

唐文洁,黄艳,王力峰,等. 亨廷顿氏病的神经兴奋和线粒体毒性发病机理与动物模型 [J]. 中国实验动物学报, 2021, 29(4): 553–562.

Tang WJ, Huang Y, Wang LF, et al. Excitotoxicity and mitochondrial pathogenesis and animal models of Huntington's disease [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2021, 29(4): 553–562.

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2021.04.018

亨廷顿氏病的神经兴奋和线粒体毒性发病机理与动物模型

唐文洁¹,黄艳²,王力峰³,魏佑震^{1*},谢元云^{3*}

(1. 同济大学附属东方医院转化医学研究中心,教育部心律失常重点实验室,上海 200120; 2. 山东大学齐鲁儿童医院康复科,济南 250022; 3. 赣南医学院附属第一医院国家老年病临床研究中心,江西 赣州 341000)

【摘要】 亨廷顿氏病(Huntington's disease,HD)作为一种显性遗传性神经退行疾病,表现为运动、智力、心理功能障碍。目前尚无有效的治疗或预防措施;针对各种HD症状的药物和控制措施效果不理想。1993年确认HD发病是由于HD基因(*HTT*)中CAG序列重复扩增超过36次或以上,翻译为突变的多聚谷氨酰胺,引起兴奋性神经毒性和线粒体能量代谢异常等,导致大脑皮质和基底核神经退行性变和功能障碍。为更全面认识HD发病机理、研究兴奋性神经毒性和线粒体能量代谢异常所致的脑组织及神经元损伤分子机制,研发相应的治疗性药物及方案,了解并掌控相应的动物模型十分重要。本文将介绍以HD组织病理学以及生物化学为发病机制而建立的HD动物模型,即兴奋性神经毒性模型和线粒体毒素模型。

【关键词】 亨廷顿氏病;动物模型;神经元;线粒体;兴奋性氨基酸

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2021) 04-0553-10

Excitotoxicity and mitochondrial pathogenesis and animal models of Huntington's disease

TANG Wenjie¹, HUANG Yan², WANG Lifeng³, WEI Youzhen^{1*}, XIE Yuanyun^{3*}

(1. Research Center for Translational Medicine & Key Laboratory of Arrhythmias of the Ministry of Education of China, Shanghai East Hospital, Tongji University School of Medicine, Shanghai 200120, China. 2. Rehabilitation Center, Qilu Children's Hospital, Shandong University, Jinan 250022. 3. National Clinic and Medicine Research Institute for Geriatric Diseases, the First Affiliated Hospital, Gannan University of Medical Sciences, Ganzhou 341000)

Corresponding author: WEI Youzhen. E-mail: wei-youzhen@163.com; XIE Yuanyun. E-mail: yy_xie@hotmail.com

【Abstract】 Huntington's disease (HD) is an inherited autosomal dominant and progressive neurodegenerative disease with locomotor, cognitive, and psychiatric functional deficits. Currently, there is no cure for HD, and the clinical benefit is greatly limited for some treatments available for controlling HD symptoms. In 1993, it was discovered that HD is caused by a single Huntingtin gene (*HTT*) mutation with 36 CAG repeats and or more, which translates to a mutated polyglutamine. Resulting in neuronal excitotoxicity and abnormal mitochondrial energy metabolism, and eventually neurodegeneration in the cerebral cortex and basal nuclei. To better understand the pathogenesis mechanisms of HD and explore therapeutic interventions, it is important to create HD animal models. In this review, we will introduce HD animal

【作者简介】唐文洁(1972—),女,副研究员,研究方向:心血管、神经系统相关疾病动物模型制备和药物治疗。
Email:1701927@tongji.edu.cn

【通信作者】魏佑震(1964—),男,教授,硕士,研究方向:神经损伤与修复、氢气医学。Email:wei-youzhen@163.com;
谢元云(1966—),男,教授,博士,研究方向:神经保护,脑衰老和神经退行性疾病治疗。Email:yy_xie@hotmail.com。

* 共同通信作者

models based on neuropathology, and explore the molecular biology of HD such as neural excitotoxicity and mitochondrial toxicity.

[Keywords] Huntington's disease; animal models; neurons; mitochondria; excitatory amino acid

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

亨廷顿氏病(Huntington's disease, HD)是一种常染色体显性遗传神经退行性疾病,主要临床表现为运动、智力、心理功能障碍^[1]。其主要的病理变化表现在大脑基底核的纹状体,以纹状体传出型棘状神经元的大量缺失为著,可以累积更广泛脑区甚至皮质。纹状体属于锥体外系,当大量神经元丢失时,肢体运动功能受限,出现症状。流行病学调查表明,全世界 HD 的平均发病率为 5/100 000 ~ 8/100 000,以欧美和非洲裔发病率最高,呈逐年增高趋势。美国 HD 的发病率为 4.1/100 000 ~ 8.4/100 000,美国现有约 3 万 HD 患者,其 HD 基因携带者(自身或后代可能发病)有 15 万人。亚洲尤其东亚裔 HD 发病率较低,发病率约为 0.42/100 000,说明 HD 发病有种族差异^[2-3]。HD 是致命的,最常见 HD 的发病年龄为 30 岁 ~ 40 岁^[4],患者发病后存活时间约 10 年 ~ 15 年,发病后期患者生活不能自理,给家庭和社会带来巨大护理及经济负担。至今临床上对 HD 尚无有效的治疗或预防措施,针对各种 HD 症状的药物和控制措施效果不理想,甚至由于药物毒副作用太大而不得不终止治疗。为更全面认识 HD 发病机理、研究兴奋性神经毒性和线粒体能量代谢异常所致的脑组织及神经元损伤分子机制,研发相应的治疗性药物及方案,了解并掌控相应的动物模型十分重要。本文综述介绍以 HD 组织病理学及生物化学为发病机制而建立的 HD 动物模型,即兴奋性神经毒性模型和线粒体毒素模型。

1 兴奋性神经毒素喹啉酸(quinolinic acid, QA)诱导的 HD 动物模型(QA 模型)

1.1 造模机制

QA 兴奋性神经毒性机制研究得比较清楚^[5-11](图 1),QA 是体内犬尿氨酸(Kynurenine)代谢产物之一。通过食物被摄入的色氨酸(tryptophan)在体内一些中性氨基酸载体的协助下,通过血脑屏障抵达脑组织,被脑组织的星形胶质细胞、小胶质细胞等吸收,经细胞内色氨酸双加氧化酶(tryptophan dioxygenase)催化转化成犬尿氨酸,后者在羟基黄烷酸酶(3-hydroxyanthranitic acid)催化下分解成 QA 和

其它代谢产物。正常生理代谢水平的 QA 并不会造成细胞毒性;然而超出生理水平,即便少量增高的 QA 将引起细胞毒性和死亡。Tatter 等^[12]的研究发现 QA 可以增加动物纹状体变异亨廷顿蛋白(mutant Huntingtin, mHTT)水平,而正常亨廷顿蛋白对 QA 引起的细胞损伤有保护作用^[13]。这些研究结果支持异常脑内 QA 水平增高与 HD 的相关性。

研究发现 HD 在包括基因转录、细胞转运和蛋白质降解等方面显示细胞功能异常^[14-15]。但在此之前,兴奋性毒性的 HD 发病机制,即通过谷氨酸受体过量信号传导引起的神经损伤,得到了大量研究结果支持。首先提出兴奋性神经毒性在 HD 发病机制中的作用,是通过对啮齿类动物纹状体内,注射两种犬尿氨酸内源性代谢产物 QA 或红藻氨酸(kainic acid, KA),可以诱导许多类似 HD 样神经化学和组织病理学特征^[16-20]以及 HD 样的行为缺陷^[21-23]。后来通过研究更多 HD 患者和动物模型发现:兴奋性传导通路 NMDA 和 mGluR5 受体信号传导异常,以及线粒体膜钙离子通道激活和钙内流失调。因此,HD 是 mHTT 引起的多因素导致兴奋性谷氨酸受体活性增高和钙信号传导失衡所致^[24-25]。

兴奋性神经毒性作为 HD 关键致病因素的进一步证据,来自于检测犬尿氨酸内源性的代谢途径产物。N-甲基-D-天门冬氨酸(NMDA)受体激动剂 QA 在 YAC128 小鼠纹状体和大脑皮质明显增加。此外,另外一种犬尿氨酸代谢产物 3-羟基犬尿氨酸(3-HK),已知可增强 QA 介导的兴奋性毒性,也在 YAC128 小鼠的大脑皮层和纹状体升高^[26]。在早期 HD 患者大脑皮质和新纹状体也发现类似的 QA 和 3-HK 含量升高^[27];并且这种增高的量和疾病严重程度相关^[28-29]。QA 和 3-HK 在介导兴奋性神经毒性方面作用以及 HD 患者和 YAC128 小鼠脑组织内源性代谢水平增高,支持 HD 兴奋性神经毒性的发病机制。

1.2 造模方法

1.2.1 啮齿类动物大(小)鼠脑纹状体(尾状核)内注射 QA 模型

大鼠 QA 造模方法^[30]如下:体重 180 ~ 200 g

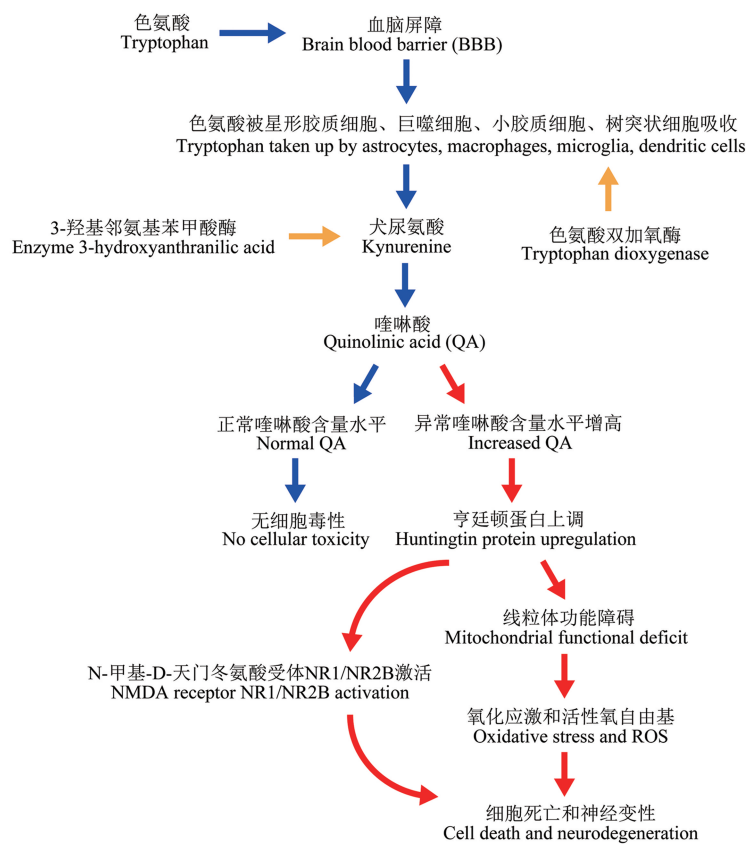


图 1 QA 兴奋性毒性机制示意图

Figure 1 Schematic diagram of QA excitotoxicity mechanism

的 Wistar 大鼠,经腹腔注射硫喷妥钠 30 mg/kg 诱导麻醉。大鼠对趾压刺激失去反应并呼吸和心跳平稳后,头颅立体定位:将头部俯卧固定于立体定位仪上,调整定位仪左右耳杆和齿杆高度,使大鼠头顶部位水平。麻醉后动物腹部放置加热垫以维持动物正常体温摄氏 37℃左右,再给动物眼球涂干净润滑剂以确保眼球湿润和保护眼角膜。将手术部位(约 1 cm²)毛发剃净,先涂碘伏后涂 70%乙醇,共 3 次,然后皮下注射布比卡因 50 μL 局部麻醉。

用手术刀沿头顶正中中线切开皮肤,尽量往外侧分开以暴露顶颅骨。确认 Bregma 以及颅顶前后左右侧在同一水平高度。从前至 Bregma -0.6 mm,从外侧至 Bregma 2.6 mm,从硬脊膜至腹侧深 4.5 mm。用医用牙钻在注射点颅骨钻小孔后,用 2 μL Hamilton 微量注射针(30 Gauge)将 0.5 μL 300 mmol/L QA 生理盐水(pH=7.4)于 4 min 内缓慢注射完。1 min 后,小心缓慢地将注射针提升移开。确保没有活动性出血后,缝合手术切口,用生理盐水清洗创面,皮下注射叔丁啡止痛,将动物转移到苏醒处继续保温观察,直到动物术后麻醉完全苏醒

恢复活动后,归鼠笼正常饲养。

小鼠 QA 造模方法和大鼠 QA 造模基本相同^[31]。选用体重 25 ~ 30 g 的成年小鼠,包括 C57BL/6、C57BL/10 和 FVB/N 等不同种系小鼠,并且使用小鼠立体定位仪按成年小鼠大脑立体定位注射参数,即从前至 Bregma 0.3 mm,从外侧至 Bregma 1 mm,从顶部至腹部深 2.5 mm,给药剂量体重比同大鼠。

1.2.2 非人类灵长类动物(狨猴)脑内注射 QA 模型

QA 造模方法^[32]为:2 ~ 3 岁狨猴,雌雄皆可,先经腹腔注射氯胺酮 0.05 mL(Vetalar, Parke Drive Veterinary),然后使用 Saffan(安泰酮:成分二羟孕烷二酮和羟-5α-孕烷二酮)(0.1 mL/100 g, Pitman-Moore, UK)诱导麻醉。观察动物麻醉至手术水平,呼吸和心跳平稳后,将其头部俯卧固定于猴脑立体定位仪上,调整定位仪左右耳杆和齿杆高度,使头顶部位水平。其余与大鼠准备相同。

用手术刀沿头顶正中中线切开皮肤,往两侧分开以暴露头顶颅骨。确认 Bregma 以及颅顶前后左右

侧在同一水平高度。按 Bregma 位置用立体定位仪分别标定尾状核和壳核注射点位置,立体定位注射点位置参数可参考 Kendall 等^[32]的方法。在注射点颅骨钻小孔后,用 2 μ L Hamilton 微量注射针(30 Gauge)将 0.15 ~ 0.25 μ L 0.1 mol/L QA 生理盐水(pH = 7.4)按 0.1 μ L/min 速度缓慢注射完。留针 1 min 后,小心缓慢地将注射针提升移开。确保没有活动出血后,缝合手术切口,生理盐水清洗创面,皮下注射安定(Valium, Roche, 5 mg/mL) 0.05 ~ 0.2 mL,以控制手术后抽搐,将动物转移到避光处,直到动物术后麻醉完全苏醒,恢复活动后,回归笼养。

1.3 模型评估主要指标

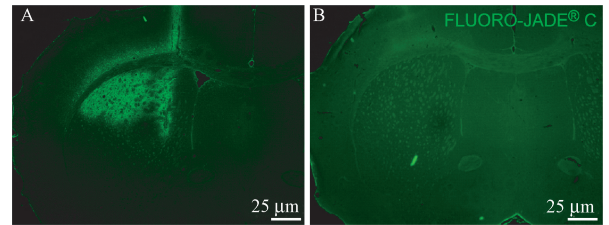
1.3.1 兴奋性毒性造成的行为学改变

由于 QA 的急性兴奋性神经毒性作用,通常动物被注射 QA 麻醉苏醒后,立刻呈现神经损伤症状。单侧纹状体注射 QA,动物将出现躁狂、跳跃、步态不稳及不对称的单向循转或跑动等。这种非对称性运动是单侧纹状体受损引起多巴胺信号传导通路左右不平衡所致。QA 诱导的这种异常活跃不稳定行为和 HD 患者早期运动功能障碍相似。术后 0.5 ~ 1 h 内,这种异常的行为将缓慢地减少,动物逐渐趋于稳定,并且出现明显活动减少,和 HD 晚期患者症状相似。Morris 水迷宫、放射臂水迷宫、T 型水迷宫等测试结果表明 QA 神经毒性损伤了动物的认知功能。这些行为测试评估的动物工作和参考记忆,需要皮质纹状体通路的参与才能完成^[22,24-25,33]。Rotarod 平衡运动测试也经常用于检测受损伤动物的运动和学习功能,和对照组相比,QA 损伤动物在 Rotarod 转轴上掉落次数增加和停留时间减少,表明 QA 损伤了动物的学习和运动技能。被动游泳实验用以观察动物在一个玻璃圆柱体内游泳行为,纹状体受伤动物在水面漂浮不动时间明显长于对照动物,说明 QA 损伤导致动物降低了求生欲望。

1.3.2 兴奋性毒性造成的神经组织损伤

纹状体注射 QA 后 7 d 左右,动物麻醉后经心灌注 4%多聚甲醛,取脑,30%蔗糖 PB 浸透,恒冷切片,25 ~ 30 μ m,FLUORO-JADE[®] C 组织化学染色。和对照动物相比,QA 引起动物受损纹状体组织显著绿色荧光显色(图 2)。QA 兴奋性神经毒性引起的神经细胞死亡,包括细胞坏死和凋亡,与 HD 神经细胞死亡机制相似^[17]。QA 损伤导致与 HD 患者脑组织相似的选择性神经损伤和病理改变,比如

GABAergic,脑啡肽和 P 物质免疫染色阳性神经元显著减少,这与青少年发病 HD 的脑神经元丢失相似;相反,有些神经元比如胆碱乙酰转移酶免疫阳性染色神经元则相对不受影响^[34]。



注:A:QA 损伤组;B:正常对照组。

图 2 纹状体 FLUORO-JADE[®] C 组织化学染色

Note. A. Group QA. B. Control group.

Figure 2 FLUORO-JADE[®] C Histochemical Staining of Striatum

1.4 模型特点

QA 通不过血脑屏障,因此 QA 诱导的兴奋性神经毒性模型必须脑内给药,一般是通过脑立体定位手术在纹状体给药。尽管如此,建立本模型的手术步骤比较简单,一般实验室条件下可以完成。该模型重复性较好,稳定性和可靠性高。QA 是一种常用而且容易取得的化学试剂,经济适用;可应用于多种实验动物,包括啮齿类小鼠和灵长类动物比如猴等。根据实验要求和目的不同,QA 可以注射到单侧或双侧纹状体,也可以注射不同 QA 的量,以控制损伤的范围和严重程度,操作灵活。最后,该模型的检测和评估也比较简单,可以进行组织病理学和行为学检测等。

QA 兴奋性神经毒性引起的神经病理学和行为学改变都是急性的,这和 HD 的渐进性和慢性发病不同;HD 是一种遗传性神经退行性疾病,而 QA 兴奋性神经毒性引起的急性神经损伤没有任何遗传和其它因素参与;与 HD 不同,QA 不会诱导 mHTT 聚集体形成;HD 病程长以及发病早期和晚期临床表现通常不同,这与 QA 兴奋性神经毒性导致纹状体损伤后出现的症状也不同。这是在选择这类动物模型模拟 HD 时需要考虑的。

1.5 模型应用

兴奋性神经毒性导致的脑神经损伤,是最早提出的 HD 发病机制。QA 模型已经被广泛研究和特别应用于寻找 HD 的治疗措施^[35-36]。由于 QA 产生明显和可以预测的神经元死亡,QA 模型经常被用来检测一些神经保护作用的药物和评估 HD 治疗效果。Emerich 等^[37]利用双侧纹状体注射 QA 的大鼠

模型测试经过基因改造的睫神经营养因子(ciliary neurotrophic factor, CNTF),发现 CNTF 可以预防纹状体的细胞丢失以及减少大脑皮质萎缩等。通过 QA 模型,研究也发现其它几种神经营养因子比如脑源性神经营养因子(brain derived neurotrophic factor, BDNF) 和胶质细胞系衍生的神经营养因子(glial cell-derived neurotrophic factor, GDNF),可以保护 HD 动物模型受损的纹状体神经元^[38-40]。神经元过兴奋毒性损伤是神经元跨突触死亡的一种形式,QA 引起神经元损伤模型具有神经元损伤及保护、修复研究的普适性。可以用于研究神经元过兴奋毒性损伤机制以及相应神经修复保护类药物的研发^[35-36,38-39]。

2 线粒体毒素 3-硝基丙酸 (3-nitropropionic acid, 3-NP) 诱导的 HD 动物模型 (3-NP 模型)

2.1 造模机制

基于线粒体功能受损和能量代谢紊乱学说,使用线粒体毒素诱导急性线粒体受损和能量代谢紊乱引起纹状体病变^[5,7-8,41-44],而建立 HD 模型(见图 3)。这类神经毒素包括线粒体抑制剂,例如丙二酸

和 3-NP,造成靶向电子传递链的复合物降低 ATP 水平并导致细胞能量损耗^[45-46]。降低的 ATP 水平,导致细胞和线粒体部分膜去极化,减弱电压依赖性 Mg^{2+} 阻断 NMDA 受体,引起纹状体 NMDA 受体依赖性的继发兴奋性毒性损伤^[47-48]。这些线粒体毒素,已经被广泛用于啮齿类和灵长类动物以建立 HD 模型和相关研究^[45,48-58]。

过度激活线粒体使其膜渗透性改变,引起钙通道失调和释放凋亡因子,引起钙离子内流异常增高,最终导致神经退行性病变和功能障碍。研究显示线粒体参与 HD 的发病,是通过降低葡萄糖利用,导致神经元能量代谢受损和脑组织乳酸浓度增高,引起尾状核和壳核中发生大量神经元受损丢失^[59-61]。类似的能量代谢缺陷也在 HD 患者的大脑皮质和肌肉组织中观察到^[62]。其它研究观察 HD 患者死后大脑,发现有选择性的纹状体和周围组织性线粒体功能缺陷^[63-68]。动物实验进一步支持线粒体参与 HD 的发病机制。线粒体毒素,可以导致啮齿类和灵长类动物,出现类似 HD 患者脑中观察到的神经元退行性变化^[45-46,48]。与对照组相比,来自 HD 患者淋巴母细胞线粒体具有较低的膜电位和更容易除极化^[69]。这种对线粒体毒素敏感性增强

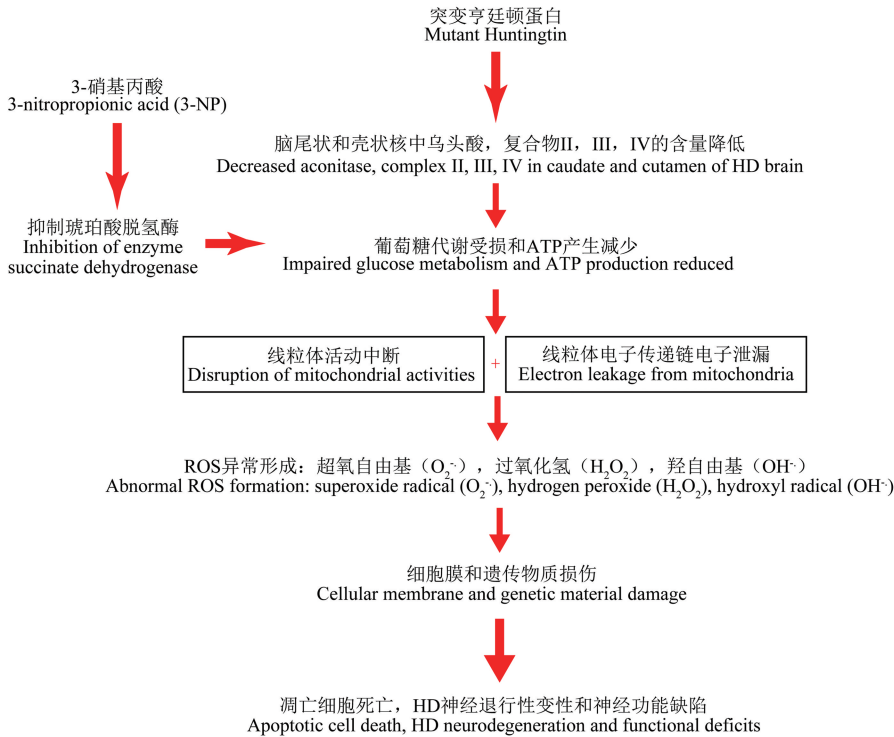


图 3 3-NP 造模机制示意图

Figure 3 Schematic diagram of 3-NP producing animal models

现象也在敲入 HdhQ111 小鼠纹状体神经元中观察到^[70-71]。此外,与来自野生型或 YAC18 对照动物脑组织线粒体相比,转基因 YAC72 小鼠大脑线粒体承受钙刺激的能力较低,揭示 mHTT 对神经元线粒体的作用^[69]。

HD 患者大脑和周围组织中线粒体功能缺陷,反映了 mHTT 可能对线粒体产生直接影响^[69,72-73]。例如,mHTT 可能改变线粒体膜形成的钙离子通道,而直接影响线粒体钙离子流通^[69];或者,mHTT 可能干扰线粒体裂变和融合过程中的细胞器功能,导致线粒体变性和功能障碍^[74]。3-NP 是一种引起啮齿类和灵长类动物神经元化学改变的线粒体毒素,可以引起大脑皮质神经元线粒体分裂和最终引起细胞死亡;但这种毒性作用可以被 NMDA 受体拮抗剂所阻断,揭示 HD 能量代谢障碍是通过 NMDA 受体介导所致^[46,56,75]。此外,表达 mHTT 的 HeLa 细胞在氧化应激时,线粒体受损裂解片段化增多;而抑制线粒体裂变或促进线粒体的融合,却可以防止 mHTT 导致的线粒体片段化和相关的细胞死亡^[76]。

更多直接来自 YAC 转基因动物模型的研究证明,mHTT 对线粒体作用可以增强 NMDA 受体介导的兴奋性神经毒性。利用原代培养的 YAC46 小鼠的中棘神经元,证明辅酶 Q10 可以抑制线粒体的环孢菌素 A 和 bongrekic acid(是一种由假单胞菌分泌的线粒体毒素,线粒体腺嘌呤核苷酸(ADP/ATP)转位酶的特异性配体),从而减少线粒体膜渗透性和减少 NMDA 受体介导的细胞死亡等神经保护作用^[77]。对 YAC128 小鼠的中型多棘神经元研究也获得了跟上述类似结果^[78-79]。这些研究结果表明,线粒体功能受损和兴奋性神经毒性可能是 mHTT 诱发的 HD 早期发病的细胞内分子机制。

2.2 造模方法

2.2.1 纹状体(尾状核)局部注射 3-NP 的动物模型

3 月龄雄性 SD 大鼠,经腹腔注射戊巴比妥 50 mg/kg 诱导麻醉。基础准备工作同前。

沿头部正中线切开皮肤,暴露头顶颅骨。确认 Bregma 以及颅顶前后左右侧在同一水平高度。按 Bregma 位置从前至 Bregma -0.4 mm,从外侧至 Bregma 2.6 mm,从硬脊膜至腹侧深 4.5 mm。在注射点颅骨钻小孔后,用 Hamilton 10 μ L 微量注射针(30 Gauge)将 1 μ L 3-NP 溶于水,按 20 mg/(kg $\cdot$ mL)(pH 7.4)在 1 min 内缓慢注射完^[17,45]。后续工

作同前。

2.2.2 腹腔注射 3-NP 的动物模型

腹腔注射 3-NP 剂量递增模型:雄性 SD 大鼠 520 ~ 560 g, Lewis 大鼠 340 ~ 370 g,和 Fisher 大鼠 270 ~ 300 g 经腹腔注射 3-NP,首剂量 7 mg/kg 体重,然后逐日按 15% 增加剂量,至动物死亡。Fisher 大鼠对 3-NP 毒性耐受最差,动物用药 3 ~ 4 d 死亡,其次是 SD 大鼠,于用药后 10 ~ 11 d 死亡,最耐受 3-NP 毒性的是 Lewis 大鼠,可以耐受药物毒性 15 ~ 16 d^[80-81]。

腹腔注射 3-NP 恒量急性损伤模型:大鼠经腹腔注射 3-NP,剂量为 20 mg/kg 体重,连续 4 d。

2.2.3 皮下注射 3-NP 的动物模型

急性诱导模型:(1)浓度为 80 mg/mL 的 3-NP 溶于去离子水并用 1 mmol/L NaOH 将 pH 调整为 7.4。Lewis 大鼠皮下注射 3-NP(20 mg/kg 体重),每天 8:00 和 17:00 各 1 次,连续 5 d。(2)通过氯胺酮/甲苯噻嗪麻醉大鼠后,于皮下包埋渗透给药泵(alzet osmotic pump)持续释放给药:每天 3-NP 剂量为 20 mg/kg 体重,浓度为 20 mg/mL,连续 5 d^[45]。

慢性诱导模型:通过大鼠皮下包埋 Alzet Osmotic Pump 持续释放 3-NP,每天剂量为 12 mg/kg 体重,连续 1 个月^[82]。

2.2.4 肌肉注射 3-NP 的动物模型

浓度为 150 mg/mL 的 3-NP 溶解于去离子水并用 1 mmol/L NaOH 将其 pH 调整为 7.4。预实验动物 3-NP 每天剂量为 10 mg/kg 体重,每天肌注 2 次,分别为 8:00 和 17:00,1 周后动物出现明显胃肠道副作用如呕吐等,因此,实验动物肌注射剂量调整为每天 5 mg/kg 体重。1 周后每天剂量在原剂量基础上增加 1 mg/kg 体重,直至总剂量 8 mg/kg 体重,此后每天增加剂量改为 0.5 mg/kg 体重,至动物出现明显急性神经损伤症状时停止用药,比如动物出现呕吐嗜睡和疲乏症状,这些症状通常会持续约 48 h;同时伴随步态不稳异常以及后肢活动障碍和眼球活动失调等。停药 3 ~ 5 d 后,上述症状将会缓解^[83]。

2.3 模型评估

3-NP 可以特异性损伤线粒体琥珀酸脱氢酶(succinate dehydrogenase)而影响能量代谢。Túnez 等^[81]研究了经腹腔注射 3-NP 的大鼠模型,每天剂量为 20 mg/kg 体重,连续 4 d,发现 3-NP 能够显著抑制琥珀酸脱氢酶活性,与对照组比,减少 60%;

同时,3-NP 明显增加脑尤其是纹状体神经元的脂质过氧化以及蛋白碳基化合物 (protein carbonyls) 水平和过氧化物歧化酶 (superoxide dismutase) 活性^[81]。

Guyot 等^[84]观察经腹腔注射或皮下长期给药,与对照组比,3-NP 可以选择性地损伤纹状体以及海马 CA1 区神经细胞,引起神经损伤包括胶质反应等,而大脑皮质则相对不受其影响。Ouay 等^[80]发现 3-NP 这种对脑和神经元选择性损伤。大鼠注射 3-NP 5 d 后,动物纹状体神经元细胞核可见 DNA 损伤以及细胞核裂解。焦油紫和 Hoechst 33285 组织化学染色以及 TUNEL 染色均证实纹状体神经元凋亡。免疫组织化学染色发现 Calbindin 免疫阳性染色细胞减少,与纹状体中型多棘神经元丢失相吻合;而 NADPH-diaphorase 和 ChAT 阳性神经元则未受影响,显示 3-NP 可以选择性地损伤纹状体神经元^[80]。

Palfi 等^[83]观察了 3-NP 对猕猴纹状体损伤引起的运动功能障碍。5 ~ 8 岁的猕猴每天两次肌注 3-NP,剂量从 5 mg/kg 体重开始,然后剂量逐渐增加直至动物出现明显神经损伤症状。3-NP 的急性神经损伤症状包括轻微不协调步态以及后肢运动障碍。此外,动物动眼神经功能也出现异常,比如不能协调左右水平和上下垂直眼球运动。损伤 2 ~ 4 周后,动物出现舞蹈样动作,以下肢为著,导致活动不协调,逐渐波及全身包括头面部,由于肌肉控制失调出现怪异表情等^[83]。

2.4 模型特点

由于 3-NP 可以通过血脑屏障,建立模型时给药方便,可以采用经腹腔、皮下或肌肉注射途径。3-NP 的药物毒性会影响动物体重,在建模过程中每天可以根据动物实际体重及时调整药物剂量。无论采用任何一种途径给药,模型建立的可靠性和重复性高。此外,还可以根据不同实验要求,采用大剂量诱导急性损伤或低剂量长期给药诱导损伤。3-NP 模型导致的神经元损伤和 HD 线粒体功能紊乱引起的神经病变,以及神经功能障碍和 HD 有不少相似之处,所以该模型已经被广泛用于 HD 线粒体损伤机制和相关神经保护治疗的研究。尽管如此,3-NP 诱导的线粒体损伤以及导致的神经病理和功能改变,毕竟与 HD 由于基因突变经过长期慢性积累和体内外环境因素参与的 HD 神经病理变化,有着本质不同。

2.5 模型应用

HD 线粒体功能和能量代谢障碍,使得 3-NP 模型特别适合于该线粒体损伤机制的研究,以及寻找针对线粒体受损保护的药物和治疗方案的研究^[45,47-48,85]。Bachoud-Lévi 等^[86]发现 CNTF 可以改善 3-NP 诱导的运动功能障碍。有研究表明 GDNF 可以保护 3-NP 引起的纹状体受损神经元,以及改善动物的运动功能^[87]。两个研究团队用 Coenzyme Q10 治疗 3-NP 引起的线粒体损伤,发现可以重建部分受损的线粒体功能^[88-89]。

3 结论

综上,当今最为广泛应用于 HD 病理机制和治疗研究的是啮齿类 HD 动物模型。在众多 HD 动物模型中,可以根据研究目标而选择不同动物模型。通过非遗传机制建立的 HD 动物模型主要有兴奋性神经毒性 QA 模型和线粒体毒素 3-NP 模型,这些动物模型在帮助认识亨廷顿氏病以及探寻 HD 的治疗发挥了重要作用。由于篇幅所限,目前广泛应用的亨廷顿氏病转基因动物模型没有在本文介绍。

参 考 文 献 (References)

- [1] Beighton P, Hayden MR. Huntington's chorea [J]. S Afr Med J, 1981, 59(8): 250.
- [2] Kumar P, Kalonia H, Kumar A. Huntington's disease: pathogenesis to animal models [J]. Pharmacol Rep, 2010, 62(1): 1-14.
- [3] Nance MA. Genetics of huntington disease [J]. Handb Clin Neurol, 2017, 144: 3-14.
- [4] Pringsheim T, Wiltshire K, Day L, et al. The incidence and prevalence of huntington's disease: A systematic review and meta-analysis [J]. Mov Disord, 2012, 27(9): 1083-1091.
- [5] Paldino E, D'Angelo V, Sancesario G, et al. Pyroptotic cell death in the R6/2 mouse model of Huntington's disease: new insight on the inflammasome [J]. Cell Death Discov, 2020, 6: 69.
- [6] Paldino E, Balducci C, La Vitola P, et al. Neuroprotective effects of doxycycline in the R6/2 mouse model of Huntington's disease [J]. Mol Neurobiol, 2020, 57(4): 1889-1903.
- [7] Lontay B, Kiss A, Virág L, et al. How do post-translational modifications influence the pathomechanistic landscape of Huntington's disease? A comprehensive review [J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(12): 4282.
- [8] Creus MJ, Ehrlich ME. Cell-autonomous and non-cell-autonomous pathogenic mechanisms in Huntington's disease: insights from *in vitro* and *in vivo* models [J]. Neurotherapeutics, 2019, 16(4): 957-978.
- [9] Boros FA, Klivényi P, Toldi J, et al. Indoleamine 2, 3-dioxygenase as a novel therapeutic target for Huntington's disease

- [J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2019, 23(1): 39–51.
- [10] García FM, Martínez TS, García-Díaz BG, et al. Pharmacogenetic modulation of STEP improves motor and cognitive function in a mouse model of Huntington's disease [J]. *Neurobiol Dis*, 2018, 120: 88–97.
- [11] Boussicault L, Kacher R, Lamazière A, et al. CYP46A1 protects against NMDA-mediated excitotoxicity in Huntington's disease: analysis of lipid raft content [J]. *Biochimie*, 2018, 153: 70–79.
- [12] Tatter SB, Galpern WR, Hoogveen AT, et al. Effects of striatal excitotoxicity on huntingtin-like immunoreactivity [J]. *Neuroreport*, 1995, 6(8): 1125–1129.
- [13] Leavitt BR, van Raamsdonk JM, Shehadeh J, et al. Wild-type huntingtin protects neurons from excitotoxicity [J]. *J Neurochem*, 2006, 96(4): 1121–1129.
- [14] Roze E, Betuing S, Deyts C, et al. Mitogen- and stress-activated protein kinase-1 deficiency is involved in expanded-huntingtin-induced transcriptional dysregulation and striatal death [J]. *FASEB J*, 2008, 22(4): 1083–1093.
- [15] Wellington CL, Singaraja R, Ellerby L, et al. Inhibiting caspase cleavage of huntingtin reduces toxicity and aggregate formation in neuronal and nonneuronal cells [J]. *J Biol Chem*, 2000, 275(26): 19831–19838.
- [16] Beal MF, Kowall NW, Ellison DW, et al. Replication of the neurochemical characteristics of Huntington's disease by quinolinic acid [J]. *Nature*, 1986, 321(6066): 168–171.
- [17] Beal MF, Kowall NW, Swartz KJ, et al. Systemic approaches to modifying quinolinic acid striatal lesions in rats [J]. *J Neurosci*, 1988, 8(10): 3901–3908.
- [18] Coyle JT, Schwarcz R. Lesion of striatal neurones with kainic acid provides a model for huntington's chorea [J]. *Nature*, 1976, 263(5574): 244–246.
- [19] DiFiglia M. Excitotoxic injury of the neostriatum; a model for huntington's disease [J]. *Trends Neurosci*, 1990, 13(7): 286–289.
- [20] McGeer EG, McGeer PL. Duplication of biochemical changes of Huntington's chorea by intrastriatal injections of glutamic and kainic acids [J]. *Nature*, 1976, 263(5577): 517–519.
- [21] Beal MF, Ferrante RJ, Swartz KJ, et al. Chronic quinolinic acid lesions in rats closely resemble Huntington's disease [J]. *J Neurosci*, 1991, 11(6): 1649–1659.
- [22] Furtado JC, Mazurek MF. Behavioral characterization of quinolinate-induced lesions of the medial striatum: Relevance for Huntington's disease [J]. *Exp Neurol*, 1996, 138(1): 158–168.
- [23] Popoli P, Pèzzola A, Domenici MR, et al. Behavioral and electrophysiological correlates of the quinolinic acid rat model of Huntington's disease in rats [J]. *Brain Res Bull*, 1994, 35(4): 329–335.
- [24] Shear DA, Dong J, Gundy CD, et al. Comparison of intrastriatal injections of quinolinic acid and 3-nitropropionic acid for use in animal models of Huntington's disease [J]. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 1998, 22(7): 1217–1240.
- [25] Shear DA, Dong J, Haik-Creguer KL, et al. Chronic administration of quinolinic acid in the rat striatum causes spatial learning deficits in a radial arm water maze task [J]. *Exp Neurol*, 1998, 150(2): 305–311.
- [26] Guidetti P, Bates GP, Graham RK, et al. Elevated brain 3-hydroxykynurenine and quinolinate levels in Huntington disease mice [J]. *Neurobiol Dis*, 2006, 23(1): 190–197.
- [27] Guidetti P, Luthi-Carter RE, Augood SJ, et al. Neostriatal and cortical quinolinate levels are increased in early grade Huntington's disease [J]. *Neurobiol Dis*, 2004, 17(3): 455–461.
- [28] Chiarugi A, Calvani M, Meli E, et al. Synthesis and release of neurotoxic kynurenine metabolites by human monocyte-derived macrophages [J]. *J Neuroimmunol*, 2001, 120(1–2): 190–198.
- [29] Whetsell WO Jr, Schwarcz R. Prolonged exposure to submicromolar concentrations of quinolinic acid causes excitotoxic damage in organotypic cultures of rat corticostriatal system [J]. *Neurosci Lett*, 1989, 97(3): 271–275.
- [30] Ribeiro CA, Grando V, Dutra Filho CS, et al. Evidence that quinolinic acid severely impairs energy metabolism through activation of NMDA receptors in striatum from developing rats [J]. *J Neurochem*, 2006, 99(6): 1531–1542.
- [31] McLin JP, Thompson LM, Steward O. Differential susceptibility to striatal neurodegeneration induced by quinolinic acid and kainate in inbred, outbred and hybrid mouse strains [J]. *Eur J Neurosci*, 2006, 24(11): 3134–3140.
- [32] Kendall AL, David F, Rayment G, et al. The influence of excitotoxic basal ganglia lesions on motor performance in the common marmoset [J]. *Brain*, 2000, 123(7): 1442–1458.
- [33] Isacson O, Brundin P, Kelly PA, et al. Functional neuronal replacement by grafted striatal neurones in the ibotenic acid-lesioned rat striatum [J]. *Nature*, 1984, 311(5985): 458–460.
- [34] Ferrante RJ, Kowall NW, Cipolloni PB, et al. Excitotoxin lesions in primates as a model for Huntington's disease: histopathologic and neurochemical characterization [J]. *Exp Neurol*, 1993, 119(1): 46–71.
- [35] Yoon Y, Kim HS, Jeon I, et al. Implantation of the clinical-grade human neural stem cell line, CTXoEo3, rescues the behavioral and pathological deficits in the quinolinic acid-lesioned rodent model of Huntington's disease [J]. *Stem Cells*, 2020, 38(8): 936–947.
- [36] Verma MK, Goel R, Nandakumar K, et al. Bilateral quinolinic acid-induced lipid peroxidation, decreased striatal monoamine levels and neurobehavioral deficits are ameliorated by GIP receptor agonist D-Ala²Gip in rat model of Huntington's disease [J]. *Eur J Pharmacol*, 2018, 828: 31–41.
- [37] Emerich DF, Cain CK, Greco C, et al. Cellular delivery of human CNTF prevents motor and cognitive dysfunction in a rodent model of Huntington's disease [J]. *Cell Transplant*, 1997, 6(3): 249–266.
- [38] Stepanova P, Srinivasan V, Lindholm D, et al. Cerebral dopamine neurotrophic factor (CDNF) protects against quinolinic

- acid-induced toxicity in *in vitro* and *in vivo* models of Huntington's disease [J]. Sci Rep, 2020, 10(1): 19045.
- [39] Kim HS, Jeon I, Noh JE, et al. Intracerebral transplantation of BDNF-overexpressing human neural stem cells (HB1.F3.BDNF) promotes migration, differentiation and functional recovery in a rodent model of Huntington's disease [J]. Exp Neurobiol, 2020, 29(2): 130–137.
- [40] Canals JM, Checa N, Marco S, et al. Expression of brain-derived neurotrophic factor in cortical neurons is regulated by striatal target area [J]. J Neurosci, 2001, 21(1): 117–124.
- [41] Paul BD, Snyder SH. Impaired redox signaling in Huntington's disease; therapeutic implications [J]. Front Mol Neurosci, 2019, 12: 68.
- [42] McColgan P, Tabrizi SJ. Huntington's disease; a clinical review [J]. Eur J Neurol, 2018, 25(1): 24–34.
- [43] Velusamy T, Panneerselvam AS, Purushottam M, et al. Protective effect of antioxidants on neuronal dysfunction and plasticity in Huntington's disease [J]. Oxid Med Cell Longev, 2017, 2017: 3279061.
- [44] Suganya SN, Sumathi T. Effect of rutin against a mitochondrial toxin, 3-nitropropionic acid induced biochemical, behavioral and histological alterations-a pilot study on Huntington's disease model in rats [J]. Metab Brain Dis, 2017, 32(2): 471–481.
- [45] Beal MF, Brouillet E, Jenkins BG, et al. Neurochemical and histologic characterization of striatal excitotoxic lesions produced by the mitochondrial toxin 3-nitropropionic acid [J]. J Neurosci, 1993, 13(10): 4181–4192.
- [46] Brouillet E, Jenkins BG, Hyman BT, et al. Age-dependent vulnerability of the striatum to the mitochondrial toxin 3-nitropropionic acid [J]. J Neurochem, 1993, 60(1): 356–359.
- [47] Novelli A, Reilly JA, Lysko PG, et al. Glutamate becomes neurotoxic via the N-methyl-D-aspartate receptor when intracellular energy levels are reduced [J]. Brain Res, 1988, 451(1–2): 205–212.
- [48] Zeevalk GD, Nicklas WJ. Mechanisms underlying initiation of excitotoxicity associated with metabolic inhibition [J]. J Pharmacol Exp Ther, 1991, 257(2): 870–878.
- [49] Brouillet E, Hantraye P, Ferrante RJ, et al. Chronic mitochondrial energy impairment produces selective striatal degeneration and abnormal choreiform movements in primates [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1995, 92(15): 7105–7109.
- [50] Henshaw R, Jenkins BG, Schulz JB, et al. Malonate produces striatal lesions by indirect NMDA receptor activation [J]. Brain Res, 1994, 647(1): 161–166.
- [51] Grafton ST, Mazziotta JC, Pahl JJ, et al. A comparison of neurological, metabolic, structural, and genetic evaluations in persons at risk for Huntington's disease [J]. Ann Neurol, 1990, 28(5): 614–621.
- [52] Kuhl DE, Phelps ME, Markham CH, et al. Cerebral metabolism and atrophy in Huntington's disease determined by 18FDG and computed tomographic scan [J]. Ann Neurol, 1982, 12(5): 425–434.
- [53] Kuwert T, Lange HW, Boecker H, et al. Striatal glucose consumption in chorea-free subjects at risk of Huntington's disease [J]. J Neurol, 1993, 241(1): 31–36.
- [54] Mazziotta JC, Phelps ME, Pahl JJ, et al. Reduced cerebral glucose metabolism in asymptomatic subjects at risk for Huntington's disease [J]. N Engl J Med, 1987, 316(7): 357–362.
- [55] Elbaz EM, Helmy HS, El-Sahar AE, et al. Lercanidipine boosts the efficacy of mesenchymal stem cell therapy in 3-NP-induced Huntington's disease model rats via modulation of the calcium/calcineurin/NFATc4 and Wnt/ β -catenin signalling pathways [J]. Neurochem Int, 2019, 131: 104548.
- [56] Ramachandran S, Thangarajan S. Thymoquinone loaded solid lipid nanoparticles counteracts 3-Nitropropionic acid induced motor impairments and neuroinflammation in rat model of Huntington's disease [J]. Metab Brain Dis, 2018, 33(5): 1459–1470.
- [57] Mehan S, Monga V, Rani M, et al. Neuroprotective effect of solanesol against 3-nitropropionic acid-induced Huntington's disease-like behavioral, biochemical, and cellular alterations: Restoration of coenzyme-Q10-mediated mitochondrial dysfunction [J]. Indian J Pharmacol, 2018, 50(6): 309–319.
- [58] Domenici MR, Chiodi V, Averna M, et al. Neuronal adenosine A_{2A} receptor overexpression is neuroprotective towards 3-nitropropionic acid-induced striatal toxicity: a rat model of Huntington's disease [J]. Purinergic Signal, 2018, 14(3): 235–243.
- [59] Danduga RCSR, Dondapati SR, Kola PK, et al. Neuroprotective activity of tetramethylpyrazine against 3-nitropropionic acid induced huntington's disease-like symptoms in rats [J]. Biomed Pharmacother, 2018, 105: 1254–1268.
- [60] Silva PA, Ostolga CM, Buelna CM, et al. 3-NP-induced Huntington's-like disease impairs Nrf2 activation without loss of cardiac function in aged rats [J]. Exp Gerontol, 2017, 96: 89–98.
- [61] Kumar P, Kalonia H, Kumar A. Cyclosporine A attenuates 3-nitropropionic acid-induced Huntington-like symptoms in rats: possible nitric oxide mechanism [J]. Int J Toxicol, 2010, 29(3): 318–325.
- [62] Koroshetz WJ, Jenkins BG, Rosen BR, et al. Energy metabolism defects in Huntington's disease and effects of coenzyme Q10 [J]. Ann Neurol, 1997, 41(2): 160–165.
- [63] Arenas J, Campos Y, Ribacoba R, et al. Complex I defect in muscle from patients with Huntington's disease [J]. Ann Neurol, 1998, 43(3): 397–400.
- [64] Brennan WA Jr, Bird ED, Aprille JR. Regional mitochondrial respiratory activity in Huntington's disease brain [J]. J Neurochem, 1985, 44(6): 1948–1950.
- [65] Browne SE, Bowling AC, MacGarvey U, et al. Oxidative damage and metabolic dysfunction in Huntington's disease; selective vulnerability of the basal ganglia [J]. Ann Neurol, 1997, 41(5): 646–653.
- [66] Gu M, Gash MT, Mann VM, et al. Mitochondrial defect in huntington's disease caudate nucleus [J]. Ann Neurol, 1996,

- 39(3): 385–389.
- [67] Mann VM, Cooper JM, Javoy AF, et al. Mitochondrial function and parental sex effect in Huntington's disease [J]. *Lancet*, 1990, 336(8717): 749.
- [68] Tabrizi SJ, Cleeter MW, Xuereb J, et al. Biochemical abnormalities and excitotoxicity in Huntington's disease brain [J]. *Ann Neurol*, 1999, 45(1): 25–32.
- [69] Panov AV, Gutekunst CA, Leavitt BR, et al. Early mitochondrial calcium defects in Huntington's disease are a direct effect of polyglutamines [J]. *Nat Neurosci*, 2002, 5(8): 731–736.
- [70] Mao Z, Choo YS, Lesort M. Cystamine and cysteamine prevent 3-NP-induced mitochondrial depolarization of Huntington's disease knock-in striatal cells [J]. *Eur J Neurosci*, 2006, 23(7): 1701–1710.
- [71] Ruan Q, Lesort M, MacDonald ME, et al. Striatal cells from mutant huntingtin knock-in mice are selectively vulnerable to mitochondrial complex II inhibitor-induced cell death through a non-apoptotic pathway [J]. *Hum Mol Genet*, 2004, 13(7): 669–681.
- [72] Choo YS, Johnson GV, MacDonald M, et al. Mutant huntingtin directly increases susceptibility of mitochondria to the calcium-induced permeability transition and cytochrome c release [J]. *Hum Mol Genet*, 2004, 13(14): 1407–1420.
- [73] Gutekunst CA, Li SH, Yi H, et al. The cellular and subcellular localization of huntingtin-associated protein 1 (HAP1): comparison with huntingtin in rat and human [J]. *J Neurosci*, 1998, 18(19): 7674–7686.
- [74] Bossy WE, Petrilli A, Knott AB. Mutant huntingtin and mitochondrial dysfunction [J]. *Trends Neurosci*, 2008, 31(12): 609–616.
- [75] Liot G, Bossy B, Lubitz S, et al. Complex II inhibition by 3-NP causes mitochondrial fragmentation and neuronal cell death via an NMDA- and ROS dependent pathway [J]. *Cell Death Differ*, 2009, 16(6): 899–909.
- [76] Wang H, Lim PJ, Karbowski M, et al. Effects of overexpression of huntingtin proteins on mitochondrial integrity [J]. *Hum Mol Genet*, 2009, 18(4): 737–752.
- [77] Zeron MM, Fernandes HB, Krebs C, et al. Potentiation of NMDA receptor-mediated excitotoxicity linked with intrinsic apoptotic pathway in YAC transgenic mouse model of Huntington's disease [J]. *Mol Cell Neurosci*, 2004, 25(3): 469–479.
- [78] Fernandes HB, Baimbridge KG, Church J, et al. Mitochondrial sensitivity and altered calcium handling underlie enhanced NMDA-induced apoptosis in YAC128 model of Huntington's disease [J]. *J Neurosci*, 2007, 27(50): 13614–13623.
- [79] Tang TS, Slow E, Lupu V, et al. Disturbed Ca^{2+} signaling and apoptosis of medium spiny neurons in Huntington's disease [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2005, 102(7): 2602–2607.
- [80] Ouay S, Bizat N, Altairac S, et al. Major strain differences in response to chronic systemic administration of the mitochondrial toxin 3-nitropropionic acid in rats: Implications for neuroprotection studies [J]. *Neuroscience*, 2000, 97(3): 521–530.
- [81] Túñez I, Montilla P, Del Carmen Muñoz M, et al. Protective effect of melatonin on 3-nitropropionic acid-induced oxidative stress in synaptosomes in an animal model of Huntington's disease [J]. *J Pineal Res*, 2004, 37(4): 252–256.
- [82] Yang L, Calingasan NY, Chen J, et al. A novel azulenyl nitron antioxidant protects against MPTP and 3-nitropropionic acid neurotoxicities [J]. *Exp Neurol*, 2005, 191(1): 86–93.
- [83] Palfi S, Leventhal L, Goetz CG, et al. Delayed onset of progressive dystonia following subacute 3-nitropropionic acid treatment in Cebus apella monkeys [J]. *Mov Disord*, 2000, 15(3): 524–530.
- [84] Guyot MC, Hantraye P, Dolan R, et al. Quantifiable bradykinesia, gait abnormalities and Huntington's disease-like striatal lesions in rats chronically treated with 3-nitropropionic acid [J]. *Neuroscience*, 1997, 79(1): 45–56.
- [85] Malik J, Kaur S, Karan M, et al. Neuroprotective effect of standardized extracts of three *Lactuca sativa* Linn. varieties against 3-NP induced Huntington's disease like symptoms in rats [J]. *Nutr Neurosci*, 2020, 8: 1–15.
- [86] Bachoud-Lévi AC, Déglon N, Nguyen JP, et al. Neuroprotective gene therapy for Huntington's disease using a polymer encapsulated BHK cell line engineered to secrete human CNTF [J]. *Hum Gene Ther*, 2000, 11(12): 1723–1729.
- [87] McBride JL, During MJ, Wu J, et al. Structural and functional neuroprotection in a rat model of Huntington's disease by viral gene transfer of GDNF [J]. *Exp Neurol*, 2003, 181(2): 213–223.
- [88] Kidd PM. Neurodegeneration from mitochondrial insufficiency: Nutrients, stem cells, growth factors, and prospects for brain rebuilding using integrative management [J]. *Altern Med Rev*, 2005, 10(4): 268–293.
- [89] Kasparová S, Šumbalová Z, Bystrický P, et al. Effect of coenzyme Q10 and vitamin E on brain energy metabolism in the animal model of Huntington's disease [J]. *Neurochem Int*, 2006, 48(2): 93–99.

[收稿日期] 2020-11-25