

[12] Etkin A, Schatzberg AF. Common abnormalities and disorder-specific compensation during implicit regulation of emotional processing in generalized anxiety and major depressive disorders[J]. *Am J Psychiatry*, 2011, 168(9):968-978.

[13] 岳广欣, 陈家旭, 王竹风. 肝主疏泄的生理学基础探讨[J]. *北京中医药大学学报*, 2005, 28(2):1-4.

[14] Ochsner KN, Ray RD, Cooper JC, et al. For better or for worse: neural systems supporting the cognitive down-and up-regulation of negative emotion[J]. *Neuroimage*, 2004, 23(2):483-499.

[15] Davidson RJ. Anterior electrophysiological asymmetries, emotion, and depression: conceptual and methodological conundrums[J]. *Psychophysiology*, 1998, 35(5):607-614.

[16] Lin IM, Tsai YC, Peper E, et al. Depressive mood and frontal alpha asymmetry during the luteal phase in premenstrual dysphoric disorder[J]. *J Obstet Gynaecol Res*, 2013, 39(5):998-1006.

[17] Accortt EE, Stewart JL, Coan JA, et al. Prefrontal brain asymmetry and pre-menstrual dysphoric disorder symptomatology[J]. *J Affect Disord*, 2011, 128(1/2):178-183.

[18] 陈桃林, 罗跃嘉. 基因多态性对情绪调节神经回路的影响[J]. *心理科学进展*, 2010, 18(9):1440-1448.

[19] Koenigs M, Grafman J. The functional neuroanatomy of depression: distinct roles for ventromedial and dorsolateral prefrontal cortex[J]. *Behav Brain Res*, 2009, 201(2):239-243.

[20] Fales CL, Barch DM, Rundle MM, et al. Altered emotional interference processing in affective and cognitive-control brain circuitry in major depression[J]. *Biol Psychiatry*, 2008, 63(4):377-384.

[21] 廖成菊, 冯正直. 抑郁症情绪加工与认知控制的脑机制[J]. *心理科学进展*, 2010, 18(2):282-287.

[22] 廖成菊, 冯正直, 王凤, 等. 抑郁个体情绪加工与认知控制的相互作用[J]. *中国心理卫生杂志*, 2010, 24(5):387-391.

[23] van Wingen GA, van Eijndhoven P, Cremers HR, et al. Neural state and trait bases of mood-incongruent memory formation and retrieval in first-episode major depression[J]. *J Psychiatr Res*, 2010, 44(8):527-534.

[24] 冯正直, 涂静. 背外侧-腹内侧前额叶皮层神经回路异常介导抑郁的研究进展[J]. *第三军医大学学报*, 2012, 33(22):2327-2330.

[25] Hariri AR, Holmes A. Genetics of emotional regulation: the role of the serotonin transporter in neural function[J]. *Trends Cogn Sci*, 2006, 10(4):182-191.

[26] Kim MJ, Loucks RA, Palmer AL, et al. The structural and functional connectivity of the amygdala: from normal emotion to pathological anxiety[J]. *Behav Brain Res*, 2011, 223(2):403-410.

[27] Heller AS, Lapate RC, Mayer KE, et al. The face of negative affect: trial-by-trial corrugator responses to negative pictures are positively associated with amygdala and negatively associated with ventromedial prefrontal cortex activity[J]. *J Cogn Neurosci*, 2014, 26(9):2102-2110.

[28] Kim H, Somerville LH, Johnstone T, et al. Inverse amygdala and medial prefrontal cortex responses to surprised faces[J]. *Neuroreport*, 2003, 14(18):2317-2322.

[29] Kringelbach ML, Rolls ET. The functional neuroanatomy of the human orbitofrontal cortex: evidence from neuroimaging and neuropsychology[J]. *Prog Neurobiol*, 2004, 72(5):341-372.

[30] Gingnell M, Ahlstedt V, Bannbers E, et al. Social stimulation and corticolimbic reactivity in premenstrual dysphoric disorder: a preliminary study[J]. *Biol Mood Anxiety Disord*, 2014, 4(1):3.

[31] Jeong HG, Ham BJ, Yeo HB, et al. Gray matter abnormalities in patients with premenstrual dysphoric disorder: an optimized voxel-based morphometry[J]. *J Affect Disord*, 2012, 140(3):260-267.

[32] Schmahmann JD, Weilburg JB, Sherman JC. The neuropsychiatry of the cerebellum-insights from the clinic[J]. *Cerebellum*, 2007, 6(3):254-267.

[33] Strick PL, Dum RP, Fiez JA. Cerebellum and nonmotor function[J]. *Annu Rev Neurosci*, 2009, 32:413-434.

[34] Kimbrell TA, Ketter TA, George MS, et al. Regional cerebral glucose utilization in patients with a range of severities of unipolar depression[J]. *Biol Psychiatry*, 2002, 51(3):237-252.

[35] Bench CJ, Friston KJ, Brown RG, et al. The anatomy of melancholia-focal abnormalities of cerebral blood flow in major depression[J]. *Psychol Med*, 1992, 22(3):607-615.

[36] Ketter TA, Kimbrell TA, George MS, et al. Effects of mood and subtype on cerebral glucose metabolism in treatment-resistant bipolar disorder[J]. *Biol Psychiatry*, 2001, 49(2):97-109.

[37] Rapkin AJ, Berman SM, Mandelkern MA, et al. Neuroimaging evidence of cerebellar involvement in premenstrual dysphoric disorder[J]. *Biol Psychiatry*, 2011, 69(4):374-380.

收稿日期:2014-10-27 修回日期:2015-03-14 编辑:郑雪

重症肌无力实验动物模型的研究进展

杨俊超[△](综述), 文颖娟^{*}(审校)

(陕西中医学院, 陕西 咸阳 712046)

中图分类号: R746.1

文献标识码: A

文章编号: 1006-2084(2015)19-3466-04

doi:10.3969/j.issn.1006-2084.2015.19.004

摘要:重症肌无力(MG)实验动物模型的建立近年来已经发展的比较成熟,并且出现了多种模型制备方法,也都取得了不错的实验效果。但是也有一些问题,为了使MG模型制备方法更加合理化、科学化、规范化,进一步探究MG的发病机制为后期治疗提供可靠依据,该文对近年来广泛应用的模型制备方法予以总结,希望对MG的进一步研究能有所帮助。

关键词:重症肌无力;实验动物模型;发病机制

Research Progress of Myasthenia Gravis Experimental Animal Models YANG Jun-chao, WEN Ying-juan. (Shaanxi University of Traditional Chinese Medicine, Xi'an 712046, China)

Abstract: With the increasing development of myasthenia gravis (MG) experimental animal models establishment in recent years, various model building methods have been used and achieved prospective effect, while problems are still existing. In order to establish experimental models rationally, scientifically and standardly, and provide reliable basis for further exploration of MG pathogenesis, here is to summarize the methods of model building in the past few years hoping to provide some help for further research of MG.

Key words: Myasthenia gravis; Experimental animal models; Pathogenesis

重症肌无力(myasthenia gravis, MG)是一种神经肌肉接头传递性功能障碍所引起的自身免疫性疾病,这种疾病病变部位主要在神经肌肉接头处突触后膜上乙酰胆碱受体(acetylcholine receptors, AchR),表现为神经肌肉接头突触后膜上的AchR自身抗体介导的特异性自身免疫疾病,由于抗体阻断了这种神经肌肉的信号传递,产生了部分或全部骨骼肌易疲劳,呈波动性肌无力,活动后加重、休息后减轻、晨轻暮重等症状。为了进一步对人类MG发病机制有充分的认识,以便针对其不同的发

病机制制订相应的缓解或治疗方案,现对近年来实验性 MG 动物模型的制备进行综述。

1 实验动物的选择

1.1 实验动物的种属 实验动物在免疫实验中作为人类的替身将在很大程度上影响实验研究的成败。常用的实验动物有小鼠、大鼠、豚鼠、兔和猪。大鼠由于抵抗传染能力较强,在国内生物医学研究领域中的广泛应用和使用数量已超过小鼠而居首位。近交 Lewis 大鼠由于 MG 模型制备的易感性较强而作为目前常用大鼠^[1],且其发病有急性期和缓解期,表现为一种快速的发病进程故而适用于实验研究。小鼠由于具有代表性的免疫系统,容易人为选择性地控制小鼠的免疫条件,区分淋巴细胞的不同功能亚群,得到近交系群体等特点,所以也常用于免疫学实验中。唐冰杉等^[2]研究指出,近交系 C57BL/6 小鼠是比较公认的 MG 高敏感鼠,在免疫生物学中近交系小鼠 C57BL/6 是最为常用的小鼠。所以根据选择实验动物的近似性、重复性和均一性原则,动物种系的选择现多采用无特定病原体 (specific pathogen free, SPF) 级别的近交 Lewis 大鼠和近交系 C57BL/6 小鼠。

1.2 动物的性别和年龄选择 医学专家在大量的临床观察后指出, MG 患者以 20~40 岁多见,女性略多于男性,占全部病例的 55%~60%^[3],这可能与雌激素水平有关,故在诱导实验性自身免疫性 MG (experimental autoimmune MG, EAMG) 的实验中绝大多数选择雌性动物。在实验动物造模研究中,根据自身性免疫原理, B 淋巴细胞对 AchR 的记忆作用会导致年龄大的小鼠的肌无力模型建立成功率下降,但是这种记忆反应可被诱导弱化,即在初次抗原致敏后行再次免疫接种可提高小鼠的致病率,所以 MG 模型建立多采用适龄的小鼠作为实验对象^[4]。

2 实验动物模型的制备方法

2.1 以 AchR 全蛋白为免疫原建立 EAMG 动物模型 以 AchR 全蛋白为免疫原建立模型的方法国外很早就开始使用,1973 年 Patrick 等^[5]首先从电鳗电器官提取纯化 AchR 免疫接种新西兰大白兔后制成了主动免疫的自身免疫性 EAMG 模型,后来在大鼠、小鼠中用同样方法也制备了 EAMG 模型。这种从加利福尼亚电鳗器官中提取 AchR 是种天然的抗原,含有多个抗原决定簇,具有良好的免疫原性,能有效激活宿主的免疫系统^[6],但提取率低、提纯的过程复杂而且昂贵,故而此种模型制备方法难以普及推广使用。

2.2 采用合成 AchR 多肽片段为免疫原建立动物模型 由于天然 AchR 全蛋白不易获取,所以开始尝试用人工合成的方法来获取蛋白,并且取得了比较理想的结果。早在 20 世纪 80 年代, Lennon 等^[7-8]用人工合成的电鳗 α 亚单位上的 AchR α 125-147 接种 Lewis 鼠来诱导 EAMG 模型,在观察 MG 临床变化的同时做迟发型超敏反应实验,结果表明,免疫的 Lewis 大鼠都有抗肽链抗体产生,出现了 MG 的临床症状和电生理改变, T 淋巴细胞能识别 AchR α 125-147 并产生免疫应答,产生肌无力的症状。

近年来, Baggi 等^[9-10]用大鼠 AchR 亚基多肽片段在 Lewis 大鼠上成功地诱导了 EAMG 模型,发现效果很好,阳性率达 73.3%。孙辰婧^[11]用重组人 AchR α 中提取的 AchR 肽段片

段来免疫大小鼠取得了和全蛋白免疫相似的效果,都诱导出了典型的肌无力模型症状。孟和宝力高和额尔敦^[12]通过使用 AchR α 亚甲基基因片段联合白细胞介素 6 DNA 免疫原诱导 Lewis 鼠建立 EAMG 模型,都取得了非常好的效果。Sun 等^[13]使用改进的方法重复性的重组人类骨骼肌 AchR 胞外域,获得了大量的子代受体,可诱导出 EAMG,探索出了更加方便、经济的模型建立方法。

2.3 其他建立动物模型方法 除上述两种方法外,后来又出现了转移 MG 患者血清建立动物模型的方法,即用肌无力患者的血清及血清内成分注射到小鼠体内成功的建立出肌无力的动物模型^[14]。包忠雷和闫晓波^[15]在 MG 动物模型建立中提出,用处于急性期 EAMG 大鼠的 AchR-Ab 注射到 Lewis 大鼠来制备模型,但是此类模型不能从自身性免疫机制上模拟 MG 的发病情况,故而在临床研究上都有一定局限性。Losen 等^[16]用杂交瘤技术制备 AchR-mAb 单克隆抗体并诱导 Lewis 大鼠建立模型,出现了对外界刺激反映迟钝,体质量突然下降,成功地用 mAb35、mAbA7、mAbG10^[17-18]等诱导制作出了 EAMG 动物模型。Richman 等^[19]发现,受体酪氨酸激酶是神经突触受体的组成和功能维持的重要物质,并通过抵抗这种酶活性制备了肌无力模型。虽然这些模型制备方法都有成效,也有一定的临床意义,但是尚处于实验研究阶段,还没有建立起一套完善和规范的方案,稳定性和可重复性的把控还有待进一步研究。

3 评价动物模型建立的指标类型

3.1 临床肌力评分方法标准 Lennon 等^[20]在 20 世纪 80 年代已经制订出了比较科学的肌力评价标准分级方法,即将症状严重程度分为 4 级:0 级,没有肯定的无力表现;1 级,撕咬无力,四肢力量较差,在光滑地面上前肢打滑,活动减少且易疲劳;2 级,明显无力,休息时身体呈隆起姿势,头尾下垂,大腿外展,前肢趾弯曲,动作笨拙,行走不稳;3 级,严重无力表现,无撕咬动作,肌肉震颤,呼吸困难,濒死或死亡。这种肌力的评价为以后评判标准的规范化奠定了基础。虽然这种观察法操作简单,但是主观性较强,容易产生评分级别误差。近年来提出一种强迫运动法,即强迫实验动物运动来观察疲劳程度,如强迫动物反复抓握测量抓握肌力的抓握法,强迫动物游泳并记录时间的游泳法和测量动物翻转悬挂的停留时间的翻转悬挂法。赵斌和刘降光^[21]通过翻转悬挂法测量动物的肌力情况,并用统计学单因素方差分析得出了较为显著的结果,使肌力的评判变得更为客观。

3.2 AchR 抗体 (AchR antibodies, AchR-Ab) 的测量 AchR-Ab 是最早发现的 MG 患者的检测指标之一,在 MG 诊断中已经作为一项最重要指标。EAMG 患者血清中抗体的数量会明显增多,虽然并非患者均会有血清抗体阳性反应,但是在发病的绝大多数患者体内, AchR-Ab 还是一个关键的检测指标,同时其滴度的大小还与疾病的严重程度呈正相关,因此抗体的检测一直受到高度重视,也已经建立了标准化的检测方法,即酶联免疫吸附法。这种方法具有灵敏度高、特异性强、所用试剂稳定、容易标准化、批量化操作等优势,已经得到了广泛的定性和定量分析。Liu 等^[22]通过实验研究表明,肌无力大鼠血清的免疫球蛋白含量增多,并提出减少免疫球蛋白的半衰期来治疗肌无力。

3.3 血清胆红素和尿酸的测量 周霞和孙中武^[23]通过氧化酶定量分析法对 MG 患者血清胆红素和尿酸水平的检测,结果显示, MG 患者血清中间胆红素、总胆红素和尿酸水平均显著低于正常水平。这为评定 MG 模型的建立提供了更多的检测方法,为 MG 的治疗提供了新的思路和依据。

3.4 细胞免疫因子水平的检测 Bakhiet 等^[24]在 EAMG 动物模型体内发现,辅助性的 Th1 细胞产生的干扰素 γ 、肿瘤坏死因子 α 等细胞因子可以活化 B 细胞,使 EAMG 症状加重。Feferman 等^[25]通过抑制肌无力模型动物体内的干扰素来减轻肌无力的症状取得了良好效果, Th2 细胞分泌抗炎性细胞因子能减轻 EAMG 症状,而 Th3 细胞分泌的转化生长因子 β 可以调节 EAMG 的症状表现。Uzawa 等^[26]对血清中的细胞因子白细胞介素 4、白细胞介素 15 进行检测,发现这种细胞因子在 MG 患者中明显比正常人高,所以也可作为疾病检测指标之一。

3.5 肌电图电衰减反应的检测 对于 MG 患者,肌电图是常用的具有确诊价值的诊断方法,在 MG 患者中有 80% 在低频刺激时为阳性,且与病情轻重相关。肌电图电衰减反应的检测是目前最能反映神经肌肉接头神经电生理变化的检查方法。

3.6 骨骼肌病理形态学观察 王辉和张平^[27]通过彩色细胞图像分析仪 TJTY-400TC 测量 EAMG 动物神经末梢面积、突触前后膜长度及其比值、突触前后膜面积,结果显示,神经末梢(突触前膜)变小、突触间隙增宽,平均突触后膜面积减小、突触后膜长度变短,突触后膜与前膜长度比值变小并且可见突触后膜皱褶丧失或减少, AchR 密度减少,残余的突触后膜皱褶中有抗体和免疫复合物的沉淀。Serra 等^[28]通过实验表明, AchR 形态的改变和 Na^+ 通道的异常会影响神经肌肉接头处信号传递,产生肌无力症状。宋雅芳等^[29]、文颖娟和李志华^[30]和文颖娟等^[31]研究发现, MG 患者的肌肉组织结构会发生变化且线粒体结构和数目也会发生变化。另外,韩磊等^[32]研究发现, MG 患者的骨骼肌中线粒体跨膜电位会随着后膜的损伤而降低。因此,这种通过透射电镜和流式细胞仪对线粒体检测也成为比较可信的检测依据。

4 问题与展望

MG 实验动物模型的建立已经取得了很大进步,并且出现了多种模型制备方法,但也存在一些问题:①肌无力模型建立的方法虽多但不统一,没有探索出一套操作简单、复制率高、廉价容易推广的方法。②模型建立的不够典型,模型评判标准不统一,没有形成一套能很客观地评价模型成功与否的衡量标准。③检测的指标也不够多样和合理,虽然很多指标可以作为肌无力的检测指标,但是没有探索出其发病的根本机制和根本变异参数指标。④现有研究建立的 EAMG 动物模型的造模方法所需时间都较长,研究发病迅速的 MG 动物模型的制备方法也将是一个新的方向。近年来有研究表明^[33], MG 模型不仅出现了四肢肌肉肌无力现象,还出现了因心肌和呼吸肌衰亡的致死现象,胃肠平滑肌的功能障碍出现胃肠蠕动性障碍的现象,以及眼睑下垂眼球运动障碍的现象,这将为模型的建立和肌无力机制的探讨提供更多的方向、方法。并且近年来 MG 检测方法也越来越多,涉及到线粒体、肌肉生成调控因子和基因片段损伤等多个领域,这将为进一

步研究 MG 的发病机制以及探索 MG 治疗提供新的方向。

参考文献

- [1] 关洁宾,陈忠平,李放花,等. 30 所医科院校学报应用实验动物的文献统计[J]. 暨南大学学报:医学版, 2000, 21(2): 135-137.
- [2] 唐冰杉,杨明山,曹学兵. 实验性自身免疫性重症肌无力动物模型的研究概况[J]. 国外医学:神经病学神经外科学分册, 2002, 29(3): 265-268.
- [3] 姚健. 胸腺切除治疗重症肌无力疗效及影响因素的分析[D]. 长春:吉林大学, 2005.
- [4] 朱丽君. 重症肌无力动物模型的建立及中药治疗重症肌无力的机制研究[D]. 长春:吉林大学, 2011.
- [5] Patrick J, Lindstrom J, Culp B, et al. Studies on purified eel acetylcholine receptor and anti-acetylcholine receptor anti-body[J]. Proc Nat Acad Sci, 1973, 70(12): 3334-3338.
- [6] Sanders DB, Schleifer LS, Eldefrawi ME, et al. An immunologically induced defect of neuromuscular transmission in rats and rabbits[J]. Ann N Y Acad Sci, 1976, 274: 319-336.
- [7] Lennon VA, Griesmann GA, McCormick DJ, et al. Definition of myasthenogenic Sites of the Human acetylcholine Receptor Using Synthetic Peptides[J]. Ann N Y Acad Sci, 1987, 505: 439-450.
- [8] Lennon VA, McComick DJ, Lambert EH, et al. Region of peptide 125-147 of acetyl choline receptor alpha subunit is exposed at neuromuscular junction and induces experimental auto antibodies[J]. Proc Nat Acad Sci U S A, 1985, 82(24): 8805-8809.
- [9] Baggi F, Annoni A, Ubiali F, et al. Immunization with rat, but not Torpedo-derived 97-116peptide of the AchR alpha-subunit induces experimental myasthenia gravis in Lewis rat[J]. Ann N Y Acad Sci, 2003, 998: 391-394.
- [10] Baggi F, Annoni A, Ubiali F, et al. Breakdown of tolerance to a self-peptide of acetylcholine receptor α -subunit induces experimental myasthenia gravis in rats[J]. J Immunol, 2004, 172(4): 2696-2703.
- [11] 孙辰婧. 诱导重症肌无力模型新方法并研究可溶性促衰变因子对其保护作用[D]. 西安:第四军医大学, 2013.
- [12] 孟和宝力高, 额尔敦. AchR- α 亚基基因片段联合 IL-6 DNA 免疫大鼠建立实验性重症肌无力模型[J]. 免疫学杂志, 2010, 26(6): 531-532.
- [13] Sun C, Zhang H, Xu J, et al. Improved methodology to obtain large quantities of correctly folded recombinant N-terminal extracellular domain of the human muscle acetylcholine receptor for inducing experimental autoimmune myasthenia gravis in rats[J]. Arch Med Sci, 2014, 10(2): 389-395.
- [14] Burges J, Vincent A, Molenaar PC, et al. Paasive transfer of seronegative myasthenia gravis to mice[J]. Muscle Nerve, 1994, 17(12): 1393-1400.
- [15] 包忠雷, 闫晓波. 重症肌无力动物模型的建立[J]. 中国神经免疫学和神经病学杂志, 2010, 17(1): 6971.
- [16] Losen M, Stassen MH, Martinez-Martinez P, et al. Increased expression of raspy in muscles prevents acetylcholine receptor loss in experimental autoimmune myasthenia gravis[J]. Brain, 2005, 128(10): 2327-2337.
- [17] Duan RS, Adikari SB, Huang YM, et al. Protective potential of experimental autoimmune myasthenia gravis in lewis rats by IL-10-modified dendritic cells[J]. Neurobiol Dis, 2004, 16(2): 461-467.
- [18] 梁芙乳, 高枫. 重症肌无力的自身抗体及机制[J]. 国际神经病学神经外科杂志, 2006, 33(4): 346-346.
- [19] Richman DP, Nishi K, Ferns MJ, et al. Animal models of antimuscle-specific kinase myasthenia[M]. Ann N Y Acad Sci, 2012, 1274: 140-147.
- [20] Lennon VA, Lindstrom JM, Seybold ME, et al. Experimental autoimmune myasthenia gravis model of rats and guinea pigs[J]. J Exp Med, 1975, 141(6): 1365-1375.
- [21] 赵斌, 刘降光. 胸腺五肽对实验性重症肌无力小鼠模型免疫功能的影响[D]. 天津:天津大学, 2007.
- [22] Liu L, Garcia AM, Santoro H, et al. Amelioration of experimental autoimmune myasthenia gravis in rats by neonatal FcR blockade[J]. J Immunol, 2007, 178(8): 5390-5398.

- [23] 周震,孙中武.重症肌无力患者血清胆红素和尿酸变化及其意义[J].中华医学杂志,2013,93(17):1287-1291.
- [24] Bakhiet M, Yu LY, Ozenci V, et al. Modulation of immune responses and suppression of experimental autoimmune myasthenia gravis by surgical denervation of the spleen [J]. Clin Exp Immunol, 2006,144(2):290-298.
- [25] Feferman T, Aricha R, Mizrahi K, et al. Suppression of experimental autoimmune myasthenia gravis by inhibiting the signaling between IFN-gamma inducible protein 10 (IP-10) and its receptor CXCR3 [J]. J Neuroimmunol, 2009, 209(1/2):87-95.
- [26] Uzawa A, Kawaguchi N, Himuro K, et al. Serum cytokine and chemokine profiles in patients with myasthenia gravis [J]. Clin Exp Immunol, 2014, 176(2):232-237.
- [27] 王辉,张平.神经肌肉疾病的临床与病理[M].北京:人民卫生出版社,2007:296-301.
- [28] Serra A, Ruff R, Kaminski H, et al. Factors contributing to failure of neuromuscular transmission in myasthenia gravis and the special case of the extraocular muscles [J]. Ann N Y Acad Sci, 2011, 1233:26-33.
- [29] 宋雅芳,胡任飞,刘友章,等.健脾祛湿方对重症肌无力模型大鼠骨骼肌线粒体及神经肌肉接头处超纤维结构的影响[J].中药药理学与临床,2010,26(1):65-68.
- [30] 文颖娟,李志华.葛根苓连汤及其拆方对 UC 大鼠结肠平滑肌线粒体跨膜电位的影响[J].陕西中医学院学报,2012,35(6):68-72.
- [31] 文颖娟,周永学,王江.基于“线粒体-肌肉-脾”探讨脾胃失调与重症肌无力发病的关系[J].现代中药,2013,33(5):25-28.
- [32] 韩磊,李鸣皋,马贵喜,等.血管紧张素对内皮细胞和线粒体跨膜电位的影响[J].中国公共卫生杂志,2009,25(1):51-53.
- [33] 焦健.黄芪复方汤剂治疗脾肾虚损型 II 型重症肌无力临床研究 52 例[D].沈阳:辽宁中医药大学,2011.

收稿日期:2014-11-10 修回日期:2015-03-13 编辑:伊娜

微 RNA 的特征概述及其研究进展

钟阿红^{1△},张振宇^{2a}(综述),余进进¹,吴亦波^{2b*}(审校)

(1. 苏州大学附属第四医院妇产科,江苏 无锡 214062; 2. 江南大学附属医院 无锡市第四人民医院

a. 妇产科, b. 生殖中心, 江苏 无锡 214062)

中图分类号:Q522

文献标识码:A

文章编号:1006-2084(2015)19-3469-04

doi:10.3969/j.issn.1006-2084.2015.19.005

摘要:微 RNA(miRNA)是一类在转录后水平通过对靶信使 RNA 降解或抑制翻译过程起负性调节作用的内源性单链小分子 RNA。迄今,上万种 miRNA 已经得到成功鉴定。miRNA 广泛存在于生物体内,其序列高度保守,在生物体的多种生理和病理过程中发挥着重要的调控作用,具有十分重要的研究价值和非常广阔的应用前景。该文就 miRNA 的命名规则、形成过程、生物学特征、主要功能、研究策略及应用予以综述。

关键词:微 RNA;特点;功能;研究方法;应用

The Characteristics Overview and Research Progress of miRNA ZHONG A-hong¹, ZHANG Zhen-yu^{2a}, YU Jin-jin¹, WU Yi-bo^{2b}. (1. Department of Gynecology and Obstetrics, the Fourth Affiliated Hospital of Soochow University, Wuxi 214062, China; 2a. Department of Gynecology and Obstetrics, 2b. Center of Reproductive Medicine, Affiliated Hospital of Jiangnan University, Wuxi 214062, China)

Abstract: MicroRNAs(miRNAs) are a class of small non-coding endogenous RNA molecules and they are believed to regulate the gene expression negatively at the post-transcriptional level by degrading or repressing target messenger RNAs(mRNAs). In recent years, tens of thousands of miRNAs have been identified successfully. Generally, miRNAs are highly conserved in organisms, which play critical roles in a variety of physiological and pathological processes, with bright research prospects and enormous application value. Here is to make a review of the present research progresses of the nomination, formation, biocharacteristics, main function, research strategies and applications of miRNAs.

Key words: miRNA; Characteristics; Function; Research method; Application

微 RNA(microRNA, miRNA)是一类由 21~23 个核苷酸组成的内源性、非编码、单链小分子 RNA,通过完全或不完全碱基互补配对原则与特定基因的信使 RNA 的 3'-非翻译区或 5'-非翻译区结合,在转录后水平通过对靶信使 RNA 降解或抑制翻译过程而发挥负性调控作用。1993 年, Lee 等^[1]通过对秀丽新小杆线虫的研究首先报道了 miRNA 的存在。2000 年, Reinhart 等^[2]在线虫发育调控的研究中发现了第 2 个 miRNA——let-7,从而拉开了对 miRNA 研究的序幕。自 miRNA 被发现以来,人们已经发现了数万种 miRNA,这一数

字仍在不断增加。相信随着科学的进步,技术的发展,越来越多的未知 miRNA 将会被发现,同时也将会面临新的挑战。现就 miRNA 的特征及研究进展进行概述。

1 miRNA 简介

1.1 miRNA 的命名 Sanger microRNA 序列数据库(miR-Base)是一个提供包含 miRNA 的序列数据、miRNA 的命名以及对 miRNA 靶基因预测的全方位数据库。作为存储 miRNA 信息的权威数据库, miRBase 具有对 miRNA 基因名称独立注册的权利。早在 miRNA 被大规模发现的时候,其命名机制就被确定下来,当前已发展了一套成熟的 miRNA 命名系统^[3]。目前, miRBase 已于 2014 年 6 月升级至 miRBase 21.0 版。在该版本中,共收录 28 645 个 miRNA 前体和 35 828 个成熟体 miRNAs,涵盖了 223 个物种。相比上一版本(miRBase 20.0 版),新版数据库的可靠性进一步提升,清除了一些不明确的和错误注释的序列,又有 72 个条目被清理出数据库。miRNA 的命名一般遵循以下基本规则:(1)miRNA 的成熟体通常用 miR 表示,而 miRNA 的前体则用 mir 表示,然后是其物种名称(采用 3~4 个字母的缩写来表示)以及被发现的时间次序(一般使用阿拉伯数字表示,如 hsa-miR-200, mmu-miR-200);(2)同源性较高的 miRNA 在数字后面加上英文小写字母(a, b, c, …),如 hsa-miR-200a, hsa-miR-200b 和