



树鼩中 APP 基因特征描述及可变剪接体的分型鉴定

罕园园, 孙晓梅, 匡德宣, 陆彩霞, 陈玲霞, 仝品芬, 王文广, 李娜, 代解杰*

(中国医学科学院北京协和医学院医学生物学研究所树鼩种质资源中心, 云南省重大传染病疫苗研发重点实验室, 中国医学科学院医学生物学研究所实验树鼩标准化与应用研究省创新团队, 昆明 650118)

【摘要】 **目的** 区分并鉴定树鼩中 APP 基因 mRNA 的多种可变剪接体, 对 APP 基因特征进行描述, 并确定其在各组织中的表达分布。**方法** 参考已知人的和树鼩基因组预测的 APP 基因序列, 设计树鼩 APP 基因 mRNA 剪切体外显子的共同特异性引物。分别从树鼩不同组织中提取总 RNA, 反转录为 cDNA, 利用高保真酶扩增目的剪切体 DNA。根据 PCR 扩增产物电泳条带的有无和大小初步判断剪接体的型别, 最后将 PCR 产物胶回收进行测序鉴定, 对获得的基因进行特征描述, 并结合定量 PCR 的结果确定了各剪接体在不同组织中分布情况。**结果** 结果表明树鼩 APP 剪接体的全长为 3514 bp, 有一个 109 bp 的 5'-UTR, 1092bp 的 3'-UTP。APP 基因在调查的 9 个物种中高度同源保守, 显示树鼩与灵长类存在一个较近的亲缘关系。通过三维建模获得了树鼩和人的 APP 基因共同拥有的 4 个结构域。同时确认这 4 种通过外显子跳跃产生的 APP 可变剪接体在不同组织中的分布和表达。4 种检测到的剪接体 APP770, APP695, APP751, APP677 均表达于肺、肾和肠, 表达量最高的是肺、肌肉和睾丸。**结论** 对树鼩 APP 基因可变剪接体的表达研究, 有助于推动树鼩作为阿尔茨海默病模型深入研究疾病的发生机制和药物研发。

【关键词】 树鼩; APP 基因; 可变剪接体; 阿尔茨海默病模型

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2017) 02-0132-07

Doi: 10. 3969/j. issn. 1005 - 4847. 2017. 02. 004

Characterization of tree shrew APP gene and identification of its alternatively spliced variants

HAN Yuan-yuan, SUN Xiao-mei, KUANG De-xuan, LU Cai-xia, CHEN Ling-xia
TONG Pin-fen, WANG Wen-guang, LI Na, DAI Jie-jie*

(Center of Tree Shrew Germplasm Resources, Institute of Medical Biology, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College. Yunnan Key Laboratory of Vaccine Research and Development on Severe Infectious Diseases. Yunnan Innovation Team of Standardization and Application Research on Tree Shrew. Kunming 650118, China)

【Abstract】 **Objective** The aim of this study was to differentiate and identify all the variants of APP mRNA in tree shrew, describe the characteristics of APP genes, and determine its distribution in different tissues. **Method** Based on the known human APP sequence and predicted tree shrew APP gene, we designed a pair of common specific primer. We extracted total RNA from different tissues respectively, using RT-PCR to get the targeted cDNA. We differentiated the variants by electrophoresis. Finally we recollected the RT-PCR products for sequencing. Combined with the qPCR results, we confirmed the quantitative distribution of the variants in different tissues. **Results** Our sequencing results showed that the length of the tree shrew APP spliceosome was 3514 bp with a 109 bp 5'-UTR and a 1092 bp 3'-UTP. APP genes in the investigated 9 species were highly homologous and conservative, tree shrews and primates show a very close genetic relationship. The tree shrew APP genes shared four domains by 3D modeling. We also confirmed the distribution pattern of 4 spliceosomes derived from exon jumping. All existed APP variants, including APP770, APP695, APP751, and APP677, were

【基金项目】 国家科技支撑计划项目 (2014BAI01B00); 云南省联合支持国家计划项目 (2015GA009); 云南省科技人才和平台计划项目。

【作者简介】 罕园园 (1983 年 -), 女, 助理研究员。E-mail: hyy@imbcams.com.cn

【通讯作者】 代解杰, 男, 项目负责人。E-mail: djj@imbcams.com.cn

all expressed in the lung, kidney and intestine. The highest expression levels were in the lung, muscle, and testicles.

Conclusions This study helps to promote the studies of tree shrews as an Alzheimer's disease model and the mechanism of its pathogenesis and drug development.

【Key words】 *Tupaia Belangeri*; APP mRNA variants; APP distribution; Alzheimer's disease model

Corresponding author: DAI Jie-jie, E-mail: dj@imbcams.com.cn

淀粉样前体蛋白 (amyloid precursor protein, APP) 是中枢神经系统广泛表达的跨膜蛋白。它是阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 病理改变老年斑的主要成分 β 淀粉蛋白 (amyloid beta protein, $A\beta$) 的前体蛋白。 $A\beta$ 聚集形成的寡聚体具有神经毒性, 被认为是 AD 的主要病理机制, 这些过量产生的 $A\beta$ 主要来源于 APP 的异常裂解, 因此, APP 一直被认为是阿尔兹海默病 AD 形成和发展的关键因素^[1]。在人体内, 已经发现 10 种 APP 基因的转录物, 它们主要由三个不同的外显子 (外显子 2、7、8、15) 经可变剪接所产生。APP 的表达非常广泛, 可存在于几乎所有的神经元和非神经元组织。但是, 各种转录物的表达方式显示一定的细胞和组织特异性。如含有 Kunitz 型蛋白酶抑制剂 (Kunitz protease inhibitor, KPI) 序列的 APP751 和 APP770 主要表达于非神经元组织, 而不含 KPI 序列的 APP695 则主要表达于神经元。另外, 在脑发育、成熟过程及部分 AD 病人, 剪接形式也可发生变化^[2]。

APP 基因的序列、结构对 $A\beta$ 的聚集有重要的作用, 基于人基因组中发现的家族性 APP 基因突变而建立的转基因小鼠由于能够过表达 APP 基因, 从而造成 $A\beta$ 的聚集沉淀, 形成类似人 AD 中最主要的病理特征—老年斑 (senile plaques, SP), 是现在研究 AD 的重要动物模型。 $A\beta$ 形成年龄依赖性的 SP 并在脑相关区域聚集沉淀, 这种现象在许多的哺乳动物中都有发现, 包括熊、牛、狗、猫和所有的非人灵长类^[3, 4]。在这些动物中 $A\beta$ 的序列与人类完全一致, 但目前为止, 尚未在大、小鼠中发现类似的 SP 存在, 这很可能是因为大、小鼠 $A\beta$ 在序列与人有 3 个氨基酸序列的差异导致 $A\beta$ 无法聚集形成 SP。

树鼩属于介于灵长目与食虫目之间的独立阶元—攀鼩目树鼩科, 与啮齿类相比, 树鼩更接近非人灵长类和人类。现在世界上许多国家已经开展了树鼩实验动物方面的研究, 并取得了丰硕的成果^[5]。树鼩是公认的近视模型动物^[6], 又因其大脑发达, 多用于神经系统的研究及神经系统疾病模型的复制, 如脑血管病^[7]、抑郁症^[8]、老年痴呆^[9]等, 2012 年, Yamashita 等^[10]的报道支持了猕猴和树鼩均有

这种人类老年痴呆症病理样的老年斑。从基因序列上来说, Pawlik 等^[4]早在 1999 年便对脑中的 APP 基因序列进行了测定, 获得了 APP 一个可变剪接体的序列信息, 结果发现和人的同源性大于大小鼠, 并且 $A\beta$ 序列也和人类的完全一致。综上, 树鼩有可能是创建人类老年痴呆症模型的理想动物。

通过鸟枪测序法获得的树鼩基因组序列中, 对树鼩的 APP 基因及可变剪接体进行了预测, 依据测序结果与人相应序列的比对, 预测得到树鼩可能存在 6 种剪接体^[11], 不排除这些潜在的剪接体有些可能实际上并不存在以及有其他剪接体存在的可能。鉴于 APP 基因在 AD 中的重要作用及树鼩在阿尔兹海默症模型的应用, 弄清树鼩 APP 基因的所有剪接体的类型及在不同组织的表达差异、表达模式, 对今后阿尔兹海默症树鼩动物模型创制和疾病发生机理研究具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 实验材料及分析软件

滇西亚种雄性树鼩 (*Tupaia belangeri*), 由中国医学科学院医学生物学研究所树鼩种质资源中心【SCXK(滇)K2013-0001】提供。TRIzol 试剂、逆转录试剂盒、Primer-Star DNA 聚合酶、DNA Marker DL 2000 购自 TaKaRa Biotechnology 公司 (大连, 中国); 胶回收试剂盒购自 Tiangen 公司 (北京, 中国)。利用生物信息学软件 DNAMAN 进行比对分析, 利用生物信息学软件 Mega7 绘制系统进化树。利用 Swiss Model 工作站进行三维建模, 并用 Pymol 显示。

1.2 分子生物学方法

1.2.1 引物设计

通过在 PubMed 上查询已知人的 (基因 ID: 351) 和预测的树鼩 APP 基因序列 (基因 ID: 102489280, KF479228.2), 根据此设计出共同的特异性引物。利用电泳区分出不同长度的剪接体, 胶回收后测序确定其分型。

1.2.2 总 RNA 的提取

树鼩组织 RNA 的提取和定量。精确称量 100 mg 树鼩各组织, 加入 1 mL 预冷的 TRIzol 提取

液,使用超声粉碎的方法将组织充分裂解,其余步骤按 TRIzol 试剂说明书进行。所提取的 RNA 溶解于 DEPC 处理水中。采用紫外分光光度法定量。

1.2.3 RNA 反转录

为 cDNA 利用 RT-PCR 方法扩增 APP cDNA,逆转录反应按试剂盒中的说明书进行。

1.2.4 PCR 扩增

以 Oligo(dT) 为引物,逆转录合成 cDNA,之后以此为模板,进行 PCR 扩增。在反应体系中先将模板于 95℃ 变性 5 min,循环参数:94℃ 30 s,55℃ 45 s,72℃ 1 min,35 个循环,72℃ 延伸 10 min。APP 上游:GTGCCACTGACGGCAAT,APP 下游:GCTCCTCCAGGGATGTATTTATT。

1.2.5 PCR 的产物回收

扩增产物的胶回收用 1.0% 琼脂糖凝胶电泳,紫外灯下检查 PCR 产物。之后将 PCR 条带用手术刀小心割取,按照胶回收试剂盒说明书分步回收 PCR 产物。

1.2.6 PCR 测序

产物测序将电泳后回收的 PCR 产物送上海生

工公司测序,检测 PCR 产物的正确性。

1.2.7 总 APP 剪接体定量 PCR

反应混合液为 2 × qPCR 预混液 10 μL,上下游引物各 0.4 μL,ddH₂O 7.2 μL,模板 2 μL。引物见表 1。PCR 循环条件为保持 3 min 95℃ (95℃ / 7 s, 57℃ / 10 s, 72℃ / 15 s) 45 个循环。APP 定量上游:GAAGCCAACCAACCAGTGAC,APP 定量下游:CTAAGCACGGGTAGGGAATG,GDPH 定量上游:CCATCACCATCTTCCAGGAGCGAG,GDPH 定量下游:CAAAGGTGGAGGAGTGGGTGTCG。

2 结果

2.1 APP770 核酸序列和推导的氨基酸序列

树鼩的 APP 基因由 18 个外显子构成。测序结果表明树鼩 APP 剪接体的全长为 3514 bp,有一个 109 bp 的 5'-UTR,1092 bp 的 3'-UTR。三个潜在的 AATAAA 聚腺苷酸化信号位于多聚 Aβ 尾巴上游处。在推测的树鼩 APP 基因氨基酸产物中,在 N 端携带有一个 19 氨基酸残基的信号肽(图 1)。

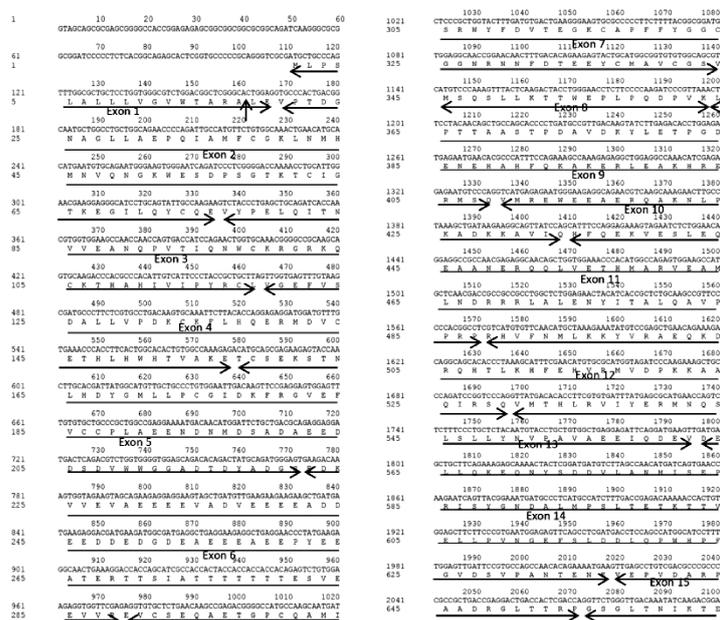


图 1 树鼩 APP 基因的核酸序列和推导的氨基酸序列

Fig. 1 Nucleotide and deduced amino acid sequence of APP gene in the Tupaia chinensis

2.2 APP 基因的进化分析

为评价 APP 蛋白的进化保守性,与其他物种(人、食蟹猴、大鼠、小鼠、猪、狗、黑猩猩、兔)的氨基酸序列的比对分析。显示,APP 基因在调查的 9 个物种中高度同源保守,有一个 17 个氨基酸的信号肽

序列,同源性很高。树鼩与人的 APP 氨基酸序列有 97.3% 的一致性,仅有 20 个氨基酸序列不同,并且大部分差异氨基酸位于蛋白末端序列(图 2)。树鼩与人(Homo sapiens)、食蟹猴(Macaca fascicularis)、大鼠(Rattus norvegicus)、小鼠(Mus musculus)、猪

(*Sus scrofa*)、狗 (*Canis lupus*)、黑猩猩 (*Pan troglodytes*)、兔 (*Oryctolagus cuniculus*) 的同源相似性分别为 97.3%、97.3%、97.4%、97.1%、97.9%、97.4%、97.4%、97.1%。

在基于核酸序列和氨基酸序列构建的 NJ 进化树中,观察到一个与基于已知序列和基因组序列获得的进化树相同的聚类模式,树鼩与灵长类显示出一个较近的亲缘关系(图 3),获得的进化结果稳定可靠。

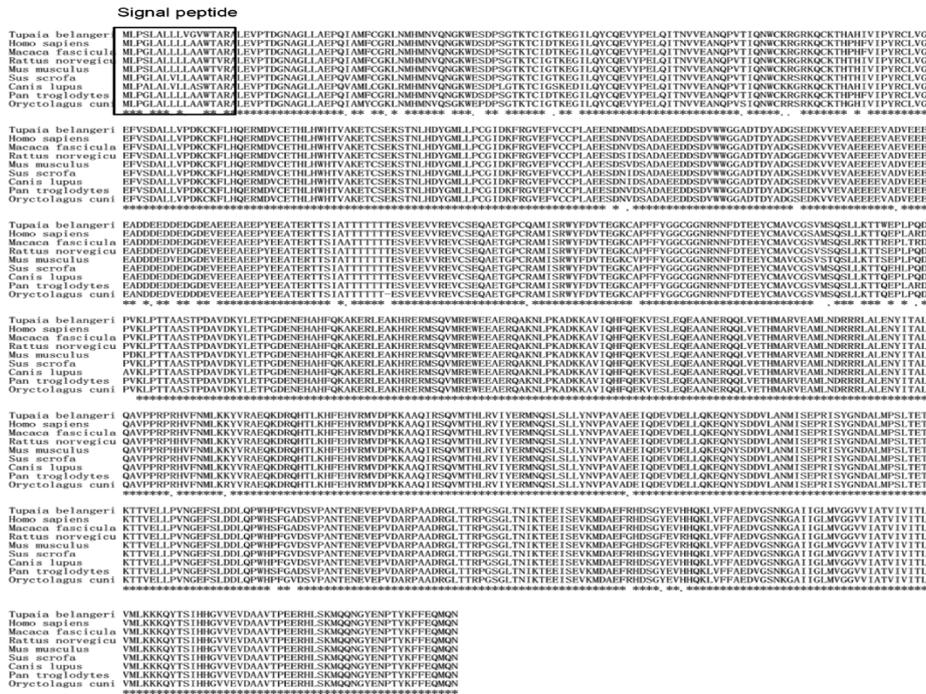


图 2 树鼩与其他亲缘较近的 8 种脊椎动物 APP 氨基酸序列的比对结果

Fig. 2 Alignment of the APP amino acid sequences in 9 vertebrate species

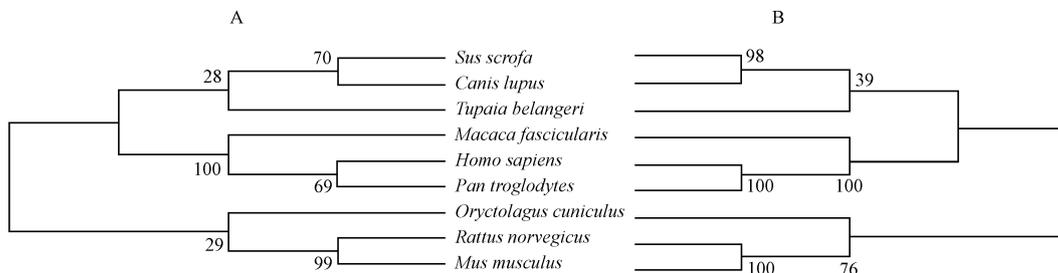


图 3 分别基于氨基酸序列(A)、核酸序列(B)的进化树

Fig. 3 Phylogenetic trees of the IL7 gene based on amino acid sequences (A) and deduced nucleotide sequences (B)

2.3 树鼩 APP 蛋白与人 APP 蛋白三维结构比对

通过三维建模,树鼩和人的 APP 基因分别有 4 个结构域:半胱氨酸丰富的球状区 E1;KPI 区;α 螺旋丰富的 E2 区,包含了一部分的 Aβ,延伸至跨膜区;跨膜区和 C 末端信号转导区。12 个差异氨基酸位于无规则卷曲中,8 个差异氨基酸位于 E1 区和 KPI 区中,而 E2 区和跨膜信号区高度同源保守,没有差异氨基酸,可能和维持功能相关(图 4)。

2.4 APP 基因 mRNA 各种剪接体的序列比对

为确认树鼩中所有的 APP 基因的可变剪接体,

我们对从不同组织中获得的总 RNA 中的大量 cDNA 克隆进行测序,除了以上提到的完整的典型的 APP770 剪接体,我们还确认了其他 3 种不同的 APP 基因可变剪接体(图 5,基因 ID 号: KY399768 ~ KY399771)。通过序列间的比对确认了这 4 种通过外显子跳跃产生的 APP 可变剪接体,包括 APP770, APP695, APP751, APP677 四种。

2.5 APP mRNA 和各可变剪接体的表达模式

定量 PCR 的方法确认了 APP 所有剪接体在 10 个树鼩不同组织中的表达情况,4 种剪接体均

表达于肺、肾和肠, APP695 和 APP677 在心脏、肝、脾、肌肉、肾上腺中共表达, APP751 和 APP695 在大脑、小脑、海马和睾丸中共表达, 睾丸中还表

达 APP677, 脊髓中单独表达 APP695, 脂肪中单独表达 APP770, APP770 主要在肌肉中分布 (图 6)。

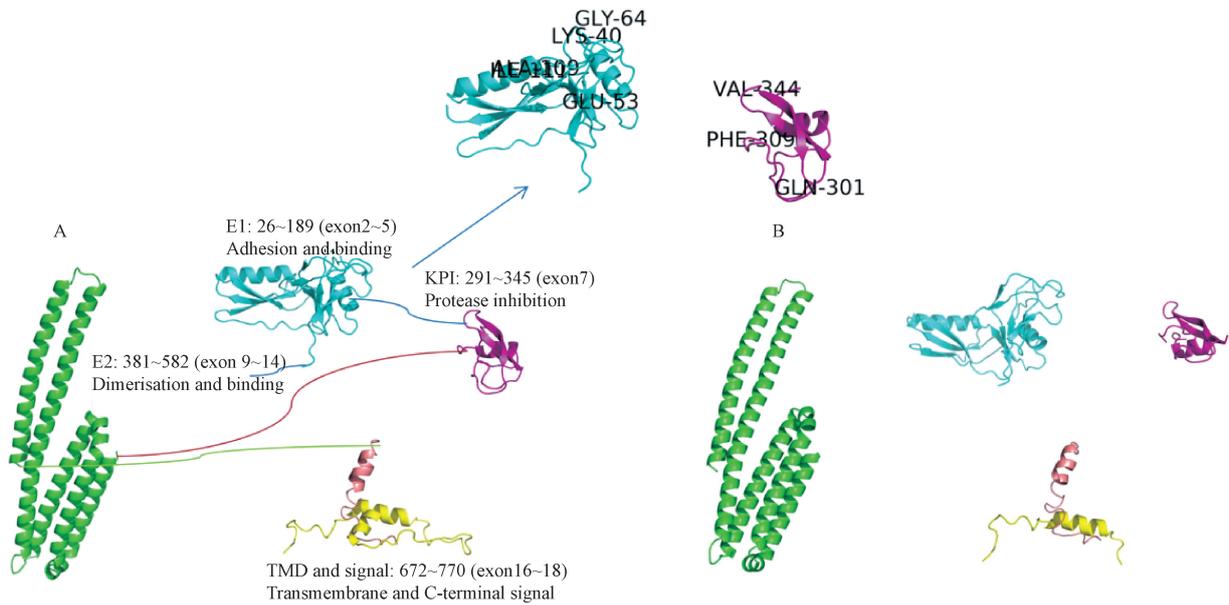


图 4 树鼩(A)和人(B)的 APP 蛋白三维建模

Fig. 4 Structure of APP in the tree shrew (A) and humans (B)

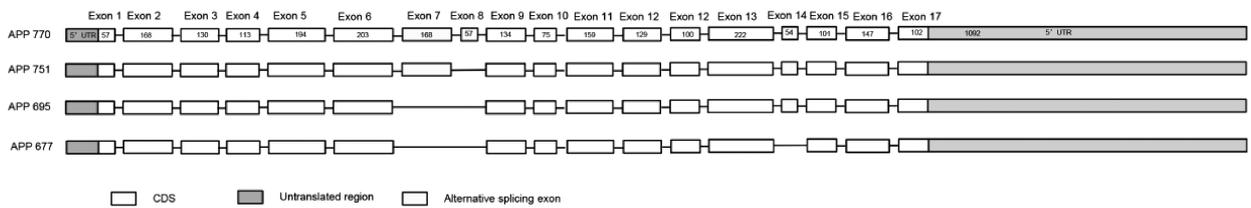
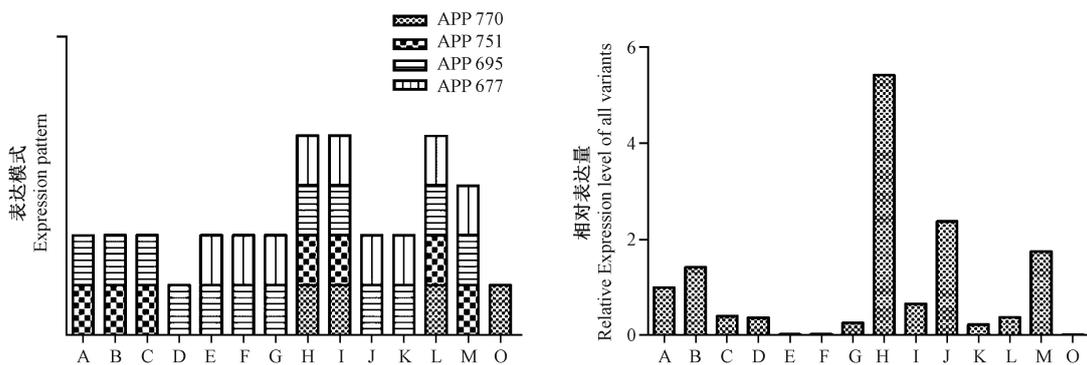


图 5 树鼩 APP 基因 mRNA 及其可变剪接体的示意图

Fig. 5 Schematic structure of APP mRNA and its transcripts in Chinese tree shrew



注: A: 大脑; B: 小脑; C: 海马; D: 脊髓; E: 心脏; F: 肝; G: 脾; H: 肺; I: 肾; J: 肌肉; K: 肾上腺; L: 肠; M: 睾丸; N: 脂肪。

图 6 树鼩 APP 基因在不同组织的分布(左)及相对表达量(右)

Note. A. Brain; B. Cerebellum; C. Hippocampus; D. Spinal cord; E. Heart; F. Liver; G. Spleen; H. Lung; I. Kidney; J. Muscle; K. Adrenal gland; L. Intestine; M. Testis; N. Adipose tissue.

Fig. 6 Distribution patterns of APP(left) and its transcripts expression levels in different tissues(right)

3 讨论

APP 具有促进细胞增生和神经营养因子的作用,在细胞膜上是一种跨膜糖蛋白,通过与细胞膜外基质的相互作用介导神经细胞之间的粘附,增加神经突触之间的联系及突触可塑性。APP 可能通过作用于细胞表面的特异受体来刺激轴突的发生和生长,APP 通过蛋白酶剪切后产生的 A β ,长久以来一直被认为是导致 AD 产生的最根本原因。因此,影响 APP 剪切的重要因素(包括 APP 基因的结构、基因的序列和突变、可变剪接体的存在形式和分布)一直是研究的热点^[12, 13],目前,人^[14]、大鼠^[15]、小鼠^[16]等物种中的 APP 基因及所有的可变剪接体都已经报道,而被认为是理想痴呆模型动物的树鼩的 APP 基因仅有其中的一种剪接体 APP695 有报道,以及鸟枪法测序预测获得的六种可变剪接体,这些信息还远远不够。

因此,本研究旨在区分并鉴定树鼩 APP mRNA 的所有可变剪接体,在对这一与 AD 疾病发生和进展密切相关的关键分子的基因进行特征描述的基础上,再结合可变剪接体的分布情况进一步调查 APP 基因在不同组织中的表达量。本研究首次获得了 APP 最长的可变剪接体 APP770 的分子序列,并通过 blast 获得的同源性最高的 9 种物种中进行序列比对分析,结果表明,树鼩特异的氨基酸有 5 个,分别是第 12 位的 V、193 位的 N、254 位的 A、301 位的 Q、354 位的 W。有趣的是,N 末端的序列同源性较低,而 C 末端的长达 143 氨基酸的序列以及 A 基的序列与人的完全一致。

在基于核酸序列和氨基酸序列构建的 NJ 进化树中,发现一个与基于已知序列和基因组序列获得的进化树相同的聚类模式,树鼩与猪和狗更为接近,在进化上处于同一分支,而人、黑猩猩和猴最为接近,在进化上处于同一分支,大小鼠和兔最为接近,在进化上处于同一分支,树鼩与灵长类显示出一个较近的亲缘关系(图 3),获得的进化结果稳定可靠。

通过三维建模,树鼩和人的 APP 基因三维结构非常类似,分别有 4 个结构域:半胱氨酸丰富的球状区 E1;KPI 区; α 螺旋丰富的 E2 区,包含了一部分的 A β ,延伸至跨膜区;跨膜区和 C 末端信号转导区。共 20 个的差异氨基酸中,12 个差异氨基酸位于无规则卷曲中,8 个差异氨基酸位于 E1 区和 KPI 区中,而 E2 区和跨膜信号区高度同源保守,没有差异氨基酸,可能和维持功能相关,这个区域中有与 AD 发病最为相关的 A β 分子编码区,可以看到,

此次测序的结果与之前的一样,树鼩的 A β 序列与人的完全一致,而大小鼠存在 3 个氨基酸的差异,这可能与老年树鼩脑中可以形成 SP 有关。

为确认树鼩中所有的 APP 基因的可变剪接体,对从不同组织中获得的总 RNA 中的大量 cDNA 克隆进行测序,除了以上提到的完整的典型的 APP770 剪接体,还确认了其他 3 种不同的 APP 基因可变剪接体(图 4,基因 ID 号:KY399768 ~ KY399771)。同时确认了这 4 种通过外显子跳跃产生的 APP 可变剪接体在不同组织中的分布(图 5),包括 APP770、APP695、APP751、APP677 四种。在之前公布的树鼩基因组序列中,预测获得了 6 种可变剪接体,排除了由于技术限制未能测到的 35 个氨基酸的 N 末端和一个 544 位点的 FFF 序列检测为 SLSL 而多一个氨基酸之外,预测得到的其实为:所有外显子(APP770),缺外显子 8(APP751),7 和 8(APP695),8 和 15(APP733),7、8 和 15(APP677),15(APP752)六种类似人的可变剪接体,经过实验检测,仅验证了四种的存在,没有 APP733 和 APP752 的存在。

APP 剪接体的分布有组织特异性,4 种剪接体均表达的是肺、肾和肠,APP695 和 APP677 在心脏、肝、脾、肌肉、肾上腺中共表达,APP751 和 APP695 在大脑、小脑、海马和睾丸中共表达,睾丸中还表达 APP677,脊髓中单独表达 APP695,脂肪中单独表达 APP770。选择性剪切得到的可变剪接体通常具有组织特异性,并在特定组织和发育阶段起着关键作用,本研究结果和之前的结果类似,APP695 主要在脑中分布,但肌肉中未检测到 APP770 的存在可能是受到了技术的限制。其表现的共表达方式也很可能与功能相关。同时,通过定量 PCR 确定表达量最高的是肺、肌肉和睾丸,大脑、小脑和脊髓等神经组织中表达量中等。

总之,本研究首次确认了树鼩 APP 基因的可变剪接体的分型和表达模式,提示树鼩有可能是作为神经系统疾病的理想动物。

参 考 文 献

- [1] Selkoe DJ and Hardy J. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease at 25 years[J]. EMBO MolMed, 2016, 8(6): 595 - 608.
- [2] Kirkitadze MD, Bitan G, Teplow DB, et al. Paradigm shifts in Alzheimer's disease and other neurodegenerative disorders: the emerging role of oligomeric assemblies[J]. J Neurosci Res, 2002, 69(5): 567 - 577.

(下转第 152 页)

- neuromuscular defects and shortened lifespan [J]. *Dev Dyn*, 2007, 236(6): 1663–1676.
- [19] 张建军, 隋欣, 吕国蔚, 等. 化学预处理对低氧预适应模型小鼠的影响 [J]. *中国组织工程研究*, 2012, 46: 8698–8702.
- [20] Noguchi H, Kimura A, Murao N, et al. Expression of DNMT1 in neural stem/precursor cells is critical for survival of newly generated neurons in the adult hippocampus [J]. *Neurosci Res*, 2015, 95: 1–11.
- [21] Nugent BM, Wright CL, Shetty AC, et al. Brain feminization requires active repression of masculinization via DNA methylation [J]. *Nature Neurosci*, 2015, 18(5): 1823–1824.
- [22] Rajendran G, Shanmuganandam K, Bendre A, et al. Epigenetic regulation of DNA methyltransferases; DNMT1 and DNMT3B in gliomas [J]. *J Neurooncol*, 2011, 104(2): 483–494.
- [23] Zhang S, Zhang Y, Jiang S, et al. The effect of hypoxia preconditioning on DNA methyltransferase and PP1 γ in hippocampus of hypoxia preconditioned mice [J]. *High Altitude Med Biol*, 2014, 15(4): 483–490.
- [24] 姚志刚, 秦川. 表观遗传修饰在学习和记忆中的调节作用 [J]. *中国实验动物学报*, 2011, 19(5): 441–445.
- [25] Strack S, Kini S, Ebner FF, et al. Differential cellular and sub-cellular localization of protein phosphatase 1 isoforms in brain [J]. *J Comp Neurol*, 1999, 413(3): 373–384.
- [26] Ulke-Lemée A, Trinkle-Mulcahy L, Chauk S, et al. The nuclear PP1 interacting protein ZAP3 (ZAP) is a putative nucleoside kinase that complexes with SAM68, CIA, NF110/45, and HNRNP-G [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2007, 1774(10): 1339–1350.
- [27] Zhang D, Li Q, Rao L, et al. Effect of 5-Aza-2'-deoxycytidine on odontogenic differentiation of human dental pulp cells [J]. *J Endodont*, 2015, 41(5): 640–645.
- [28] Zhou R, Chen F, Chang F, et al. Persistent overexpression of DNA methyltransferase 1 attenuating GABAergic inhibition in basolateral amygdala accounts for anxiety in rat offspring exposed perinatally to low-dose bisphenol A [J]. *J Psychiat Res*, 2013, 47(10): 1535–1544.

[收稿日期] 2016–08–30

(上接第 137 页)

- [3] Head E. A canine model of human aging and Alzheimer's disease [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2013, 1832(9): 1384–1389.
- [4] Pawlik M, Fuchs E, Walker LC, et al. Primate-like amyloid-beta sequence but no cerebral amyloidosis in aged tree shrews [J]. *Neurobiol Aging*, 1999, 20(1): 47–51.
- [5] 徐林, 张云, 梁斌, 等. 实验动物树鼩和人类疾病的树鼩模型研究概述 [J]. *动物学研究*, 2013, 34(02): 59–69.
- [6] 周广龙, 朱勤, 李振宇, 等. 树鼩在眼科学的基础研究进展 [J]. *中国实验动物学报*, 2015, 23(06): 652–655.
- [7] 李树清, 李凡, 何亮, 等. 缺血后适应促进树鼩血栓性脑缺血时紧密连接 occludin/ZO-1 蛋白表达及抑制脑水肿的机制 [J]. *中国病理生理杂志*, 2016, 32(3): 477–484.
- [8] Schmelting B, Corbach-Sohle S, Kohlhaase S, et al. Agomelatine in the tree shrew model of depression: effects on stress-induced nocturnal hyperthermia and hormonal status [J]. *Eur Neuropsychopharmacol*, 2014, 24(3): 437–447.
- [9] Lin N, Xiong LL, Zhang RP, et al. Injection of Abeta1-40 into hippocampus induced cognitive lesion associated with neuronal apoptosis and multiple gene expressions in the tree shrew [J]. *Apoptosis*, 2016, 21(5): 621–640.
- [10] Yamashita A, Fuchs E, Taira M, et al. Somatostatin-immunoreactive senile plaque-like structures in the frontal cortex and nucleus accumbens of aged tree shrews and Japanese macaques [J]. *J Med Primatol*, 2012, 41(3): 147–157.
- [11] Fan Y, Yu D, Yao YG. Tree shrew database (TreeshrewDB): a genomic knowledge base for the Chinese tree shrew [J]. *Sci Rep*, 2014, 4: 7145.
- [12] Nicolas G, Charbonnier C, Campion D. From common to rare variants: the genetic component of Alzheimer disease [J]. *Hum Hered*, 2016, 81(3): 129–141.
- [13] Tew J, Goate AM. Genetics of beta-amyloid precursor protein in Alzheimer's disease [J]. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2016, a024539.
- [14] Cuccaro ML, Carney RM, Zhang Y, et al. SORL1 mutations in early- and late-onset Alzheimer disease [J]. *Neurol Genet*, 2016, 2(6): e116.
- [15] Sandbrink R, Masters CL, Beyreuther K. Beta A4-amyloid protein precursor mRNA isoforms without exon 15 are ubiquitously expressed in rat tissues including brain, but not in neurons [J]. *J Biol Chem*, 1994, 269(2): 1510–1517.
- [16] Izumi R, Yamada T, Yoshikai S, et al. Positive and negative regulatory elements for the expression of the Alzheimer's disease amyloid precursor-encoding gene in mouse [J]. *Gene*, 1992, 112(2): 189–195.

[收稿日期] 2017–01–04