

付铄,张雯,宋俊科,等. 亨廷顿舞蹈症实验动物模型研究进展[J]. 中国实验动物学报, 2024, 32(8): 1065-1076.

FU S, ZHANG W, SONG J K, et al. Research progress on experimental animal models of Huntington's disease [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2024, 32(8): 1065-1076.

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2024.08.014

亨廷顿舞蹈症实验动物模型研究进展

付铄,张雯,宋俊科*,杜冠华*

(中国医学科学院药物研究所,北京协和医学院,药物靶点研究与新药筛选北京市重点实验室,北京 100050)

【摘要】 亨廷顿舞蹈症(Huntington's disease, HD)是一类常染色体显性遗传的神经退行性疾病,患者主要症状为舞蹈状的不由自主运动、精神行为异常和认知障碍,严重影响患者的生活,消耗大量社会医疗资源。为了更好地理解其病理机制并探索治疗方法,已有多种 HD 实验动物模型被成功构建。本文概述了从秀丽隐杆线虫、果蝇、斑马鱼到小鼠、大鼠和小型猪等多种动物模型的建立与应用情况,并对不同动物模型的特点和优势进行了分析。通过综述不同动物模型及其相关评价指标,本文强调了综合运用多种动物模型的重要性,以期深入理解疾病的机制并制定有效的治疗策略。

【关键词】 亨廷顿舞蹈症;动物模型;模型特点;评价指标

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1005-4847 (2024) 08-1065-12

Research progress on experimental animal models of Huntington's disease

FU Shuo, ZHANG Wen, SONG Junke*, DU Guanhua*

(Beijing Key Laboratory of Drug Target and Screening Research, Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100050, China)

Corresponding author: DU Guanhua. E-mail: dugh@imm.ac.cn; SONG Junke. E-mail: smilejunke@imm.ac.cn

【Abstract】 Huntington's disease (HD) is an autosomal dominant neurodegenerative disease, with the main symptoms including chorea-like involuntary movements, psychiatric behavioral abnormalities, and cognitive impairment, which severely affect the lives of patients and consume extensive social and medical resources. Various experimental animal models of HD have been successfully established, to further our understanding of the pathological mechanisms and to explore treatment method of HD. This review outlines the establishment and application of various animal models, ranging from *Caenorhabditis elegans*, *Drosophila melanogaster* and zebrafish to mice, rats and miniature pigs, and analyzes the characteristics and advantages of the different models. By reviewing the different animal models and their relevant evaluation indicators, this article emphasizes the importance of utilizing a combination of multiple animal models to promote a deeper understanding of the disease mechanisms and develop effective treatment strategies.

【Keywords】 Huntington's disease; animal model; model characteristics; evaluation indicators

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

【基金项目】 国家重点研发计划(2020YFC2008302),中国医学科学院医学与健康科技创新工程重大协同创新项目(2022-I2M-1-015)。Funded by National Key R&D Program (2020YFC2008302), Medical and Health Science and Technology Innovation Project of Chinese Academy of Medical Sciences (2022-I2M-1-015)。

【作者简介】 付铄,女,在读硕士研究生,研究方向:神经脑血管药理学与新药发现。Email: fushuo@imm.ac.cn

【通信作者】 杜冠华,男,教授,博士生导师,研究方向:神经脑血管药理学与新药发现。Email: dugh@imm.ac.cn;

宋俊科,男,副研究员,硕士生导师,研究方向:神经脑血管药理学与新药发现。Email: smilejunke@imm.ac.cn。

* 共同通信作者

亨廷顿舞蹈症(Huntington's disease, HD)是一类常染色体显性遗传的神经退行性疾病,由于 4 号染色体上亨廷顿蛋白基因(huntingtin gene, *HTT*)第一个外显子显性突变,谷氨酰胺(氨基酸序列为 CAG)三核苷酸序列重复扩增大于 35 次,并编码多聚谷氨酰胺(polyglutamine, PolyQ)链而致病^[1-2]。突变亨廷顿蛋白(mutant huntingtin, mHTT)引起大脑纹状体损伤,导致 HD 患者舞蹈状的不自主运动、精神行为异常和认知障碍,最终活动能力完全丧失直至死亡^[3]。据《中国亨廷顿病诊治指南 2023》,亨廷顿舞蹈症发病率在不同人群的差异较大,在欧洲(5.65/100 000)和北美洲(7.43/100 000)的发病率明显高于亚洲(0.99/100 000),我国尚缺乏流行病学数据^[4]。亨廷顿舞蹈症发病无性别差异,但发病年龄差异很大,2 ~ 80 岁均可发病,平均发病年龄 30 ~ 50 岁,平均生存期 10 ~ 20 年^[5]。

鉴于 HD 疾病的复杂性和遗传特性,现有的研究试图通过建立各种动物模型来模拟疾病的发生、发展,以便更好地理解其病理过程并开发潜在的治疗方法。这些动物模型在不同程度上成功地模拟了 HD 的临床症状和分子特征,为疾病的基础研究和药物开发提供了有力工具。然而,选择易于制备并能准确模拟疾病所有特点的实验动物模型的方案,对于研究人员来说仍然是一个挑战,本文旨在综合分析当前 HD 实验动物模型的特点、制备方法及相关评价指标,以促进相关动物模型在 HD 疾病研究和治疗策略开发中的应用。

1 秀丽隐杆线虫

1999 年, FABER 等^[6]构建含有 150 个 PolyQ 的 HD 秀丽隐杆线虫模型—Htn-Q150,该模型在两栖类感觉神经元 H 类(amphid sensilla neuron class H, ASH)中形成亨廷顿蛋白(huntingtin protein, HTT)聚集体,ASH 感觉神经元是线虫头感器的一部分,随着动物年龄的增加,含有聚集体的 ASH 感觉神经元数量增加并发生进行性神经元变性,但不会导致细胞死亡。2001 年, PARKER 等^[7]构建 GFP 和人 *HTT* 氨基末端前 57 个氨基酸片段共同表达的 HD 秀丽隐杆线虫模型—57 mHtt CAG,该模型在不同的感觉神经元中表达 HTT,并导致线虫尾部机械性触觉不敏感。已有研究表明芦丁可以通过抗氧化作用维持 Htn-Q150 模型中 ASH 感觉神经元的功能,减少线虫感觉末端退化^[8]。

秀丽隐杆线虫具有生命周期短、体积小、身体透明、可以小规模液体培养等特点,方便进行神经元可视化,适用于大规模药物筛选。此外线虫细胞尺寸较大,显微操作较容易,且饲喂含有不同目的基因的细菌就可以进行特异性基因敲除,因此秀丽隐杆线虫易于设计转基因模型^[9]。但线虫的身体结构简单,神经系统特征与人类差异过大,不具备人类的复杂表型。

2 果蝇

1998 年, JACKSON 等^[10]构建了携带不同长度 CAG 束的 HD 果蝇模型—Htt-Q2、Htt-Q75、Htt-Q120,并提出 CAG 束的长度与果蝇感光神经元进行性变性正相关,其中 Htt-Q120 表现为复眼可见横纹肌数量减少^[11]。2001 年, STEFFAN 等^[12]构建 93 个 CAG 重复序列和亨廷顿外显子 1 蛋白(huntingtin exon 1 protein, Httex1p)共同表达的 HD 果蝇模型—Httex1pQ93,该模型引起果蝇的感光神经元的变性和寿命缩短,死亡率约在 70%。2004 年, LEE 等^[13]构建含有 128 个重复的致病性 PolyQ 片段的 HD 果蝇模型—Htt-Q128,该模型引起果蝇眼部粗糙和感光神经元变性,以及运动功能受损和寿命缩短。2008 年, ROMERO 等^[14]构建了含有 128 个 CAG 重复序列的全长 HD 果蝇模型—Htt128QFL,该模型引起果蝇的感光神经元进行性变性、神经递质释放增加和运动障碍,此外全长模型表达时毒性较高,导致果蝇寿命严重缩短。2011 年, SCHULTE 等^[15]构建了含有 138 个 PolyQ 和对 HTT 毒性重要的 Caspase-6 裂解片段的 HD 果蝇模型—Htt-RFP,该模型氨基末端带有新的单体红色荧光蛋白(monomeric red fluorescent protein, mRFP),可用于体内 HTT 分布的成像,因此通过检测荧光强度即可反映 HTT 的聚集情况,该模型发病的严重程度可能与人类中观察到的青少年时期发病的 HD 相对应。已有研究表明姜黄素在 Httex1pQ93 模型中改善果蝇运动能力,并减轻 PolyQ 诱导的细胞毒性^[16],中华缺萼苔和三七提取物在 Htt-Q128 模型中表现出神经保护活性并延长果蝇寿命^[17],富勒醇在 Htt128QFL 模型中发挥抗氧化作用并改善神经元活性^[18],美度铵在 Htt128QFL 模型中改善线粒体功能障碍^[19]。

果蝇的繁殖期极短、饲养成本低、基因组易于操控,复眼的感光神经元可用于反映 HD 的神经变性程度,因此 HD 果蝇模型适用于大规模药物筛选。

但是果蝇缺少人类特定的器官和系统,神经系统特征与人类差异过大,还缺乏人类特定的运动表型,如不自主运动、肌张力障碍等,因此果蝇模型无法模拟人类 HD 的复杂表型。

3 斑马鱼

1998 年, KARLOVICH 等^[20]发现斑马鱼亨廷顿病 cDNA 同源物与人类亨廷顿病蛋白的同源性为 70%, 因此提出斑马鱼是合适的 HD 动物模型。2007 年, SCHIFFER 等^[21]构建了含有绿色荧光蛋白 (green fluorescence protein, GFP) 的 HD 斑马鱼基因敲入 (knock in, KI) 模型—Q102-GFP, 用于筛选抑制 PolyQ 聚集的小分子抑制剂, 该模型能实时监测斑马鱼体内 HTT 聚集体的沉积, 主要表型为胚胎形态缺陷, 运动能力降低, 有部分胚胎产生“独眼”表型, 即斑马鱼中线处产生一只眼睛。2008 年, WILLIAMS 等^[22]构建含有增强绿色荧光蛋白 (enhanced green fluorescent protein, EGFP) 和 71 个 PolyQ 片段的 HD 斑马鱼模型—EGFP-HDQ71, 主要表型为斑马鱼视杆光感受器的视紫红质表达丧失和形成 HTT 聚集体。2022 年, KUMAR 等^[23]构建 3-硝基丙酸 (3-nitropropionic acid, 3-NP) 诱导的 HD 斑马鱼模型, 3-NP 处理的斑马鱼表现出体重减轻、进行性神经元损伤、认知障碍和运动能力衰退等表型, 积雪草提取物能改善 3-NP 诱导的 HD 斑马鱼的神经炎症和神经行为缺陷。

斑马鱼具有繁殖能力强、可以体外发育、饲养简单、价廉等特点, 因此斑马鱼适合大规模药物筛选。斑马鱼胚胎和幼鱼时期的血脑屏障尚未形成, 神经系统对药物敏感度高, 可以促进药物吸收或使用神经化学药物造模。但斑马鱼的行为学检测尚无统一的标准, 且斑马鱼缺少人类所具有的特定器官和系统, 神经系统特征与人类的差异过大, 所以不具备人类 HD 患者所表现出的复杂表型。

4 小鼠和大鼠

4.1 转基因模型

HD 转基因动物模型的造模方法大多都是针对 *HTT*, 只是在基因编辑方法和 CAG 的重复数量上有所区别。CRISPR-Cas9 技术是目前应用于基因工程小鼠模型构建的前沿方法, 显著减少了转基因模型的开发时间^[24]。转基因模型可以产生与人类患者相似的慢性表型, 有助于研究 HD 的早期发病机制

和长期并发症, 因此转基因模型是较为合适的 HD 动物模型之一, 但转基因模型也有缺点, 如饲养周期长、维系成本高。

4.1.1 表达全长人类 mHTT 转基因模型

2003 年, SLOW 等^[25]建立了酵母人工染色体 (yeast artificial chromosome, YAC) 介导的转基因小鼠模型—YAC128, 该模型携带 128 个 CAG 重复序列。YAC128 小鼠在 3 个月龄时表现为多动, 随后出现运动障碍, 最后约 12 月龄时出现运动不足。YAC128 小鼠的运动异常与纹状体神经元丢失高度相关, 因其运动缺陷较晚出现, 该模型能模拟缓慢进展的 HD。YAC128 小鼠还出现脑重量下降和体积减少的现象, 与人类 HD 患者症状较为符合, 但 YAC128 小鼠体重增加的现象与人类 HD 患者的情况相反^[26]。2021 年, DAHLENBURG 等^[27]建立了一种新型 YAC HD 小鼠模型—YACNSG, 该模型描述了免疫缺陷 HD 小鼠的特征, 为人类干细胞相关疗法提供一个良好的实验模型, 主要表型为运动功能障碍和纹状体萎缩。已有研究发现固体脂质姜黄素颗粒改善 YAC128 小鼠的学习记忆能力和认知能力^[28], 漆黄素衍生物 CMS121 改善 YAC128 小鼠的运动功能障碍^[29]。普利多匹定早期治疗改善 YAC128 小鼠的运动协调性, 降低了焦虑和抑郁样症状, 后期治疗仅改善抑郁样症状, 且有研究表明普利多匹定临床用药安全性和耐受性良好^[30-31]。

2008 年, GRAY 等^[32]研发了一种细菌人工染色体 (bacterial artificial chromosome, BAC) 介导的转基因小鼠模型—BACHD, 该模型携带 97 个混合 CAA-CAG 重复序列。BACHD 小鼠表现出进行性运动缺陷、神经元突触功能障碍和纹状体萎缩等症状, BACHD 小鼠行为学和神经病理学表型较稳定, 适合临床前研究, 但表型有性别差异, 且 BACHD 小鼠体重增加的现象与人类 HD 患者的情况相反^[33]。2022 年, SHENOY 等^[34]构建了表型更为准确的 BAC 转基因小鼠模型—BAC226Q, 该模型携带 226 个混合 CAG-CAA 重复序列, 并含有内源性人类 *HTT* 的启动子和调控元件。该模型小鼠出现运动缺陷、纹状体萎缩死亡、寿命缩短的表型, 较 BACHD 症状更准确、发病更早, BAC226Q 小鼠的运动缺陷表现为头部和身体突然的抽搐和扭曲, 类似于 HD 患者的舞蹈样运动。

4.1.2 人类 mHTT 氨基末端区域的转基因模型

1996 年, MANGIARINI 等^[35]构建了 R6 系的转

基因小鼠模型,其中 R6/1 和 R6/2 模型应用广泛,R6/1 和 R6/2 均携带了人 *HTT* 上 67 个氨基酸,其中 R6/1 转基因小鼠模型携带有 115 个 CAG 重复序列,R6/2 小鼠模型携带有 145 个 CAG 重复序列。R6/1 小鼠发病相对缓慢,在 22 ~ 26 周后开始出现神经系统症状,约 38 ~ 40 周进入终末期,该模型的主要表型有运动障碍、体重减轻、纹状体变性^[36-37]。已有研究表明,芦荟大黄素能够改善 R6/1 转基因小鼠的运动障碍,并下调 R6/1 小鼠大脑 mHTT 的水平^[38]。R6/2 小鼠呈加速表型,5 ~ 6 周开始出现运动功能障碍、体重减轻和纹状体体积缩小等症状,12 ~ 14 周进展至终末期^[39]。由于其发病早且疾病进展迅速而成为应用最广泛的模型,但 R6/2 雌性小鼠不育,繁殖需移植卵巢^[40]。已有研究表明人参皂苷 Rg3、Rf 和人参皂苷化合物 K 可以降低 R6/2 小鼠神经元毒性并减少 mHTT 的聚集^[41-42],漆黄素衍生物 CMS121 能够改善 R6/2 小鼠运动功能障碍^[29]。

1999 年, SCHILLING 等^[43] 构建了 82 个 PolyQ 和人类 *HTT* 氨基前 171 氨基酸共同表达的转基因小鼠模型—N171-82Q。N171-82Q 小鼠从 12 ~ 13 周开始出现运动障碍、记忆缺陷、纹状体缩小,6 个月左右死亡,平均寿命显著减少^[44]。该模型的 HD 表型出现的较晚,适合模拟成年时期发病的 HD 患者。已有研究表明,人参衍生物可以减轻 N171-82Q 小鼠纹状体神经元的损伤^[45],三苯甲酸甘油酯能够降低 N171-82Q 小鼠纹状体中 mHTT 的水平,发挥神经保护功能^[46]。2011 年,TEBBENKAMP 等^[47] 开发了 N586-82Q 模型,具体表型为体重和脑重量减轻、纹状体中特定 mRNA 减少,该模型最独特的特征是进行性运动障碍和共济失调。

4.1.3 基因敲入模型

2001 年, LIN 等^[48] 利用基因打靶技术将小鼠的 CAG 短重复序列替换为导致人类致病的长 CAG 重复序列,构建了 HD 小鼠的 KI 模型—HdhQ150 (Hdh 基因是小鼠的亨廷顿舞蹈症基因)。HdhQ150 KI 小鼠模型 70 周龄开始出现明显的运动障碍和体重减轻,100 周龄出现纹状体神经元数量减少,因其神经元功能衰退时间较长,有助于研究 HD 早期神经元变性的机制^[49]。这一类 KI 模型包含 50 ~ 365 个 CAG 重复序列—HdhQ50、HdhQ100、HdhQ150、HdhQ200、HdhQ315、HdhQ365^[40]。还有研究用同源重组技术构建了精确表达 mHTT 的 KI 模型—

HdhQ20、HdhQ50、HdhQ92 和 HdhQ111,分别插入了 18、48、90 和 109 个 CAG 重复序列^[50]。

2003 年, MENALLED 等^[51] 开发了一种新的 HD KI 小鼠模型—CAG140,该模型含有 140 个 CAG 重复序列,这些小鼠在 4 ~ 5 周出现活动增加,随后在 18 ~ 20 周活动减少,1 岁出现步态异常,且 CAG140 小鼠长期识别记忆受损,嗅觉系统在 HD 早期出现明显异常,这与 HD 患者早期气味辨别能力缺陷相关。2012 年, MENALLED 等^[52] 又构建了携带约 188 个 CAG 重复序列的新转基因小鼠品系—zQ175,该模型源自 CAG140 小鼠模型 CAG 重复序列的自发扩增,2 ~ 4 月龄出现运动障碍和体重减轻,10 ~ 12 月龄出现纹状体依赖性认知缺陷^[53]。已有研究表明二甲双胍能够减少 zQ175 小鼠纹状体中 mHTT 的聚集,并恢复神经元功能^[54]。

4.2 神经毒性模型

4.2.1 兴奋性毒性机制

1986 年, BEAL 等^[55] 发现喹啉酸 (quinolinic acid, QA) 引起的大鼠纹状体病变与 HD 患者的病变症状非常相似,因此构建了 QA 诱导的 HD 大鼠模型,该模型基于纹状体神经元兴奋性毒性机制。QA 通过立体定位仪经纹状体途径给药,在剪开大鼠头部皮肤并清理骨膜后,以前囟为坐标原点,参照大鼠脑立体定位图谱确定纹状体坐标位置,用微量注射泵将 QA 溶液缓慢注射到大鼠纹状体^[56]。麻醉剂氯胺酮干扰 QA 诱导的 HD 大鼠模型的造模效果,可能的机制是氯胺酮抑制 QA 引起的兴奋性毒性,所以在 QA 诱导的 HD 模型中尽量避免使用氯胺酮作为麻醉剂^[57]。QA 常用的造模动物有 SD 大鼠和 Wistar 大鼠,该类型动物对 QA 耐受性良好,死亡率低^[56,58]。此外无胸腺的 FOX-N1 大鼠可以用于移植异体细胞实验,C57BL/6J 可以用于转基因实验^[59-60]。已有研究表明米诺环素和罗氟司特能够减轻 QA 诱导的大鼠的纹状体变性后的神经炎症,改善大鼠的亨廷顿样症状^[58,61]。QA 诱导的神经元细胞死亡是急性的,但人类 HD 患者的神经元细胞死亡是进行性发展的,因此该模型不如转基因 HD 模型的慢性发病更具有参考价值,此外开颅注射的方式也可能对实验动物有潜在影响。

1977 年, SCHWARCZ 等^[62] 发现向大鼠纹状体注射海人酸 (kainic acid, KA) 可产生类似 HD 神经元变性的症状。KA 基于纹状体神经元兴奋性毒性机制诱导纹状体神经元变性,使动物产生 HD 样症

状,但 KA 引起远隔部位的严重病变,破坏通道纤维,使得 KA 全身给药的癫痫发生率和死亡率高,所以近二十年来使用 KA 诱导建立 HD 模型相关研究较少^[63]。

4.2.2 改变线粒体代谢机制

1996 年, GALPERN 等^[64]最早提到 3-NP 诱导了纹状体神经元变性,3-NP 诱导 HD 模型的机制是改变线粒体代谢,使动物纹状体损伤,引发能量损伤、兴奋性毒性和氧化应激,最终导致神经元细胞死亡^[65]。3-NP 具有能穿过血脑屏障的特性,因此可以通过腹腔全身给药。3-NP 具有时间依赖性和剂量依赖性,已有研究表明,小剂量 3-NP 单次给药会对 HD 起到神经保护作用,所以必须以一定浓度连续腹腔注射若干天才能对纹状体造成伤害^[66]。不同类型的大鼠对 3-NP 的毒性反应不同,在 Fisher 大鼠中最高,在 SD 大鼠中处于中间,在 Lewis 大鼠中最低,因此 3-NP 对 Fisher 大鼠毒性很大,不适用于 3-NP 模型^[67]。SD 大鼠使用 3-NP 的个体差异很大,且使用 3-NP 的安全浓度范围非常狭窄,当稍低剂量 12 mg/kg 给药时,只有少部分动物产生轻度或极严重的症状,将剂量增加至 14 mg/kg,死亡率将大幅度增加,但只有一半的动物表现出 HD 症状^[67]。Lewis 大鼠对 3-NP 毒性反应的个体间差异较小,低剂量 36 mg/kg 给药 5 d 后,大部分动物都有明显运动症状,将 3-NP 的剂量增加,几乎全部动物都出现运动表型,存活率接近 100%,但 Lewis 大鼠对剂量不敏感,给药量大^[67]。据已有的文献, Wistar 大鼠在 3-NP 诱导 HD 模型中使用最多,最低造模条件是 20 mg/kg 连续注射 4 d 或 10 mg/kg 连续注射 14 d^[68-69]。已有研究表明姜黄素、槲皮素能够改善 3-NP 诱发的线粒体功能障碍,发挥神经保护作用^[70-71]。3-NP 诱导的 HD 模型操作简便,但造模周期较长,且诱导的动物神经元细胞急性死亡,不如转基因模型更具参考价值。

2010 年, KALONIA 等^[72]根据丙二酸 (malonic acid, MA) 能引起纹状体氧化损伤而构建 MA 诱导的 HD 模型。MA 是琥珀酸脱氢酶的可逆抑制剂,改变线粒体代谢诱导细胞死亡。该模型相关研究较少,但仍有研究对 MA 剂量进行了标准化,低剂量的 MA 并没有引起动物行为改变,随着剂量的逐渐增加,MA 引起动物运动协调性受损^[72-73]。

5 小型猪

YAN 等^[74]用基因编辑和体细胞核移植技术建

立亨廷顿舞蹈症的猪模型,转基因猪模型的构建方法和转基因小鼠模型类似,利用 CRISPR-Cas9 技术将 150 个 CAG 重复序列插入到猪成纤维细胞的 *HTT* 中,并利用体细胞核移植技术开发了表达全长突变 *HTT* 敲入的猪模型。转基因猪呈现出 mHTT 的聚集、行动能力受损和整体健康衰退等症状,和人类患者的 HD 症状相近^[74]。HD KI 猪的主要表型有大脑体积减小、纹状体缩小、体重减轻和早期死亡^[74-75]。

猪繁殖期短,产仔数大,且猪的大脑与人脑大小接近,有多脑回,因此猪模型非常适合作为 HD 模型。但猪的实验需要更高的成本,实验操作需要经过专业培训,且行为学测试尚无统一标准。

以上各模型的优点和局限性见表 1。神经毒性模型的制备方法见表 2。

6 常见的亨廷顿舞蹈症实验动物模型评价指标

6.1 生存状况—体重,存活率

记录动物体重、存活率是为了进行健康监测和评估药物作用。转基因和神经化学造模的 HD 动物的体重会随着年龄和造模时间的变化而变化,所以需要在每天同一时间称量动物的体重并记录,通过观察动物的体重变化和动物的存活率,可以判断 HD 的进展和造模剂量是否合适^[68]。

6.2 运动能力测试

6.2.1 旷场实验

该实验评估动物自发活动的能力。将动物放在旷场中间,在明暗两个阶段测试以下 5 个数据:总运动量、旷场中心运动量、旷场中间站立率、总站立次数和站立速度,明期在正常白光下进行,暗期在红光下进行,通过旷场的红外线光束记录动物的活动^[52]。HD 动物会出现夜间过度活动的现象。

6.2.2 步态测试

该实验评估单侧纹状体受损动物的步态和运动情况。将实验动物从笼中取出,放在水平的桌面上,观察动物的运动方向和步态。左侧纹状体受损的 HD 动物会出现倾向于沿逆时针方向运动,还会出现步态不稳、左右不协调以及头部、身体、尾巴的震颤抽搐行为等^[52]。

6.2.3 触须诱发的前肢放置测试

该实验用于评估动物接收触觉刺激后,控制前肢的运动能力。用右手抓牢动物的躯干,将其身体

表 1 亨廷顿舞蹈症动物模型优点和局限性

Table 1 Huntington's disease animal model advantages and limitations

物种 Species	模型 Model	优点 Advantages	局限性 Limitations	参考文献 References
秀丽隐杆线虫 <i>Caenorhabditis elegans</i>	Htn-Q150	繁殖期短; 基因编辑较容易	年龄依赖性 Age-dependence	[6]
	57mHtt CAG	Short breeding period, easy gene editing	无人类复杂表型 Lack of complex human phenotypes	[7]
	Htt-Q120	繁殖期极短;复眼症状明显;不影响生存能力 Short breeding period, obvious compound eye symptoms, does not affect survival ability	无人类复杂的表型;无运动表型 Lack of complex human phenotypes, no movement phenotype	[10]
	Httex1pQ93		无人类复杂的表型;无运动表型; 死亡率过高 Lack of complex human phenotypes, no movement phenotype, high mortality rate	[12]
果蝇 <i>Drosophila melanogaster</i>	Htt-Q128	繁殖期极短;复眼症状明显 Short breeding period, obvious compound eye symptoms	无人类复杂的表型 Lack of complex human phenotypes	[13]
	Htt128QFL		无人类复杂的表型;毒性大 Lack of complex human phenotypes, high toxicity	[14]
	Htt-RFP (Q138)		无人类复杂的表型;仅用作 人类青少年发病模型 Lack of complex human phenotypes, only used as an adolescent HD model	[15]
	3-NP	胚胎血脑屏障无阻隔 Embryonic blood-brain barrier is unblocked	无人类复杂的表型;造模操作要求高 Lack of complex human phenotypes, modeling operation requires high requirements	[23]
斑马鱼 Zebrafish	Q102-GFP	繁殖期短;体外发育 Short breeding period, ectogenesis	实时监测疾病进程 Disease process can be monitored in real time	[21]
	EGFP-HDQ71		变性程度易观察 Degeneration is easy to observe	[22]
	YAC128	能模拟缓慢进展的 HD Can simulate the slow progress of HD	体重增加与人类表型不符 Weight gain is not consistent with human phenotype	[25-26]
	YACNSG	进行干细胞疗法 Stem cell therapy	疾病晚期表型不明显 Phenotype is not obvious in the late stage of the disease	[27]
转基因小鼠 模型 Transgenic mouse model	BACHD	表型稳定 Phenotype stability	表型有性别差异;体重增加 与人类表型不符 Gender differences in phenotype, weight gain is not consistent with human phenotype	[32-33]
	BAC226Q	运动表型更明显;发病更早;表型稳健 Motor phenotype is more obvious, earlier onset, phenotype stability	在体细胞不稳定性方面的研究受到限制 Research on somatic cell instability is limited	[34]
	R6/1	表型全面 Comprehensive phenotype	发病缓慢;表型不稳定 Slow onset, phenotype instability	[35-37]
	R6/2	发病早;进展快 Earlier onset, rapid progression	雌鼠不育;表型不稳定 Female mice infertility, phenotype instability	[39-40]
	N171-82Q	表型稳定;模拟成年 HD 发病 Phenotype stability, simulation of adult HD onset	发病缓慢 Slow onset	[43-44]
	N586-82Q	表型更典型 More typical phenotype	海马体出现严重退化 Profound degeneration of the hippocampus	[47]

续表 1

物种 Species	模型 Model	优点 Advantages	局限性 limitations	参考文献 References
神经毒性模型 Neurotoxicity model	Hdh150	遗传精度高;适合 HD 早期发病机制的研究 High genetic accuracy, for the study of early HD pathogenesis	发病缓慢;表型不稳定 Slow onset, phenotypic instability	[48–50]
	CAG140	有早期特定的行为变化 Early specific behavioral changes	表型不稳定 Phenotypic instability	[51]
	zQ175	表型稳定 Phenotypic stability	部分小鼠死于癫痫 Some mice died of epilepsy	[52–53]
	QA	损伤集中在纹状体;制备速度快;成本低 Damage was concentrated in the striatum, fast preparation speed, lower cost	难以建立慢性 HD 模型;造模创口大 It is difficult to establish a chronic HD model, modeling wound is large	[56]
	KA	制备速度快;成本低 Fast preparation speed, lower cost	癫痫率高;死亡率高 High rate of epilepsy, high mortality rate	[62–63]
	3-NP	能透过血脑屏障;制备速度快;成本低 Through the blood-brain barrier, fast preparation speed, lower cost	造模周期较长;可选择的动物类型少 Longer modeling cycle, fewer types of animals to choose from	[64–65, 67]
小型猪 Miniature pig	MA	制备速度快;成本低 Fast preparation speed, lower cost	低剂量无效 Low dose ineffective	[72–73]
	HD 基因敲入猪 HD KI miniature pig	繁殖期短;脑和人类更接近 Short breeding period, brain is closer to humans	饲养成本高;无标准行为 学测试方法 High feeding cost, there is no standard behavioral test method	[74–75]

表 2 亨廷顿舞蹈症神经毒性模型的制备方法

Table 2 Preparation method of Huntington’s disease neurotoxicity model

模型 Model	动物种类 Species	给药方法 Dosing method	剂量 Dosage	特点 Characteristics	参考文献 References
QA	SD 大鼠/Wistar 大鼠 SD rats/Wistar rats	纹状体注射 Striatum injection	200 ~ 270 nmol/μL (注射体积 1 μL) 200 ~ 270 nmol/μL (Injection volume 1 μL)	耐受性良好;死亡率低 Good tolerance, low mortality	[56, 58]
	无胸腺的 FOX-N1 大鼠 Athymic FOX-N1 rats	纹状体注射 Striatum injection	210 nmol/μL (注射体积 1 μL) 210 nmol/μL (Injection volume 1 μL)	用于移植异体细胞 For transplantation of allogeneic cells	[60]
	C57BL/6J 小鼠 C57BL/6J mice	纹状体注射 Striatum injection	30 nmol/μL (注射体积 1 μL) 30 nmol/μL (Injection volume 1 μL)	用于转基因实验 For transgenic experiments	[59]
KA	SD 大鼠 SD rats	纹状体注射 Striatum injection	2 μg	癫痫发生率高 High incidence of epilepsy	[62–63]
3-NP	Wistar 大鼠 Wistar rats	腹腔注射 Intraperitoneal injection	20 mg/kg (4 ~ 5 d) 或 10 mg/kg (14 d)	剂量和时间依赖性 Dose-and time-dependent	[68-69]
	SD 大鼠 SD rats	腹腔注射 Intraperitoneal injection	12 ~ 14 mg/kg (5 d)	个体差异显著;少部分 海马体病变 Significant individual differences, a small number of hippocampal lesions	[67]
	Lewis 大鼠 Lewis rats	腹腔注射 Intraperitoneal injection	36 ~ 45 mg/kg (5 d)	个体差异较小 Small individual differences	[67]
MA	Wistar 大鼠 Wistar rats	纹状体注射 Striatum injection	6 μmol/L (注射体积 4 μL) 6 μmol/L (Injection volume 4 μL)	低剂量无效 Low dose ineffective	[73]

与桌面的边缘平行放置,用动物右侧胡须触碰桌子边上,左右两侧各测试 5 次。左侧纹状体受损的 HD 动物右前肢响应次数较少,严重者右侧完全不响

应,所以该实验能评估 HD 动物触觉和运动的关联情况^[56]。

6.2.4 握力实验

该实验评估动物的运动能力和对前后爪的控制能力。抓起动物的背部和尾部,然后将其放至连接测力计的网状抓握装置上,并使动物用两只前爪抓住,然后将动物放向平台,用持续的力量轻轻地向后拉,直到动物松开抓握,记录此时的前肢抓力^[52]。HD 动物的握力减少,记录动物握力变化能评估 HD 动物运动能力和对肢体的控制能力的变化。

6.2.5 提尾测试

该实验观察动物单侧纹状体受损后的运动障碍情况。提起动物尾部后 1/3 段,在其躯干与桌面垂直时开始计时,在 3 min 内记录其向左或向右摆动身体的次数与幅度。左侧纹状体受损的动物在造模后应表现为更倾向于向右侧摆动或右侧摆动幅度大于左侧,严重者只能向右侧摆动,所以提尾实验可以评估 HD 动物的运动能力的变化^[56]。

6.2.6 诱导旋转实验

该实验评估动物单侧纹状体损伤情况。阿朴吗啡腹腔注射后观察动物向一侧的旋转行为,成功的 HD 动物模型在给药后 5 min 内开始出现旋转,旋转时动物身体向纹状体受损侧屈曲成环状,头尾衔接,所以诱导旋转实验能评估神经化学模型造模后动物单侧纹状体损伤的情况^[59]。

6.3 平衡与协调能力测试

6.3.1 转棒实验

转棒实验可以评估动物的运动协调能力。以大鼠为例,在正式实验之前,所有大鼠先进行 3 d 的转棒训练,转速为 4 r/min,每次 3 min,每天 3 次。正式实验中,对大鼠做加速实验,转棒从 4 r/min 到 20 r/min 加速旋转,记录大鼠的掉落的时间,若大鼠停留超过 300 s 则移开大鼠^[68]。造模成功的 HD 动物从转棒上掉落变快。

6.3.2 平衡木实验

该实验评估动物的运动与平衡协调能力。使大鼠穿过一个高架的狭窄木梁,记录大鼠步态异常的次数和穿越木梁所需的时间。该装置由两个平台(直径 8 cm)组成,由木梁(0.5 mm × 2.0 cm × 120 cm)连接,横梁高出地面(50 cm),训练前让大鼠适应 5 min^[58]。HD 大鼠会出现肢体滑出木梁的现象,且比正常大鼠穿越木梁所用时间更多。

6.3.3 平台实验

该实验测试动物的平衡协调能力。用一个明显比实验动物站立所需面积小的平台进行此项测试,观察动物能否在平台上保持平衡。HD 动物能够在平台上短暂保持平衡但四肢无法都落在平台上,严重者在平台上不能保持平衡^[56]。

6.4 学习和记忆能力测试

6.4.1 新物体识别测试

该实验评估动物的学习和记忆能力。将动物放入装有两个相同物体的开放盒子中进行物体识别训练,当动物与物体的距离 < 2 cm 或用四肢接触物体时定义为识别时间,当总识别时间达到 20 s 或者总实验时间达到 5 min,停止实验并记录此过程花费的时间。24 h 后进行新物体识别测试,将其中一个物体替换为一个新物体,并计算新物体识别指数(识别指数 = 新物体识别时间/总物体识别时间)^[76]。HD 动物对新物体的识别较慢。

6.4.2 Morris 水迷宫实验

该实验可评估动物的认知能力、空间导航能力和记忆能力。该实验利用动物会游泳但不喜水的特点,在开始阶段,将动物放入水迷宫中,动物可能会随机游泳寻找平台,但随着时间的推移,动物会学会通过线索来定位平台的位置。然后进入测试阶段,平台被移动到不同的位置,甚至被移除,动物需根据之前学到的信息来重新找到目标^[77]。HD 动物学习能力下降,重新寻找新目标的时间变长。

6.4.3 Y 迷宫实验

该实验评估动物的短期空间学习和记忆能力。先让动物对环境进行适应,再让动物进入探索阶段,封锁一个臂,让动物先在两个开放臂自由探索 5 min。2 h 后进入测试阶段,把动物放在探索阶段放下的位置,记录动物进入每个臂的次数和滞留总时间^[78]。HD 动物的记忆功能变差,探索新臂的时间和次数减少。

6.5 焦虑测试

6.5.1 强迫游泳实验

该实验评估动物的神经损伤程度。将大鼠分别放入有机玻璃桶中,强迫其游泳 6 min,记录大鼠的不动时间。当动物停止挣扎或仅为了保持平衡或漂浮而运动时,记录时间^[68]。HD 动物越焦虑,则停止挣扎的时间越短。

6.5.2 高架十字迷宫实验

该实验用来评价动物焦虑程度。迷宫由高处

放置两个开放臂和两个封闭臂组成,该实验利用了动物对开放高空的恐惧和对新环境的好奇心之间的心理矛盾,来检测动物的焦虑程度。测试前让每只动物适应迷宫环境,正式实验将动物置于迷宫开臂和闭臂交接处中间位置,记录动物进入开臂和闭臂的次数和滞留所用的总时间^[79]。动物进入开臂次数更多,滞留时间更长预示焦虑程度低,测量总运动距离可以评价自发活动水平。

6.6 病理检测

6.6.1 TTC 染色

该实验可以观察动物纹状体损伤面积。取动物脑组织,将脑和手术工具一起放入冰箱速冻,将脑组织切成 5 ~ 6 片,置于 TTC 中染色均匀后拍照^[80]。HD 动物的纹状体会有一定的损伤,在行为学的基础上,TTC 染色能进一步判断造模情况。

6.6.2 尼氏染色

该实验可以观察神经元的损伤情况。取动物脑组织,经固定液固定、石蜡包埋、切片后,对尼氏小体染色,观察尼氏小体的数量^[68]。HD 动物尼氏小体数量减少。

6.6.3 苏木素-伊红(HE)染色

该实验观察细胞内部的结构形态来判断神经元细胞的异常情况。HE 染色用低温恒温器将新鲜待观察的动物组织切片,并直接安装在 4% 明胶包被的载玻片上风干过夜,然后将切片在蒸馏水中水合,首先用苏木素染色,然后用伊红染色,在乙醇中脱水并在二甲苯中透明化,最后通过软件绘制切片并分析^[60]。HD 动物的纹状体神经元发生异常变化,可以通过 HE 染色观察其异常改变的情况。

7 总结

随着对 HD 研究的深入,动物模型已成为理解其病理机制和开发治疗方法不可或缺的工具。从简单的秀丽隐杆线虫、果蝇、斑马鱼,再到复杂的小鼠、大鼠和猪模型,每种动物模型都在不同的研究方面展示了其独特的价值。例如,较简单的模型如秀丽隐杆线虫、果蝇和斑马鱼,以其繁殖快速、基因操作简便的特点,在基础生物学和药物筛选方面显示出极大的优势。而小鼠、大鼠和基因敲入猪模型,由于其与人类在生理和遗传层面的相似性更高,为模拟疾病的复杂性和评估治疗策略提供了更为精确的平台。

虽然,目前的 HD 动物模型构建已取得一定的

进展,但建立稳定、可靠、可控的 HD 模型尚面临一些问题,主要包括:神经化学造模方法无法模拟人类 HD 的进行性发展,其主要导致神经元的急性死亡;动物个体之间的差异可能导致实验操作如纹状体注射的误差,以及颅骨开放性伤口可能对实验结果产生潜在影响;现有模型通常无法准确表现人类 HD 的复杂运动表型;此外,啮齿类动物的脑结构与人类脑的差异也限制了这些模型的应用。目前任何模型都无法完整地呈现人类 HD 的所有症状,因此如何开发出更为接近人类 HD 的动物模型是一个迫切需要解决的科学问题。

未来的 HD 研究需要继续优化现有模型,开发新的模型,以便更好地理解这一复杂疾病的多方面特征。此外,多模型比较研究和多模型综合分析将是未来研究的重要方向,以期在多层面对疾病解读疾病机制,推动 HD 治疗策略的创新与发展。

参 考 文 献(References)

- [1] A novel gene containing a trinucleotide repeat that is expanded and unstable on Huntington's disease chromosomes. The Huntington's disease collaborative research group [J]. Cell, 1993, 72(6): 971-983.
- [2] MEDINA A, MAHJOUB Y, SHAVER L, et al. Prevalence and incidence of Huntington's disease: an updated systematic review and meta-analysis [J]. Mov Disord, 2022, 37(12): 2327-2335.
- [3] TABRIZI S J, ESTEVEZ-FRAGA C, VAN ROON-MOM W M C, et al. Potential disease-modifying therapies for Huntington's disease: lessons learned and future opportunities [J]. Lancet Neurol, 2022, 21(7): 645-658.
- [4] 中华医学会神经病学分会神经遗传学组. 中国亨廷顿病诊治指南 2023 [J]. 中华神经科杂志, 2023, 56(8): 848-855. Neurogenetics Group, Society of Neurology, Chinese Medical Association. Chinese guidelines for diagnosis and treatment of Huntington's disease 2023 [J]. Chin J Neurol, 2023, 56(8): 848-855.
- [5] WALKER F O. Huntington's disease [J]. Lancet, 2007, 369(9557): 218-228.
- [6] FABER P W, ALTER J R, MACDONALD M E, et al. Polyglutamine-mediated dysfunction and apoptotic death of a *Caenorhabditis elegans* sensory neuron [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1999, 96(1): 179-184.
- [7] PARKER J A, CONNOLLY J B, WELLINGTON C, et al. Expanded polyglutamines in *Caenorhabditis elegans* cause axonal abnormalities and severe dysfunction of PLM mechanosensory neurons without cell death [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2001, 98(23): 13318-13323.
- [8] CORDEIRO L M, SOARES M V, DA SILVA A F, et al. Neuroprotective effects of rutin on ASH neurons in *Caenorhabditis*

- elegans* model of Huntington's disease [J]. *Nutr Neurosci*, 2022, 25(11): 2288–2301.
- [9] VOISINE C, VARMA H, WALKER N, et al. Identification of potential therapeutic drugs for Huntington's disease using *Caenorhabditis elegans* [J]. *PLoS One*, 2007, 2(6): e504.
- [10] JACKSON G R, SALECKER I, DONG X, et al. Polyglutamine-expanded human huntingtin transgenes induce degeneration of *Drosophila* photoreceptor neurons [J]. *Neuron*, 1998, 21(3): 633–642.
- [11] REITER L T, POTOCKI L, CHIEN S, et al. A systematic analysis of human disease-associated gene sequences in *Drosophila melanogaster* [J]. *Genome Res*, 2001, 11(6): 1114–1125.
- [12] STEFFAN J S, BODAI L, PALLOS J, et al. Histone deacetylase inhibitors arrest polyglutamine-dependent neurodegeneration in *Drosophila* [J]. *Nature*, 2001, 413(6857): 739–743.
- [13] LEE W C M, YOSHIHARA M, LITTLETON J T. Cytoplasmic aggregates trap polyglutamine-containing proteins and block axonal transport in a *Drosophila* model of Huntington's disease [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2004, 101(9): 3224–3229.
- [14] ROMERO E, CHA G H, VERSTREKEN P, et al. Suppression of neurodegeneration and increased neurotransmission caused by expanded full-length huntingtin accumulating in the cytoplasm [J]. *Neuron*, 2008, 57(1): 27–40.
- [15] SCHULTE J, SEPP K J, WU C, et al. High-content chemical and RNAi screens for suppressors of neurotoxicity in a Huntington's disease model [J]. *PLoS One*, 2011, 6(8): e23841.
- [16] CHONGTHAM A, AGRAWAL N. Curcumin modulates cell death and is protective in Huntington's disease model [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 18736.
- [17] TESEO S, HOUOT B, YANG K, et al. *G. sinense* and *P. notoginseng* extracts improve healthspan of aging flies and provide protection in a Huntington disease model [J]. *Aging Dis*, 2021, 12(2): 425–440.
- [18] BOLSHAKOVA O I, BORISENKOVA A A, GOLOMIDOV I M, et al. Fullerenols prevent neuron death and reduce oxidative stress in *Drosophila* Huntington's disease model [J]. *Cells*, 2022, 12(1): 170.
- [19] CRISTO F D, FINICELLI M, DIGILIO F A, et al. Meldonium improves Huntington's disease mitochondrial dysfunction by restoring peroxisome proliferator-activated receptor γ coactivator 1 α expression [J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(6): 9233–9246.
- [20] KARLOVICH C A, JOHN R M, 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.
- [21] SCHIFFER N W, BROADLEY S A, HIRSCHBERGER T, et al. Identification of anti-prion compounds as efficient inhibitors of polyglutamine protein aggregation in a zebrafish model [J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(12): 9195–9203.
- [22] WILLIAMS A, SARKAR S, CUDDON P, et al. Novel targets for Huntington's disease in an mTOR-independent autophagy pathway [J]. *Nat Chem Biol*, 2008, 4(5): 295–305.
- [23] KUMAR V, SINGH C, SINGH A. Neuroprotective potential of hydroalcoholic extract of *Centella asiatica* against 3-nitropropionic acid-induced Huntington's like symptoms in adult zebrafish [J]. *Rejuvenation Res*, 2022, 25(6): 260–274.
- [24] PLATT R J, CHEN S, ZHOU Y, et al. CRISPR-Cas9 knockin mice for genome editing and cancer modeling [J]. *Cell*, 2014, 159(2): 440–455.
- [25] SLOW E J, VAN RAAMSDONK J, ROGERS D, et al. Selective striatal neuronal loss in a YAC128 mouse model of Huntington disease [J]. *Hum Mol Genet*, 2003, 12(13): 1555–1567.
- [26] PLÁCIDO E, GOMES WELTER P, WINK A, et al. Beyond motor deficits: environmental enrichment mitigates Huntington's disease effects in YAC128 mice [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(16): 12607.
- [27] DAHLENBURG H, CAMERON D, YANG S, et al. A novel Huntington's disease mouse model to assess the role of neuroinflammation on disease progression and to develop human cell therapies [J]. *Stem Cells Transl Med*, 2021, 10(7): 1033–1043.
- [28] GHARAIBEH A, MAITI P, CULVER R, et al. Solid lipid curcumin particles protect medium spiny neuronal morphology, and reduce learning and memory deficits in the YAC128 mouse model of Huntington's disease [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(24): 9542.
- [29] ATEG G, TAGUCHI T, MAHER P. CMS121 partially attenuates disease progression in mouse models of Huntington's disease [J]. *Mol Neurobiol*, 2024, 61(4): 2165–2175.
- [30] GARCIA-MIRALLES M, GEVA M, TAN J Y, et al. Early pridopidine treatment improves behavioral and transcriptional deficits in YAC128 Huntington disease mice [J]. *JCI Insight*, 2017, 2(23): e95665.
- [31] SQUITIERI F, LANDWEHRMEYER B, REILMANN R, et al. One-year safety and tolerability profile of pridopidine in patients with Huntington disease [J]. *Neurology*, 2013, 80(12): 1086–1094.
- [32] GRAY M, SHIRASAKI D I, CEPEDA C, et al. Full-length human mutant huntingtin with a stable polyglutamine repeat can elicit progressive and selective neuropathogenesis in BACHD mice [J]. *J Neurosci*, 2008, 28(24): 6182–6195.
- [33] BAHAT A, ITZHAKI E, WEISS B, et al. Lowering mutant huntingtin by small molecules relieves Huntington's disease symptoms and progression [J]. *EMBO Mol Med*, 2024, 16(3): 523–546.
- [34] SHENOY S A, ZHENG S, LIU W, et al. A novel and accurate full-length HTT mouse model for Huntington's disease [J]. *Elife*, 2022, 11: e70217.
- [35] 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.
- [36] HANSSON O, PETERSÉN A, LEIST M, et al. Transgenic mice expressing a Huntington's disease mutation are resistant to quinolinic acid-induced striatal excitotoxicity [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1999, 96(15): 8727–8732.
- [37] AYTON S, LEI P, APPUKUTTAN A T, et al. Brain zinc deficiency exacerbates cognitive decline in the R6/1 model of Huntington's disease [J]. *Neurotherapeutics*, 2020, 17(1): 243–251.
- [38] YAN N, WANG S, GAO H, et al. Neuroprotective effect of aloe emodin against Huntington's disease-like symptoms in R6/1 transgenic mice [J]. *Food Funct*, 2023, 14(11): 5205–5216.
- [39] HOCKLY E, CORDERY P M, WOODMAN B, et al. Environmental enrichment slows disease progression in R6/2 Huntington's disease mice [J]. *Ann Neurol*, 2002, 51(2): 235–242.
- [40] FARSHIM P P, BATES G. Mouse models of Huntington's disease [M]. New York: Springer New York; 2018.
- [41] HUA K F, CHAO A C, LIN T Y, et al. Ginsenoside compound K reduces the progression of Huntington's disease via the inhibition of oxidative stress and overactivation of the ATM/AMPK pathway [J]. *J Ginseng Res*, 2022, 46(4): 572–584.
- [42] LEE M, BAN J J, WON B H, et al. Therapeutic potential of ginsenoside Rg3 and Rf for Huntington's disease [J]. *In Vitro Cell Dev Biol Anim*, 2021, 57(6): 641–648.
- [43] SCHILLING G, BECHER M W, SHARP A H, et al. Intracellular inclusions and neuritic aggregates in transgenic mice expressing a mutant N-terminal fragment of huntingtin [J]. *Hum Mol Genet*, 1999, 8(3): 397–407.
- [44] ANDREASSEN O A, DEDEOGLU A, FERRANTE R J, et al. Creatine increase survival and delays motor symptoms in a transgenic animal model of Huntington's disease [J]. *Neurobiol Dis*, 2001, 8(3): 479–491.
- [45] JANG M, CHOI J H, CHANG Y, et al. Gintonin, a ginseng-derived ingredient, as a novel therapeutic strategy for Huntington's disease: Activation of the Nrf2 pathway through lysophosphatidic acid receptors [J]. *Brain Behav Immun*, 2019, 80: 146–162.
- [46] DUTTA D, MAJUMDER M, PAIDI R K, et al. Alleviation of Huntington pathology in mice by oral administration of food additive glyceryl tribenzoate [J]. *Neurobiol Dis*, 2021, 153: 105318.
- [47] TEBBENKAMP A T, GREEN C, XU G, et al. Transgenic mice expressing caspase-6-derived N-terminal fragments of mutant huntingtin develop neurologic abnormalities with predominant cytoplasmic inclusion pathology composed largely of a smaller proteolytic derivative [J]. *Hum Mol Genet*, 2011, 20(14): 2770–2782.
- [48] LIN C H, TALLAKSEN-GREENE S, CHIEN W M, et al. Neurological abnormalities in a knock-in mouse model of Huntington's disease [J]. *Hum Mol Genet*, 2001, 10(2): 137–144.
- [49] HENG M Y, TALLAKSEN-GREENE S J, DETLOFF P J, et al. Longitudinal evaluation of the Hdh (CAG)₁₅₀ knock-in murine model of Huntington's disease [J]. *J Neurosci*, 2007, 27(34): 8989–8998.
- [50] WHEELER V C, AUERBACH W, WHITE J K, et al. Length-dependent gametic CAG repeat instability in the Huntington's disease knock-in mouse [J]. *Hum Mol Genet*, 1999, 8(1): 115–122.
- [51] MENALLED L B, SISON J D, DRAGATIS I, et al. Time course of early motor and neuropathological anomalies in a knock-in mouse model of Huntington's disease with 140 CAG repeats [J]. *J Comp Neurol*, 2003, 465(1): 11–26.
- [52] MENALLED L B, KUDWA A E, MILLER S, et al. Comprehensive behavioral and molecular characterization of a new knock-in mouse model of Huntington's disease: zQ175 [J]. *PLoS One*, 2012, 7(12): e49838.
- [53] HEIKKINEN T, LEHTIMÄKI K, VARTIAINEN N, et al. Characterization of neurophysiological and behavioral changes, MRI brain volumetry and 1H MRS in zQ175 knock-in mouse model of Huntington's disease [J]. *PLoS One*, 2012, 7(12): e50717.
- [54] SANCHIS A, GARCÍA-GIMENO M A, CAÑADA-MARTÍNEZ A J, et al. Metformin treatment reduces motor and neuropsychiatric phenotypes in the zQ175 mouse model of Huntington disease [J]. *Exp Mol Med*, 2019, 51(6): 1–16.
- [55] BEAL M F, KOWALL N W, ELLISON D W, et al. Replication of the neurochemical characteristics of Huntington's disease by quinolinic acid [J]. *Nature*, 1986, 321(6066): 168–171.
- [56] 杨翔宇. 应用 hiPSC 衍生的 MSN 治疗大鼠亨廷顿舞蹈症疾病模型的研究 [D]. 成都: 电子科技大学; 2021.
- YANG X Y. Study on the treatment of Huntington's disease model in rats with MSN derived from hiPSC [D]. Chengdu: University of Electronic Science and Technology of China; 2021.
- [57] JIANG W, BÜCHELE F, PAPAOGLOU A, et al. Ketamine anaesthesia interferes with the quinolinic acid-induced lesion in a rat model of Huntington's disease [J]. *J Neurosci Methods*, 2009, 179(2): 219–223.
- [58] SAROJ P, BANSAL Y, SINGH R, et al. Neuroprotective effects of roflumilast against quinolinic acid-induced rat model of Huntington's disease through inhibition of NF-κB mediated neuroinflammatory markers and activation of cAMP/CREB/BDNF signaling pathway [J]. *Inflammopharmacology*, 2021, 29(2): 499–511.
- [59] MARTÍNEZ-GOPAR P E, PÉREZ-RODRÍGUEZ M J, ANGELES-LÓPEZ Q D, et al. Toll-like receptor 4 plays a significant role in the biochemical and neurological alterations observed in two distinct mice models of Huntington's disease [J]. *Mol Neurobiol*, 2023, 60(5): 2678–2690.
- [60] SCHELLINO R, BESUSSO D, PAROLISI R, et al. hESC-derived striatal progenitors grafted into a Huntington's disease rat model support long-term functional motor recovery by differentiating, self-organizing and connecting into the lesioned

- striatum [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2023, 14(1): 189.
- [61] BANTUBUNGI K, JACQUARD C, GRECO A, et al. Minocycline in phenotypic models of Huntington's disease [J]. *Neurobiol Dis*, 2005, 18(1): 206–217.
- [62] SCHWARCZ R, BENNETT J P Jr, COYLE J T. Inhibitors of GABA metabolism: implications for Huntington's disease [J]. *Ann Neurol*, 1977, 2(4): 299–303.
- [63] COYLE J T, SCHWARCZ R. Lesion of striatal neurones with kainic acid provides a model for Huntington's chorea [J]. *Nature*, 1976, 263(5574): 244–246.
- [64] GALPERN W R, MATTHEWS R T, BEAL M F, et al. NGF attenuates 3-nitrotyrosine formation in a 3-NP model of Huntington's disease [J]. *Neuroreport*, 1996, 7(15/16/17): 2639–2642.
- [65] TÚÑEZ I, TASSET I, PÉREZ-DE LA CRUZ V, et al. 3-Nitropropionic acid as a tool to study the mechanisms involved in Huntington's disease: past, present and future [J]. *Molecules*, 2010, 15(2): 878–916.
- [66] 张伟. 3-硝基丙酸预处理对亨廷顿病的神经保护作用的研究 [D]. 天津: 天津医科大学; 2009.
- ZHANG W. Neuroprotective effect of 3-nitropropionic acid pretreatment on Huntington's disease [D]. Tianjin: Tianjin Medical University; 2009.
- [67] OUARY 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.
- [68] 王如意, 范晶菁, 李洪林, 等. 丁苯那嗪调节 TH 和突触囊泡转运改善 HD 的机制研究 [J]. *华东理工大学学报(自然科学版)*, 2023, 49(2): 211–219.
- WANG R Y, FAN J J, LI H L, et al. Mechanism of tetrabenazine regulating TH and synaptic vesicle transport to improve HD [J]. *J East Chin Univ (Sci Technol)*, 2023, 49(2): 211–219.
- [69] KUMAR P, KALONIA H, KUMAR A. Possible GABAergic mechanism in the neuroprotective effect of gabapentin and lamotrigine against 3-nitropropionic acid induced neurotoxicity [J]. *Eur J Pharmacol*, 2012, 674(2/3): 265–274.
- [70] SANDHIR R, MEHROTRA A. Quercetin supplementation is effective in improving mitochondrial dysfunctions induced by 3-nitropropionic acid: implications in Huntington's disease [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2013, 1832(3): 421–430.
- [71] SANDHIR R, YADAV A, MEHROTRA A, et al. Curcumin nanoparticles attenuate neurochemical and neurobehavioral deficits in experimental model of Huntington's disease [J]. *Neuromolecular Med*, 2014, 16(1): 106–118.
- [72] KALONIA H, KUMAR P, KUMAR A. Targeting oxidative stress attenuates malonic acid induced Huntington like behavioral and mitochondrial alterations in rats [J]. *Eur J Pharmacol*, 2010, 634(1/2/3): 46–52.
- [73] YANG X, ZHANG H, QU T, et al. Tolfenamic acid inhibits ROS-generating oxidase Nox1-regulated p53 activity in intrastriatal injection of malonic acid rats [J]. *J Physiol Sci*, 2022, 72(1): 15.
- [74] 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.
- [75] YAN S, ZHENG X, LIN Y, et al. Cas9-mediated replacement of expanded CAG repeats in a pig model of Huntington's disease [J]. *Nat Biomed Eng*, 2023, 7(5): 629–646.
- [76] BAINS M, KAUR J, AKHTAR A, et al. Anti-inflammatory effects of ellagic acid and vanillic acid against quinolinic acid-induced rat model of Huntington's disease by targeting IKK-NF- κ B pathway [J]. *Eur J Pharmacol*, 2022, 934: 175316.
- [77] KUMAR A, SHARMA N, MISHRA J, et al. Synergistical neuroprotection of rofecoxib and statins against malonic acid induced Huntington's disease like symptoms and related cognitive dysfunction in rats [J]. *Eur J Pharmacol*, 2013, 709(1/2/3): 1–12.
- [78] GUBERT C, KONG G, COSTELLO C, et al. Dietary fibre confers therapeutic effects in a preclinical model of Huntington's disease [J]. *Brain Behav Immun*, 2024, 116: 404–418.
- [79] Shawki S M, Saad M A, Rahmo R M, et al. Liraglutide improves cognitive and neuronal function in 3-NP rat model of Huntington's disease [J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 731483.
- [80] Dhadde S B, Nagakannan P, Roopesh M, et al. Effect of embelin against 3-nitropropionic acid-induced Huntington's disease in rats [J]. *Biomed Pharmacother*, 2016, 77: 52–58.

[收稿日期] 2024-04-24