周期的 Ts65Dn 小鼠作为 DS 表型对照,整倍体小鼠作为正常对照,与 Ts1Rhr 小鼠进行体型、下颌骨大小和颅面形态对比,结果发现:(1)Ts1Rhr 小鼠出生至成年阶段,平均体型大于整倍体正常对

照,Ts65Dn 小鼠则小于整倍体对照,该结果与 DSCR 假说的 DSCR 区是 DS 患者矮小身材的关键调控区相反;(2)Ts65Dn 小鼠下颌骨小于正常对照组,而 Ts1Rhr 小鼠下颌骨大于正常对照组,该结果亦与 DSCR 假说相悖;(3)比较 Ts1Rhr 小鼠和正常对照组的颅面部形态发现,虽然 Ts1Rhr 小鼠颅骨大于正常小鼠,但颅面部整体比例正常,这个结果也显示仅重复 DSCR 同源区无法影响小鼠颅面部形态。与此同时,Ts1Rhr 小鼠相较于 Ts65Dn 小鼠也并没有显示出高比例的 CHD^[17],进一步说明 DSCR 理论的局限性。

上述基于 Ts1Rhr 小鼠模型的表型比对,表明不能将 DS 表型简单归结于特定基因的重复,非连续基因间的相互作用对 DS 表型同样重要;单独某一基因的重复不足以产生明显剂量效应,与其他重复基因相互作用后才有可能表现出相应表型。

2.3 Tc1 小鼠

Tc1 小鼠由 O'Doherty 等^[15]于 2005 年首次建立。该团队利用辐射微细胞介导的染色体转移(irradiation microcell-mediated chromosome transfer)技术将人类细胞系 HT1080 来源的 21 号染色体分离并转移到 129S2 小鼠胚胎干细胞系中,获得多出一条 Hsa21 的 129S2 小鼠胚胎干细胞。利用该细胞系制作的 DS 小鼠模型重复的即是 HT1080 中 21 号染色体,命名为 Tc1 小鼠。Tc1 小鼠具有海马区介导的认知障碍^[29]、CHD^[30]和记忆功能损伤等明显的 DS 表型,但该小鼠仅表现出短期识别记忆能力的损伤,而长期记忆能力基本无损^[31]。由于 Tc1 小鼠模型是在小鼠的染色体背景中多出一条人类染色体,因此该模型也被用来研究小鼠转录因子和人类启动子的结合以及异种生物染色体相互作用等^[32]。

尽管 Tc1 小鼠充分再现了人类 DS 患者的表型并可用作异种生物基因、染色体和蛋白间相互作用的研究模型,但其亦有不足之处。Tc1 小鼠制作过程中人源染色体的转移(本文将转移的 Hsa21 记为 Tc1-Hsa21)需要经过 γ 射线照射,因而存在随机断裂和重排的可能。经检测,Tc1-Hsa21 经过 γ 射线照射后端粒依旧完整,但着丝粒移至原 Hsa21 的短臂中部,整条染色体共有 41 个位点发生断裂和重排,且

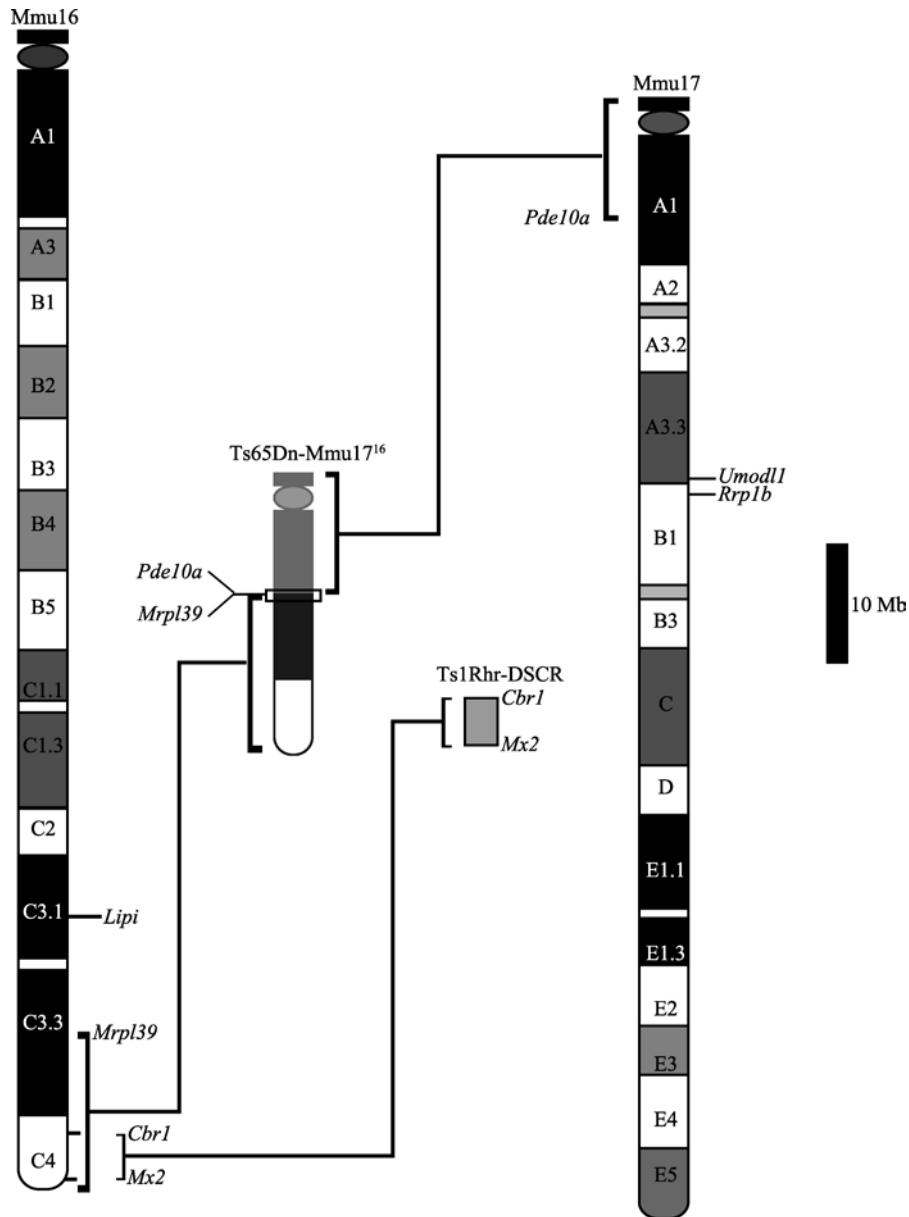


图 2 Ts65Dn 小鼠易位染色体 Mmu17¹⁶ 和 Ts1Rhr 小鼠重复片段简图

Fig. 2 The trisomic segments represented in Ts65Dn and Ts1Rhr mouse models

Ts65Dn-Mmu17¹⁶ 为 Ts65Dn 小鼠中重复片段, 包含 Mmu16 上 *Mrpl39* 基因前端断裂点到端粒约 13.4 Mb 和 Mmu17 上 *Pde10a* 基因后端断裂点到着丝粒约 9.4 Mb 片段。Ts1Rhr-DSCR 为 Ts1Rhr 小鼠中重复片段, 包含 Mmu16 上 *Cbr1* 和 *Mx2* 基因间约 3.9 Mb 片段, 与人类染色体中 DSCR 同源。

断裂位点处存在随机删除现象, 导致 Tc1-Hsa21 出现很多重复和缺失片段。与人类细胞系 HT1080 中的 21 号染色体相比, Tc1-Hsa21 中有大约 8.7% 的片段被删除、10% 的片段被重复, 导致了至少 45 个基因的完全或部分删除以及 18 个基因的重复^[33](表 2)。此外, Tc1-Hsa21 中存在的重排现象会破坏至少 11 个基因的正常表达。例如, 人类淀粉样前体蛋白

(amyloid precursor protein, APP) 基因末端外显子在 Tc1-Hsa21 中发生重排, 导致完整长度的 APP 得不到表达而发生自发降解, 因而在 Tc1 小鼠大脑中检测不到完整长度的 APP 蛋白^[34]。断裂重排还会造成融合基因的产生, 虽然大部分融合基因并不能正常表达, 但仍有小部分可以表达并产生融合蛋白。例如, *NDUFV3*(NADH:ubiquinone oxidoreductase sub-

unit V3)第一个外显子和 *PCBP3*(poly(RC) binding protein 3)最后 9 个外显子一起表达可以产生融合蛋白,其转录本已通过 RT-PCR 确定^[33]。

此外,由于 Tc1 小鼠是在小鼠背景中插入了一条人类染色体,该染色体在小鼠发育过程中会随机丢失,因而 Tc1 小鼠各组织中存在随机嵌合(Tc1 小鼠细胞和丢失了 Tc1-Hsa21 的细胞随机嵌合)的可能,同时雌性小鼠将 Tc1-Hsa21 传递给下一代的能力也会随着年龄的增长而下降,老龄化的雌性 Tc1 小鼠传递 Tc1-Hsa21 的能力会下降 3 倍左右^[35]。

2.4 Dp(10)1Yey/+; Dp(16)1Yey/+; Dp(17)1Yey/+ 小鼠

为了更好地应用小鼠模型研究 DS 的致病机制, Yu 等^[19]于 2010 年首次报道利用 Cre/LoxP 重组酶系统结合杂交手段构建了重复所有 Hsa21 直系同源基因的小鼠模型,并命名为 Dp(10)1Yey/+; Dp(16)1Yey/+; Dp(17)1Yey/+ 小鼠,其重复的同源片段分别来自于 Dp(16)1Yu、Dp(17)1Yey 和 Dp(10)1Yey3 种小鼠(图 3),它们分别重复了 Mmu16、17、10 上对应的 Hsa21 同源区。

Dp(16)1Yu 小鼠是由 Li 等^[16]于 2007 年首次报道构建的 DS 小鼠模型,该小鼠模型的建立主要利用 Cre/LoxP 重组酶系统,在小鼠胚胎干细胞系中人工诱导 *Lipi~Zfp295* 基因间 22.9 Mb 的片段(包含 113 个 Hsa21 直系同源基因)发生重组,使该片段产生重复。发生重组的胚胎干细胞用于嵌合体小鼠的制备,随后将雄性嵌合体与 129SV 雌性小鼠杂交,进行选择育种。由于生殖系嵌合发生的概率较低,因而 Dp(16)1Yu 小鼠的选育过程较为耗时。直到 2010 年,

Yu 和 Li 团队再次报道建立了另外两种小鼠模型 Dp(10)1Yey 和 Dp(17)1Yey^[19]。Dp(10)1Yey 和 Dp(17)1Yey 小鼠模型的建立沿用了 Dp(16)1Yu 小鼠的构建方法(图 3),它们分别重复了 Mmu10 上 *Prmt2~Pdxk* 基因间约 2.3 Mb 的片段和 Mmu17 上 *Abcg1~Rrp1b* 基因间约 1.1 Mb 的片段,包含的直系同源基因数分别为 41 个和 19 个。在上述 3 种小鼠模型建立完成后,该团队利用两两杂交方式,首先得到包含两个不同重复片段的突变体小鼠,而后与第 3 种模型小鼠杂交,利用分子生物学手段鉴别两次杂交的子代小鼠以获得包含全部 3 个重复片段的突变体,即 Dp(10)1Yey/+; Dp(16)1Yey/+; Dp(17)1Yey/+ 小鼠。

Dp(16)1Yu 和 Dp(10)1Yey/+; Dp(16)1Yey/+; Dp(17)1Yey/+ 小鼠的表型特征较为相似,遗传学和生理学检测显示:(1) Dp(16)1Yu 小鼠中重复基因的表达水平发生不同程度的升高,其表型特征包括有明显的 CHD(如:ASD, VSD, AVSD, TOF)和胃肠道异常;(2) Dp(10)1Yey/+; Dp(16)1Yey/+; Dp(17)1Yey/+ 小鼠出生后死亡率约为 26%,且生长过程中体重明显低于正常对照小鼠;部分具有 DS 相关的 CHD;6.8% 的存活小鼠在 6~8 周龄出现脑积水现象,颅骨扩大变圆,最终死亡。对 Dp(10)1Yey/+; Dp(16)1Yey/+; Dp(17)1Yey/+ 小鼠的认知行为学测试显示,其海马区介导的学习和记忆能力受损并且具有认知能力障碍等特点。不过也有研究指出 Dp(10)1Yey/+; Dp(16)1Yey/+; Dp(17)1Yey/+ 小鼠在自发性活动测试、焦虑性测试和重复动作行为测试中与正常对照组无差异,并不能模拟出 DS 特征表型^[36]。这表明不同物种间基因组背景的差异对基因-表型关联性的影响较大,即使建立了对所有相关直系同源基因重复的小鼠也未必

表 2 Tc1-Hsa21 中重复和删除的基因
Table 2 The duplicated and deleted genes in Tc1-Hsa21

删除/重复基因	基因名称
完全删除基因	<i>BTG3, C21orf91, NCRNA00157, CHODL, C21orf45, MRAP, URB1, SNORA80, C21orf119, C21orf63, TCP10L, C21orf59, SYNJ1, GCFC1, C21orf49, C21orf62, OLIG2, OLIG1, C21orf54, IFNAR2, IL10RB, IFNAR1, IFNGR2, TMEM50B, DNAJC28, GART, SON, DONSON, CRYZL1, ITSN1, ATP5O, MRPS6, SLC5A3, C21orf82, KCNE2, FAM165B, KCNE1, RCAN1, CLIC6, NCRNA00160, SLC19A1</i>
部分删除基因	<i>TMPRSS15, RUNX1, COL18A1, PCBP3</i>
完全重复基因	<i>BAGE5, BAGE4, BAGE2, BAGE3, BAGE, RBM11, ABCC13, HSPA13, SAMSNI, NRIP1, USP25, S100B, PRMT2, C21orf131</i>
部分重复基因	<i>LIPI, C21orf34, DIP2A, NCAM2</i>

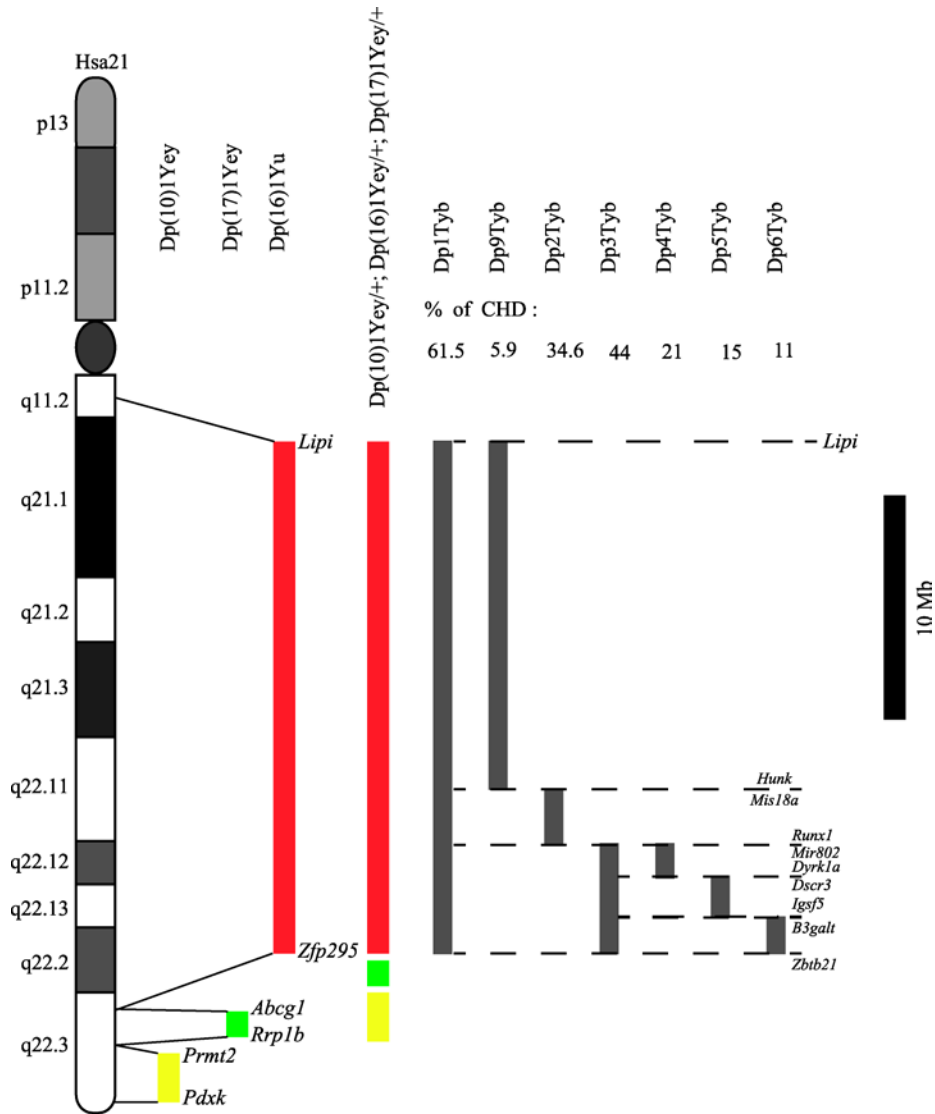


图 3 Dp(10)1Yey/+; Dp(16)1Yey/+; Dp(17)1Yey/+小鼠和 DS 先天性心脏病小鼠重复片段简图

Fig. 3 The trisomic segments represented in Dp(10)1Yey/+; Dp(16)1Yey/+; Dp(17)1Yey/+ and DS mouse models associated with congenital heart defects

红色、绿色和黄色矩形分别代表 Mmu16、17、10 中的 Hsa21 同源区,同时也代表了小鼠模型 Dp(16)1Yu、Dp(17)1Yey 和 Dp(10)1Yey 中的重复片段;Dp(10)1Yey/+; Dp(16)1Yey/+; Dp(17)1Yey/+小鼠重复了 Hsa21 在小鼠染色体中的所有直系同源基因;灰色矩形代表不同 DS 先天性心脏病小鼠模型中的重复片段范围。

可以对人类疾病表型进行准确模拟。

2.5 DS 相关 CHD 小鼠模型

2016 年 1 月, Lana-Elola 等^[20]报道了一组用于定位 DS 相关 CHD 基因的小鼠模型,该组模型一共 7 个品系,分别重复了 Mmu16 上不同的 Hsa21 直系同源区(图 3): Dp1Tyb 小鼠的重复片段为 *Lipi*~*Zbtb21* 基因间约 23 Mb 大小区域,基本包含了 Mmu16 上

所有 Hsa21 直系同源基因; Dp9Tyb (*Lipi* 到 *Hunk*)、Dp2Tyb (*Mis18a* 到 *Runx1*)和 Dp3Tyb (*Mir802* 到 *Zbtb21*)小鼠将 Dp1Tyb 小鼠的重复片段分为 3 段,大小分别为 15.6 Mb、2.5 Mb 和 4.9 Mb; Dp4Tyb (*Mir802* 到 *Dscr3*)、Dp5Tyb (*Dyrk1a* 到 *B3galt5*)和 Dp6Tyb (*Igsf5* 到 *Zbtb21*) 小鼠又将 Dp3Tyb 小鼠的重复区划分为 3 段,大小分别为 1.5 Mb、1.8 Mb 和 1.6 Mb,目的是进一步缩小 DS 相关 CHD 效应基因

的范围。

对 E14.5 天小鼠的解剖学实验显示: 对照组野生型小鼠无明显 CHD 症状; Dp1Tyb 小鼠中 62% 具有 VSD 症状, 25% 具有 AVSD 症状; Dp9Tyb 和 Dp2Tyb 小鼠相比同窝出生的野生型小鼠, CHD 比例无明显升高; Dp3Tyb 小鼠中 CHD 比例明显升高, 严重程度近似 Dp1Tyb 小鼠; Dp4Tyb、Dp5Tyb 和 Dp6Tyb 小鼠亦未出现高比例 CHD 现象。该实验在建立了一系列小鼠模型后仅对 CHD 的发生概率进行了检测和统计学分析, 并未涉及其他 DS 表型的观察。

该系列小鼠将 CHD 关键区限制在 *Mir802~Zbtb21* 间 4.9 Mb 的区间内, 并且证明单独的 Dp4Tyb、Dp5Tyb 和 Dp6Tyb 小鼠重复区无法造成 CHD 症状。在此基础上, 后续可以利用 Dp4Tyb、Dp5Tyb 和 Dp6Tyb 这 3 种小鼠的两两杂交, 进一步缩小 DS 相关 CHD 关键区范围。

3 结 语

DS 作为最常见的常染色体异常综合征, 具有遗传背景复杂、表型多样等特点, 利用小鼠模型进行 DS 机理研究, 在避免伦理问题的同时也为深入了解 DS 发病机制和评估基因-表型关联性提供了可能。自 1990 年第一只 DS 小鼠模型——Ts65Dn 小鼠建立至今, 已经发展出一系列具有不同特点和功能的 DS 小鼠模型, 在疾病模拟、机理研究和药物筛选等方面发挥着重要的作用。

目前还没有一种小鼠模型可以做到对人类 DS 表型和基因型的完全模拟, 每种模型都具有各自的优势和不足。以 Ts65Dn 小鼠和 Dp(10)1Yey/+; Dp(16)1Yey/+; Dp(17)1Yey/+ 小鼠为例: Ts65Dn 小鼠充分模拟了人类 DS 表型, 但对 Hsa21 直系同源基因的重复不完全且携带部分非同源基因; Dp(10)1Yey/+; Dp(16)1Yey/+; Dp(17)1Yey/+ 小鼠重复了所有 Hsa21 直系同源基因, 但未完全重现人类 DS 患者中出现的表型。因而在对特定表型和相关基因进行研究前, 需要充分了解 DS 小鼠模型的特点并选择合适小鼠进行研究。值得一提的是, Tc1 小鼠是在小鼠染色体组中插入了一条 Hsa21, 使用时需要考虑小鼠和人

类染色体背景间的差异。目前对 DS 的研究, 包括智障机理研究和认知类药物的筛选, 主要选择 Ts65Dn 小鼠, 因为 Ts65Dn 小鼠研究历史最长, 智障特点最为突出。在研究 CHD、肌张力等 DS 表型与基因型间关系时, 可根据实际情况选用其他小鼠模型。

有学者认为, 评估人类疾病小鼠模型的首要因素应当是遗传机制的一致性而非片面追求表型相似程度^[37,38], 遗传机制的改变不仅可以影响疾病表型的模拟程度, 同时也能干扰治疗药物的作用效果。本文就人类-小鼠基因同源性和常用 DS 小鼠模型的基因型、表型特征两方面进行综述, 希望为科研人员在 DS 研究中选用不同小鼠模型提供参考。

参考文献(References):

- [1] Down JL. Observations on an ethnic classification of idiots 1866. *Ment Retard*, 1995, 33(1): 54–56. [DOI]
- [2] Lejeune J, Gautier M, Turpin R. Study of somatic chromosomes from 9 mongoloid children. *C R Hebd Seances Acad Sci*, 1959, 248(11): 1721–1722. [DOI]
- [3] Ferencz C, Neill CA, Boughman JA, Rubin JD, Brenner JJ, Perry LW. Congenital cardiovascular malformations associated with chromosome abnormalities: an epidemiologic study. *J Pediatr*, 1989, 114(1): 79–86. [DOI]
- [4] Head E, Lott IT, Wilcock DM, Lemere CA. Aging in Down syndrome and the development of Alzheimer's disease neuropathology. *Curr Alzheimer Res*, 2016, 13(1): 18–29. [DOI]
- [5] Mazurek D, Wyka J. Down syndrome-genetic and nutritional aspects of accompanying disorders. *Rocz Panstw Zakl Hig*, 2015, 66(3): 189–194. [DOI]
- [6] Rogers MA, Langbein L, Praetzel-Wunder S, Winter H, Schweizer J. Human hair keratin-associated proteins (KAPs). *Int Rev Cytol*, 2006, 251: 209–263. [DOI]
- [7] Hattori M, Fujiyama A, Taylor TD, Watanabe H, Yada T, Park HS, Toyoda A, Ishii K, Totoki Y, Choi DK, Groner Y, Soeda E, Ohki M, Takagi T, Sakaki Y, Taudien S, Blechschmidt K, Polley A, Menzel U, Delabar J, Kumpf K, Lehmann R, Patterson D, Reichwald K, Rump A, Schillhabel M, Schudy A, Zimmermann W, Rosenthal A, Kudoh J, Shibuya K, Kawasaki K, Asakawa S, Shintani A, Sasaki T, Nagamine K, Mitsuyama S, Antonarakis SE, Minoshima S, Shimizu N, Nordsiek G, Hornischer K, Brant P, Scharfe M, Schön O, Desario A, Reichelt J, Kauer

- G, Blöcker H, Ramser J, Beck A, Klages S, Hennig S, Riesselmann L, Dagand E, Haaf T, Wehrmeyer S, Borzym K, Gardiner K, Nizetic D, Francis F, Lehrach H, Reinhardt R, Yaspo ML. The DNA sequence of human chromosome 21. *Nature*, 2000, 405(6784): 311–319. [DOI]
- [8] Sturgeon X, Gardiner KJ. Transcript catalogs of human chromosome 21 and orthologous chimpanzee and mouse regions. *Mamm Genome*, 2011, 22(5–6): 261–271. [DOI]
- [9] Gupta M, Dhanasekaran AR, Gardiner KJ. Mouse models of Down syndrome: gene content and consequences. *Mamm Genome*, 2016, 27(11–12): 538–555. [DOI]
- [10] Bera TK, Zimonjic DB, Popescu NC, Sathyanarayana BK, Kumar V, Lee B, Pastan I. *POTE*, a highly homologous gene family located on numerous chromosomes and expressed in prostate, ovary, testis, placenta, and prostate cancer. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99(26): 16975–16980. [DOI]
- [11] Kido S, Sakuragi N, Bronner MP, Sayegh R, Berger R, Patterson D, Strauss JF. D21S418E identifies a cAMP-regulated gene located on chromosome 21q22.3 that is expressed in placental syncytiotrophoblast and choriocarcinoma cells. *Genomics*, 1993, 17(1): 256–259. [DOI]
- [12] Davisson MT, Schmidt C, Akeson EC. Segmental trisomy of murine chromosome 16: a new model system for studying Down syndrome. *Prog Clin Biol Res*, 1990, 360: 263–280. [DOI]
- [13] Sago H, Carlson EJ, Smith DJ, Kilbridge J, Rubin EM, Mobley WC, Epstein CJ, Huang TT. Ts1Cje, a partial trisomy 16 mouse model for Down syndrome, exhibits learning and behavioral abnormalities. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95(11): 6256–6261. [DOI]
- [14] Olson LE, Richtsmeier JT, Leszl J, Reeves RH. A chromosome 21 critical region does not cause specific Down syndrome phenotypes. *Science*, 2004, 306(5696): 687–690. [DOI]
- [15] O'Doherty A, Ruf S, Mulligan C, Hildreth V, Errington ML, Cooke S, Sesay A, Modino S, Vanes L, Hernandez D, Linehan JM, Sharpe PT, Brandner S, Bliss TV, Henderson DJ, Nizetic D, Tybulewicz VL, Fisher EM. An aneuploid mouse strain carrying human chromosome 21 with Down syndrome phenotypes. *Science*, 2005, 309(5743): 2033–2037. [DOI]
- [16] Li Z, Yu T, Morishima M, Pao A, LaDuca J, Conroy J, Nowak N, Matsui S, Shiraishi I, Yu YE. Duplication of the entire 22.9 Mb human chromosome 21 syntenic region on mouse chromosome 16 causes cardiovascular and gastrointestinal abnormalities. *Hum Mol Genet*, 2007, 16(11): 1359–1366. [DOI]
- [17] Liu CH, Morishima M, Yu T, Matsui SI, Zhang L, Fu DW, Pao AN, Costa AC, Gardiner KJ, Cowell JK, Nowak NJ, Parmacek MS, Liang P, Baldini A, Yu YE. Genetic analysis of down syndrome-associated heart defects in mice. *Hum Genet*, 2011, 130(5): 623–632. [DOI]
- [18] Liu CH, Morishima M, Jiang XL, Yu T, Meng K, Ray D, Pao AN, Ye P, Parmacek MS, Yu YE. Engineered chromosome-based genetic mapping establishes a 3.7 Mb critical genomic region for Down syndrome-associated heart defects in mice. *Hum Genet*, 2014, 133(6): 743–753. [DOI]
- [19] Yu T, Li ZY, Jia ZP, Clapcote SJ, Liu CH, Li SM, Asrar S, Pao AM, Chen R, Fan N, Carattini-Rivera S, Bechard AR, Spring S, Henkelman RM, Stoica G, Matsui SI, Nowak NJ, Roder JC, Chen C, Bradley A, Yu YE. A mouse model of Down syndrome trisomic for all human chromosome 21 syntenic regions. *Hum Mol Genet*, 2010, 19(14): 2780–2791. [DOI]
- [20] Lana-Elola E, Watson-Scales S, Slender A, Gibbins D, Martineau A, Douglas C, Mohun T, Fisher EMC, Tybulewicz VLJ. Genetic dissection of Down syndrome-associated congenital heart defects using a new mouse mapping panel. *eLife*, 2016, 5: e11614. [DOI]
- [21] Gardiner KJ. Pharmacological approaches to improving cognitive function in Down syndrome: current status and considerations. *Drug Des Devel Ther*, 2014, 9: 103–125. [DOI]
- [22] Duchon A, Raveau M, Chevalier C, Nalesso V, Sharp AJ, Herault Y. Identification of the translocation breakpoints in the Ts65Dn and Ts1Cje mouse lines: relevance for modeling down syndrome. *Mamm Genome*, 2011, 22(11–12): 674–684. [DOI]
- [23] Bae JS, Koo NY, Namkoong E, Davies AJ, Choi SK, Shin Y, Jin MH, Hwang SM, Mikoshiba K, Park K. Chaperone stress 70 protein (STCH) binds and regulates two acid/base transporters NBCe1-B and NHE1. *J Biol Chem*, 2013, 288(9): 6295–6305. [DOI]
- [24] White R, Morganstein D, Christian M, Seth A, Herzog B, Parker MG. Role of RIP140 in metabolic tissues: connections to disease. *FEBS Lett*, 2008, 582(1): 39–45. [DOI]
- [25] Winther M, Berezin V, Walmod PS. NCAM2/OCAM/RNCAM: cell adhesion molecule with a role in neuronal compartmentalization. *Int J Biochem Cell Biol*, 2012, 44(3): 441–446. [DOI]
- [26] Shin N, Lee S, Ahn N, Kim SA, Ahn SG, YongPark Z, Chang S. Sorting nexin 9 interacts with dynamin 1 and N-WASP and coordinates synaptic vesicle endocytosis. *J Biol Chem*, 2007, 282(39): 28939–28950. [DOI]

- [27] Duguay D, Bélanger-Nelson E, Mongrain V, Beben A, Khatchadourian A, Cermakian N. Dynein light chain Tctex-type 1 modulates orexin signaling through its interaction with orexin 1 receptor. *PLoS One*, 2011, 6(10): e26430. [DOI]
- [28] Delabar JM, Theophile D, Rahmani Z, Chettouh Z, Blouin JL, Prieur M, Noel B, Sinet PM. Molecular mapping of twenty-four features of Down syndrome on chromosome 21. *Eur J Hum Genet*, 1993, 1(2): 114–124. [DOI]
- [29] Witton J, Padmashri R, Zinyuk LE, Popov VI, Kraev I, Line SJ, Jensen TP, Tedoldi A, Cummings DM, Tybulewicz VLJ, Fisher EMC, Bannerman DM, Randall AD, Brown JT, Edwards FA, Rusakov DA, Stewart MG, Jones MW. Hippocampal circuit dysfunction in the Tc1 mouse model of Down syndrome. *Nat Neurosci*, 2015, 18(9): 1291–1298. [DOI]
- [30] Dunlevy L, Bennett M, Slender A, Lana-Elola E, Tybulewicz VL, Fisher EMC, Mohun T. Down's syndrome-like cardiac developmental defects in embryos of the transchromosomal Tc1 mouse. *Cardiovasc Res*, 2010, 88(2): 287–295. [DOI]
- [31] Hall JH, Wiseman FK, Fisher EMC, Tybulewicz VLJ, Harwood JL, Good MA. Tc1 mouse model of trisomy-21 dissociates properties of short- and long-term recognition memory. *Neurobiol Learn Mem*, 2016, 130: 118–128. [DOI]
- [32] Wilson MD, Barbosa-Morais NL, Schmidt D, Conboy CM, Vanes L, Tybulewicz VL, Fisher EM, Tavaré S, Odom DT. Species-specific transcription in mice carrying human chromosome 21. *Science*, 2008, 322(5900): 434–438. [DOI]
- [33] Gribble SM, Wiseman FK, Clayton S, Prigmore E, Langley E, Yang FT, Maguire S, Fu BY, Rajan D, Sheppard O, Scott C, Hauser H, Stephens PJ, Stebbings LA, Ng BL, Fitzgerald T, Quail MA, Banerjee R, Rothkamm K, Tybulewicz VL, Fisher EM, Carter NP. Massively Parallel Sequencing Reveals the Complex Structure of an Irradiated Human Chromosome on a Mouse Background in the Tc1 Model of Down Syndrome. *PLoS One*, 2013, 8(4): e60482. [DOI]
- [34] Sheppard O, Plattner F, Rubin A, Slender A, Linehan JM, Brandner S, Tybulewicz VLJ, Fisher EMC, Wiseman FK. Altered regulation of tau phosphorylation in a mouse model of down syndrome aging. *Neurobiol Aging*, 2012, 33(4): 828.e31–828.e44. [DOI]
- [35] Stern S, Biron D, Moses E. Transmission of trisomy decreases with maternal age in mouse models of Down syndrome, mirroring a phenomenon in human Down syndrome mothers. *BMC Genet*, 2016, 17: 105. [DOI]
- [36] Belichenko PV, Kleschevnikov AM, Becker A, Wagner GE, Lysenko LV, Yu YE, Mobley WC. Down syndrome cognitive phenotypes modeled in mice trisomic for all HSA 21 homologues. *PLoS One*, 2015, 10(7): e0134861. [DOI]
- [37] McGonigle P, Ruggeri B. Animal models of human disease: challenges in enabling translation. *Biochem Pharmacol*, 2014, 87(1): 162–171. [DOI]
- [38] Wojnarowicz MW, Fisher AM, Minaeva O, Goldstein LE. Considerations for experimental animal models of concussion, traumatic brain injury, and chronic traumatic encephalopathy-these matters matter. *Front Neurol*, 2017, 8: 240. [DOI]

(责任编辑: 卢大儒)