

周玲,范润哥,李东明,等. 核纤层蛋白病小鼠模型的研究进展 [J]. 中国比较医学杂志, 2020, 30(9): 103-110.
Zhou L, Fan RG, Li DM, et al. Advances in Laminopathy-related mouse models [J]. Chin J Comp Med, 2020, 30(9): 103-110.
doi: 10.3969/j.issn.1671-7856. 2020.09.019

核纤层蛋白病小鼠模型的研究进展

周 玲¹, 范润哥², 李东明¹, 刘 恒¹, 舒 伟^{1,3*}

(1.广西医科大学基础医学院, 南宁 530021; 2.广西医科大学第一附属医院皮肤科, 南宁 530021;
3.桂林医学院生物技术学院, 广西 桂林 541100)

【摘要】 *LMNA* 基因编码 A 型核纤层蛋白(lamin), 其突变导致一系列复杂多样的遗传病。目前, 人们已经发现了 900 多个 *LMNA* 基因突变, 这些突变造成多种表型各异的核纤层蛋白病(laminopathies)。如: 下颌骨锁骨发育不全(mandibuloacral dysplasia, MAD)、埃-德型肌营养不良(Emery-Dreifuss muscular dystrophy, EDMD)、早老症(Hutchinson-Gilford progeria syndrome, HGPS)等。研究者为了更好的了解核纤层蛋白病的分子机制以及治疗药物筛选, 已经构建了一系列 *LMNA* 基因突变的小鼠品系, 这些小鼠模型为了解核纤层蛋白的功能和及其在个体生长发育中的作用提供了有价值的研究材料。本文就核纤层蛋白病小鼠模型进行综述, 并讨论了它们在核纤层蛋白病和生理性衰老中的意义。

【关键词】 衰老; 法尼基化; 核纤层蛋白; 核纤层蛋白病; 早老蛋白

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2020) 09-0103-08

Advances in Laminopathy-related mouse models

ZHOU Ling¹, FAN Runge², LI Dongming¹, LIU Heng¹, SHU Wei^{1,3*}

(1. Basic Medical College of Guangxi Medical University, Nanning 530021, China.
2. Department of Dermatology, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021.
3. Biotechnology College of Guilin Medical University, Guilin 541100)

【Abstract】 Variations in the *LMNA* gene, which encodes lamin A, cause a wide range of genetic disorders. More than 900 *LMNA* variations have been found, which cause a variety of laminopathies with different phenotypes, such as mandibuloacral dysplasia, Emery-Dreifuss muscular dystrophy and Hutchinson-Gilford progeria syndrome. To better understand these laminopathies and to screen for therapeutic drugs, a series of mouse strains with *LMNA* variations have been established. These mouse models provide valuable tools for understanding *LMNA* function and its role in growth and development. Here, we review mouse models of laminopathies and we discuss their significance in progeria and physiological aging.

【Keywords】 aging; farnesylation; lamin A; laminopathies; progeria

核纤层(nuclear lamina)是由核纤层蛋白(lamins)组成的网状结构, 位于细胞核膜内侧, 核纤层蛋白是进化上高度保守的 V 型中间纤维蛋白(intermediate filament protein, IF protein), 在维持细

胞核的正常结构与功能、染色质定位和基因转录、以及细胞衰老与分化等细胞进程中发挥着重要作用^[1]。在哺乳动物中, lamins 分为 A 型和 B 型, A 型 lamins 包括 lamin A、lamin C 以及含量较低的亚

【基金项目】 国家自然科学基金(31660311); 药用资源化学与药物分子工程国家重点实验室开放基金(CMEMR2014-CMEMR2018)。
【作者简介】 周玲(1993—), 女, 硕士研究生, 专业: 生物化学与分子生物学。E-mail: 290483980@qq.com
【通信作者】 舒伟(1978—), 男, 教授, 博士, 研究方向: 分子遗传学。E-mail: shuwei7866@126.com

型 A Δ 10、lamin C2, 由 *LMNA* 基因选择性剪切产生。B 型 lamins 包括 lamin B1、lamin B2, 由 *LMNB1*、*LMNB2* 基因编码产生。A 型 lamins 一般只在原胚胎形成后分化的细胞中表达, 而 B 型 lamins 表达贯穿整个发育过程^[2-3]。

由于细胞内许多不同蛋白质直接或间接与 lamins 相互作用, *LMNA*、*LMNB1* 和 *LMNB2* 基因发生突变常常造成多种效应。*LMNA* 基因已经发现 963 个(www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/)突变, 这些突变与至少 15 种被称为“核纤层蛋白病”的疾病相关, 包括常染色体遗传病埃-德型肌营养不良(Emery-Dreifuss muscular dystrophy, EDMD)、扩张型心肌病(Dilated cardiomyopathy, DCM)、早老症(Hutchinson-Gilford progeria syndrome, HGPS)、肢带型肌营养不良症(Limb-girdle muscular dystrophy, LGMD)等。以 HGPS 为例, 由于 *LMNA* 基因发生点突变引起外显子 11 隐蔽剪切位点(G608G: GGC $\rightarrow$ GGT)激活, 导致核纤层蛋白 A 前体(prelamin A)肽链羧基末端 50 个氨基酸残基被切除, 这个被截短的 prelamin A 被称为早老蛋白(progerin)。progerin 保留了 CXXA 结构域, 而缺失 ZMPSTE 24 酶切位点, 导致羧基末端不能被剪切, 暴露在外的法尼基半胱氨酸甲酯一直存在。随着时间的推移, progerin 蓄积会导致一系列细胞缺陷和功能障碍, 最终造成细胞和组织器官的衰老^[4]。为了研究由于 *LMNA* 基因突变造成的疾病并探寻其中的具体机制, 人们构建了多种核纤层蛋白病小鼠模型, 本文将对核纤层蛋白病小鼠模型进行综述。

1 *LMNA* 基因缺失突变小鼠模型

1.1 *Lmna*^{-/-}和 *Lmna*^{GT/-}小鼠模型

第一个 *LMNA* 基因突变小鼠模型是 lamin A/C 缺失(*Lmna*^{-/-}小鼠模型)。*Lmna*^{-/-}小鼠白色脂肪储存减少、生长迟缓、心律失常和核膜蛋白 emerlin 分布异常, 出生后 6~8 周龄死亡, *Lmna*^{+/-}小鼠在 4~6 周龄时显示出中度严重性的心脏功能障碍和心肌细胞损伤。有趣的是, 研究表明 *Lmna*^{+/-}小鼠在 12 个月龄时表现出严重的心脏异常, 与 *LMNA* 基因突变引起的 DCM 表型相似^[5-6]。Kubben 等^[7]通过基因捕获技术构建了一种新的 lamin A/C 缺失小鼠模型(*Lmna*^{GT/-}小鼠模型)。*Lmna*^{GT/-}小鼠在出生后 2~3 周龄死亡。在 *Lmna*^{-/-}小鼠等模型以及 EDMD 患者肌肉活检中发现, 核膜和 DNA 损伤是由骨骼肌

成熟过程中的核迁移引起的, 并与疾病的严重程度相关。这些发现暗示机械诱导的 DNA 损伤是 *LMNA* 基因突变引起骨骼肌疾病的致病因素之一^[8]。研究发现 mTORC1 (mammalian target of rapamycin complex 1, mTORC1) 在 *Lmna*^{-/-}小鼠的心肌和骨骼肌组织中上调, 用 mTOR 抑制剂治疗突变小鼠, 能够逆转 mTORC1 信号升高, 从而引起自噬激活促进 progerin 溶解和清除, 减轻细胞衰老, 挽救心脏和骨骼肌功能, 并延长寿命^[9]。

1.2 LAO、PLAO 和 LCO 小鼠模型

为了证明 prelamin A 加工过程的重要性, Coffiner 等^[10]构建仅合成 lamin A 的转基因小鼠模型(LAO 小鼠模型)和仅合成 prelamin A 的转基因小鼠模型(PLAO 小鼠模型)。在 *Lmna*^{LAO/LAO}小鼠中 lamin A 是直接合成的, 而在 *Lmna*^{PLAO/PLAO}小鼠中 lamin A 是通过 prelamin A 加工合成。尽管 *Lmna*^{LAO/LAO}小鼠没有了 prelamin A 的加工步骤, 但两个突变小鼠模型中成熟 lamin A 的水平是相当的。*Lmna*^{LAO/LAO}小鼠正常、健康, 没有任何明显的病理表型, 存活时间(>24 个月)与野生型(Wild Type, WT)小鼠相当, 然而 *Lmna*^{LAO/LAO}和 *Lmna*^{PLAO/PLAO}小鼠成纤维细胞比 *Lmna*^{+/+}小鼠成纤维细胞有更高的核畸形率, 这表明细胞异常与组织病理的严重程度并不一致。有趣的是, 只合成 lamin C(LCO 小鼠模型)不合成 lamin A 的小鼠也表现为完全健康^[11]。这些研究结果表明小鼠中 prelamin A 加工是可有可无的, lamin A 和 lamin C 功能存在互补, 缺乏其中之一并不会引起病理表型, 但是同时缺乏 lamin A 和 lamin C 却是致命的。

2 *LMNA* 基因错义突变小鼠模型

2.1 *Lmna* N195 K 和 *Lmna* H222P 小鼠模型

两个携带 *LMNA* 基因错义突变的小鼠模型再现了人类疾病的表型: 一个是 *LMNA* 基因第 195 位的天冬酰胺突变为赖氨酸(N195 K 小鼠模型), 导致家族性扩张型心肌病伴传导系统疾病(familial dilated cardiomyopathy with conduction systems disease, DCM-CD1)^[12]。另一个是 *LMNA* 基因第 222 位的组氨酸突变为脯氨酸(H222P 小鼠模型), 导致常染色体显性遗传 EDMD (autosomal dominant inheritance, AD-EDMD)^[13]。有趣的是, 虽然杂合子小鼠没有发现异常, 但 *Lmna*^{N195 K/N195 K}小鼠出现严重心律失常而过早死亡^[12]。与 WT 小鼠相比,

Lmna^{N195 K/N195 K}小鼠的心室肌细胞动作电位持续时间更长,晚期钠电流(Na^+)增加^[14]。同样 *Lmna*^{H222P/H222P}小鼠表现出骨骼肌和心肌的营养不良,纯合子小鼠在 13 月龄全部死亡^[13]。研究发现 *Lmna*^{H222P/H222P}小鼠心肌中 MAPK、JNK、p38 α 、ERK1/2、AKT/mTORC1、TGF- β 信号上调, WNT/ β -catenin 信号下调,连接蛋白 43(connexin 43, CX43)低表达并且分布改变,微管细胞骨架不稳定导致 CX43 重塑,其中 ERK1/2、AKT/mTORC1、TGF- β 、WNT/ β -catenin 信号已经证实与 DCM 的发病机制有关,药物阻断这些信号通路以及改变 CX43 定位可以改善 *Lmna*^{H222P/H222P}小鼠的左心室功能^[15-16]。研究者正在进一步探索通过联合用药阻断以上信号通路对 LMNA 基因突变引起的 DCM 的治疗效果。

2.2 *Lmna*M371 K 小鼠模型

人类患 EDMD 主要表现为常染色体显性遗传病,为了确定 LMNA 基因突变是否能以显性方式引起小鼠 EDMD 样表型。Wang 等^[17]构建了 M371 K 转基因小鼠模型(第 371 位甲硫氨酸突变为赖氨酸,导致 AD-EDMD)。杂合子小鼠的出生率明显低于预期,可能是由于突变蛋白影响小鼠早期胚胎发育。小鼠出生后存活 2~7 周,表现为心肌细胞胞质嗜酸性粒细胞增多、肌原纤维碎裂、核破裂、核固缩和细胞水肿,病灶多发,无纤维化或明显炎症,提示急性或亚急性心脏损伤。然而,人类患 EDMD 更具有渐进性和扩张性,心脏受累是最严重的并发症,表现为房室传导异常,左心室扩张和室性心律失常,左室为主的心肌细胞破坏随着疾病的进展而加重。因此,该小鼠模型并没有完全模拟人类患 EDMD 的表型,这种差异产生的原因可能是由于 M371 K 突变蛋白在该小鼠模型高表达。

2.3 *Lmna*L530P 小鼠模型

研究者在一例常染色体显性 EDMD 患者中发现一个 LMNA 基因 L530P 变异(第 530 位亮氨酸突变为脯氨酸),Monkes 等^[18]构建了 L530P 小鼠模型。6 个月龄的杂合子小鼠与 WT 小鼠表型相似。纯合子小鼠在 4~6 日龄时开始呈现早老表型,并在 4~5 周内死亡,纯合子小鼠步态蹒跚、皮下脂肪层缺乏、毛囊密度降低、心肌和骨骼肌轻度至中度变性、发育不良和萎缩。此外,研究者还发现小鼠成纤维细胞细胞核形态异常, lamin A 表达减少, lamin C 细胞核内定位错误。

2.4 *Lmna*E82 K 小鼠模型

在一个拥有 50 个家族成员的中国人 DCM 家系中发现 LMNA 基因的一个新突变 E82 K,正是这种突变导致了 DCM 的发生。吕丹等^[19]构建了 E82 K 转基因小鼠模型。该转基因小鼠表现为心腔扩张、心脏重量增加、心肌纤维化增加, B 型钠尿肽、血清 III 型前胶原和骨骼肌肌动蛋白 $\alpha 1$ 水平升高、核膜断裂和传导受损,这与携带 E82 K 突变患者的表型相似。有趣的是,我们发现 E82 K 转基因小鼠的细胞凋亡水平是 WT 小鼠的 8.5 倍, Fas 和线粒体凋亡通路均被激活,这可能与左心室功能下降和最终心力衰竭有关。LMNA 基因的 E82 K 突变或 Lamin A/C 杆状区突变都可能是导致心肌细胞凋亡和心室功能障碍的重要原因。这可能是抑制 LMNA 突变患者心肌细胞死亡的一种潜在的治疗靶点。

3 LMNA 基因早老突变小鼠模型

3.1 *Lmna*^{HG}小鼠模型

HGPS 是最严重的核纤层蛋白病之一。为了研究该病的致病机制, Yang 等^[20]构建了 *Lmna*^{HG}小鼠模型,该小鼠只产生 progerin。纯合子和杂合子小鼠都表现出与 HGPS 患者相似的表现,包括皮下脂肪减少、脱发、骨质疏松症和过早死亡。然而,该小鼠模型没有发现类似人类患者的心血管问题^[20-22]。

3.2 携带 LMNAG608G-BAC 致病基因的小鼠模型

第二个关于 HGPS 的小鼠模型是通过产生带有细菌人工染色体(BAC)的转基因来构建早老小鼠模型, BAC 携带 LMNAG608G 突变(G608G BAC 小鼠模型)。与 *Lmna*^{HG}小鼠模型不同,该转基因小鼠没有 HGPS 外部表型,但血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cells, VSMCs)渐进性丢失,在一些 HGPS 患者的尸检中也观察到这一特征。目前还不清楚为什么这个模型的表型局限于 VSMCs^[22]。

3.3 金属蛋白酶 ZMPSTE24 缺失型小鼠模型

ZMPSTE24 是一种在小鼠和人体内处理法尼基化 prelamin A 的金属蛋白酶。人体缺乏 ZMPSTE24 会导致限制性皮肤病(Restrictive dermopathy, RD)的发生,从而造成围产期死亡^[23]。Bergo 和 Pendas 等^[24-25]建立了 2 种 ZMPSTE24 缺失小鼠模型(*Zmpste24*^{-/-}小鼠模型),这 2 种小鼠模型都没有生成成熟的 lamin A,反而因为缺失 *Zmpste24* 而导致法尼基化 prelamin A 蓄积。在 Bergo 等^[24]构建的小鼠模型中,纯合子小鼠出生时表现是正常的,后来

出现异常,包括生长迟缓、脱发、肌无力、最显著的是多发性骨折。在 Pendás 等^[25]构建的小鼠模型中,纯合子小鼠表现出生长迟缓、DCM、肌营养不良、脂肪营养不良和过早死亡。这 2 个小鼠模型的表型都与 HGPS 患者的表型相似,提示 progerin A 法尼基化至少部分的影响了 HGPS 的表型。研究表明,法尼基化抑制剂(farnesyltransferase (FTase) inhibitors, FTIs)可以抑制 progerin 蓄积或 prelamin A 法尼基化,联合他汀类药物使用可以增加 HGPS 患者骨密度从而改善早老表型^[26-27]。

3.4 *Lmna*^{G609G}小鼠模型

早老小鼠模型中较为受到关注的是 Osorio 等^[28]构建的 *Lmna*^{G609G}小鼠模型,*Lmna*^{G609G/G609G}小鼠在出生至出生后 3 周生长速度减慢,体重进行性下降,不孕,姿势异常,脊柱后凸,平均 100 日龄时过早死亡。杂合子小鼠虽也出现过早死亡,但死亡率较低,大多数在出生后 8 个月前都是正常表型,平均生存时间为 242 d。杂合子小鼠出现血管硬化,与载脂蛋白 E 敲除(*Apoe*^{-/-})小鼠杂交出现动脉粥样硬化,主动脉钙化严重以及抑制血管钙化的能力受损^[29]。由于 *Lmna*^{G609G}小鼠模型出现了 HGPS 患者中观察到的大多数变化,该小鼠模型已经成为寻找 HGPS 患者治疗措施的首选模型。研究者利用了反义寡核苷酸、药物、饮食以及激活体内的重新编程等来治疗 *Lmna*^{G609G}小鼠^[30-31],最近,研究者利用 CRISPR-Cas9 技术靶向干扰 lamin A/Progerin 来治疗 HGPS,治疗后的 *Lmna*^{G609G}小鼠抑制了表皮变薄和真皮脂肪丢失、改善了姿势、体重以及主动脉弓 VSMCs 的退化。小鼠看起来更活跃、健康、以及生存期延长^[32]。

3.5 其他早老突变小鼠模型

Yang 等^[33]考虑到非法尼基化 progerin 有诱发疾病的可能性,因此构建了表达非法尼基化 progerin 小鼠模型(*Lmna*^{nHG}小鼠模型)。*Lmna*^{nHG}小鼠与 *Lmna*^{HG}小鼠表型相似但症状轻一些。*Lmna*^{nHG}小鼠胚胎成纤维细胞(mouse embryonic fibroblasts, MEFs)畸形细胞核百分率比 *Lmna*^{HG}小鼠低。FTIs 对 *Lmna*^{nHG}小鼠 MEFs 没有疗效。这些结果表明,非法尼基化 progerin 仍然是有毒性的,用 FTIs 阻断法尼基化并不能完全逆转 HGPS 患者的 progerin 诱导的表型。为了避免 progerin 在早期发育过程中潜在毒性,以及 progerin 对表皮角质形成细胞的影响,Mckenna 等^[34]构建了一个在 Tet 操纵子控制下表达 lamin A 和 progerin 的诱导系统。分别表达野生型

lamin A (tetop-LAwT 小鼠模型)和 HGPS G608G 突变体(tetop-LAG^{G608G}小鼠模型)。通过将 tetop-LAwT 和 tetop-LAG^{G608G}转基因小鼠与表达 K5iTA 转基因小鼠杂交,突变基因的表达定向到毛囊间表皮和毛囊的基底细胞。这些表达 progerin 的双转基因小鼠中,最终表现出皮下脂肪丢失、纤维化和皮脂腺发育不完全。其他值得注意的异常包括牙齿问题、脱发、生长迟缓和过早死亡。由于 HGPS 患者的皮肤受到严重影响,Wang 等^[35]构建了利用角蛋白 14 启动子(Keratin 14 promoter, K14 promoter)在表皮组织中表达 progerin 的转基因小鼠模型(K14-progerin 小鼠模型),K14-progerin 小鼠分离的原代角质形成细胞虽然具有异常的核形态,但仍有正常的毛发和伤口愈合能力。这些观察结果表明细胞异常与组织病理的严重程度并不一致。正如 Varga 等^[22]提出的一样,某些组织如横纹肌,细胞不断受到机械压力,可能对核结构异常更敏感,而其他组织如表皮,尽管核形状发生了改变,也能够继续发挥生理功能。最近研究发现,*LMNA* 基因 R527C 纯合突变会导致儿童早老症,但 *LMNA*R527C 基因突变导致的早老症患者细胞内并没有 prelamin A 和 progerin 蓄积^[36]。目前,*LMNA*R527C 基因突变导致的早老症致病机制尚不清楚。李东明等^[37]构建了一个 R527C 小鼠模型,观察 *Lmna*^{R527C/R527C}小鼠的表型,发现 *Lmna*^{R527C/R527C}小鼠未出现相关临床疾病的表型,但是小鼠皮肤组织 γ H2Ax 蛋白水平升高,成纤维细胞衰老数量百分比增加,DNA 损伤增加,基因组不稳定,衰老加速。这些结果表明细胞异常与组织病理的严重程度并不一致。

4 结语与展望

核纤层蛋白病类型复杂多样,引起人们的广泛关注,为了深入研究其分子机制,开发针对相应疾病的孤儿药,人们构建了多种种属的动物模型,比如斑马鱼^[38]、尤加坦小型猪^[39]、兔^[40]等,而小鼠模型的构建尤为众多,本文概述了文献报道的主要核纤层蛋白病小鼠模型(见表 1、表 2、表 3)。考虑到物种间高度保守的基因组维持机制,核纤层蛋白病小鼠模型可以作为一个有价值的模型来研究个体和细胞衰老过程中代谢途径的改变和可能的治疗策略,以进一步提升我们对正常生理性衰老过程的认识,也有助于了解与衰老相关的慢性和退行性疾病(阿尔茨海默病、帕金森病、动脉粥样硬化、糖尿病和癌症等)的病理特征。

表 1 LMNA 基因/片段缺失突变小鼠模型

Table 1 Mouse models with LMNA gene or fragment deletion mutation

模型 Model	突变位点 Mutable site	纯合子小鼠表型 Homozygous mouse phenotype	杂合子小鼠表型 Heterozygous mouse phenotype	人类疾病 Human disease	参考文献 References
Lmna ^{-/-}	删除 C 末端区域自外显子 8 到外显子 11 的前半部分 Removing a region extending from exon 8 to the middle of exon 11	生长速度迟缓,肌营养不良,EDMD 样表型 Slow growth rate. Muscular dystrophy. An EDMD-like phenotype	左心室扩张,心室壁变薄,心功能障碍,心肌细胞损伤 Left ventricular dilation. Ventricular wall thinning. Cardiac dysfunction. Myocardial cell damage	肢带型肌营养不良症 LGMD	[5-6]
Lmna ^{GT/-}	启动子陷阱结构插入内含子 2 中,产生 LMNA-βgeo 融合等位基因 By a promoter-trap construct, which introduces an in-frame LMNA-βgeo fusion allele. The construct was inserted into LMNA intron 2	心脏肥大导致心功能衰竭,骨骼肌营养不良 Myocyte hypertrophy leads to heart failure. Skeletal muscle hypotrophy	无明显异常 No obvious abnormalities	/	[7]
LAO	仅产生 lamin A Only lamin A is produced	无明显异常 No obvious abnormalities	无明显异常 No obvious abnormalities	/	[10]
PLAO	仅产生 prelamin A Only lamin A is produced	无明显异常 No obvious abnormalities	无描述 No description	/	[10]
LCO	删除外显子 11 最后 150 个核苷酸和内含子 11 The last 150 nucleotides of exon 11 and intron 11 were deleted	无明显异常 No obvious abnormalities	无描述 No description	/	[11]

表 2 LMNA 基因错义突变小鼠模型

Table 2 Mouse models with LMNA gene missense mutation

模型 Model	突变位点 Mutable site	纯合子小鼠表型 Homozygous mouse phenotype	杂合子小鼠表型 Heterozygous mouse phenotype	人类疾病 Human disease	参考文献 References
N195K	外显子 3 的 c.585C>T (p. Asn195Lys) Exon 3, c.585C>T (p. Asn195Lys)	轻度生长迟缓,心肌纤维化,传导系统缺陷,生存期缩短 Minor growth retardation. Myocardial fibrosis. Conduction defects. Lifetime of the mouse decrease	无明显异常 No obvious abnormalities	家族性扩张型心肌病伴传导系统疾病 DCM-CD1	[12]
H222P	外显子 4 的 c.665 A>C (p. His222Pro) Exon 4, c.665 A>C (p. His222Pro)	生长迟缓,体重减轻,心功能不全,骨骼肌和心肌营养不良 Growth retardation. Weight loss. Cardiac dysfunction. Skeletal and myocardial dystrophy	无明显异常 No obvious abnormalities	常染色体遗传病埃-德型肌营养不良 AD-EDMD	[13]
M371 K	外显子 6 的 c.1112T>A (p. Met371Lys) Exon 6, c.1112T>A (p. Met371Lys)	无描述 No description	出生率降低,生存期缩短(2-7 周),急性或亚急性心脏损伤 Birth rate decreased. Survival time shortened (2-7 weeks). Acute or subacute heart injury	常染色体遗传病埃-德型肌营养不良 AD-EDMD	[17]
L530P	外显子 9 的 c.1589T>C (p. Leu530Pro) Exon 9, c.1589T>C (p. Leu530Pro)	HGPS 样表型,生长迟缓,发育不全 An HGPS-like phenotype. Growth retardation. Hypoplasia	无明显异常 No obvious abnormalities	常染色体遗传病埃-德型肌营养不良 AD-EDMD	[18]
E82 K	外显子 1 的 c.244G>A (p. Glu82Lys) Exon 1, c.244G>A (p. Glu82Lys)	无描述 No description	心腔扩张,心脏重量增加,心肌纤维化,DCM 样表型 Chamber dilation, increased heart weights, increased fibrosis, an DCM-like phenotype	扩张型心肌病 DCM	[19]

表 3 LMNA 基因早老突变小鼠模型
Table 3 Mouse models with LMNA gene progeroid mutation

模型 Model	突变位点 Mutable site	纯合子小鼠表型 Homozygous mouse phenotype	杂合子小鼠表型 Heterozygous mouse phenotype	人类疾病 Human disease	参考文献 References
<i>Lmna</i> ^{HG}	删除内含子 10、11 和外显子 11 最后 150 个核苷酸 Deleting intron 10, intron 11, and the last 150 nt of exon 11 of <i>Lmna</i>	生长迟缓,皮下脂肪减少,脱发,骨质疏松症,4 周死亡 Growth retardation. Subcutaneous adipose tissue decreased. Osteoporosis. 4 weeks of death	生长迟缓,皮下脂肪减少,脱发,骨骼疾病 Growth retardation. Loss of hypodermal adipocytes. Osteoporosis, bone diseases	早老症 HGPS	[20]
G608G BAC	携带 LMNAG608G 突变的 BAC BAC carrying LMNAG608G mutation	无描述 No description	无外部表型,VSMCs 渐进性丢失,动脉钙化,细胞外基质沉积 No external phenotype. Progressive loss of VSMCs. Aortic calcification. extracellular matrix deposition	早老症 HGPS	[22]
Tetop-LAG ^{608G}	Tet 操纵子控制下表达 lamin A 和 progerin 的诱导系统 Induction system of lamin A and progerin expression under the control of Tet operon	无描述 No description	生长迟缓,牙齿异常,大量皮肤异常 Growth retardation. Abnormal incisors. A lot of skin abnormalities	早老症 HGPS	[34]
K14-progerin	K14 启动子控制下编码 progerin Coding progerin in epidermis under control of a keratin 14 promoter	无描述 No description	角质形成细胞的核形态异常,毛发生长和伤口愈合能力正常 Morphology of skin keratinocyte nuclei abnormalities. Hair growth and wound healing were normal	早老症 HGPS	[35]
Zmpste24 ^{-/-}	ZMPSTE24 缺失 ZMPSTE24 deficiency	严重的生长迟缓,骨密度降低,伴有自发性骨折,肌无力,脊柱后凸,脱发,下颌骨和牙齿畸形,6-7 月龄死亡 Severe growth retardation. Decreased bone mineral density. Spontaneous bone fractures. Muscle weakness. kyphosis of the spine. Lose hair. Tooth deformity. Death occurred at the age of 6 - 7 months	前 12 月龄生长发育正常,在 15 月龄时开始生长迟缓,肌无力,脱发 The growth and development were normal in the first 12 months, and the growth retardation, muscle weakness and hair loss began at 15 months old	限制性皮肤病 早老症 RD、HGPS	[24]
Zmpste24 ^{-/-}	ZMPSTE24 缺失 ZMPSTE24 deficiency	生长迟缓,过早死亡, HGPS 样表型 Growth retardation. Early death. An HGPS-like phenotype	无明显异常 No obvious abnormalities	限制性皮肤病 早老症 RD、HGPS	[25]
<i>Lmna</i> ^{nHG}	删除内含子 10、11 和外显子 11 最后 150 个核苷酸,外显子 12 点突变 Deleting intron 10, intron 11, and the last 150 bp of exon 11 and introducing a point mutation in exon 12	皮下脂肪减少,体重减轻,肋骨骨折,17 周死亡 Subcutaneous fat loss. Weight loss. Rib fracture. 17 weeks of death	生长相对正常,体脂增多,与 <i>Lmna</i> ^{HG/+} 小鼠相比,肋骨骨折减少,36 周死亡 The growth was relatively normal, more body fat, compared with <i>Lmna</i> ^{HG/+} mice, there were fewer rib fractures and 36 weeks of death	/	[33]

模型 Model	突变位点 Mutable site	纯合子小鼠表型 Homozygous mouse phenotype	杂合子小鼠表型 Heterozygous mouse phenotype	人类疾病 Human disease	参考文献 References
Lmna ^{G609G}	LMNA 基因点突变 (c1827C>T, p.G609G)	3 周后生长速度减缓, 体重减轻, 体位异常, 脊柱明显弯曲, 100 天左右死亡	HGPS 样表型, 平均死亡时间 242 天	早老症 HGPS	[28-29]
	Missense mutation in LMNA gene (c1827C>T, p.G609G)	After 3 weeks, the growth rate slowed down, the weight was reduced, the posture was abnormal, the spine was obviously bent, and the patient died about 100 days	An HGPS-like phenotype. Death occurred at an average of 242 days		
R527C	LMNA 基因点突变 (c1579C>T, p.R527C)	无外部表型, 皮肤组织 γ H2Ax 蛋白水平升高, 成纤维细胞衰老	无明显异常	早老症 HGPS	[37]
	Missense mutation in LMNA gene (c1579C>T, p.R527C)	No external phenotype, the level of γ H2Ax protein in skin tissue increased and fibroblasts aged	No obvious abnormalities		

参考文献:

[1] de Leeuw R, Gruenbaum Y, Medalia O. Nuclear lamins: thin filaments with major functions [J]. Trends in cell biol, 2018, 28 (1): 34-45.

[2] Brady GF, Kwan R, Bragazzi Cunha J, et al. Lamins and lamin-associated proteins in gastrointestinal health and disease [J]. Gastroenterology, 2018, 154(6): 1602-1619.

[3] Briand N, Collas P. Lamina-associated domains: peripheral matters and internal affairs [J]. Genome biol, 2020, 21 (1): 85.

[4] Kubben N, Misteli T. Shared molecular and cellular mechanisms of premature ageing and ageing-associated diseases [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2017, 18(10): 595-609.

[5] Sullivan T, Escalante-Alcalde D, Bhatt H, et al. Loss of A-type lamin expression compromises nuclear envelope integrity leading to muscular dystrophy [J]. J Cell Biol, 1999, 147(5): 913-920.

[6] Cho KW, Lee J, Kim Y. Genetic Variations Leading to Familial Dilated Cardiomyopathy [J]. Mol Cells, 2016, 39(10): 722-727.

[7] Kubben N, Voncken JW, Konings G, et al. Post-natal myogenic and adipogenic developmental: defects and metabolic impairment upon loss of A-type lamins [J]. Nucleus, 2011, 2(3): 195-207.

[8] Earle AJ, Kirby TJ, Fedorchak GR, et al. Mutant lamins cause nuclear envelope rupture and DNA damage in skeletal muscle cells [J]. Nat Mater, 2020, 19(4): 464-473.

[9] Lee JY, Kennedy BK, Liao CY. Mechanistic target of rapamycin signaling in mouse models of accelerated aging [J]. J Gerontol A Biol Sci Med Sci, 2020, 75(1): 64-72.

[10] Coffinier C, Jung HJ, Li Z, et al. Direct synthesis of lamin A, bypassing prelamin a processing, causes misshapen nuclei in fibroblasts but no detectable pathology in mice [J]. J Biol Chem, 2010, 285(27): 20818-20826.

[11] Fong LG, Ng JK, Lammerding J, et al. Prelamin A and lamin A appear to be dispensable in the nuclear lamina [J]. J Clin Invest, 2006, 116(3): 743-752.

[12] Mounkes LC, Kozlov SV, Rottman JN, et al. Expression of an LMNA-N195K variant of A-type lamins results in cardiac conduction defects and death in mice [J]. Hum Mol Genet, 2005, 14(15): 2167-2180.

[13] Arimura T, Helbling-Leclerc A, Massart C, et al. Mouse model carrying H222P-Lmna mutation develops muscular dystrophy and dilated cardiomyopathy similar to human striated muscle laminopathies [J]. Hum Mol Genet, 2005, 14(1): 155-169.

[14] Markandeya YS, Tsubouchi T, Hacker TA, et al. Inhibition of late sodium current attenuates ionic arrhythmia mechanism in ventricular myocytes expressing LaminA-N195K mutation [J]. Heart Rhythm, 2016, 13(11): 2228-2236.

[15] Le Dour C, Macquart C, Sera F, et al. Decreased WNT/ β -catenin signalling contributes to the pathogenesis of dilated cardiomyopathy caused by mutations in the lamin a/C gene [J]. Hum Mol Genet, 2017, 26(2): 333-343.

[16] Macquart C, Jüttner R, Morales Rodriguez B, et al. Microtubule cytoskeleton regulates Connexin 43 localization and cardiac conduction in cardiomyopathy caused by mutation in A-type lamins gene [J]. Hum Mol Genet, 2019, 28(24): 4043-4052.

[17] Wang Y, Herron AJ, Worman HJ. Pathology and nuclear abnormalities in hearts of transgenic mice expressing M371K lamin A encoded by an LMNA mutation causing Emery-Dreifuss muscular dystrophy [J]. Hum Mol Genet, 2006, 15(16): 2479-2489.

[18] Mounkes LC, Kozlov S, Hernandez L, et al. A progeroid syndrome in mice is caused by defects in A-type lamins [J]. Nature, 2003, 423(6937): 298-301.

[19] 吕丹, 陈炜, 冯娟, 等. 心脏特异表达 LMNA~(E82K) 转基因小鼠的建立 [J]. 中国比较医学杂志, 2009, 19(10): 15-18, 封 2.

- [20] Yang SH, Bergo MO, Toth JJ, et al. Blocking protein farnesyltransferase improves nuclear blebbing in mouse fibroblasts with a targeted Hutchinson-Gilford progeria syndrome mutation [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2005, 102(29): 10291–10296.
- [21] Mounkes L, Kozlov S, Burke B, et al. The laminopathies: nuclear structure meets disease [J]. *Curr Opin Genet Dev*, 2003, 13(3): 223–230.
- [22] Varga R, Eriksson M, Erdos MR, et al. Progressive vascular smooth muscle cell defects in a mouse model of Hutchinson-Gilford progeria syndrome [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2006, 103(9): 3250–3255.
- [23] Capell BC, Collins FS. Human laminopathies: nuclei gone genetically awry [J]. *Nat Rev Genet*, 2006, 7(12): 940–952.
- [24] Bergo MO, Gavino B, Ross J, et al. *Zmpste24* deficiency in mice causes spontaneous bone fractures, muscle weakness, and a prelamin A processing defect [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2002, 99(20): 13049–13054.
- [25] Pendás AM, Zhou Z, Cadiñanos J, et al. Defective prelamin A processing and muscular and adipocyte alterations in *Zmpste24* metalloproteinase-deficient mice [J]. *Nat Genet*, 2002, 31(1): 94–99.
- [26] Gordon LB, Kleinman ME, Massaro J, et al. Clinical trial of the protein farnesylation inhibitors lonafarnib, pravastatin, and zoledronic acid in children with hutchinson-gilford progeria syndrome [J]. *Circulation*, 2016, 134(2): 114–125.
- [27] Worman HJ, Michaelis S. Permanently farnesylated prelamin A, progeria, and atherosclerosis [J]. *Circulation*, 2018, 138(3): 283–286.
- [28] Osorio FG, Navarro CL, Cadiñanos J, et al. Splicing-directed therapy in a new mouse model of human accelerated aging [J]. *Sci Transl Med*, 2011, 3(106): 106ra107.
- [29] Zaghini A, Sarli G, Barboni C, et al. Long term breeding of the *Lmna* G609G progeric mouse: Characterization of homozygous and heterozygous models [J]. *Exp Gerontol*, 2020, 130: 110784.
- [30] Bárcena C, Quirós PM, Durand S, et al. Methionine restriction extends lifespan in progeroid mice and alters lipid and bile acid metabolism [J]. *Cell Rep*, 2018, 24(9): 2392–2403.
- [31] Kreienkamp R, Billon C, Bedia-Diaz G, et al. Doubled lifespan and patient-like pathologies in progeria mice fed high-fat diet [J]. *Aging cell*, 2019, 18(1): e12852.
- [32] Beyret E, Liao HK, Yamamoto M, et al. Single-dose CRISPR-Cas9 therapy extends lifespan of mice with Hutchinson-Gilford progeria syndrome [J]. *Nature medicine*, 2019, 25(3): 419–422.
- [33] Yang SH, Andres DA, Spielmann HP, et al. Progerin elicits disease phenotypes of progeria in mice whether or not it is farnesylated [J]. *J Clin Invest*, 2008, 118(10): 3291–3300.
- [34] McKenna T, Rosengarten Y, Viceconte N, et al. Embryonic expression of the common progeroid lamin A splice mutation arrests postnatal skin development [J]. *Aging cell*, 2014, 13(2): 292–302.
- [35] Wang Y, Panteleyev AA, Owens DM, et al. Epidermal expression of the truncated prelamin A causing Hutchinson-Gilford progeria syndrome: effects on keratinocytes, hair and skin [J]. *Hum Mol Genet*, 2008, 17(15): 2357–2369.
- [36] 覃霞, 罗彦彦, 袁广之, 等. 一个儿童早老症家系临床特征分析和致病基因研究 [J]. *中华皮肤科杂志*, 2015, 48(3): 184–186.
- [37] 李东明, 刘恒, 朱兰玉, 等. *LMNA*R527C 基因突变纯合型小鼠表型及其组织、细胞衰老相关蛋白表达观察 [J]. *山东医药*, 2019, 59(33): 5–9.
- [38] 刘丰, 黄慧敏, 王志华, 等. 利用吗啉代寡核苷酸技术下调早期斑马鱼胚胎 *lmna* 基因的初步研究 [J]. *中国比较医学杂志*, 2016, 26(8): 85–90.
- [39] Dorado B, Pløen GG, Baretino A, et al. Generation and characterization of a novel knockin minipig model of Hutchinson-Gilford progeria syndrome [J]. *Cell Discov*, 2019, 5: 16.
- [40] Sui T, Liu D, Liu T, et al. *LMNA*-mutated rabbits: A model of premature aging syndrome with muscular dystrophy and dilated cardiomyopathy [J]. *Aging Dis*, 2019, 10(1): 102–115.

[收稿日期]2020-04-01