

# 亨廷顿病基因治疗研究进展

金范莹 张宝荣

**【摘要】** 亨廷顿病是一种以运动、认知和精神障碍为主要表现的遗传性中枢神经系统变性疾病,其致病基因 *IT-15* 突变可引起胞嘧啶-腺嘌呤-鸟嘌呤(CAG)三核苷酸重复序列异常扩增,导致所编码的亨廷顿蛋白构象变化并产生神经毒性作用。亨廷顿病的基因治疗目前尚处于临床前阶段,主要包括基因沉默、诱导突变亨廷顿蛋白清除、导入神经营养因子基因,以及纠正突变型亨廷顿蛋白的毒性作用所致的基因转录、信号转导和线粒体代谢紊乱等。本文尝试对亨廷顿病的基因治疗研究进展简要叙述。

**【关键词】** 亨廷顿病; 基因疗法; RNA 干扰; 综述

DOI:10.3969/j.issn.1672-6731.2012.03.003

## Progress in studies of gene therapy for Huntington's disease

JIN Fan-ying, ZHANG Bao-rong

Department of Neurology, Second Affiliated Hospital, Zhejiang University College of Medicine, Hangzhou 310009, Zhejiang, China

Corresponding author: ZHANG Bao-rong (Email: brzhang@zju.edu.cn)

**【Abstract】** Huntington's disease (HD) is a kind of inherited neurodegenerative disorder characterized by movement problems, cognitive decline and psychiatry disturbance. HD is caused by mutation in gene *IT-15* involving the expansion of a trinucleotide (CAG) repeat encoding glutamine, which leads to abnormal conformation of huntingtin (Htt) protein and finally emerge cytotoxic functions. Currently, HD remains a fatal untreatable disease. Gene therapy for HD discussed in this review is under preclinical studies. Silencing of mutant *IT-15* via RNA interference (RNAi) or antisense oligonucleotide (ASO) has shown some effectiveness in mouse model studies. Increasing the clearance of mutant Htt protein could be achieved by viral-mediated delivery of anti-Htt intrabodies (iAbs) or induction of autophagy, and beneficial results have been observed. Ectopic expression of neurotrophic factors, such as nerve growth factor (NGF) and brain-derived neurotrophic factor (BDNF), mediated either by viral vectors or transplantation of genetically modified cells, has also been proved to be effective. Other gene-modifying methods aiming at correction of transcriptional dysregulation by histone modification, activation of endogenous neural stem cells, and normalization of calcium signaling and mitochondrial function, are also under intensive research. Gene therapy for Huntington's disease is promising, yet a long way remains from preclinical studies to clinical trials.

**【Key words】** Huntington disease; Gene therapy; RNA interference; Review

**Fund Project:** National Natural Science Foundation of China (No. 30770761); Science and Technology Planning Project of Zhejiang Province (No. 2011C14026)

亨廷顿病(HD)是一种单基因常染色体显性遗传性神经系统变性疾病,其致病基因 *IT-15* (又称 *HTT* 基因)位于染色体 4p16.3,该基因在亨廷顿病患者中存在胞嘧啶-腺嘌呤-鸟嘌呤(CAG)三核苷酸重复序列异常扩增,当其拷贝数目 > 40 次时即具备完

全外显率<sup>[1]</sup>。该病在欧洲人群中的患病率为(5~7)/10万<sup>[2]</sup>,而亚洲人种较为少见,我国尚无确切的流行病学统计数据;平均发病年龄为40岁,无性别差异,发病后生存期为15~20年,主要症状包括以舞蹈样症状为典型表现的进行性加重的运动障碍、认知功能衰退及精神症状<sup>[3]</sup>。目前的治疗方法以经验性对症支持治疗为主,对舞蹈样症状的控制可采用丁苯那嗪或奥氮平等第2代抗精神病药物;抑郁等精神症状的改善多借助抗抑郁药;认知功能障碍则以心理疗法加以干预<sup>[4-5]</sup>。然而上述方法仅对改

基金项目:国家自然科学基金资助项目(项目编号:30770761);浙江省科技计划项目(项目编号:2011C14026)

作者单位:310009 杭州,浙江大学医学院附属第二医院神经内科

通讯作者:张宝荣(Email:brzhang@zju.edu.cn)

善患者生活质量有一定作用,并不能延缓病程进展,许多大样本系统性回顾研究也显示,目前应用于临床的各种药物对亨廷顿病的治疗效果并不明确<sup>[6-9]</sup>。因此,如何另辟蹊径,寻找更为有效并能从根本上阻遏疾病进展的治疗方法,成为诸多研究探索的焦点,而亨廷顿病相对简单的遗传学机制使得在基因学研究方面实现病因治疗成为一条合理且可行之路。已有不少研究者在这一方向上做出了有意义的尝试,并获得了富有启发性的结果。

### 一、发病机制

亨廷顿病的致病基因 *IT-15* 编码亨廷顿(Htt)蛋白,后者广泛分布于中枢神经系统及全身,其在细胞内的作用机制尚未完全阐明。野生型 Htt(wtHtt)蛋白主要存在于细胞质,也可穿梭至细胞核内,与各种细胞内成分如内质网、线粒体、微管、质膜,以及内吞、自噬和突触小泡均有联系。wtHtt 蛋白参与多种似乎互不关联的细胞内过程,包括调节转录、抑制细胞凋亡、传递内质网应激信号、维持钙平衡、轴突运输、细胞内吞作用及突触传递等<sup>[10]</sup>。当基因突变引起 CAG 拷贝数目异常增加时,可使突变型 Htt(mHtt)蛋白氨基端(N 端)多聚谷氨酰胺链(polyQ)延长而形成包括 $\beta$ 片层结构在内的异常构象,造成 mHtt 蛋白丧失正常功能和获得毒性作用,干扰多种基因转录,损伤神经元轴突运输功能,扰乱线粒体正常代谢,破坏细胞内钙平衡,引起兴奋性毒性作用,导致以纹状体中型多棘神经元(MSN)为主的神元死亡<sup>[10-11]</sup>。目前认为,亨廷顿病的发病机制以 mHtt 蛋白毒性功能的获得为主<sup>[12]</sup>。由于 mHtt 蛋白为其致病“罪魁祸首”,因此,减少 mHtt 蛋白表达,控制、消除 mHtt 蛋白的细胞毒性作用,是亨廷顿病基因治疗的主要目标。

### 二、基因治疗

亨廷顿病的基因治疗目前尚处于临床前阶段,主要方法有:诱导突变基因沉默、减少 mHtt 蛋白表达;加强 mHtt 蛋白清除;导入神经营养因子基因、抑制神经元死亡;诱导神经干细胞分化,补偿神经元缺失;以及纠正由 mHtt 蛋白导致的细胞基因转录异常、钙信号传导异常和线粒体代谢紊乱。动物实验业已证实上述方法可减轻亨廷顿病引起的神经元病理变化和动物运动障碍。

1. 基因沉默 诱导突变 *IT-15* 基因沉默可从根本上减少 mHtt 蛋白的形成,达到治疗效果。目前正在研究中的诱导基因沉默的两种主要方法为:RNA

干扰(RNAi)和反义寡核苷酸技术。(1)RNA 干扰:RNAi 是一种转录后水平的基因沉默技术,通过产生特异序列的抑制性 RNA,使之与同源 mRNA 配对,在 RNA 诱导沉默复合物(RISC)的作用下诱导 mRNA 降解<sup>[13]</sup>。活细胞内存在自然 RNA 干扰过程,可能与抑制病毒感染等疾病抵御功能相关,其中微小 RNA(miRNA)扮演了主要角色。由人工合成的抑制性 RNA 通过模仿 miRNA 可抑制任何目标基因。目前人工合成的抑制性 RNA 主要包括小发夹 RNA(shRNA)和小干扰 RNA(siRNA),二者均被用于亨廷顿病基因治疗的动物模型实验。2005 年 Harper 等<sup>[14]</sup>率先采用腺相关病毒 1(AAV1)将 shRNA(shHD2.1)导入 N171-82Q 小鼠纹状体,发现可减少亨廷顿病相关包涵体的形成,提高小鼠转棒试验成绩。同年,Rodriguez-Lebron 等<sup>[15]</sup>以 AAV5 为载体,将另一种 shRNA(siHUNT-1)导入 R6/1 小鼠纹状体,发现同样可以减轻神经元的病理改变,改善小鼠抓握行为,而对体质量的减轻无影响。此后,不少研究采用不同动物模型及不同 RNA 序列对 shRNA 在亨廷顿病基因治疗中的作用进行了更多的探索,均发现可减轻神经元病理改变,提高动物模型在运动测试中的成绩<sup>[16-20]</sup>。继 shRNA 之后,siRNA 在亨廷顿病治疗中的作用也得到初步证实。Wang 等<sup>[21]</sup>将以 HDx-1 为靶点的 siRNA 经脂质体导入 48 h 龄 R6/2 小鼠纹状体,发现在注射后第 7 天突变型 *HTT* 基因的转录产物显著减少。尽管该基因沉默效应持续 7 d 后即消失,但能长期改善小鼠运动功能且可延长 14% 的小鼠存活期。在另一项动物实验中,DiFiglia 等<sup>[22]</sup>将 siRNA 与胆固醇结合后再与 AAV-Htt100Q 一并导入小鼠纹状体,其结果显示可减少 mHtt 蛋白单体和聚合物形成,减少神经元死亡,改善小鼠运动功能。(2)反义寡核苷酸(ASO):为一类单链寡聚脱氧核苷酸,含 15~25 个核苷酸,可以通过与目标 mRNA 的互补配对,激活核糖核酸酶介导的 mRNA 降解,或以物理方式阻断 mRNA 的翻译<sup>[23]</sup>。在亨廷顿病的治疗过程中,反义寡核苷酸以 mRNA 的 CAG 重复序列或单核苷酸多态性(SNP)为靶点,目前相关研究较少。最近 Gagnon 等<sup>[24]</sup>对以 CAG 重复序列为靶点的若干反义寡核苷酸进行筛选,发现这些反义寡核苷酸在亨廷顿病患者来源的纤维母细胞中具有等位基因选择性基因沉默作用,而对其他含有 CAG 重复序列的基因表达无影响。Carroll 等<sup>[25]</sup>则在 *IT-15* 基因的外显子和内含子中发

现若干单核苷酸多肽性,以之为靶点合成反义寡核苷酸,并将其导入酵母人工染色体(YAC)小鼠模型 YAC18 和细菌人工染色体(BAC)小鼠模型 BACHD 的脑组织中,结果显示,反义寡核苷酸可选择性地在这类单核苷酸多肽性位点诱导基因沉默。此外,反义寡核苷酸还可引起机体产生自然免疫反应,而适当的化学修饰作用则可抑制此类免疫激活<sup>[26]</sup>。

(3)尚需解决的问题:上述临床前实验结果提示,基因沉默,尤其 RNAi 是一种有前景的亨廷顿病基因治疗方法,但在真正投入临床试验前尚需解决如下问题。首先,研究者最关注的问题是同时非特异性地抑制 *mHTT* 和 *wtHTT* 基因表达是否有害? 大多数 siRNA 和 shRNA 在动物模型中的基因沉默作用具有种属特异性,即仅以人源 *mHTT* 为目标,而对鼠源 *wtHTT* 无影响,但若转化为临床试验,则将同时抑制 *mHTT* 和 *wtHTT* 基因的表达。鉴于 wtHtt 蛋白参与细胞内众多正常生理过程,不少研究者担心 *wtHTT* 基因沉默将产生毒性作用。假如采取折中手段,同时部分抑制 *mHTT* 和 *wtHTT* 基因表达,能否获得良好疗效? 动物实验表明,抑制正常成年小鼠脑组织中 70% 的 *wtHTT* 基因表达,小鼠耐受时间 > 4 个月;相应,部分抑制亨廷顿病鼠脑 *mHTT* 基因表达亦可有效减轻其神经病理改变和运动障碍症状<sup>[19-20]</sup>。Boudreau 等<sup>[27]</sup>向 N171-82Q 小鼠纹状体导入可同时抑制 *wtHTT* 和 *mHTT* 基因表达的 AAV-shRNA,4 周后 mHtt 和 wtHtt 蛋白的表达水平降低 60%,13 周后降低 75%;处理后的 3 个月内小鼠耐受良好,转棒试验成绩显著提高,存活期延长。其他相似研究也发现,小鼠对同时部分抑制 *wtHTT* 和 *mHTT* 基因表达的耐受最长可达 9 个月<sup>[20]</sup>。上述实验结果提示,非特异性部分抑制 *wtHTT* 和 *mHTT* 基因表达对亨廷顿病动物有效,且未发现明显不良影响,但仍不能排除应用于人体后可能发生的安全隐患。最理想的治疗目标是:以特异性等位基因为靶点实施基因干扰,选择性地抑制 *mHTT* 基因表达而对 *wtHTT* 基因无影响。异常扩增的 CAG 重复序列正是一个合适的靶点,另一靶点是 *mHTT* 基因特异性单核苷酸多肽性,目前已发现若干单核苷酸多肽性。对上述靶点的反义寡核苷酸和 RNAi 研究已初步展开<sup>[24-25,28]</sup>,但目前反义寡核苷酸对 *wtHTT* 和 *mHTT* 基因的选择性远未达到理想水平<sup>[29]</sup>,至于 RNAi 的选择性如何,尚缺乏动物实验证据。其次,理论上序列特异的 RNAi 或反义寡核苷酸仅诱导目标 mRNA 的降解,但

实际上可能存在“脱靶效应”,导致免疫激活、非目标基因沉默,以及由于抑制性 RNA 过度表达而造成的神经毒性作用。上述“脱靶效应”已在若干动物实验中发现<sup>[19,30-31]</sup>。第三,长期 RNA 干扰是否为亨廷顿病治疗所必需? 在目前的动物实验中,一次性给药后 siRNA 的基因沉默效应可持续 2~4 周,反义寡核苷酸的效应更长一些,可达 3 个月以上,而 shRNA 的有效时间尚未可知<sup>[29]</sup>。考虑到人类寿命显著长于实验动物,是否需要多次给药以实现持续性基因沉默而获得最佳疗效? 目前尚无明确答案。第四,亨廷顿病的主要病理改变是纹状体中型多棘神经元大量缺失。但研究者发现,胶质细胞和皮质也有不同程度受累,而动物模型显示仅以纹状体为靶点的基因沉默仅能部分改善亨廷顿病的相关表型<sup>[14-15]</sup>。那么,扩大基因沉默范围是否能够获得更佳疗效? 欲解答上述问题,需要更多的实验研究以优化亨廷顿病治疗的基因沉默方案。

2. 促进突变型亨廷顿蛋白的清除 目前主要尝试采用两种方法来增加细胞内已生成的 mHtt 蛋白的清除。其一,为借助病毒载体将胞内抗体导入细胞,其在胞内表达的抗体片段可识别并结合 mHtt 蛋白,促进 mHtt 蛋白降解。Wang 等<sup>[32]</sup>发现一种胞内抗体——EM48 可识别 HDx1 的羧基端(C 端)抗原决定簇,选择性地与 mHtt 蛋白相结合,从而增强 mHtt 蛋白的泛素化作用并最终促进其降解。向 R6/2 和 N171-82Q 小鼠纹状体导入 EM48,可提高 mHtt 蛋白清除率,减轻小鼠运动障碍,但对体质量和存活期无影响。另一种胞内抗体——Happ1,可与 Htt 蛋白 polyQ 附近的脯氨酸富集区域相结合。Happ1 虽然对 wtHtt 蛋白和 mHtt 蛋白无选择性,但可通过增强 mHtt 蛋白的钙蛋白酶裂解作用而特异性地清除 mHtt 蛋白。实验研究显示,AAV-Happ1 导入 5 种不同亨廷顿病小鼠纹状体后均可产生有益的治疗效果<sup>[10]</sup>。胞内抗体与一些导向序列的融合可增强其诱导 mHtt 蛋白降解功能。一种可识别 HDx-1 的氨基端序列的胞内抗体 C4,当单独经腺相关病毒运载导入 R6/1 小鼠纹状体时,仅能够产生轻度的改善效应<sup>[33]</sup>;但一项体外细胞实验显示,C4 若与脯-谷-丝-苏(PEST)序列相融合可显著降低纹状体神经元内可溶性与不可溶性 mHtt 蛋白的数量<sup>[34]</sup>。另一种清除 mHtt 蛋白的方法是诱导自噬。Bauer 等<sup>[35]</sup>通过腺相关病毒介导将扩展的 polyQ 结合肽(QBP1)导入 R6/2 小鼠纹状体,QBP1 可特异性地识别 mHtt 蛋白

而非 wtHtt 蛋白,而且与热休克同源蛋白 70(Hsc70) 结合基序相融合,后者可促进所结合的蛋白质经溶酶体作用而自噬。QBP1-Hsc70 结合基序基因治疗能够减少纹状体内可溶性和不可溶性 mHtt 蛋白的数量,抑制纹状体萎缩,改善小鼠运动功能,缓解体质量下降,显著延长存活期。

3. 导入神经营养因子基因 神经营养因子是一类分泌型生长因子,可保护神经元生存并改善功能,促进其分化。一些研究者试图通过病毒载体介导或基因修饰细胞移植等方式,增强神经营养因子在纹状体的表达,从而改善亨廷顿病动物的临床症状。(1)神经生长因子(NGF):是一种典型的神经生长因子,不仅具有保护经体外培养的纹状体神经元的生存,而且还可下调其 *mHTT* 基因表达水平<sup>[36]</sup>。Dey 等<sup>[37]</sup>通过基因工程改造使间充质干细胞过度表达神经生长因子,然后将其移植于 4 月龄 YAC128 转基因小鼠纹状体,发现小鼠运动障碍症状与体征轻度改善。(2)脑源性神经营养因子(BDNF):为纹状体中型多棘神经元生存与分化所必需的因子,其表达可被 wtHtt 蛋白所激活,但 mHtt 丧失此功能,因此亨廷顿病患者脑组织中的 BDNF 表达水平降低。Kells 等<sup>[38]</sup>注射喹啉酸(QA)前借助病毒载体给大鼠纹状体导入 BDNF,其结果显示纹状体损伤体积和神经元死亡数量减少。Giralt 等<sup>[39]</sup>采用胶质纤维酸性蛋白(GFAP)处理转基因小鼠来源的可表达 BDNF 的星形胶质细胞,使之在炎症损伤应激下提高 BDNF 表达水平,然后再将此星形胶质细胞先于喹啉酸注射 1 周或 1 个月植入裸鼠纹状体,发现此类细胞可产生大量 BDNF,缩小纹状体损伤体积,减少神经元死亡;向单侧纹状体受累的小鼠注射表达 BDNF 的星形胶质细胞,由苯丙胺诱导的旋转运动明显减少。Dey 等<sup>[37]</sup>将表达 BDNF 的间充质干细胞植入 4 月龄 YAC128 转基因小鼠纹状体后,小鼠运动障碍症状明显改善,且对其神经病理的改善长期有益。(3)胶质细胞源性神经营养因子(GDNF):该因子既可由发育中的纹状体产生,亦可来自成人纹状体投射神经元和中间神经元的表达。Kells 等<sup>[38]</sup>发现,在注射喹啉酸前借助病毒载体或细胞向大鼠纹状体导入 GDNF 可产生神经保护作用。Pineda 等<sup>[40]</sup>将可产生 GDNF 的神经元干细胞在注射喹啉酸前植入裸鼠纹状体内,发现可减少神经元死亡,降低小鼠在苯丙胺诱导下的旋转运动。McBride 等<sup>[41]</sup>将 AAV-GDNF 导入临床前期、4~5 周龄 N171-82Q 转基

因小鼠纹状体,结果显示,小鼠旋转、抓握等运动障碍发病时间显著延迟;至 16 周龄时,与对照鼠相比,实验鼠纹状体内包涵体数目减少而神经元数量增加,神经元横截面积扩大。而 Popovic 等<sup>[42]</sup>亦发现,若于 R6/2 转基因小鼠发病后再将 GDNF 借助慢病毒载体导入其纹状体内,则不能改善运动障碍和纹状体神经元病理变化。但 Ebert 等<sup>[43]</sup>发现,将可分泌 GDNF 的小鼠神经祖细胞移植于发病后 2 月龄 N171-82Q 转基因小鼠纹状体,可延缓其体质量下降,改善运动障碍症状,并减轻神经元病理改变,提示 GDNF 不但可保护未损伤神经元,同时还具有促进已损伤神经元修复的作用。(4)神经秩蛋白(NTN):是 GDNF 家族成员之一,在细胞介导下将 NTN 导入经喹啉酸处理的大鼠纹状体,可保护投射神经元但对中间神经元无作用<sup>[44]</sup>。NTN 的这一效应与 GDNF 恰好相反。由于中型多棘神经元为投射神经元且为亨廷顿病神经元死亡的主要类型,因此 NTN 可能比 GDNF 更适宜治疗亨廷顿病。Ramaswamy 等<sup>[45]</sup>将由病毒载体介导的 NTN 导入 3-硝基丙酸(3-NP)大鼠模型后,运动障碍得到改善;此后又借助慢病毒载体将 NTN 导入 6 周龄 N171-82Q 转基因小鼠,同样发现可延迟运动障碍症状出现的时间,并能够增加纹状体和皮质神经元数量,但该项方法对神经元横截面积、包涵体分布和小鼠存活时间无作用。鉴于 GDNF 和 NTN 在亨廷顿病治疗效果上的互补作用,将二者联合应用或许能够获得更为理想的治疗效果。(5)睫状神经营养因子(CNTF):该营养因子可保护多种神经元。据早期研究显示,CNTF 对喹啉酸大鼠模型具有神经保护作用<sup>[46]</sup>,但此后的研究认为 CNTF 过度表达不能被亨廷顿病动物模型所耐受,甚至可加剧神经元病变、导致运动障碍提早出现并加速体质量下降<sup>[47-48]</sup>,说明 CNTF 不适宜用于亨廷顿病的治疗。

4. 激活内源性神经干细胞 激活成人脑组织内源性神经干细胞可补偿疾病造成的神经元缺失。Cho 等<sup>[49]</sup>将腺病毒-BDNF(AdB)导入 R6/2 转基因小鼠脑室下区,可诱导该区域的神经干细胞增殖分化并向纹状体迁移;大多数神经干细胞分化成为胶质细胞,但若同时导入头蛋白(一种胶质细胞生成抑制剂)和 BDNF(AdB/N),则将引导大部分神经干细胞向神经元分化,促使纹状体中新的中型多棘神经元生成并向相应靶点投射轴突,提示 AdB/N 可改善小鼠运动功能,并延长存活时间。

5. 组蛋白去乙酰化酶抑制剂纠正基因转录异常 mHtt 蛋白可与多种转录因子作用,通过改变组蛋白修饰模式而引起染色体结构变化,导致多种基因转录异常。其中一种转录因子——cAMP 反应元件(CREB)结合蛋白(CBP)具有组蛋白乙酰转移酶(HAT)活性,mHtt 蛋白可与之结合,使其活性减弱。组蛋白乙酰转移酶催化组蛋白乙酰化,使染色体松散而增强基因转录;与之相反,组蛋白去乙酰化酶(HDAC)则催化组蛋白去乙酰化,使染色体浓集而减少基因转录<sup>[50]</sup>。组蛋白乙酰转移酶与组蛋白去乙酰化酶在作用上相互拮抗而处于动态平衡,维持基因转录水平的平衡。当 mHtt 蛋白与 CBP 结合,使其组蛋白乙酰转移酶活性减弱,则组蛋白去乙酰化酶活性相对增强,下调基因转录水平、蛋白合成减少,诱发一系列病理变化。因此,研究者试图采用组蛋白去乙酰化酶抑制剂减弱组蛋白去乙酰化酶活性,使组蛋白乙酰转移酶与去乙酰化酶在较低活性水平达到新的平衡,从而纠正基因转录紊乱。组蛋白去乙酰化酶抑制剂包括四大家族<sup>[51]</sup>:(1)短链脂肪酸家族,包括丁酸钠、丁酸苯酯、丙戊酸等。(2)氧肟酸家族,有曲古抑菌素 A(TSA)、辛二酰苯胺异羟肟酸(SAHA)等。(3)肽环家族有 TPX(trapoxin)。(4)苯甲酰胺类,包括庚二酸二苯唑胺 106、组蛋白去乙酰化酶抑制剂 4b(HDACi 4b)。有研究显示,丁酸钠<sup>[52]</sup>、丁酸苯酯<sup>[53-54]</sup>、SAHA<sup>[55]</sup>、HDACi 4b<sup>[56]</sup>治疗亨廷顿病小鼠模型可减少神经元缺失,改善小鼠运动障碍,延长存活期。

6. 调节钙信号转导和线粒体功能 mHtt 蛋白可与钙调蛋白(CaM)相互作用,引起细胞内 Ca<sup>2+</sup>超载和钙信号转导异常。Dai 等<sup>[57]</sup>应用腺相关病毒将钙调蛋白片段导入 R6/2 转基因小鼠以干扰 mHtt-CaM 相互作用,其结果显示小鼠运动障碍改善,体质量下降减缓,但对小鼠存活时间无影响。mHtt 蛋白还可通过抑制过氧化物酶体增殖物激活受体 $\gamma$ 辅助激活因子 1 $\alpha$ (PGC-1 $\alpha$ )的转录而导致线粒体代谢失调,Cui 等<sup>[58]</sup>应用慢病毒载体将 PGC-1 $\alpha$ 导入 R6/2 小鼠纹状体,发现可抑制神经元萎缩。

### 三、小结

迄今为止,亨廷顿病仍是一种无法治愈的神经系统变性疾病。作为一种新兴治疗手段,基因治疗,尤其是 RNAi、神经营养因子基因导入等方法,在亨廷顿病动物模型实验中已显示出一定疗效。但是,从动物实验到人体试验的转化仍是一条漫长的

道路。在恶性肿瘤及某些遗传性疾病的治疗中,基因治疗已进入临床试验,开始扮演越来越重要的角色。期待在不久的将来,亨廷顿病患者也将从基因治疗中获益。

### 参 考 文 献

- [1] The Huntington's Disease Collaborative Research Group. A novel gene containing a trinucleotide repeat that is expanded and unstable on Huntington's disease chromosomes. *Cell*, 1993, 72:971-983.
- [2] Walker FO. Huntington's disease. *Lancet*, 2007, 369:218-228.
- [3] Novak MJ, Tabrizi SJ. Huntington's disease. *BMJ*, 2010, 340: c3109.
- [4] Adam OR, Jankovic J. Symptomatic treatment of Huntington disease. *Neurotherapeutics*, 2008, 5:181-197.
- [5] Chinese Medical Association Neurology Branch Parkinson's Disease and Movement Disorders Group. Diagnosis and treatment guidelines for Huntington's disease. *Zhonghua Shen Jing Ke Za Zhi*, 2011, 44:638-641. [中华医学会神经病学分会帕金森病及运动障碍学组. 亨廷顿病的诊断与治疗指南. *中华神经科杂志*, 2011, 44:638-641.]
- [6] Bonelli RM, Wenning GK. Pharmacological management of Huntington's disease: an evidence-based review. *Curr Pharm Des*, 2006, 12:2701-2720.
- [7] Bonelli RM, Hofmann P. A systematic review of the treatment studies in Huntington's disease since 1990. *Expert Opin Pharmacother*, 2007, 8:141-153.
- [8] Mestre T, Ferreira J, Coelho MM, et al. Therapeutic interventions for disease progression in Huntington's disease. *Cochrane Database Syst Rev*, 2009, (3):CD006455.
- [9] Mestre T, Ferreira J, Coelho MM, et al. Therapeutic interventions for symptomatic treatment in Huntington's disease. *Cochrane Database Syst Rev*, 2009, (3):CD006456.
- [10] Southwell AL, Patterson PH. Gene therapy in mouse models of Huntington disease. *Neuroscientist*, 2011, 17:153-162.
- [11] Yan YP, Zhang BR. The molecular mechanisms of Huntington's disease and its advances in therapeutic strategies. *Zhongguo Xian Dai Shen Jing Ji Bing Za Zhi*, 2011, 11:30-35. [严雅萍, 张宝荣. 亨廷顿病的发病机制和治疗进展. *中国现代神经疾病杂志*, 2011, 11:30-35.]
- [12] Ross CA, Tabrizi SJ. Huntington's disease: from molecular pathogenesis to clinical treatment. *Lancet Neurol*, 2011, 10:83-98.
- [13] Harper SQ. Progress and challenges in RNA interference therapy for Huntington disease. *Arch Neurol*, 2009, 66:933-938.
- [14] Harper SQ, Staber PD, He X, et al. RNA interference improves motor and neuropathological abnormalities in a Huntington's disease mouse model. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102:5820-5825.
- [15] Rodriguez - Lebron E, Denovan - Wright EM, Nash K, et al. Intrastriatal rAAV-mediated delivery of anti-huntingtin shRNAs induces partial reversal of disease progression in R6/1 Huntington's disease transgenic mice. *Mol Ther*, 2005, 12:618-633.
- [16] Machida Y, Okada T, Kurosawa M, et al. rAAV - mediated shRNA ameliorated neuropathology in Huntington disease model mouse. *Biochem Biophys Res Commun*, 2006, 343:190-197.
- [17] Huang B, Schiefer J, Sass C, et al. High-capacity adenoviral vector-mediated reduction of huntingtin aggregate load in vitro

- and in vivo. *Hum Gene Ther*, 2007, 18:303-311.
- [18] Franich NR, Fitzsimons HL, Fong DM, et al. AAV vector-mediated RNAi of mutant huntingtin expression is neuroprotective in a novel genetic rat model of Huntington's disease. *Mol Ther*, 2008, 16:947-956.
- [19] McBride JL, Boudreau RL, Harper SQ, et al. Artificial miRNAs mitigate shRNA-mediated toxicity in the brain: implications for the therapeutic development of RNAi. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105:5868-5873.
- [20] Drouet V, Perrin V, Hassig R, et al. Sustained effects of nonallele-specific Huntingtin silencing. *Ann Neurol*, 2009, 65:276-285.
- [21] Wang YL, Liu W, Wada E, et al. Clinico-pathological rescue of a model mouse of Huntington's disease by siRNA. *Neurosci Res*, 2005, 53:241-249.
- [22] DiFiglia M, Sena - Esteves M, Chase K, et al. Therapeutic silencing of mutant huntingtin with siRNA attenuates striatal and cortical neuropathology and behavioral deficits. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104:17204-17209.
- [23] Bennett CF, Swayze EE. RNA targeting therapeutics: molecular mechanisms of antisense oligonucleotides as a therapeutic platform. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2010, 50:259-293.
- [24] Gagnon KT, Pendergraft HM, Deleavey GF, et al. Allele-selective inhibition of mutant huntingtin expression with antisense oligonucleotides targeting the expanded CAG repeat. *Biochemistry*, 2010, 49:10166-10178.
- [25] Carroll JB, Warby SC, Southwell AL, et al. Potent and selective antisense oligonucleotides targeting single - nucleotide polymorphisms in the Huntington disease gene/allele - specific silencing of mutant huntingtin. *Mol Ther*, 2011, 19:2178-2185.
- [26] Henry S, Stecker K, Brooks D, et al. Chemically modified oligonucleotides exhibit decreased immune stimulation in mice. *J Pharmacol Exp Ther*, 2000, 292:468-479.
- [27] Boudreau RL, McBride JL, Martins I, et al. Nonallele-specific silencing of mutant and wild - type huntingtin demonstrates therapeutic efficacy in Huntington's disease mice. *Mol Ther*, 2009, 17:1053-1063.
- [28] Pfister EL, Kennington L, Straubhaar J, et al. Five siRNAs targeting three SNPs may provide therapy for three-quarters of Huntington's disease patients. *Curr Biol*, 2009, 19:774-778.
- [29] Sah DW, Aronin N. Oligonucleotide therapeutic approaches for Huntington disease. *J Clin Invest*, 2011, 121:500-507.
- [30] Denovan - Wright EM, Rodriguez - Lebron E, Lewin AS, et al. Unexpected off - targeting effects of anti - huntingtin ribozymes and siRNA in vivo. *Neurobiol Dis*, 2008, 29:446-455.
- [31] Marques JT, Williams BR. Activation of the mammalian immune system by siRNAs. *Nat Biotechnol*, 2005, 23:1399 - 1405.
- [32] Wang CE, Zhou H, McGuire JR, et al. Suppression of neuropil aggregates and neurological symptoms by an intracellular antibody implicates the cytoplasmic toxicity of mutant huntingtin. *J Cell Biol*, 2008, 181:803-816.
- [33] Snyder - Keller A, McLear JA, Hathorn T, et al. Early or late-stage anti - N - terminal Huntingtin intrabody gene therapy reduces pathological features in B6.HDR6/I mice. *J Neuropathol Exp Neurol*, 2010, 69:1078-1085.
- [34] Snyder - Keller A, Butler D, Messer A. Engineered antibody fragments can reduce Huntington's disease phenotypes in vivo and in situ. 2010 Neuroscience Meeting Planner San Diego, CA: Society of Neuroscience, 2010.
- [35] Bauer PO, Goswami A, Wong HK, et al. Harnessing chaperone-mediated autophagy for the selective degradation of mutant huntingtin protein. *Nat Biotechnol*, 2010, 28:256-263.
- [36] Haque NS, Isacson O. Neurotrophic factors NGF and FGF - 2 alter levels of huntingtin (IT15) in striatal neuronal cell cultures. *Cell Transplant*, 2000, 9:623-627.
- [37] Dey ND, Bombard MC, Roland BP, et al. Genetically engineered mesenchymal stem cells reduce behavioral deficits in the YAC 128 mouse model of Huntington's disease. *Behav Brain Res*, 2010, 214:193-200.
- [38] Kells AP, Fong DM, Dragunow M, et al. AAV-mediated gene delivery of BDNF or GDNF is neuroprotective in a model of Huntington disease. *Mol Ther*, 2004, 9:682-688.
- [39] Giralt A, Friedman HC, Caneda - Ferrón B, et al. BDNF regulation under GFAP promoter provides engineered astrocytes as a new approach for long - term protection in Huntington's disease. *Gene Ther*, 2010, 17:1294-1308.
- [40] Pineda JR, Rubio N, Akerud P, et al. Neuroprotection by GDNF-secreting stem cells in a Huntington's disease model: optical neuroimage tracking of brain-grafted cells. *Gene Ther*, 2007, 14:118-128.
- [41] McBride JL, Ramaswamy S, Gasmí M, et al. Viral delivery of glial cell line-derived neurotrophic factor improves behavior and protects striatal neurons in a mouse model of Huntington's disease. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103:9345-9350.
- [42] Popovic N, Maingay M, Kirik D, et al. Lentiviral gene delivery of GDNF into the striatum of R6/2 Huntington mice fails to attenuate behavioral and neuropathological changes. *Exp Neurol*, 2005, 193:65-74.
- [43] Ebert AD, Barber AE, Heins BM, et al. Ex vivo delivery of GDNF maintains motor function and prevents neuronal loss in a transgenic mouse model of Huntington's disease. *Exp Neurol*, 2010, 224:155-162.
- [44] Pérez-Navarro E, Akerud P, Marco S, et al. Neurturin protects striatal projection neurons but not interneurons in a rat model of Huntington's disease. *Neuroscience*, 2000, 98:89-96.
- [45] Ramaswamy S, McBride JL, Herzog CD, et al. Neurturin gene therapy improves motor function and prevents death of striatal neurons in a 3 - nitropropionic acid rat model of Huntington's disease. *Neurobiol Dis*, 2007, 26:375-384.
- [46] Régulier E, Pereira de Almeida L, Sommer B, et al. Dose - dependent neuroprotective effect of ciliary neurotrophic factor delivered via tetracycline - regulated lentiviral vectors in the quinolinic acid rat model of Huntington's disease. *Hum Gene Ther*, 2002, 13:1981-1990.
- [47] Zala D, Bensadoun JC, Pereira de Almeida L, et al. Long-term lentiviral-mediated expression of ciliary neurotrophic factor in the striatum of Huntington's disease transgenic mice. *Exp Neurol*, 2004, 185:26-35.
- [48] Denovan - Wright EM, Attis M, Rodriguez - Lebron E, et al. Sustained striatal ciliary neurotrophic factor expression negatively affects behavior and gene expression in normal and R6/I mice. *J Neurosci Res*, 2008, 86:1748-1757.
- [49] Cho SR, Benraiss A, Chmielnicki E, et al. Induction of neostriatal neurogenesis slows disease progression in a transgenic murine model of Huntington disease. *J Clin Invest*, 2007, 117:2889-2902.
- [50] Sadri - Vakili G, Cha JH. Mechanisms of disease: histone modifications in Huntington's disease. *Nat Clin Pract Neurol*, 2006, 2:330-338.
- [51] Abel T, Zukin RS. Epigenetic targets of HDAC inhibition in neurodegenerative and psychiatric disorders. *Curr Opin Pharmacol*, 2008, 8:57-64.
- [52] Ferrante RJ, Kubilus JK, Lee J, et al. Histone deacetylase inhibition by sodium butyrate chemotherapy ameliorates the neurodegenerative phenotype in Huntington's disease mice. *J*

- Neurosci, 2003, 23:9418-9427.
- [53] Gardian G, Browne SE, Choi DK, et al. Neuroprotective effects of phenylbutyrate in the N171-82Q transgenic mouse model of Huntington's disease. *J Biol Chem*, 2005, 280:556-563.
- [54] Sadri-Vakili G, Bouzou B, Benn CL, et al. Histones associated with downregulated genes are hypo-acetylated in Huntington's disease models. *Hum Mol Genet*, 2007, 16:1293-1306.
- [55] Hockly E, Richon VM, Woodman B, et al. Suberoylanilide hydroxamic acid, a histone deacetylase inhibitor, ameliorates motor deficits in a mouse model of Huntington's disease. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100:2041-2046.
- [56] Thomas EA, Coppola G, Desplats PA, et al. The HDAC inhibitor 4b ameliorates the disease phenotype and transcriptional abnormalities in Huntington's disease transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105:15564-15569.
- [57] Dai Y, Dudek NL, Li Q, et al. Striatal expression of a calmodulin fragment improved motor function, weight loss, and neuropathology in the R6/2 mouse model of Huntington's disease. *J Neurosci*, 2009, 29:11550-11559.
- [58] Cui L, Jeong H, Brovecki F, et al. Transcriptional repression of PGC-1 $\alpha$  by mutant huntingtin leads to mitochondrial dysfunction and neurodegeneration. *Cell*, 2006, 127:59-69.

(收稿日期:2012-04-27)

## · 小词典 ·

## 中英文对照名词词汇(二)

- 泛酸激酶 2 panthothenate kinase 2(PANK2)  
泛酸激酶相关性神经变性疾病  
panthothenate kinase-associated neurodegeneration(PKAN)  
非酮症性高血糖合并偏侧舞蹈症  
hemichorea associated with non-ketotic hyperglycaemia  
(HC-NH)  
 $\beta$ -分泌酶  $\beta$ -secretase(BACE1)  
风疹病毒 rubella virus(RV)  
弗里德赖希共济失调 Friedreich's ataxia(FRDA)  
复合肌肉动作电位  
compound muscle action potential(CMAP)  
改良肌萎缩侧索硬化症功能评价量表  
Amyotrophic Lateral Sclerosis Functional Rating  
Scale-Revised(ALSFRS-R)  
Addenbrooke 改良认知评价量表  
Addenbrooke's Cognitive Examination Revised(ACE-R)  
钙调蛋白 calmodulin(CaM)  
RNA 干扰 RNA interference(RNAi)  
肝豆状核变性 hepatolenticular degeneration(HLD)  
肝 X 受体 liver X receptor(LXR)  
橄榄体脑桥小脑萎缩 olivopontocerebellar atrophy(OPCA)  
高效抗逆转录病毒疗法  
highly active antiretroviral therapy(HAART)  
弓形虫 toxoplasma(toxo)  
功能磁共振成像  
functional magnetic resonance imaging(fMRI)  
共济失调伴选择性维生素 E 缺乏症  
ataxia with vitamin E deficiency(AVED)  
共济失调-毛细血管扩张症 ataxia-telangiectasia(AT)  
国际协作共济失调评价量表  
International Cooperative Ataxia Rating Scale(ICARS)  
过氧化物酶体增殖物激活受体 $\gamma$ 辅激活因子 1 $\alpha$   
peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  coactivator 1 $\alpha$   
(PGC-1 $\alpha$ )  
过氧化物酶增殖物激活受体 $\gamma$   
Peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$ (PPAR  $\gamma$ )  
F 和 D 双突变多肽  
Flemish and Dutch mutant peptide(PFDM)  
核转录因子- $\kappa$ B nuclear factor-kappa B(NF- $\kappa$ B)  
亨廷顿蛋白 huntingtin(Htt) protein  
亨廷顿病 Huntington disease(HD)  
肌球蛋白轻链 myosin light chain(MLC)  
肌球蛋白轻链激酶 myosin light chain kinase(MLCK)  
肌酸 creatine(Cr)  
肌酸激酶 creatine kinase(CK)  
肌萎缩侧索硬化症 amyotrophic lateral sclerosis(ALS)  
肌萎缩侧索硬化症伴认知损害  
ALS with cognitive impairment(ALSci)  
肌萎缩侧索硬化症伴行为损害  
ALS with behavioral impairment(ALSbi)  
肌阵挛性癫痫伴破碎红边纤维  
myoclonic epilepsy with ragged red fibers(MERRF)  
肌阵挛性小脑协调障碍 Ramsay Hunt syndrome(RHS)  
基于体素的形态测量学 voxel-based morphometry(VBM)  
基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱  
matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight  
mass spectrometry(MALDI-TOF MS)  
基质金属蛋白酶-12 matrix metalloproteinase-12(MMP-12)  
急性动脉粥样硬化性脑梗死  
acute atherosclerotic cerebral infarction(AACI)  
脊髓小脑共济失调 spinocerebellar ataxia(SCA)  
脊髓小脑肌萎缩症  
spinal and bulbar muscular atrophy(SBMA)  
脊髓性肌萎缩症 spinal muscular atrophy(SMA)  
脊髓延髓肌萎缩症 spinobulbar muscular atrophy(SBMA)  
家族性肌萎缩侧索硬化症  
familial amyotrophic lateral sclerosis(FALS)  
甲基丙二酰辅酶 A 变位酶  
methylmalonyl-CoA mutase(MCM)  
甲基丙二酸血症 methylmalonic acidemia(MMA)  
DNA 甲基转移酶 DNA methyltransferases(DNMTs)