

经争辉,李春英,刘蓉,等. *Cln3* 敲除对幼龄小鼠实质器官的影响 [J]. 中国实验动物学报, 2022, 30(3): 326-332.  
Jing ZH, Li CY, Liu R, et al. Effect of *Cln3* knockout on parenchymal organs in young mice [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2022, 30(3): 326-332.  
Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2022.03.004

## *Cln3* 敲除对幼龄小鼠实质器官的影响

经争辉<sup>1,2</sup>, 李春英<sup>3</sup>, 刘蓉<sup>1,2</sup>, 任俞华<sup>1,4</sup>, 崔诗雨<sup>1,2</sup>, 赵文宝<sup>2</sup>, 张海峰<sup>1,2\*</sup>

(1. 西安交通大学转化医学研究院遗传与发育研究所, 西安 710100; 2. 西安交通大学基础医学院病理学系, 西安 710061; 3. 浙江省丽水学院, 浙江 丽水 323000; 4. 陕西省西安市高陵区医院检验科, 西安 710299)

**【摘要】** 目的 探究 *Cln3* 敲除对幼龄小鼠实质器官发育的影响, 为 *Cln3* 基因敲除动物应用提供理论参考。方法 PCR 鉴定 FVB 小鼠基因型: 野生型 (*Cln3*<sup>+/+</sup>)、杂合子 (*Cln3*<sup>+/-</sup>) 及纯合子 (*Cln3*<sup>-/-</sup>); 小鼠 3 周龄时, 采集心、肝、脾、肺、肾和脑等主要实质器官并拍照, 利用 Image J 软件测量其投影面积; 中性福尔马林溶液固定各实质器官, 石蜡切片进行 HE 染色, 全切片利用全自动数字病理扫描分析系统扫描后观察器官细微结构。结果 与 *Cln3*<sup>+/+</sup> 和 *Cln3*<sup>+/-</sup> 小鼠相比, *Cln3*<sup>-/-</sup> 小鼠体重显著降低 ( $P < 0.05$ ); *Cln3* 缺失会显著降低小鼠心、肝、脾、肺及肾的体积 ( $P < 0.05$ ), 但不会影响小鼠脑的大小 ( $P > 0.05$ ); HE 染色显示, *Cln3*<sup>-/-</sup> 小鼠各实质器官组织结构未见异常, 实质细胞体积相对较小。结论 *Cln3* 敲除导致幼龄小鼠的实质器官减小, 未对幼龄小鼠实质器官产生明显病理损伤。

**【关键词】** 基因修饰小鼠; *Cln3* 敲除; 实质器官; HE 染色

**【中图分类号】** Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2022)03-0326-07

### Effect of *Cln3* knockout on parenchymal organs in young mice

JING Zhenghui<sup>1,2</sup>, LI Chunying<sup>3</sup>, LIU Rong<sup>1,2</sup>, REN Yuhua<sup>1,4</sup>, CUI Shiyu<sup>1,2</sup>, ZHAO Wenbao<sup>2</sup>, ZHANG Haifeng<sup>1,2\*</sup>

(1. Institute of Genetics and Developmental Biology of Translational Medicine Institute, Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710100, China. 2. Department of Pathology of Basic Medicine College, Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710061. 3. Lishui University, Lishui 323000. 4. Department of Clinical Laboratory of Gaoling District Hospital in Xi'an, Xi'an 710299)

Corresponding author: ZHANG Haifeng. E-mail: zhf19841011@xjtu.edu.cn

**【Abstract】 Objective** To explore the effect of *Cln3* gene knockout on parenchymal organs in mice to provide reference data for the application of *Cln3* gene knockout mice. **Methods** Wild-type (*Cln3*<sup>+/+</sup>), heterozygous (*Cln3*<sup>+/-</sup>), and homozygous mice (*Cln3*<sup>-/-</sup>) were identified by polymerase chain reaction. Heart, liver, spleen, lung, kidney, and brain were collected from 3-week-old mice and photographed, and their projection areas were measured using ImageJ software. The parenchymal organs were then fixed in neutral formalin solution, embedded in paraffin, sectioned, and stained with hematoxylin and eosin (HE). The slides were then scanned using an automated digital pathology scan analysis system to observe changes in tissue structure. **Results** Body weight was significantly decreased in homozygous knockout mice compared with wild-type and heterozygous mice ( $P < 0.05$ ). Deletion of *Cln3* significantly reduced the volumes of the heart, liver, spleen, lung, and kidney ( $P < 0.05$ ), but not the brain ( $P > 0.05$ ). HE staining indicated that the structures of the parenchymal organs were normal in *Cln3*<sup>-/-</sup> mice, but the parenchymal cell volume was relatively

**【基金项目】** 国家自然科学基金(81402312), 中央高校基本科研业务费专项资金资助(xjj2018158), 中国博士后科学基金(2014M552462).  
Funded by the National Natural Science Foundation of China (81402312), the Fundamental Research Funds for the Central Universities of China (xjj2018158), China Postdoctoral Science Foundation (2014M552462).

**【作者简介】** 经争辉(1997—), 男, 硕士, 研究方向: 氯离子通道与肿瘤。Email: jingzhenghui4005@163.com

**【通信作者】** 张海峰(1984—), 男, 副教授, 博士, 研究方向: 氯离子通道与肿瘤。Email: zhf19841011@xjtu.edu.cn

small. **Conclusions** Knockout of *Clcn3* could reduce the sizes of the major parenchymal organs in young mice, but did not cause any obvious pathological damage to these organs.

**[Keywords]** genetically modified mice; *Clcn3* knockout; parenchymal organs; HE staining

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

电压门控氯离子通道 3 (chloride voltage-gated channel 3, *Clcn3*) 在哺乳动物组织中广泛表达, 主要分布于细胞膜、胞浆, 细胞核内少量分布; 小鼠体内共有 4 种不同的 *Clcn3* 亚型, 分别为 *Clcn3a*, *Clcn3b*, *Clcn3c*, *Clcn3e*, 其主要区别是不同亚型的 *Clcn3* 蛋白 N 端和 C 端氨基酸序列不同<sup>[1]</sup>。容积调控性阴离子通道 (volume-regulated anion channel, VRAC) 是一类具有种属、组织细胞差异性的功能蛋白复合体。*Clcn3* 被认为是一种潜在 VRAC 候选蛋白, 其胞膜组份对保持特定组织细胞体积平衡至关重要<sup>[2-4]</sup>; 多数 *Clcn3* 分布于胞浆内, 位于溶酶体膜上的 *Clcn3* 作为  $2\text{Cl}^-/\text{H}^+$  交换体, 降低溶酶体内 pH 值使其酸化, 从而维持溶酶体系统的正常生物学功能<sup>[5]</sup>; 胞核内 *Clcn3* 功能研究少见报道。亚细胞分布的 *Clcn3* 通过复杂的分子机制, 参与细胞增殖、迁移、凋亡、分化、药物转运等生物学过程<sup>[6-13]</sup>, 在肿瘤<sup>[14]</sup>、免疫<sup>[15]</sup>、炎症<sup>[16]</sup>、神经<sup>[17]</sup>、生殖<sup>[18]</sup>、心血管<sup>[19]</sup>等相关疾病的发生发展中具有重要作用, 其可作为相关疾病诊断和治疗的潜在靶点。

基因编辑动物是研究基因与人类疾病发生关系的有效动物模型, 通过构建 *Clcn3* 基因敲除动物, 有助于揭示其参与相关疾病发生发展的分子机制。本研究旨在收集 *Clcn3*<sup>+/+</sup>、*Clcn3*<sup>+/-</sup> 及 *Clcn3*<sup>-/-</sup> 小鼠的心、肝、脾、肾、肺和脑等主要实质器官组织, 观察 *Clcn3* 缺失对主要实质器官大体和组织结构的影响, 为以 *Clcn3* 敲除小鼠为模型动物的科学实验提供一定的理论参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 实验动物

*Clcn3* 基因敲除 FVB SPF 级小鼠由中国苏州赛业生物公司【SCXK(苏)2018-0003】通过 CRISPR-cas9 技术生产。简要步骤如下: 靶向小鼠 *Clcn3* 的 sgRNA 和 cas9 mRNA 共同注射到雌性小鼠的受精卵中, 经胚胎移植生产 *Clcn3*<sup>-/-</sup> 小鼠 (gRNA1: GATTTATTTAACCTAATGAAGG 和 gRNA2: AATGGGCTGTATTGTCCTCCTGG); 将 *Clcn3*<sup>-/-</sup> 与 *Clcn3*<sup>+/+</sup> 小鼠交配, 繁殖杂合子小鼠; 后代 *Clcn3*<sup>+/-</sup> 小

鼠由杂合子 *Clcn3*<sup>+/-</sup> 小鼠自交繁殖。*Clcn3*<sup>+/-</sup> 小鼠饲养 (深圳大学第一附属医院邓志钦馈赠) 在西安交通大学动物实验中心的 SPF 级动物房【SYXK(陕)2018-001】。本实验使用 15 只 SPF 级 FVB 小鼠, 3 周龄, 体重约为 6 ~ 12 g, 其中野生型、杂合子和纯合子小鼠各 5 只。饲养环境: 屏障环境、独立换气; 昼夜光照各半, 湿度恒定; 自由采食和饮水。所有动物实验操作符合西安交通大学伦理委员会要求 (2021-1499)。

#### 1.1.2 主要试剂与仪器

引物合成 (擎科生物, 中国), 蛋白酶 K (天根生物, RT403, 中国), 2X Taq Master Mix (苏州近岸蛋白质科技, E005-01B, 中国), TritonX-100 (Thermo Fisher, 85111, 美国), 100 bp DNA ladder (天根生物, MD109, 中国), Tris (博奥拓达, T6061, 中国), 琼脂糖 (天根生物, RT101, 中国)。干式恒温器 (合众生物, GH-100, 中国), 凝胶电泳仪 (BIO-RAD, 1704469, 美国), 凝胶成像系统 (Bio-Rad, ChemiDoc MP, 美国), 轮转式石蜡切片机 (瑞沃德, S700A, 中国), 全自动数字病理扫描分析系统 (江丰生物, KF-PRO-002, 中国), PCR 仪 (BIO-RAD, T100, 美国)。

## 1.2 方法

### 1.2.1 小鼠基因型鉴定

(1) 小鼠基因组 DNA 提取: 小鼠出生后 2 ~ 3 周, 剪取鼠尾 2 ~ 3 mm 放入 1.5 mL 离心管中, 加入 100  $\mu\text{L}$  裂解液 (1.37 g KCl, 1.2 g Tris, 1 mL TritonX-100, 溶于 1 L 纯水中, 加入浓盐酸调节 pH = 9.0) 和 4  $\mu\text{L}$  的蛋白酶 K, 56 $^{\circ}\text{C}$  过夜裂解。裂解完成后, 98 $^{\circ}\text{C}$  金属浴加热 15 min 终止裂解。10 000 rpm 离心 15 min, 取上清, 即可得到小鼠基因组 DNA。

(2) 小鼠基因型鉴定: 小鼠基因型均通过 PCR 进行鉴定。PCR 反应体系为 25  $\mu\text{L}$ , 其中 2  $\times$  Taq Master Mix 12.5  $\mu\text{L}$ , 上下游引物各 1  $\mu\text{L}$  (10  $\mu\text{mol/L}$ ), 基因组 DNA 3  $\mu\text{L}$ , 纯水 7.5  $\mu\text{L}$ 。PCR 鉴定小鼠基因型共需要 3 条引物, 引物的序列信息如表 1 所示。PCR 反应条件为: 预变性 94 $^{\circ}\text{C}$  1 min 30 s; 变性 94 $^{\circ}\text{C}$  20 s, 退火 65 $^{\circ}\text{C}$  30 s, 延伸 72 $^{\circ}\text{C}$  1 min, 循环 30 次; 72 $^{\circ}\text{C}$  5 min; 4 $^{\circ}\text{C}$  保存。取 10  $\mu\text{L}$  PCR 产物加入

到 2% 琼脂糖凝胶中, 100 V 电泳 40 min 后在凝胶成像系统中拍照, 分析小鼠的基因型。F1、R1 用来扩增突变的 *Cln3* 基因, 产物大小为 654 bp; F2、R1 用来扩增正常的 *Cln3* 基因, 产物大小为 769 bp。

### 1.2.2 小鼠样品采集

小鼠出生后, 母鼠喂养至 3 周龄, 脱颈处死, 剪开小鼠的胸腔和腹腔, 采集小鼠的心、肝、脾、肾、肺和脑组织。采集的小鼠组织器官用 PBS 冲洗干净后, 摆放在具有标尺的手术布上拍照, 利用 Image J 软件测量小鼠各器官的面积。拍照完毕后, 将小鼠器官放入 10% 福尔马林溶液中常温保存, 用于制作石蜡切片。

### 1.2.3 石蜡切片制作及 HE 染色

小鼠组织器官浸入 10% 中性福尔马林溶液 (10 倍体积) 固定 24 h 后, 利用不同浓度梯度的乙醇溶

液进行脱水处理, 步骤为: 70%、80% 和 90% 的乙醇溶液分别脱水 2 h; 95% 和 100% 的乙醇溶液分别浸泡脱水 1 h。接着, 将小鼠器官放入 100% 二甲苯溶液内透明 30 min 后, 浸蜡包埋: 将透明好的小鼠器官放入石蜡二甲苯混合液中 (1:1) 30 min, 然后浸入石蜡 I 和 II 中各 2 h。包埋好的小鼠组织利用切片机切片, 切片厚度为 4  $\mu\text{m}$ 。石蜡切片脱蜡后, 利用苏木素伊红染液行 HE 染色。树胶封片后, 利用病理数字切片系统扫描 HE 切片, KIBIO. SlideViewer 软件观察不同基因型小鼠主要实质器官细微结构。

### 1.3 统计学分析

数据以平均值  $\pm$  标准误差 ( $\bar{x} \pm s\bar{x}$ ) 展示。采用 Sigmaplot 12.5 中的单因素方差分析 (ANOVA) 比较组间差异, 差异显著时采用 Student-Newman-Keuls 检验进行事后多重比较, 显著性水平置于 0.05。

表 1 小鼠基因型鉴定所使用的引物序列

Table 1 Primers sequence for genotyping identification of mouse

引物序列 (5'-3')	靶基因	产物长度 (bp)
Primer sequence (5'-3')	Targeted gene	Product length (bp)
F1: TCTGATGGGGACTAAGTATGCAG	突变 <i>Cln3</i>	654
R1: TCCAGAGACAATGAGGCTAAGG	Mutated <i>Cln3</i>	
F2: TTAGTGCTGGCTGTGGCATC	正常 <i>Cln3</i>	769
R1: TCCAGAGACAATGAGGCTAAGG	WT <i>Cln3</i>	

## 2 结果

### 2.1 小鼠基因型鉴定

三引物 PCR 法鉴定野生型 (*Cln3*<sup>+/+</sup>)、杂合子 (*Cln3*<sup>+/-</sup>) 及纯合子 (*Cln3*<sup>-/-</sup>) FVB 小鼠; F1、R1 引物靶向扩增经 CRISPR-CAS9 编辑过的 *Cln3* 基因, 产物大小为 654 bp, F2、R1 引物靶向扩增正常的 *Cln3* 基因, 产物大小为 769 bp (表 1)。如图 1 所示, 利用 F1、R1 和 F2 扩增鼠尾 DNA, 1 和 3 号小鼠只出现 654 bp 的条带, 为纯合子小鼠; 12 和 13 号小鼠经 3 条引物扩增后只出现了 769 bp 的条带, 为野生型小鼠; 其他小鼠经 3 条引物扩增后同时出现了 654 bp 和 769 bp 的条带, 为杂合子小鼠。

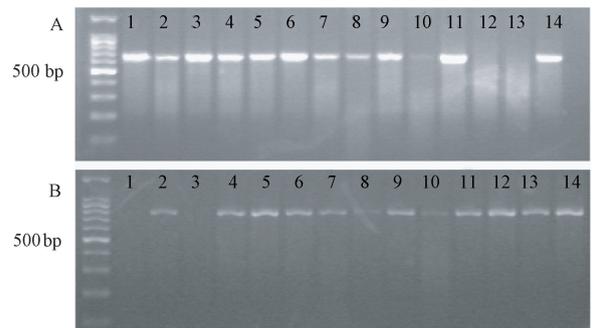
### 2.2 *Cln3* 敲除对小鼠体重的影响

如图 2A 所示, *Cln3*<sup>-/-</sup> 小鼠头、体、尾、毛发、四肢、耳、鼻、口、眼等器官未见明显畸形。*Cln3* 敲除小鼠生长明显缓慢, 3 周龄的 *Cln3*<sup>-/-</sup> 小鼠体型明显小于 *Cln3*<sup>+/+</sup> 和 *Cln3*<sup>+/-</sup> 小鼠。*Cln3*<sup>+/+</sup> 与 *Cln3*<sup>+/-</sup> 小鼠的体重差异不显著 ( $P > 0.05$ ), 但均显著高于 *Cln3*<sup>-/-</sup> 小鼠的体重 ( $P < 0.05$ ), 野生型、杂合子、纯合子小鼠 3 周龄时的平均体重分别为 10.4、10.2 和

5.9 g (图 2B)。

### 2.3 *Cln3* 敲除对小鼠实质器官面积的影响

为进一步剖析 *Cln3*<sup>-/-</sup> 小鼠生长缓慢和体型矮小之因, 我们观察了小鼠主要实质器官的发育状况。3 周龄小鼠处死后, 采集心、肝、脾、肺、肾、脑等组织并拍照, 利用 Image J 软件测量其面积。如图 3 所示, *Cln3*<sup>+/+</sup> 和 *Cln3*<sup>+/-</sup> 小鼠的心脏、肝、脾、肺、肾



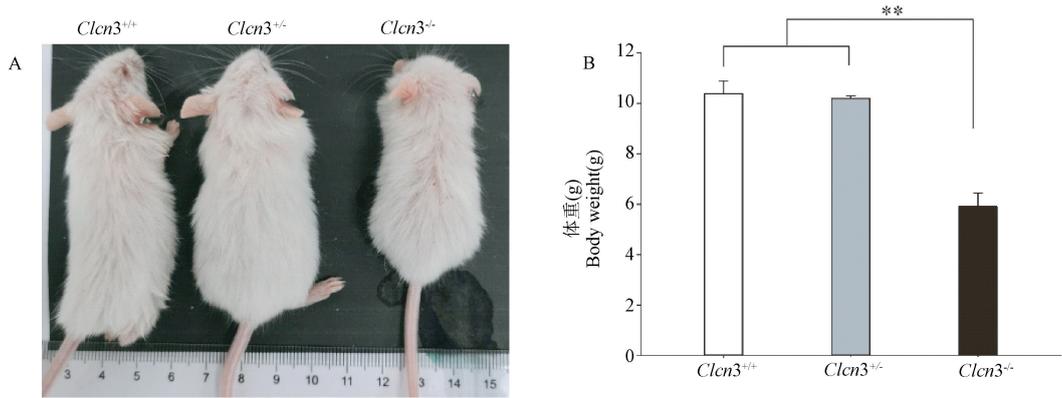
注: A: F1 和 R1 扩增产物 (654 bp); B: F2 和 R1 扩增产物 (769 bp)。

图 1 部分小鼠的基因型鉴定结果

Note. A. The product size of amplification using primer F1 and R1 (654 bp).

B. The product size of amplification using primer F2 and R1 (769 bp).

Figure 1 Genotype results of mice identification



注:A:不同基因型小鼠3周龄时的外形体征;B:不同基因型小鼠3周龄时的体重;与 *Clcn3*<sup>+/+</sup>或 *Clcn3*<sup>+/-</sup>小鼠相比, \*\*  $P < 0.05$ 。(下同)

图2 不同基因型小鼠3周龄时的外形体征及体重

Note. A. Physical features of different genotypes mice at 3 weeks. B. Body weight of different genotypes mice at 3 weeks. Compared with *Clcn3*<sup>+/+</sup> or *Clcn3*<sup>+/-</sup> mice, \*\*  $P < 0.05$ . (The same in the following figures)

Figure 2 Physical features and body weight of different genotypes mice at 3 weeks

等器官的投影面积差异不显著( $P > 0.05$ ),但均显著大于 *Clcn3*<sup>-/-</sup>小鼠( $P < 0.05$ );脾变化最为明显,野生型和杂合子小鼠的脾平均面积为  $53.6 \text{ mm}^2$  和  $50.1 \text{ mm}^2$ ,而 *Clcn3* 敲除的纯合子小鼠的脾面积只有  $25.5 \text{ mm}^2$ ,减少了将近 50%。此外,不同基因型小鼠脑组织的面积没有显著差异( $P > 0.05$ )。以上数据提示 *Clcn3* 敲除会导致幼龄小鼠主要实质器官减小。

## 2.4 *Clcn3* 敲除对小鼠实质器官微观结构的影响

*Clcn3*<sup>-/-</sup>小鼠生长缓慢,体型矮小,主要实质器官体积明显减小。HE 染色小鼠心、肝、脾、肺、肾、脑组织切片,观察 *Clcn3* 敲除对小鼠主要实质器官组织结构的影响。如图 4 所示,不同基因型小鼠心脏的心肌纤维呈柱状,卵圆形细胞核位于心肌细胞中央,没有发生明显变化;与 *Clcn3*<sup>+/+</sup>和 *Clcn3*<sup>+/-</sup>小鼠相比,*Clcn3*<sup>-/-</sup>小鼠单位面积上的心肌细胞数量明显增多提示 *Clcn3*<sup>-/-</sup>小鼠心肌细胞的体积变小。小鼠肝的 HE 染色切片显示:不同基因型小鼠的肝结构未发生明显改变,肝小叶结构正常,肝细胞核大而圆。敲除 *Clcn3* 导致小鼠脾红髓和白髓的面积相对变小,脾结构组成未见明显变化。小鼠肺组织切片 HE 染色显示:与 *Clcn3*<sup>+/+</sup>、*Clcn3*<sup>+/-</sup>小鼠相比,*Clcn3*<sup>-/-</sup>小鼠的肺泡壁明显变薄,细胞数量减少。*Clcn3*<sup>-/-</sup>小鼠肾基本结构健全,肾小球血管球发育不全,即细胞聚集、毛细血管祥不明显。不同基因型小鼠的脑组织结构未见明显改变。

## 3 讨论

*Clcn3* 广泛表达于哺乳动物的各种组织细胞

中,在细胞增殖、迁移、凋亡、分化、生殖、脑发育以及心血管疾病中等方面具有重要的作用<sup>[11,18-22]</sup>。*Clcn3* 基因编辑动物是探讨其功能、参与相关疾病发生发展机制的理性动物模型。黄雪莲等<sup>[23]</sup>利用 *Clcn3* 敲除小鼠研究匹伐他汀药物降脂作用的机制。Xiong 等<sup>[24]</sup>利用基因编辑技术生产的小鼠在心肌细胞中特异性高表达 *Clcn3*,为研究 *Clcn3* 在心脏中的作用提供了理想的动物模型。利用基因编辑模式动物探讨 *Clcn3* 基因的功能虽已被广泛报道,但 *Clcn3* 基因敲除对小鼠实质器官的影响还未被系统阐述,尤其是幼龄小鼠。本实验采集了野生型、杂合子以及 *Clcn3* 敲除的纯合子小鼠的心脏、肝、脾、肺、肾和脑组织,系统分析 *Clcn3* 基因敲除对幼龄小鼠实质器官大小和组织结构的影响。

本实验未使用成年小鼠,均使用 3 周龄的幼龄小鼠,可排除因分笼、饮食等外界因素干扰,进而更准确反映 *Clcn3* 敲除对小鼠实质器官发育的影响。本实验发现 *Clcn3* 敲除的纯合子小鼠在 3 周龄时的体重显著低于野生型和杂合子的体重,这与潘萌等<sup>[1]</sup>所描述的一致。测量不同基因型小鼠实质器官的面积后发现,*Clcn3*<sup>-/-</sup>小鼠心、肝、脾、肺、肾的面积显著小于野生型和杂合子小鼠,提示 *Clcn3*<sup>-/-</sup>小鼠主要实质器官发育迟缓、体积小是小鼠体重明显降低的主要原因之一。不同基因型 3 周龄小鼠脑面积无显著差异,推测:脑作为动物最重要的器官,在动物器官未发育完全之前,机体会优先供应脑发育之需。总之,本研究发现 *Clcn3* 基因敲除小鼠的实质器官显著减小。

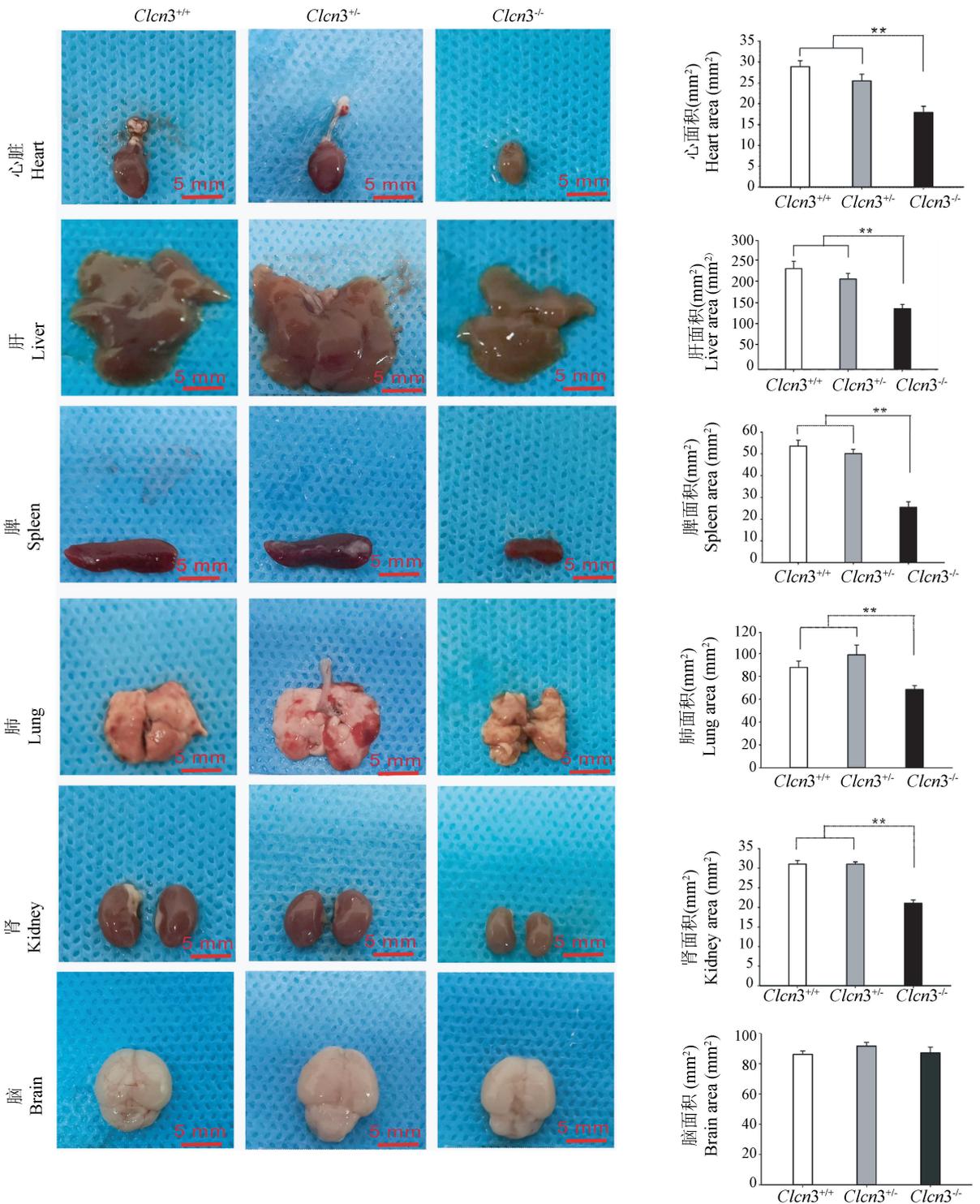


图3 不同基因型小鼠3周龄时的实质器官面积

Figure 3 Parenchymal organs area of different genotypes mice at 3 weeks

利用器官组织切片 HE 染色,我们进一步观察了 *Clcn3* 敲除对小鼠主要实质器官组织结构的影响。HE 染色结果提示 *Clcn3* 基因敲除未影响小鼠心脏的结构,可导致心肌细胞变小;*Clcn3* 敲除未

影响小鼠脾和肾的结构组成,但明显减小了小鼠脾红髓和白髓的体积以及肾毛细血管球的体积;*Clcn3*<sup>-/-</sup>小鼠肺泡壁明显变薄,细胞数量减少;*Clcn3*<sup>-/-</sup>小鼠肝和脑组织结构未见明显改变,而

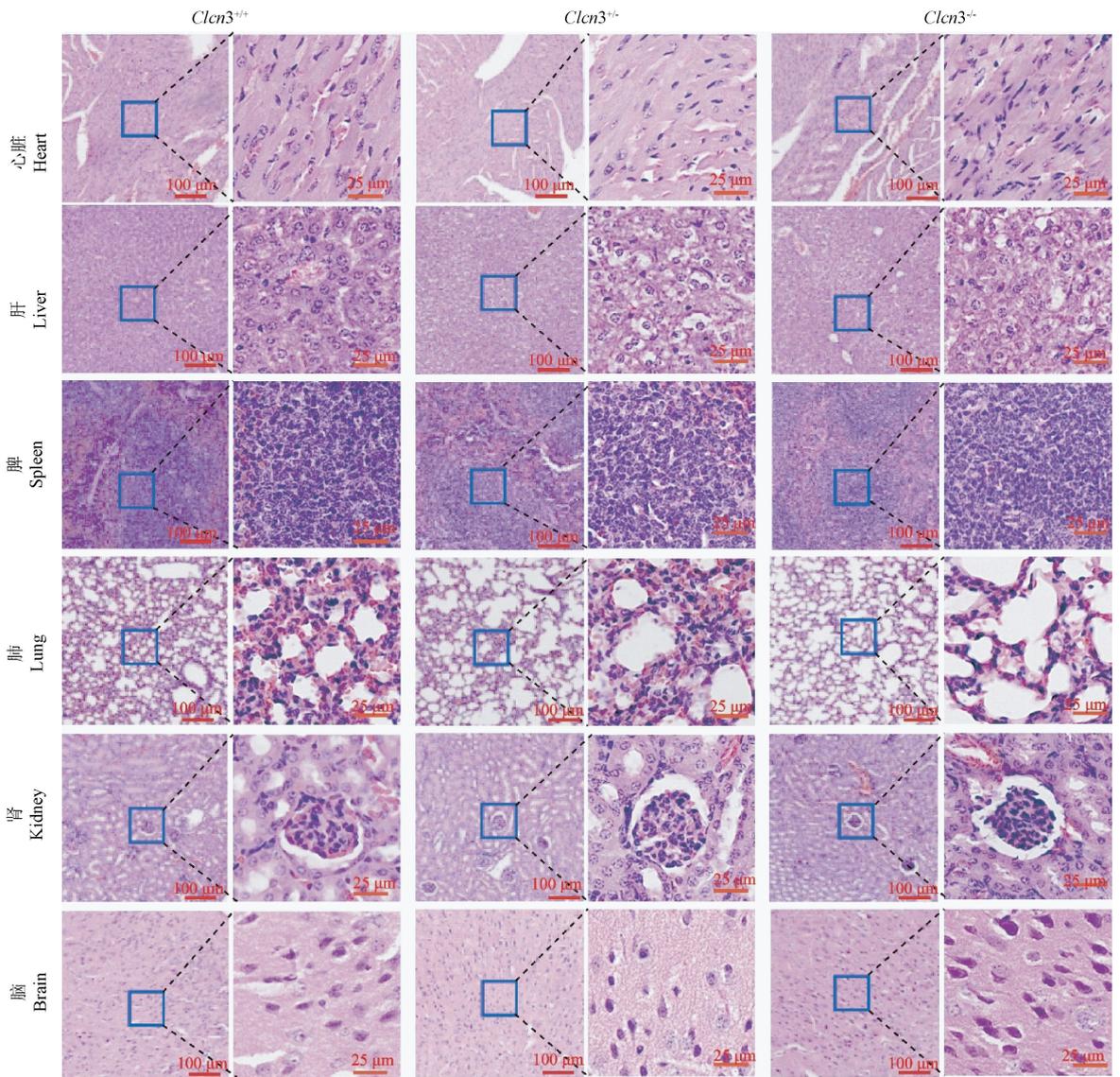


图 4 不同基因型小鼠实质器官的 HE 染色

Figure 4 Parenchymal organs HE staining of mice

Stobrawa 等<sup>[22]</sup>发现干扰 *Clcn3* 表达会导致小鼠的海马区在 7 月龄时消失,而本实验的脑组织 HE 切片显示 3 周龄小鼠的脑组织结构并没有产生明显改变,这提示我们 *Clcn3* 敲除导致小鼠海马区丢失可能是一个渐进的过程。综上所述,敲除 *Clcn3* 不会造成小鼠实质器官结构组成改变,但会导致小鼠实质器官的结构或细胞体积减小,这是导致 *Clcn3* 敲除小鼠实质器官面积和体重显著降低的主要原因之一。*Clcn3* 通过何种机制影响细胞生长、延缓器官发育,有待运用高通量测序、翻译后修饰、基因组、蛋白组学等多种技术手段更加深入地探讨研究。

基因修饰动物在生物医学领域的应用十分广

泛,例如发病机制探究,药物筛选等<sup>[25]</sup>。本实验探究了 *Clcn3* 敲除对小鼠实质器官的影响,发现敲除 *Clcn3* 会导致幼龄小鼠的实质器官减小,但未对幼龄小鼠实质器官产生明显的病理损伤,可以为相关实验研究提供理论参考。

## 4 结论

*Clcn3* 基因敲除会降低幼龄小鼠体重和实质器官的大小,但未对幼龄小鼠实质器官产生明显的病理损伤。

## 参 考 文 献 (References)

- [1] 潘萌,张燕丽,何惠明,等. 电压门控氯通道 3(CIC-3)的生物学作用及其与疾病的关系[J]. 医学分子生物学杂志,

- 2014, 5: 274-277.
- Pang M, Zhang YL, He HM, et al. The biological role of voltage-gated chloride channel 3 (ClC-3) and its relationship with disease [J]. *J Med Mol Biol*, 2014, 5: 274-277.
- [ 2 ] Hermoso M, Satterwhite CM, Andrade YN, et al. ClC-3 is a fundamental molecular component of volume-sensitive outwardly rectifying Cl<sup>-</sup> channels and volume regulation in HeLa cells and *Xenopus laevis* oocytes [J]. *J Biol Chem*, 2002, 277 (42): 40066-40074.
- [ 3 ] Duan D, Winter C, Cowley S, et al. Molecular identification of a volume-regulated chloride channel [J]. *Nature*, 1997, 390 (6658): 417-421.
- [ 4 ] 叶东, 张海峰, 朱林燕, 等. ClC-3 siRNA 抑制鼻咽癌细胞调节性容积回缩 [J]. *南方医科大学学报*, 2011, 31(2): 216-220.
- Ye D, Zhang HF, Zhu LY, et al. ClC-3 siRNA inhibits the regulated volume shrinkage of nasopharyngeal carcinoma cells [J]. *J South Med Univ*, 2011, 31(2): 216-220.
- [ 5 ] Hara-Chikuma M, Yang B, Sonawane ND, et al. ClC-3 chloride channels facilitate endosomal acidification and chloride accumulation [J]. *J Biol Chem*, 2005, 280(2): 1241-1247.
- [ 6 ] Zhou FM, Huang YY, Tian T, et al. Knockdown of chloride channel-3 inhibits breast cancer growth *in vitro* and *in vivo* [J]. *J Breast Cancer*, 2018, 21(2): 103-111.
- [ 7 ] Zhang HF, Zhu LY, Zuo WH, et al. The ClC-3 chloride channel protein is a downstream target of cyclin D1 in nasopharyngeal carcinoma cells [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2013, 45(3): 672-683.
- [ 8 ] Cuddapah VA, Habela CW, Watkins S, et al. Kinase activation of ClC-3 accelerates cytoplasmic condensation during mitotic cell rounding [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2012, 302(3): C527-538.
- [ 9 ] Habela CW, Olsen ML, Sontheimer H. ClC3 is a critical regulator of the cell cycle in normal and malignant glial cells [J]. *J Neurosci*, 2008, 28(37): 9205-9217.
- [ 10 ] Ganapathi SB, Wei SG, Zaremba A, et al. Functional regulation of ClC-3 in the migration of vascular smooth muscle cells [J]. *Hypertension*, 2013, 61(1): 174-179.
- [ 11 ] Guan YY, Wang GL, Zhou JG. The ClC-3 Cl<sup>-</sup> channel in cell volume regulation, proliferation and apoptosis in vascular smooth muscle cells [J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2006, 27(6): 290-296.
- [ 12 ] Zhang HN, Zhou JG, Qiu QY, et al. ClC-3 chloride channel prevents apoptosis induced by thapsigargin in PC12 cells [J]. *Apoptosis*, 2006, 11(3): 327-336.
- [ 13 ] Chen Q, Liu XQ, Luo ZS, et al. Chloride channel-3 mediates multidrug resistance of cancer by upregulating P-glycoprotein expression [J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(5): 6611-6623.
- [ 14 ] Hong S, Bi MM, Wang L, et al. ClC-3 channels in cancer [J]. *Oncol Rep*, 2015, 33(2): 507-514.
- [ 15 ] Wang GL, Qian Y, Qiu QY, et al. Interaction between Cl<sup>-</sup> channels and CRAC-related Ca<sup>2+</sup> signaling during T lymphocyte activation and proliferation [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2006, 27 (4): 437-446.
- [ 16 ] Huang LY, He Q, Liang SJ, et al. ClC-3 chloride channel/antiporter defect contributes to inflammatory bowel disease in humans and mice [J]. *Gut*, 2014, 63(10): 1587-1595.
- [ 17 ] Dickerson LW, Bonthuis DJ, Schutte BC, et al. Altered GABAergic function accompanies hippocampal degeneration in mice lacking ClC-3 voltage-gated chloride channels [J]. *Brain Res*, 2002, 958(2): 227-250.
- [ 18 ] Liu SW, Li Y, Zou LL, et al. Chloride channels are involved in sperm motility and are downregulated in spermatozoa from patients with asthenozoospermia [J]. *Asian J Androl*, 2017, 19(4): 418-424.
- [ 19 ] Tao J, Liu CZ, Yang J, et al. ClC-3 deficiency prevents atherosclerotic lesion development in ApoE<sup>-/-</sup> mice [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2015, 87: 237-247.
- [ 20 ] Mao JW, Chen LX, Xu B, et al. Suppression of ClC-3 channel expression reduces migration of nasopharyngeal carcinoma cells [J]. *Biochem Pharmacol*, 2008, 75(9): 1706-1716.
- [ 21 ] Xu B, Mao JW, Wang LW, et al. ClC-3 chloride channels are essential for cell proliferation and cell cycle progression in nasopharyngeal carcinoma cells [J]. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*, 2010, 42(6): 370-380.
- [ 22 ] Stobrawa SM, Breiderhoff T, Takamori S, et al. Disruption of ClC-3, a chloride channel expressed on synaptic vesicles, leads to a loss of the hippocampus [J]. *Neuron*, 2001, 29(1): 185-196.
- [ 23 ] 黄雪莲, 黄运英, 任竹潇, 等. 匹伐他汀通过影响脂肪 ClC-3 氯通道介导其降脂作用和改善胰岛素抵抗 [J]. *中国医师杂志*, 2014, 16(10): 1309-1314.
- Huang XL, Huang YY, Ren ZX, et al. Pitavastatin improves antilipemic effect and insulin resistance by regulating chloride channel protein 3 chloride channel of adipose tissue [J]. *J Chin Phys*, 2014, 16(10): 1309-1314.
- [ 24 ] Xiong D, Wang GX, Burkin DJ, et al. Cardiac-specific overexpression of the human short ClC-3 chloride channel isoform in mice [J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2009, 36(4): 386-393.
- [ 25 ] 樊林花, 刘茂林, 刘田福. 人类疾病基因工程动物模型的研究与应用 [J]. *医学综述*, 2009, 15(7): 1009-1012.
- Fan LH, Liu ML, Liu TF. Research and application of genetically engineered animal models of human diseases [J]. *Med Recapitulate*, 2009, 15(7): 1009-1012.

[收稿日期] 2021-10-14