

亨廷顿病

亨廷顿病模型进展及展望

张雪艳, 李 军, 闫 森

(暨南大学粤港澳中枢神经再生研究院, 广州 510632)



【摘要】亨廷顿病(Huntington's disease, HD)是一种典型的神经退行性疾病。该病是由单基因 *HTT* 突变导致的遗传性疾病,当 CAG 重复序列>36 时发病,HD 患者出现变异蛋白的累积和神经元死亡病理特征,伴随着行为、认知、精神方面的障碍。其清晰的病因使得 HD 成为研究神经退行性疾病的首选模式疾病。本文将对现有 HD 动物模型取得的成果进行简单综述,以期为此类神经退行性疾病的研究提供思路。

【关键词】亨廷顿病;神经退行性疾病;大动物疾病模型;基因治疗

【中图分类号】R749.1+5

【文献标志码】A

【收稿日期】2019-02-11

Animal models of Huntington disease: Research advances and perspectives

Zhang Xueyan, Li Jun, Yan Sen

(Guangdong-Hong Kong-Macau Institute of CNS Regeneration, Jinan University)

【Abstract】Huntington's disease(HD) is a typical hereditary neurodegenerative disease caused by single *HTT* gene mutation, and a CAG repeat of >36 in the *HTT* gene may lead to HD. HD patients are characterized by the accumulation of variant proteins and neuronal death, with behavioral, cognitive, and mental disorders. Clear etiology makes HD an ideal model for the analysis of neurodegenerative diseases. This article briefly reviews the achievements in animal models of HD, in order to provide ideas for the research on such neurodegenerative diseases.

【Key words】Huntington's disease; neurodegenerative disease; large animal model; gene therapy

1 亨廷顿病特征

随着老龄化社会的到来,老年人所占的比重逐年增高。神经退行性疾病是由神经元或其髓鞘的丧失所导致,随着年

龄老化而恶化,最终导致神经元功能发生障碍。此类疾病包括四大常见的神经退行性疾病:阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)、帕金森病(Parkinson's disease, PD)、肌萎缩侧索硬化症(amyotrophic lateral sclerosis, ALS)、亨廷顿病(Huntington's disease, HD)。神经退行性疾病的发生,严重地影响了老年人的生活质量,给家庭和社会造成了巨大的精神压力和经济负担。对神经退行性疾病的有效治疗已成为整个社会需要解决的问题。HD 是神经退行性疾病之一,是由位于第四号染色体上的亨廷顿基因(*Huntingtin*, *HTT*)发生突变所导致的常染色体显性遗传病,*HTT* 基因上 CAG 序列大于 36 个多聚谷氨酸(poly Q)重复的 N-端片段在核内形成包涵体和神经纤维的聚集所产生的^[1-2],其显著标志是变异 *HTT* 蛋白形成聚集体,患者的纹状体萎缩及中型多棘神经元大量死亡。全长 *HTT* 蛋白水解后形成具有毒性的错误折叠的蛋白,变异蛋白可在细胞中积累且具有毒性。正常人中,其亨廷顿蛋白含有 23 个谷氨酰胺(poly Q),且蛋白的分子量为 348 kD,亨廷顿蛋白参与多种生命活动,包括细胞粘附中的重要作用,神经系统形成与发育的影响,脑源性神经营养因子的产生与转运功能^[3-5]。当 CAG 重复扩增数量超过 36 个,患者通常中年发

作者简介:张雪艳,Email:731658113@qq.com,

研究方向:神经生物学。

通信作者:闫 森,博士,博士生导师,现任暨南大学粤港澳中枢神经再生研究院研究员,获青年珠江学者称号,中国研究型医院学会委员,广东省遗传学会青年委员。在 *Cell*, *Human Molecular Genetics*, *Molecular Neurodegeneration* 等权威期刊发表论文多篇。建立了世界首例亨廷顿基因敲入猪模型。主持国家重大研究计划、广东省科技计划、国家重点研究计划“大动物神经疾病的干细胞治疗和功能评价”子课题,中国博士后科学基金面上项目等。并申请国家发明专利 2 项。Email:231yansen@163.com,研究方向:神经退行性疾病动物模型的建立(小鼠、猪、猴)、胚胎发育基因修饰、分子机制的研究。

病,并且在发病后 10~15 年死亡。青少年亨廷顿病(Juvenile Huntington's diseases,JHD)通常表现为超过 60 个 CAG 重复,JHD 患者在 21 岁前发病,并且症状严重,过早死亡^[6]。PolyQ 的重复序列形成的突变 HTT 蛋白具有独特的构象,更易聚集于细胞内从而干扰细胞稳态,在蛋白质与蛋白质相互作用的调节网络中,突变 HTT 促使神经变性及神经元死亡^[7]。在疾病的早期阶段,患者会出现非自主的舞蹈样运动,后期阶段则表现出自主运动受损,肌张力障碍,行动迟缓,肌肉僵硬等。HD 具有行为、认知、精神方面的显著障碍,目前尚缺乏确切的治疗药物或方法。然而,HD 疾病因其单一、清晰的致病原因,便于建立稳定的动物模型,是十分具有代表性的神经退行性疾病。因此,HD 是研究由蛋白质错误折叠所导致的神经退行性(AD、PD、ALS 等)疾病的理想模式疾病。

2 HD 动物模型

2.1 HD 果蝇、斑马鱼模型

HD 是由单基因突变引起的神经系统遗传疾病,它为 AD、PD 等错误折叠的蛋白引起的神经退行性疾病提供了一个良好的研究范式。果蝇、斑马鱼、小鼠等 HD 动物模型早已被广泛应用,尤其是近年来大动物疾病模型在非人灵长类猴模型、小型猪上取得的突破^[22,24-25],这些动物模型的成功建立给科研人员提供了丰富的研究载体,为有效地进一步探究 HD 的发病机制,制备出切断、干扰甚至逆转该病理机制的有效治疗方案提供了新的契机。本综述着眼于 HD 小鼠模型和 HD 大动物模型等的种类以及特点,探讨 HD 小鼠模型和 HD 大动物模型对未来 HD 的治疗应用。

果蝇是一种常见的节肢模式生物,由于其生命周期短,繁殖能力强,个体小,易于饲养,是一种良好的遗传学实验材料,可用于 HD 等神经退行性疾病模型的建立。Weiss^[8]等产生了转基因黑腹果蝇,其编码 138Qd 的致病性或 15Q 非致病性的荧光标记的人类亨廷顿蛋白,允许在活体动物中体内成像,探索亨廷顿蛋白的表达聚集与神经变性之间的联系。

斑马鱼^[9]是一种胚体透明的脊椎动物模型,它的神经系统发育迅速,具有与人类高度同源的相关基因,有利于研究神经退行性疾病,还具有个体小、养殖花费少、能大规模繁育等许多优点,可用于阐明 HD 的病理生理机制。如 Karlovich 等^[10]就分离了 HD 斑马鱼中 cDNA 的同源物质,研究表明该蛋白质以高水平表达在斑马鱼胚胎发育的晚期,以中等水平表达在成年斑马鱼头部。

但是,果蝇是有翅的节肢动物,斑马鱼是水生脊椎动物。它们在形态学发育以及运动方式上与人类区别非常大,不利于探索人类疾病在认知、学习、运动、行为学等方面的研究,具有一定的局限性。因此,HD 研究者更多使用 HD 小鼠模型以及大动物模型的研究。

2.2 HD 小鼠模型

小鼠的性成熟周期短,育种周期 19~21 d,繁殖能力十分强且其经济成本较低,容易操控,是目前应用最广泛的 HD 哺乳动物模型。HD 转基因小鼠模型(包含全长转基因小鼠模型、N-端转基因小鼠模型)、基因敲入(knock in,KI)小鼠模型,以及表达 N-端突变 HTT 的条件性 HD 小鼠模型^[11-17]。HD 转基因小鼠中,N-端转基因小鼠有 R6/1 模型、R6/2 模型^[11]、N171-82Q 模型^[12]等在 HTT exon1 上表达,这些 N 端片段都含有 mHTT 的 polyQ 序列。其中,R6/2 模型是使用最广泛的、启动子为 1 kb 的人类 HTT,含有约 150 个 CAG 重复序列,5~6 周显示 HD 病理症状,通常 13 周以上不能存活。R6/2 型适用于研究表型剧烈且过早死亡的人类青少年 HD。遗憾的是,该模型并未显示出神经元的死亡^[8]。全长转基因小鼠有 BAC 模型、YAC 模型等。其中,N171-82Q 模型表达人类患者 HTT 前 171 个氨基酸,这是一段含有 82 个 CAG 的重复序列,该小鼠模型在 13 周左右显示出严重的病理表型,一般在 16~22 周死亡^[13]。这些 N 端片段的 HTT 蛋白具有很高毒性且易聚集。BAC 和 YAC 小鼠模型表达人类全长 HTT,显示出进行性的病理特征,如纹状体和大脑皮质的萎缩、电生理异常(表示谷氨酸能突触传递异常),其具有正常的寿命,能在一定程度上模拟成人 HD 患者的病理特征。有趣的是,表达人类全长 HTT 的含有 128 个 CAG 纯重复的 YAC128 和只含有 97 个 CAG/CAA 混合重复的 BACHD 中,YAC128 小鼠显示出纹状体神经元丢失,BACHD 小鼠显示出皮质和纹状体萎缩、纹状体变性^[14]。无论是哪种转基因小鼠模型,由于其随机插入的不确定性,以及插入拷贝数的不确定性,依靠外源启动子来表达而不是内源 HTT 启动子,与患者的基因型并不相同。而 HD 基因敲入小鼠(knock in,KI)即将人的部分或全长突变的亨廷顿基因定点插入到整个内源小鼠 HTT 基因组中。相比于转基因小鼠,表型较轻,且具有正常的寿命^[15-17]。

研究发现 HD150Q KI 小鼠在 22 个月时才出现 HTT 蛋白聚集^[18]。尽管 KI 小鼠发病较晚且症状较轻,但其突变的 HTT 蛋白主要聚集于纹状体,不像转基因动物由于过表达而导致的发病明显等症状,能够与 HD 患者一样在纹状体中产生神经元的损失。转基因动物的外源基因是随机插入的,不能被动物内源性的启动子所启动,所以会产生比正常内源水平更多的突变蛋白,加剧了疾病的表型,加快了小鼠的死亡,无法很好地利用动物模型模拟人类疾病的发生过程。基因敲入可以精确地将突变基因插入到基因组中相同的位置,建立更接近于人类 HD 的动物模型,因此基因敲入是建立疾病模型的金标准。然而 HD-KI 小鼠发病慢、表型轻又限制了 HD-KI 小鼠模型的应用。HD 小鼠模型由于其个体间的均一性、繁殖周期短、表型的一致性等可以根据不同实验需求来选择合适的小鼠模型进行研究。

2.3 HD 大动物模型

HD 小鼠模型已被广泛地用来揭示 HD 的发病机制和进一步的治疗研究,虽然基因修饰小鼠模型可以模拟变异蛋白的聚集、包涵体的形成以及部分的临床症状,然而大部分小鼠模型脑中并没有表现出细胞凋亡或者明显的神经退行性变化。此外,其他多聚谷酰胺小鼠疾病模型,以及 AD 和 PD 的小鼠模型同样缺乏明显的神经退行性变化,而神经退行性变化又是人类疾病中的一个十分重要的病理特征^[19-20]。

人和小鼠种属间的不同以及生命周期的差异,使小鼠模型不能完全模拟患者的临床症状与病理变化。而大动物例如猪和猴在解剖学、生理学、功能及大脑环路上均比小鼠更复杂更为接近于人类,有分明的尾状核和豆状核。研究人员利用大动物先后建立了多种 HD 大动物疾病模型。利用显微注射方法建立了 HD 转基因羊模型,只表现出分子水平的变化并未见明显表型变化^[21-24]。2008 年李晓江教授、李世华教授与 Anthony Chan 合作首次通过将携带 *HTT* 基因 Exon1 上含有 84 个 CAG 重复序列的慢病毒感染受精卵母细胞中,成功地诞生了 HD 转基因猴模型。该转基因猴既可以表现出与人类类似的肌张力障碍、舞蹈病或癫痫,也表现出神经元轴突退化,这是 HD 小鼠模型所不能模拟的且与人类 HD 患者病理特征十分相似^[25-26]。研究发现突变的 Huntingtin 蛋白可以对大动物产生更大、更敏感的毒性,带有相同多聚谷氨酸数目的突变 Htt 可以使转基因猴出生后不久便发生死亡,而且不能稳定传代。然而带有相同转基因 HD 的小鼠模型却可以正常生存^[25]。

小型猪是我国的宝贵种质资源,成年后只有 50~80 kg,与普通家猪(200 kg)比起来体型小;与人在生理解剖、营养代谢、生化指标等特征上有更大的相似性,尤其是神经系统、心血管系统与人更为相似,相比于灵长类,猪繁殖速度快,繁殖数量多,更易解决经济问题和伦理问题,是研究人类疾病防治的理想实验动物。2010 年李晓江教授与赖良学教授合作首次建立了 N-208-105Q 的转基因亨廷顿猪模型,首次发现相同的变异蛋白在猪的脑内可以引起细胞凋亡,而此前在小鼠脑内却并未产生此现象,并且产生了明显的抽搐及舞蹈样运动表型。然而,由于 CAG 强启动子导致对转基因大动物模型的强烈毒性,转基因 HD 猪出生后存活时间短、无法进行传代及进一步研究^[27]。理想的 HD 模型就是在 *HTT* 基因位点定点插入人突变的序列。然而建立基因敲除或敲入的大动物模型由于极低的效率及干细胞的缺乏与小鼠相比具有更大的挑战。CRISPR/Cas9 技术的出现使得大动物基因敲入模型成为可能。值得一提的是,2018 年李晓江教授、李世华教授与赖良学教授团队再度合作,利用基因编辑技术结合体细胞核移植技术(SCNT)成功建立了 HD-KI 基因敲入猪模型。两种技术的结合明显提高了基因敲入阳性克隆动物的效率。由于猪的体细胞核移植技术较成熟,使得 HD-KI 猪的诞生

成为可能。该模型首先在细胞水平上将人外显子 Exon1-150 CAG 序列定点替换了猪亨廷顿外显子 1,并利用体细胞核移植技术产生了世界首例基因敲入亨廷顿猪模型。HD-KI 猪模型纹状体中出现特异性神经元死亡,这与患者十分相似。并且出现了明显的细胞凋亡。HD-KI 猪也表现出步态异常、呼吸困难,这些症状均与 HD 人类患者相一致。更为重要的是,基因敲入猪模型可以稳定地将遗传基因及表型传递给下一代,这为研究神经退行性疾病提供了稳定可靠的动物模型,也为药物筛选提供了充足的来源^[28]。

3 HD 模型治疗方案及前景

不同的 HD 模型在不同程度上揭示了 HD 的致病机制、行为表型,提出了很多潜在的治疗靶标。应充分利用不同模型的特色,综合应用于实际 HD 患者的病情研究中,找寻更好的治疗方案。现已知,HD 的病理关键在于具有毒性的 HTT 蛋白在细胞中的表达与积累,造成特定细胞功能衰竭甚至死亡。因此,目前的治疗策略应着重于该变异蛋白的表达及作用过程,既减少变异蛋白的表达,加速变异蛋白的降解,降低或消除变异蛋白的毒性以及保护受影响的特定细胞免于侵害。最有效的治疗方法应是从根源下手,选择性抑制突变 HTT 的表达,如反义寡核苷酸抑制和 RNA 干扰的方法^[29]。已知全长 HTT 蛋白可被相关蛋白酶水解形成 N-端 HTT 蛋白片段,研究表明短的 N-端片段更易于在组织中聚集,而一些泛素-蛋白酶体系统(UPS)可干预其降解^[30]。突变 HTT 异常的构象改变了正常 HTT 与其他蛋白的相互作用方式,例如, Luo 等^[31]研究发现同型半胱氨酸诱导的内质网蛋白(Herp)能够抑制突变 HTT 蛋白聚集并且促进其降解。已知突变 HTT 的积累影响多种正常生命功能,如胞内运输、线粒体功能和突触传递、细胞炎症环境和细胞死亡^[32],也可以从中干扰。此外,抗氧化剂可缓解 HD 病情,而 Asa 等^[18]研究表明,多不饱和脂肪酸(D-PUFA)可有效降低脂质过氧化(LPO)产物水平,有望改善 HD 性能。Jin 等^[33]研究表明 PPAR- γ 转录因子在 N171-82Q 模型中调节葡萄糖代谢发挥重要作用。IONIS 生产的 IONIS-HTTRx 可针对患者 HTT mRNA 靶向的反义寡核苷酸 ASO 可有效降低 mHTT 和 wt HTT 的蛋白合成及表达。而治疗 HD 的另一策略就是从基因水平上降低 mHTT 蛋白的表达。为了不破坏 wt HTT 的表达,David-son 团队通过对比调控 HTT 表达的转录起始位点上游 2 kb 的序列的 SNP 在人和转基因小鼠中来降低 HTT 蛋白的表达。然而目前大部分方法在降低 mHTT 的同时 wtHTT 也会随之下降,降低 WT HTT 的安全性就成为值得考虑的问题之一。HTT 是胚胎发育的必需基因,在胚胎期敲除可致死^[34-37]。然而 Wang 等^[38]证明如果选择性在成年小鼠的脑神经细胞将 Htt 敲除,揭示出在成年的脑神经细胞中可特异性的完全敲除 Htt 而不会影响

大脑功能。其他研究人员也在成年动物的小鼠、猴模型中降低 HTT 蛋白并未产生负面作用^[39-41]。这些研究均为通过降低 Htt 的方式来治疗成人 HD 患者提供了理论依据。基于此原理, Yang 等^[42]随后利用 AAV 病毒载体介导 CRISPR/Cas9 和特异性识别 HTT 的 gRNA 特异性的注射到成年 HD-KI 小鼠大脑的纹状体中, 发现可有效清除 mHTT 所产生的聚集体, 并且改善了运动能力。相比 siRNA 和 ASO 方法利用 cas9 介导的基因修复具有永久性抑制内源性 mHTT 基因表达, 只需一次基因操作极具开发潜力。HD 大动物模型更能模拟人类 HD 疾病, 因此治疗策略在大动物模型的应用对临床前转化具有重要意义。HD 模型治疗方案见表 1。

表 1 亨廷顿病模型治疗方案

治疗方式	治疗手段
基因水平治疗	反义寡核苷酸抑制、RNA 干扰、ASO、AAV 病毒载体介导 CRISPR/Cas9 敲除 HTT ^[29,42]
清除变异蛋白	UPS 降解系统 ^[30] 、半胱氨酸诱导促进降解 ^[31]
氧化代谢调控	D-PUFA 抗氧化剂 ^[32] 、PPAR- γ 转录因子调节葡萄糖代谢 ^[33]

4 HD 模型的应用及展望

综上所述, 已经建立的 HD 小鼠模型, 根据其发病时间及严重程度可应用于研究人类 HD 的一个或多个阶段, 以充分发挥不同的 HD 小鼠模型的作用, 为研究潜在的致病机制和开发新的有效疗法提供新的依据。然而, 由于 HD-KI 小鼠模型发病温和且发病时间过晚, 且不能显示出与患者类似的明显的神经退行性变化, 对研究及药物的开发受到限制。相对于 HD 小鼠模型, HD 大动物模型在行为学表型、病理特征等方面更有利于模拟和研究人类 HD。HD-KI 猪模型出现了人类典型神经变性以及纹状体中多棘神经元优先死亡的表型, 这是 HD 小鼠模型未能模拟的, 而相比非人灵长类动物, 猪的繁殖周期短、产仔量大、体质量也更接近人类, 使得猪模型可以广泛用于疾病的分子机制及药物筛选等研究。应用我国特有的小型猪模型可更好地被用来构建 AD、PD 和 ALS 等其他神经退行性疾病的模型。而由于 HD-KI 猪与患者更为相似的特征, 使其在人类临床前的小分子药物筛选实验、干细胞治疗及基因治疗等提供良好的动物模型, 加速实现临床转化。

参 考 文 献

[1] Gusella JF, MacDonald ME, Ambrose CM, et al. Molecular genetics of Huntington's disease[J]. Archives of neurology, 1993, 50(11): 1157-1163.

- [2] Vonsattel JP, Myers RH, Stevens TJ, et al. Neuropathological classification of Huntington's disease[J]. Journal of Neuropathology & Experimental Neurology, 1985, 44(6): 559-577.
- [3] Ross CA, Aylward EH, Wild EJ, et al. Huntington disease: natural history, biomarkers and prospects for therapeutics[J]. Nature Reviews Neurology, 2014, 10(4): 204-216.
- [4] Bates GP, Dorsey R, Gusella JF, et al. Huntington disease[J]. Nature Reviews Disease Primers, 2015, 1: 15005.
- [5] Rüb U, Seidel K, Heinsen H, et al. Huntington's disease (HD): the neuropathology of a multisystem neurodegenerative disorder of the human brain[J]. Brain Pathology, 2016, 26(6): 726-740.
- [6] Quigley J. Juvenile Huntington's disease: diagnostic and treatment considerations for the psychiatrist[J]. Current Psychiatry Reports, 2017, 19(2): 9.
- [7] Silva A, de Almeida AV, Macedo-Ribeiro S. Polyglutamine expansion diseases: more than simple repeats[J]. Journal of Structural Biology, 2018, 201(2): 139-154.
- [8] Weiss KR, Kimura Y, Lee WC, et al. Huntingtin aggregation kinetics and their pathological role in a Drosophila Huntington's disease model[J]. Genetics, 2012, 190(4): 581-600.
- [9] Das S, Rajanikant GK. Huntington disease: Can a zebrafish trail leave more than a ripple?[J]. Neuroscience & Biobehavioral Reviews, 2014, 45: 258-261.
- [10] Karlovich CA, John RM, Ramirez L, et al. Characterization of the Huntington's disease (HD) gene homologue in the zebrafish Danio rerio [J]. Gene, 1998, 217(1-2): 117-125.
- [11] Mangiarini L, Sathasivam K, Seller M, et al. Exon 1 of the HD gene with an expanded CAG repeat is sufficient to cause a progressive neurological phenotype in transgenic mice [J]. Cell, 1996, 87(3): 493-506.
- [12] Ravikumar B, Vacher C, Berger Z, et al. Inhibition of mTOR induces autophagy and reduces toxicity of polyglutamine expansions in fly and mouse models of Huntington disease [J]. Nat Genet, 2004, 36(6): 585-595.
- [13] Jin J, Albertz J, Guo Z, et al. Neuroprotective effects of PPAR-agonist rosiglitazone in N171-82Q mouse model of Huntington's disease [J]. Journal of Neurochemistry, 2013, 125(3): 410-419.
- [14] Gil-Mohapel JM. Screening of therapeutic strategies for Huntington's disease in YAC128 transgenic mice [J]. CNS Neuroscience & Therapeutics, 2012, 18(1): 77-86.
- [15] Asa H, Chundi Z, Aroa RG, et al. Deuterium-reinforced linoleic acid lowers lipid peroxidation and mitigates cognitive impairment in the Q140 knock in mouse model of Huntington's disease [J]. The FEBS Journal, 2018[Epub ahead of print]. DOI: 10.1111/febs.14590.
- [16] Wheeler VC, White JK, Gutekunst CA, et al. Long glutamine tracts cause nuclear localization of a novel form of huntingtin in medium spiny striatal neurons in HdhQ92 and HdhQ111 knock-in mice [J]. Hum Mol Genet, 2000, 9(4): 503-513.

- [17] Menalled LB, Sison JD, Wu Y, et al. Early motor dysfunction and striosomal distribution of huntingtin microaggregates in Huntington's disease knock-in mice[J]. *J Neurosci*, 2002, 22(18): 8266–8276.
- [18] Woodman B, Butler R, Landles C, et al. The Hdh(Q150/Q150) knock-in mouse model of HD and the R6/2 exon 1 model develop comparable and widespread molecular phenotypes[J]. *Brain Res Bull*, 2007, 72(2–3): 83–97.
- [19] Mattson MP. Apoptosis in neurodegenerative disorders[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2000, 1(2): 120–129.
- [20] Yuan J, Yankner BA. Apoptosis in the nervous system[J]. *Nature*, 2000, 407(6805): 802–809.
- [21] Reid SJ, Patassini S, Renée R Handley, et al. Further molecular characterisation of the OVT73 transgenic sheep model of Huntington's disease identifies cortical aggregates[J]. *Journal of Huntington's Disease*, 2013, 2(3): 279–295.
- [22] Handley RR, Reid SJ, Brauning R, et al. Brain urea increase is an early Huntington's disease pathogenic event observed in a prodromal transgenic sheep model and HD cases[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2017, 114(52): E11293–11302.
- [23] Handley RR, Reid SJ, Patassini S, et al. Metabolic disruption identified in the Huntington's disease transgenic sheep model [J]. *Sci Rep*, 2016, 6(1): 20681.
- [24] Jacobsen JC, Bawden CS, Rudiger SR, et al. An ovine transgenic Huntington's disease model[J]. *Hum Mol Genet*, 2010, 19(10): 1873–1882.
- [25] Yang SH, Cheng PH, Banta H, et al. Towards a transgenic model of Huntington's disease in a non-human Primate[J]. *Nature*, 2008, 453(7197): 921–924.
- [26] Yu ZX, Li SH, Evans J, et al. Mutant Huntingtin causes context-dependent neurodegeneration in mice with Huntington's disease[J]. *J Neurosci*, 2003, 23(6): 2193–2202.
- [27] Yang D, Wang CE, Zhao B, et al. Expression of Huntington's disease protein results in apoptotic neurons in the brains of cloned transgenic pigs[J]. *Hum Mol Genet*, 2010, 19(20): 3983–3994.
- [28] Yan S, Tu Z, Liu Z, et al. A Huntingtin knockin pig model recapitulates features of selective neurodegeneration in Huntington's disease[J]. *Cell*, 2018, 173(4): 989–1002.
- [29] Wild EJ, Tabrizi SJ. Therapies targeting DNA and RNA in Huntington's disease[J]. *Lancet Neurol*, 2017, 16(10): 837–847.
- [30] Lin L, Jin Z, Tan H, et al. Atypical ubiquitination by E3 ligase WWP1 inhibits the proteasome-mediated degradation of mutant Huntingtin[J]. *Brain Research*, 2016, 1643: 103–112.
- [31] Luo H, Cao L, Liang X, et al. Herp promotes degradation of mutant Huntingtin: involvement of the proteasome and molecular chaperones[J]. *Molecular Neurobiology*, 2018, 55(10): 7652–7668.
- [32] Carmo C, Naia L, Lopes C, et al. Mitochondrial dysfunction in Huntington's disease[J]. *Polyglutamine Disorders*, 2018, 1049: 59–83.
- [33] Jin J, Albertz J, Guo Z, et al. Neuroprotective effects of PPAR-agonist rosiglitazone in N171–82Q mouse model of Huntington's disease[J]. *Journal of Neurochemistry*, 2013, 125(3): 410–419.
- [34] Duyao MP, Auerbach AB, Ryan A, et al. Inactivation of the mouse Huntington's disease gene homolog Hdh [J]. *Science*, 1995, 269(5222): 407–410.
- [35] Nasir J, Floresco SB, O'Kusky JR, et al. Targeted disruption of the Huntington's disease gene results in embryonic lethality and behavioral and morphological changes in heterozygotes[J]. *Cell*, 1995, 81(5): 811–823.
- [36] Zeitlin S, Liu JP, Chapman DL, et al. Increased apoptosis and early embryonic lethality in mice nullizygous for the Huntington's disease gene homologue[J]. *Nat Genet*, 1995, 11(2): 155–163.
- [37] MacDonald ME, Duyao M, Calzonetti T, et al. Targeted inactivation of the mouse Huntington's disease gene homolog Hdh[J]. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol*, 1996, 61: 627–638.
- [38] Wang G, Liu X, Gaertig MA, et al. Ablation of huntingtin in adult neurons is nondeleterious but its depletion in young mice causes acute pancreatitis[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2016, 113(12): 3359–3364.
- [39] 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[J]. *Mol Ther*, 2009, 17(6): 1053–1063.
- [40] Drouet V, Perrin V, Hassig R, et al. Sustained effects of nonallele-specific Huntingtin silencing [J]. *Ann Neurol*, 2009, 65(3): 276–285.
- [41] Grondin R, Kaytor MD, Ai Y, et al. Six-month partial suppression of Huntingtin is well tolerated in the adult rhesus striatum[J]. *Brain*, 2012, 135(Pt4): 1197–1209.
- [42] Yang S, Chang R, Yang H, et al. CRISPR/Cas9-mediated gene editing ameliorates neurotoxicity in mouse model of Huntington's disease[J]. *J Clin Invest*, 2017, 127(7): 2719–2724.

(责任编辑:冉明会)