

微小 RNA 和小干扰 RNA 在 SCA3/MJD 的研究进展

黄凤珍 侯漩 唐北沙 江泓

【摘要】 脊髓小脑共济失调 3 型(SCA3)为多聚谷氨酰胺(PolyQ)病,其致病基因为编码区内含胞嘧啶-腺嘌呤-鸟嘌呤(CAG)重复序列的 *ATXN3* 基因,编码蛋白 ataxin-3 羧基末端含 PolyQ 肽链, PolyQ 扩展突变型 ataxin-3 蛋白可选择性地在中枢神经系统特定区域(小脑、脑干、脊髓等)聚积形成神经元核内包涵体。微小 RNA 是广泛存在于高等真核细胞中、长度为 21~23 bp 的小分子非编码 RNA,与靶基因 mRNA 的 3' 端非编码区特异性结合后抑制靶基因的表达。小干扰 RNA 是 RNA 干扰技术中的效应分子,其长度为 21~23 bp,特异性与 mRNA 的编码序列完全互补结合后,导致 mRNA 降解和沉默。二者在结构和作用机制存在许多类似之处,可用来进行基因功能分析和疾病发病机制的研究。

【关键词】 微 RNAs; RNA, 小分子干扰; Machado-Joseph 病; 三核苷酸重复; 综述

Research progress of miRNA and siRNA in spinocerebellar ataxia type 3

HUANG Feng-zhen, HOU Xuan, TANG Bei-sha, JIANG Hong

Department of Neurology, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410008, Hu'nan, China

Corresponding author: JIANG Hong (Email: jianghong73868@yahoo.com.cn)

【Abstract】 Spinocerebellar ataxia type 3 (SCA3) is a type of polyglutamine (polyQ) disease with expansion mutant *ATXN3* gene as its causative gene which contains cytosine-adenine-guanine (CAG) repeat sequence at the coding region of 3-terminal. The polyQ expansion mutant *ATXN3* gene encoded polyQ expansion mutant ataxin-3 protein with a polyQ peptide chain at its carboxyl-terminal. The polyQ expansion mutant ataxin-3 protein selectively accumulates in specific areas of the central nervous system, such as cerebellum, brainstem, spinal cord, etc, and forms neuronal intranuclear inclusions (NIIs). Researches about micro RNA (miRNA) and small interference RNA (siRNA) are dramatically rapidly increasing. miRNAs are a class of small non-coding RNAs that widely exist in higher eukaryotes, with approximately 21-23 bp. They inhibit target gene expression by combining with the 3' untranslated region (3'UTR) of the target gene mRNA. siRNAs are the effect molecules in RNA interference (RNAi) technology, with a length of about 21-23 bp. They induce mRNA degradation and silence on the basis of completely complementary combination with mRNA coding sequence (CDS). miRNA and siRNA have many similarities in both structure and mechanism, and both of them can be used to analyze gene function and to investigate pathogenesis of diseases.

【Key words】 MicroRNAs; RNA, small interfering; Machado - Joseph disease; Trinucleotide repeats; Review

This study was supported by National Basic Research Program of China (973 Program, No. 2012CB944601, 2012CB517902, 2011CB510002), New Century Excellent Talents in University by Ministry of Education (No. NCET-10-0836) and the National Natural Science Foundation of China (No. 81271260, 30971585, 30871354, 30710303061, 30400262).

doi:10.3969/j.issn.1672-6731.2013.08.016

基金项目:国家重点基础研究计划(973计划)项目(项目编号:2012CB944601);国家重点基础研究计划(973计划)项目(项目编号:2012CB517902);国家重点基础研究计划(973计划)项目(项目编号:2011CB510002);教育部新世纪优秀人才支持计划项目(项目编号:NCET-10-0836);国家自然科学基金资助项目(项目编号:81271260);国家自然科学基金资助项目(项目编号:30971585);国家自然科学基金资助项目(项目编号:30871354);国家自然科学基金资助项目(项目编号:30710303061);国家自然科学基金资助项目(项目编号:30400262)

作者单位:410008 长沙,中南大学湘雅医院神经内科

通讯作者:江泓(Email:jianghong73868@yahoo.com.cn)

遗传性脊髓小脑共济失调(SCA)是一类具有明显临床和遗传异质性的常见中枢神经系统退行性疾病,其发病机制至今尚未阐明。许多研究表明,微小RNA(miRNA)和小干扰RNA(siRNA)参与了脊髓小脑共济失调3型(SCA3)/马查多-约瑟夫病(MJD)的发病机制,笔者拟就miRNA和siRNA技术在SCA3/MJD的研究进展进行概述。

一、脊髓小脑共济失调3型

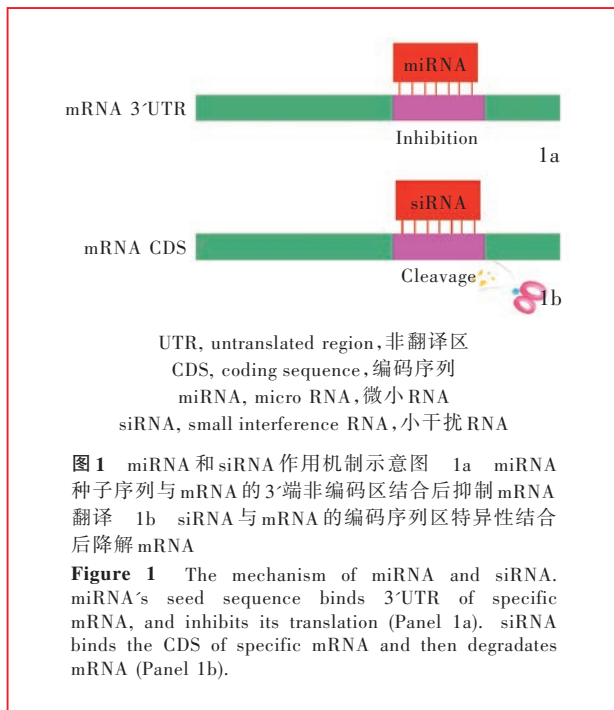
1. 遗传学特点 SCA是一类具有明显临床和遗传异质性的常见中枢神经系统退行性疾病,主要表现为共济失调和辨距不良,呈常染色体显性遗传。目前通过遗传连锁定位已发现33种基因型、克隆出19种基因,其中SCA3/MJD是其中最为常见的亚型。致病基因*ATXN3/MJD1*位于第14号染色体短臂(14q32.1),3'端蛋白编码区含胞嘧啶-腺嘌呤-鸟嘌呤(CAG)三核苷酸重复序列,正常人重复次数为12~44次,而SCA3/MJD患者可高达60~87次。*ATXN3*基因编码蛋白ataxin-3的羧基末端(C末端),含有一段多聚谷氨酰胺(PolyQ)肽链,后者的扩展突变型ataxin-3蛋白可选择性地在中枢神经系统特定区域(小脑、脑干、脊髓等)积聚形成神经元核内包涵体(NIIs)。而且,随着PolyQ扩展突变型ataxin-3蛋白表达水平的升高,SCA3患者病情逐渐加重^[1-2],目前关于体内调节PolyQ扩展突变型ataxin-3蛋白表达的机制尚未阐明。新近研究显示,miRNA和siRNA参与SCA3的调控,而且已经筛选出调节SCA3的相关miRNA,其中表达显著上调的miRNA为miR-34b和miR-32*,表达显著下调者为miR-29a、miR-125b、miR-25和miR-181b^[3-5],相关研究数据已提交至miRBase数据库。迄今为止,在TargetScan和microRNA数据库中共检索到62种调节SCA3的miRNA (<http://www.microrna.org/microrna/home.do>; http://www.targetscan.org/vert_61/)。

2. 微小RNA和小干扰RNA (1)miRNA:是一类广泛存在于高等真核细胞中、长度为21~23bp的非编码单链小分子RNA,通常在细胞核内由RNA聚合酶II转录而成,最初产物为具有5'端帽子结构(7MGpppG)和多聚腺苷酸尾(AAAA)端茎环结构的初始转录本miRNA(pri-miRNA)。Pri-miRNA在Drosha酶及其辅助因子Pasha的作用下被加工成含有70~90个核苷酸的前体miRNA(pre-miRNA)。Pre-miRNA与核输出因子exportin-5蛋白结合后由细胞核转运至细胞质,通过Dicer酶剪切成含21~

23个核苷酸的RNA双链(miRNA:miRNA*),1条链被降解,另1条链被选择性地识别并载入RNA诱导沉默复合体(RISC),从而形成成熟的miRNA。其作用方式为,按照碱基互补配对原则,成熟miRNA通过其5'端2~8个核苷酸位点上的种子序列(seed sequence)与靶基因mRNA 3'端非翻译区(3'UTR)互补配对结合,从而实现靶基因的转录后抑制(图1)^[6-7],参与调控个体发育及细胞凋亡、增殖和分化等生命活动^[8-10]。miRNA的作用是多向性的,一个miRNA可靶向作用于多种mRNA,且一个mRNA又受多种miRNA靶向调控^[11]。据推测,有30%~92%的人类编码蛋白基因受miRNA调控^[12-13]。多项研究表明,miRNA参与中枢神经系统退行性疾病的发病机制^[14],如阿尔茨海默病(AD)、帕金森病(PD)、亨廷顿病(HD)、SCA1和SCA3等^[3,15-18]。(2)siRNA:RNA干扰(RNAi)技术是一种转录后的基因调控方式,也称转录后基因沉默,其效应分子为siRNA。siRNA为人工体外合成的小片段RNA,由21~23个碱基组成。合成过程为利用载体将双链短发夹RNA(shRNA)导入细胞,通过Dicer酶作用将其切割成含21~23个核苷酸片段的双链短小RNA,即siRNA^[19]。其作用方式为,在ATP的参与下,siRNA与RNA诱导沉默复合体结合并裂解siRNA双链,使其正义链从RNA诱导沉默复合体中解聚,反义链识别靶mRNA,通过RNA诱导沉默复合体内切酶活性切割mRNA,再经外切酶进一步降解靶mRNA,终止转录基因表达(图1)。siRNA不仅可以引导RNA诱导沉默复合体切割同源单链mRNA,而且可以作为引物与靶RNA结合并在RNA聚合酶的作用下合成更多新的双链RNA(dsRNA),新合成的dsRNA再由Dicer酶切割产生大量次级siRNA,从而使RNAi的作用进一步放大,最终将靶mRNA完全降解^[20-21]。该项检测技术已初步应用于中枢神经系统退行性疾病的研究,例如阿尔茨海默病、帕金森病、亨廷顿病、SCA1、SCA3和SCA7等^[2,4,22-23]。(3)miRNA与siRNA的比较:二者均为小分子非编码RNA,均于转录水平后和翻译水平发挥作用。但二者作用方式有所不同,分为miRNA途径和RNAi途径;作用位点分别为靶mRNA的3'端非编码区和靶mRNA的编码序列(CDS)区;对RNA的影响表现为抑制mRNA翻译和降解目标mRNA(表1,2)。

二、微小RNA和小干扰RNA研究进展

1. 微小RNA Dicer酶在果蝇和脊椎动物



miRNA 的形成过程中起重要作用。果蝇存在两种 *dicer* 基因, 分别为 *dicer-1* 和 *dicer-2*。其中, *dicer-1* 主要对 miRNA 的成熟起重要作用, *dicer-1* 突变将阻止 pre-miRNA 的形成; *dicer-2* 主要调节 siRNA 的形成, 突变后将阻止 siRNA 前体的形成^[24]。通过建立 PolyQ 扩展突变型 SCA3 果蝇模型和 *dicer-1* 突变型果蝇模型, Bilen 等^[25]发现, 截断的 PolyQ 扩展突变型 ataxin-3 蛋白可导致色素沉着和视网膜部分缺失等退行性变, 在此基础上, *dicer-1* 突变可使退行性变加重, 导致色素完全缺失。 *dicer-1* 基因单独缺失则可影响眼睛形态。此外, R3D1 是一种 dsRNA 结合蛋白, 为另一影响 miRNA 形成的关键因素, 可与 Dicer-1 蛋白形成稳定复合体, 共同参与 miRNA 的成熟过程。 R3D1 单独缺失几乎不影响眼睛形态与功能, 但其减少则明显加重 PolyQ 扩展突变型 ataxin-3 蛋白导致的神经退行性病变。表明 miRNA 在多聚谷氨酰胺导致的中枢神经系统退行性疾病中可能起保护作用。 Bilen 等^[25-26]通过 siRNA 降低 HeLa 细胞中 Dicer 活性而干预野生型和全长 PolyQ 扩展突变型 SCA3 模型, 结果显示, Dicer 活性降低对转基因和蛋白质表达水平无影响, 但可明显增加 PolyQ 扩展突变型 ataxin-3 蛋白导致的细胞缺失。在 Dicer 酶存在的前提下, 转染 PolyQ 扩展突变型 ataxin-3 蛋白的细胞, 经体外培养 24 小时后其细胞活性仅轻微降低, 而 Dicer 酶缺失则可导致 70% ~ 80% 的细胞死

亡。对果蝇和人类细胞模型的观察显示, Dicer 酶可通过影响 miRNA 的形成而影响 PolyQ 扩展突变型 ataxin-3 蛋白导致的细胞缺失程度^[25-26]。上调果蝇模型 miRNA *ban* 基因表达水平可以特异性地抑制由 PolyQ 扩展突变型 ataxin-3 蛋白导致的中枢神经系统退行性病变, 如恢复外部色素脱失及内部视网膜膜结构, 但不影响半乳糖调节上游启动子元件-上游激活序列系统 (GAL4-UAS) 转基因表达水平; 而且 miRNA *ban* 基因是作用于 PolyQ 扩展突变型 ataxin-3 蛋白的成熟阶段而发挥作用。另外, 抑制内源性 miRNA *ban* 基因活性可以加重 PolyQ 扩展突变型 ataxin-3 蛋白导致的中枢神经系统退行性病变, 表现为更多的神经元缺失; 而且抑制 miRNA 形成过程较单独抑制 miRNA *ban* 基因所导致的退行性变更严重。提示除了 miRNA *ban* 基因, 其他 miRNA 也参与调节 PolyQ 扩展突变型 ataxin-3 蛋白的毒性。研究显示, 上调 miRNA *ban* 基因并不改变 PolyQ 扩展突变型 ataxin-3 蛋白的表达水平, 而是通过影响该蛋白聚集后的致病过程及内在蛋白毒性而调节致病过程^[26-27]。对人胚肾细胞 293 (HEK293)、HeLa 细胞和人乳腺癌细胞 MCF7 模型的研究显示, miR-19、miR-101 和 miR-130 可下调 SCA1 致病蛋白 ataxin-1 的表达, 而且以上述 3 种 miRNA 共转染对 ataxin-1 蛋白的表达下调影响最为显著。对 SCA1 小鼠模型的研究也证实, 上述 3 种 miRNA 可协同调控 ataxin-1 蛋白的表达水平, 而且其机制在哺乳动物中具有保守性。而相应的 miRNA 突变后则失去调控功能, 导致 PolyQ 扩展突变型 ataxin-1 蛋白的神经毒性作用明显增强^[18]。综上所述, miRNA 对 SCA3 具有神经保护作用, 但其机制尚需进一步探讨。我们研究小组先后建立了 SCA3 转基因细胞和果蝇模型^[28-29], 目前正致力于探讨 miRNA 与 MJD mRNA 相互作用对转录后基因表达的调控作用及其在 SCA3/MJD 发病机制中的作用。

2. 小干扰 RNA 有研究显示, 通过不同 siRNA 与特异靶 mRNA 相结合, 可分别抑制 HEK293 细胞、大鼠模型内源性或外源性野生型和 PolyQ 扩展突变型 *ATXN3* 基因的表达, 以及减少 PolyQ 扩展突变型 ataxin-3 蛋白的形成和聚集, 从而减少神经元核内包涵体的形成、缓解神经功能缺失症状^[30]。 SCA3 患者 PolyQ 扩展突变型 *ATXN3* 基因第 987 位点存在单核苷酸多态性 (SNP), 即在野生型 *ATXN3* 基因 CAG 三核苷酸重复之后出现“鸟嘌呤 (G)”被替换为“胞

表 1 miRNA 和 siRNA 的共同点

Table 1. The same points of miRNA and siRNA

| Same point | miRNA and siRNA |
|---------------------------|---|
| Length | 21-23 bp |
| Substrate | Double-stranded RNA or RNA precursor |
| Dicer enzyme | Both are product of the Dicer enzyme |
| Argonaute family proteins | Both need Argonaute family proteins |
| RISC | Both are associated with RISC |
| Function | After transcription or at translation level |

miRNA, micro RNA, 微小 RNA; siRNA, small interference RNA, 小干扰 RNA; RISC, RNA-induced silencing complex, RNA 诱导沉默复合体

表 2 miRNA 与 siRNA 的特点

Table 2. Difference of miRNA and siRNA

| Difference | miRNA | siRNA |
|-----------------------|---|---|
| Source | Endogenous | Exogenous |
| Structure | Single-stranded RNA | Double-stranded RNA |
| Synthesis and process | Pri-miRNA, Pre-miRNA, miRNA; process in the nucleus and cytoplasm | shRNA, siRNA; process in cytoplasm |
| Mechanism | miRNA pathway | RNAi pathway |
| Binding sites | 3'UTR of mRNA | CDS of mRNA |
| Specificity | Relatively low, partly complementary | Relatively high, fully complementary |
| Consequence | Inhibition of mRNA translation | mRNA degradation |
| Significance | Regulates various biological activities | Does not participate in biological growth |

miRNA, micro RNA, 微小 RNA; siRNA, small interference RNA, 小干扰 RNA; Pri-miRNA, 本 miRNA; Pre-miRNA, 前体 miRNA; shRNA, short hairpin RNA, 短发夹 RNA; RNAi, RNA interference, RNA 干扰; UTR, untranslated region, 非编码区; CDS, coding sequence, 编码序列

表 3 与 ATXN3 基因特异性结合的 siRNA 引物序列

Table 3. Primer of siRNA combined with specific ATXN3 gene

| Name | Primer |
|--------|--|
| siCAG | CAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGC CTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGC |
| siC7 | CAGCAGCGGACCTATCAGGAC CTGTCTGATAGTCCCGCTGC |
| siC7/8 | CAGCAGCCGGACCTATCAGGAC CTGTCTGATAGTCCCGCTGC |
| siC10 | CAGCAGCAGCGGGACCTATC CTGATAGGTCCCGCTGCTGC |
| siG10 | CAGCAGCAGCGGGACCTATC CTGATAGTCCCGCTGCTGC |

嘧啶(C)",即 G987C,这种单核苷酸多态性现象可见于 70% 的 SCA3 患者^[4,31]。据此可设计特异性 siRNA,使其仅与 PolyQ 扩展突变型 ATXN3 基因相结合,而不与野生型 ATXN3 基因结合。结果表明,与 PolyQ 扩展突变型和野生型 ATXN3 基因同时互补配对的 siRNA 可以同时抑制二者的表达,如 siCAG(表

3)^[32-33]。仅与 PolyQ 扩展突变型 ATXN3 基因特异性结合的 siRNA,部分可同时抑制 PolyQ 扩展突变型和野生型 ATXN3 基因表达,如 siC7(表 3)。部分则仅靶向抑制 PolyQ 扩展突变型 ATXN3 基因,几乎不影响野生型 ATXN3 基因的表达,如 siC7/8 和 siC10(表 3),其中 siC7/8 抑制转染 PolyQ 扩展突变型 ATXN3 基因载体的总荧光强度可达到对照组平均值的 8.60%,而抑制转染野生型 ATXN3 基因载体的总荧光强度仅为对照组平均值的 75.20%,且 siC7/8 几乎可消除 PolyQ 扩展突变型 ataxin-3 蛋白的异常聚集; siC10 抑制转染 PolyQ 扩展突变型 ATXN3 基因载体的总荧光强度可达到对照组平均值的 7.40%,而抑制转染野生型 ATXN3 基因载体的总荧光强度仅为对照组平均值的 93.60%。而特异性与野生型 ATXN3 基因结合的 siG10 则仅影响野生型 ATXN3 基因的表达,不影响 PolyQ 扩展突变型 ATXN3 基因(表 3)。Hu 等^[34-35]发现,采用肽核酸(PNA)和锁核酸(LNA)技术与 PolyQ 扩展突变型 ATXN3 基因的重复 CAG 靶向结合,可抑制其表达;而且通过反义寡核苷酸和双链 RNA 可以选择性地抑制 PolyQ 扩展突变型 ATXN3 基因的表达,为 SCA3 及其他遗传性多聚谷氨酰胺病提供了新的治疗前景。

三、结语

miRNA 是细胞内源性表达,在体内均有表达。目前,miRNA 研究策略包括两种^[3]:其一是采用 miRNA 模拟物或以携带 miRNA 的载体增加病变组织缺乏的 miRNA,从而下调特异性靶蛋白的表达;其二是采用 miRNA 抑制物、拮抗分子下调表达水平升高的 miRNA,从而上调特异性靶蛋白的表达。有研究显示,该项技术已经用于 SCA1、亨廷顿病等多聚谷氨酰胺病的研究^[17-18],但在 SCA3 中尚未见类似报道。siRNA 技术主要是利用外源性 siRNA 或携带 siRNA 的载体与致病基因特异性结合,以减少致病基因的表达及致病蛋白的产生。目前多聚谷氨酰胺病(如 SCA3)的发病机制仍不十分明确,缺乏特异性及有效性的治疗方法。miRNA 和 siRNA 在多聚谷氨酰胺病中的作用机制仍在探索中,相关报道日益增多,这些小分子 RNA 对靶基因的表达调控可以抑制 PolyQ 扩展突变型 ataxin-3 蛋白的形成,以及促进致病蛋白的降解,从而延缓疾病进程并改善临床症状,具有神经保护作用,为阐明多聚谷氨酰胺病等中枢神经系统退行性疾病的发病机制提供了新的思路,有望为多聚谷氨酰胺病的治疗带来突破。

值得注意的是, miRNA 对靶基因的表达调控既可能发挥神经保护作用, 亦会产生病理作用。另外, miRNA 模拟物和抑制剂体内半衰期短, 不能持久发挥作用, 而且拮抗分子不能通过血-脑脊液屏障^[36], 这些问题都有待在今后的研究中加以解决。虽然, siRNA 具有特异性强的特点, 但是某些 siRNA 在抑制致病蛋白的同时亦可抑制野生型蛋白质的表达。siRNA 需要有效的载体系统, 尤其是 RNA 探针的合成具有极高的特异性, 因此使 siRNA 的应用受到一定限制。随着 miRNA 和 siRNA 技术的不断发展与完善, 如表达载体系统的更新、转染方式的改进, 应用逆转录病毒和慢病毒等病毒为载体, 使 miRNA 和 siRNA 技术必将给多聚谷氨酰胺病的研究中带来新的飞跃。

参 考 文 献

- [1] Costa Mdo C, Paulson HL. Toward understanding Machado-Joseph disease. *Prog Neurobiol*, 2012, 97:239-257.
- [2] Xia H, Mao Q, Eliason SL, Harper SQ, Martins IH, Orr HT, Paulson HL, Yang L, Kotin RM, Davidson BL. RNAi suppresses polyglutamine-induced neurodegeneration in a model of spinocerebellar ataxia. *Nat Med*, 2004, 10:816-820.
- [3] Junn E, Mouradian MM. MicroRNAs in neurodegenerative diseases and their therapeutic potential. *Pharmacol Ther*, 2012, 133:142-150.
- [4] Matsui M, Corey DR. Allele-selective inhibition of trinucleotide repeat genes. *Drug Discov Today*, 2012, 17:443-450.
- [5] Roshan R, Ghosh T, Gadgil M, Pillai B. Regulation of BACE1 by miR-29a/b in a cellular model of spinocerebellar ataxia 17. *RNA Biol*, 2012, 9:891-899.
- [6] Bartel DP. MicroRNAs: target recognition and regulatory functions. *Cell*, 2009, 136:215-233.
- [7] Carthew RW, Sontheimer EJ. Origins and mechanisms of miRNAs and siRNAs. *Cell*, 2009, 136:642-655.
- [8] Ding J, Huang S, Wu S, Zhao Y, Liang L, Yan M, Ge C, Yao J, Chen T, Wan D, Wang H, Gu J, Yao M, Li J, Tu H, He X. Gain of miR-151 on chromosome 8q24.3 facilitates tumour cell migration and spreading through downregulating RhoGDIa. *Nat Cell Biol*, 2010, 12:390-399.
- [9] Skreka K, Schafferer S, Nat IR, Zywicki M, Salti A, Apostolova G, Griehl M, Rederstorff M, Dechant G, Huttenhofer A. Identification of differentially expressed non-coding RNAs in embryonic stem cell neural differentiation. *Nucleic Acids Res*, 2012, 40:6001-6115.
- [10] de Yebenes VG, Ramiro AR. MicroRNA activity in B lymphocytes. *Methods Mol Biol*, 2010, 667:177-192.
- [11] Hobert O. Gene regulation by transcription factors and microRNAs. *Science*, 2008, 319:1785-1786.
- [12] Lewis BP, Burge CB, Bartel DP. Conserved seed pairing, often flanked by adenosines, indicates that thousands of human genes are microRNA targets. *Cell*, 2005, 120:15-20.
- [13] Miranda KC, Huynh T, Tay Y, Ang YS, Tam WL, Thomson AM, Lim B, Rigoutsos I. A pattern-based method for the identification of microRNA binding sites and their corresponding heteroduplexes. *Cell*, 2006, 126:1203-1217.
- [14] Eacker SM, Dawson TM, Dawson VL. Understanding microRNAs in neurodegeneration. *Nat Rev Neurosci*, 2009, 10:837-841.
- [15] Ying Z, Wang H, Fan H, Zhu X, Zhou J, Fei E, Wang G. Gp78, an ER associated E3, promotes SOD1 and ataxin-3 degradation. *Hum Mol Genet*, 2009, 18:4268-4281.
- [16] Mouradian MM. MicroRNAs in Parkinson's disease. *Neurobiol Dis*, 2012, 46:279-284.
- [17] Lee ST, Chu K, Im WS, Yoon HJ, Im JY, Park JE, Park KH, Jung KH, Lee SK, Kim M, Roh JK. Altered microRNA regulation in Huntington's disease models. *Exp Neurol*, 2011, 227:172-179.
- [18] Lee Y, Samaco RC, Gatchel JR, Thaller C, Orr HT, Zoghbi HY. miR-19, miR-101 and miR-130 co-regulate ATXN1 levels to potentially modulate SCA1 pathogenesis. *Nat Neurosci*, 2008, 11:1137-1139.
- [19] Boudreau RL, Davidson BL. Generation of hairpin-based RNAi vectors for biological and therapeutic application. *Methods Enzymol*, 2012, 507:275-296.
- [20] Hannon GJ. RNA interference. *Nature*, 2002, 418:244-251.
- [21] Seyhan AA. RNAi: a potential new class of therapeutic for human genetic disease. *Hum Genet*, 2011, 130:583-605.
- [22] Rodriguez-Lebrón E, Gouvion CM, Moore SA, Davidson BL, Paulson HL. Allele-specific RNAi mitigates phenotypic progression in a transgenic model of Alzheimer's disease. *Mol Ther*, 2009, 17:1563-1573.
- [23] de Yñigo-Mojado L, Martín-Ruiz I, Sutherland JD. Efficient allele-specific targeting of LRRK2 R1441 mutations mediated by RNAi. *PLoS One*, 2011, 6:E21352.
- [24] Lee YS, Nakahara K, Pham JW, Kim K, He Z, Sontheimer EJ, Carthew RW. Distinct roles for Drosophila Dicer-1 and Dicer-2 in the siRNA/miRNA silencing pathways. *Cell*, 2004, 117:69-81.
- [25] Bilen J, Liu N, Bonini NM. A new role for microRNA pathways: modulation of degeneration induced by pathogenic human disease proteins. *Cell Cycle*, 2006, 5:2835-2838.
- [26] Bilen J, Liu N, Burnett BG, Pittman RN, Bonini NM. MicroRNA pathways modulate polyglutamine-induced neurodegeneration. *Mol Cell*, 2006, 24:157-163.
- [27] Brennecke J, Hipfner DR, Stark A, Russell RB, Cohen SM. Bantam encodes a developmentally regulated microRNA that controls cell proliferation and regulates the proapoptotic gene hid in Drosophila. *Cell*, 2003, 113:25-36.
- [28] Zhou YF, Liao SS, Luo YY, Tang JG, Wang JL, Lei LF, Chi JW, Du J, Jiang H, Xia K, Tang BS, Shen L. SUMO-1 modification on K166 of polyQ-expanded ataxin-3 strengthens its stability and increases its cytotoxicity. *PLoS One*, 2013, 8: E54214.
- [29] Li QH, Jiang H, Yi JP, Liao SS, Shen L, Pan Q, Xia K, Tang BS. Research on neuroprotective role of Hsp22 in SCA3/MJD transgenic drosophila models. *Sheng Wu Hua Xue Yu Sheng Wu Wu Li Jin Zhan*, 2008, 35:1430-1436. [李清华, 江泓, 易继平, 廖书胜, 沈璐, 潘乾, 夏昆, 唐北沙. Hsp22 对 SCA3/MJD 转基因果蝇的神经保护作用研究. *生物化学与生物物理进展*, 2008, 35:1430-1436.]
- [30] Alves S, Nascimento-Ferreira I, Auregan G, Hassig R, Dufour N, Brouillet E, Pedrosa de Lima MC, Hantraye P, Pereira de Almeida L, Déglon N. Allele-specific RNA silencing of mutant ataxin-3 mediates neuroprotection in a rat model of Machado-Joseph disease. *PLoS One*, 2008, 3:E3341.
- [31] Gaspar C, Lopes-Cendes I, Hayes S, Goto J, Arvidsson K, Dias A, Silveira I, Maciel P, Coutinho P, Lima M, Zhou YX, Soong BW, Watanabe M, Giunti P, Stevanin G, Riess O, Sasaki H, Hsieh M, Nicholson GA, Brunt E, Higgins JJ, Lauritzen M,

- Tranebjaerg L, Volpini V, Wood N, Ranum L, Tsuji S, Brice A, Sequeiros J, Rouleau GA. Ancestral origins of the Machado-Joseph disease mutation: a worldwide haplotype study. *Am J Hum Genet*, 2001, 68:523-528.
- [32] Miller VM, Xia H, Marrs GL, Gouvion CM, Lee G, Davidson BL, Paulson HL. Allele-specific silencing of dominant disease genes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100:7195-7200.
- [33] Li Y, Yokota T, Matsumura R, Taira K, Mizusawa H. Sequence-dependent and independent inhibition specific for mutant ataxin-3 by small interfering RNA. *Ann Neurol*, 2004, 56:124-129.
- [34] Hu J, Matsui M, Gagnon KT, Schwartz JC, Gabillet S, Arar K, Wu J, Bezprozvanny I, Corey DR. Allele-specific silencing of mutant huntingtin and ataxin-3 genes by targeting expanded CAG repeats in mRNAs. *Nat Biotechnol*, 2009, 27:478-484.
- [35] Hu J, Gagnon KT, Liu J, Watts JK, Syeda-Nawaz J, Bennett CF, Swayze EE, Randolph J, Chattopadhyaya J, Corey DR. Allele-selective inhibition of ataxin-3 (ATX3) expression by antisense oligomers and duplex RNAs. *Biol Chem*, 2011, 392:315-325.
- [36] Kuhn DE, Nuovo GJ, Terry AV Jr, Martin MM, Malana GE, Sansom SE, Pleister AP, Beck WD, Head E, Feldman DS, Elton TS. Chromosome 21-derived microRNAs provide an etiological basis for aberrant protein expression in human Down syndrome brains. *J Biol Chem*, 2010, 285:1529-1543.

(收稿日期:2013-05-03)

· 临床医学图像 ·

小脑脂肪神经细胞瘤

doi: 10.3969/j.issn.1672-6731.2013.08.018

Cerebellar liponeurocytoma

YAN Xiao-ling

Department of Pathology, Tianjin Huanhu Hospital, Tianjin 300060, China (Email: ll934065@126.com)

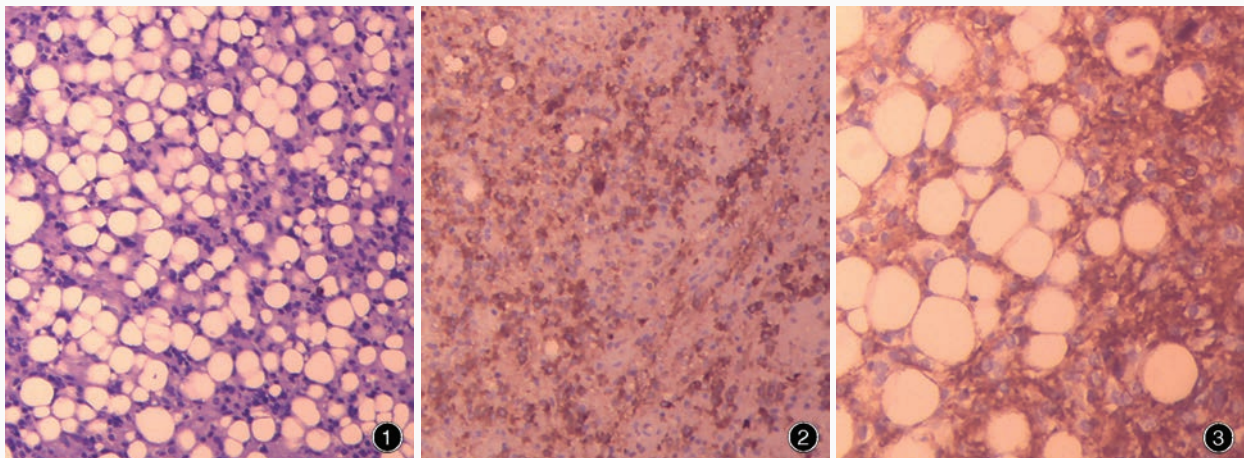


图1 光学显微镜观察,小圆形肿瘤细胞背景中可见含脂肪滴的细胞聚积,肿瘤细胞较一致,胞核呈圆形或卵圆形,胞质透明 HE染色 低倍放大 图2 光学显微镜观察,肿瘤细胞突触素表达阳性 免疫组织化学染色(EnVision二步法) 低倍放大 图3 光学显微镜观察,肿瘤细胞和含脂肪滴的细胞胶质纤维酸性蛋白呈灶性表达阳性 免疫组织化学染色(EnVision二步法) 中倍放大

Figure 1 Optical microscopy showed cerebellar liponeurocytoma with accumulation of lipid-laden cells in a background of small round neoplastic cells. Tumor cells had a uniform cytological appearance with round or oval nuclei and often showed a clear cytoplasm. HE staining low power magnified **Figure 2** Optical microscopy showed positive expression of Syn. Immunohistochemical staining (EnVision) low power magnified **Figure 3** Optical microscopy showed small tumor cells and lipid-laden cells focally expressed GFAP. Immunohistochemical staining (EnVision) medium power magnified

小脑脂肪神经细胞瘤是发生于成人小脑的临床罕见肿瘤,伴神经元、神经胶质细胞和灶性脂肪瘤分化,生长缓慢,虽具有复发倾向但预后良好。肿瘤细胞成分类似于中枢神经细胞瘤,大小一致,胞核呈圆形或卵圆形,胞质透明,胞膜界限不清;其组织形态学表现为灶性脂肪瘤样含脂肪滴的细胞聚集(图1)。免疫组织化学染色提示为神经上皮组织肿瘤细胞内脂肪聚积而非正常脂肪细胞;肿瘤细胞胞质神经元特异性烯醇化酶(NSE)、突触素(Syn,图2)和微管相关蛋白2(MAP2)表达阳性,大部分肿瘤细胞灶性表达胶质纤维酸性蛋白(GFAP,图3),提示呈星形胶质细胞分化。

(天津市环湖医院病理科阎晓玲供稿)