

# 慢病毒载体介导基因治疗阿尔茨海默症和帕金森症研究进展

许德润<sup>1</sup>, 刘力<sup>2</sup>, 郎明林<sup>1</sup>

1 中国科学院大学 生命科学学院 生物互动卓越创新中心, 北京 100049

2 中国科学院生物物理研究所 脑与认知国家重点实验室, 北京 100101

许德润, 刘力, 郎明林. 慢病毒载体介导基因治疗阿尔茨海默症和帕金森症研究进展. 生物工程学报, 2020, 36(12): 2707-2718.

Xu DR, Liu L, Lang ML. Progress in lentiviral vector-mediated gene therapy for Alzheimer's disease and Parkinson's disease. Chin J Biotech, 2020, 36(12): 2707-2718.

**摘要:** 阿尔茨海默症 (Alzheimer's disease, AD) 与帕金森症 (Parkinson's disease, PD) 是人类常见的神经退行性疾病。AD 与 PD 发病机制复杂, 目前的药物和外科手术治疗无法缓解或阻止疾病进程。慢病毒载体 (Lentiviral vector, LV) 是一种逆转录病毒载体, 由 LV 介导的基因治疗已成为当前疾病机制研究、临床药物开发等领域的研究热点。文中综述了近年来 LV 应用于 AD、PD 治疗的研究进展, 并对今后的应用研究前景进行了展望。

**关键词:** 阿尔茨海默症, 帕金森症, 慢病毒载体, 基因治疗

## Progress in lentiviral vector-mediated gene therapy for Alzheimer's disease and Parkinson's disease

Derun Xu<sup>1</sup>, Li Liu<sup>2</sup>, and Minglin Lang<sup>1</sup>

1 CAS Center for Excellence in Biotic Interactions, College of Life Sciences, University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

2 State Key Laboratory of Brain and Cognitive Science, Institute of Biophysics, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China

**Abstract:** Alzheimer's disease (AD) and Parkinson's disease (PD) are common neurodegenerative diseases in human. The pathogenesis of AD and PD is complex, and the current drugs and surgical treatments have not successfully alleviated or terminated the progression of the diseases. The lentiviral vector (LV) is a retroviral vector. In recent years, LV mediated gene therapy has been a hotspot to study the mechanisms of human disease and clinical drug discovery. This review summarizes the

**Received:** March 31, 2020; **Accepted:** July 24, 2020

**Supported by:** National Natural Science Foundation of China (No. 31571042), Natural Science Foundation of Beijing, China (No. 7202129), Science and Education Integration Special Fund Project of Chinese Academy of Sciences (Nos. KJR2015-011, Y55201BY00).

**Corresponding author:** Minglin Lang. Tel/Fax: +86-10-69672639; E-mail: langml@ucas.ac.cn

国家自然科学基金 (No. 31571042), 北京市自然科学基金 (No. 7202129), 中国科学院科教融合专项基金 (Nos. KJR2015-011, Y55201BY00) 资助。

网络出版时间: 2020-08-12

网络出版地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1998.Q.20200810.1706.007.html>

recent progresses in the treatment of AD and PD by the application of LV, and offers a prospect for its application.

**Keywords:** Alzheimer's disease, Parkinson's disease, lentiviral vector, gene therapy

人脑是由神经元、星形胶质细胞、少突胶质细胞、伸展细胞和小胶质细胞组成的高度复杂器官,不同的细胞类型特定排列在高度复杂的网络中,共同工作并在空间上受到有序调节<sup>[1]</sup>。然而,随着个体的衰老,维持内稳态的分子调控机制出现异常,可能导致神经退行性疾病的发生,如阿尔茨海默症 (Alzheimer's disease, AD)、帕金森症 (Parkinson's disease, PD) 等<sup>[1]</sup>。

AD 是痴呆症最常见的一类疾病<sup>[2]</sup>。AD 是以细胞外淀粉样斑块沉积及细胞内过度磷酸化的微管相关 Tau 蛋白积聚为主要病理特征的神经退行性疾病<sup>[3]</sup>。AD 主要临床表现为进行性记忆障碍、认知功能紊乱等<sup>[4-5]</sup>。针对 AD 发病机制有胆碱能假说、 $\beta$  淀粉样蛋白假说、Tau 蛋白假说、金属离子紊乱假说等<sup>[6]</sup>。目前,美国食品药品监督管理局 (Food and Drug Administration, FDA) 已批准 4 种用于治疗 AD 的药物,包括 3 种胆碱酯酶抑制剂和一种非竞争性 N-甲基-D-天冬氨酸 (NMDA) 受体拮抗剂<sup>[2,7]</sup>。虽然上述药物可以减轻或暂缓 AD 的症状,但是不能阻止和逆转 AD 的进程。

PD 是一种复杂、慢性且异质性的神经退行性疾病<sup>[8]</sup>。PD 病变主要发生在黑质 (Substantia nigra, SN) 纹状体通路,SN 多巴胺能神经元变性和路易小体 (Lewy bodies, LBs) 是 PD 的主要病理特征<sup>[9]</sup>。 $\alpha$ -突触核蛋白 ( $\alpha$ -synuclein,  $\alpha$ -SYN) 是 LBs 的主要成分, $\alpha$ -SYN 的过度表达和聚集有细胞毒性,最终导致多巴胺能神经元死亡<sup>[9]</sup>。PD 引发的运动功能障碍包括运动迟缓、僵直、静止性震颤、姿势不稳等,同时可能伴随嗅觉减退、睡眠障碍、认知功能障碍等非运动症状<sup>[8]</sup>。有学者按照神经病理严重程度和疾病进展速度将 PD 分为缓慢进展型 PD (运动症状为主)、弥漫型 PD 和中间型 PD<sup>[10]</sup>。临床上主要采用药物 (如左旋

多巴) 治疗 PD,虽然药物疗效在 3-5 年内对非弥漫性 PD 有较好疗效,但长期使用导致“剂末现象” (又称剂末恶化,指每次用药的有效作用时间缩短,症状随血液药物浓度发生规律性波动) 及“开关现象” (PD 患者突然出现症状加重、僵直,但未进行任何治疗后,症状又突然消失的现象),且目前的药物无法逆转 PD 进程<sup>[11-12]</sup>。

AD、PD 的复杂性及异质性导致疾病的临床诊疗频频受阻,全基因组关联分析 (Genome-wide associate study, GWAS) 已发现数百个神经系统疾病相关基因,但不清楚这些基因在哪些细胞中活跃表达,且神经系统疾病与不同的细胞类型相关<sup>[13]</sup>。如,PD 不仅与胆碱能神经元、单胺能神经元有关,而且与肠神经元、小胶质细胞及少突胶质细胞有密切联系。同时神经退行性疾病的发生因人而异,需要针对不同的患者亚群进行定制的组合治疗<sup>[13]</sup>。目前神经退行性疾病的治疗能够缓解症状,但无法解决潜在的病理问题<sup>[14]</sup>。随着疾病发展,药物治疗的效果会降低,且血脑屏障 (Blood brain barrier, BBB) 阻止药物进入中枢神经系统 (Central nervous system, CNS) 相应靶点发挥作用,药物副作用通常随着用药剂量的增大而增加<sup>[14-15]</sup>。脑内注射神经营养因子或载体介导的基因治疗是避免受 BBB 影响的重要途径,由于基因治疗载体可以实现良好的耐久性,受到持续关注<sup>[14]</sup>。病毒转导技术是基因治疗的重要手段,该技术应用改造后的无致病性病毒载体,将目的基因传递到靶细胞<sup>[16]</sup>。用于基因治疗的病毒载体有腺病毒 (Adenovirus, Ad)、腺相关病毒 (Adeno-associated virus, AAV) 及慢病毒 (Lentivirus, LV)<sup>[17]</sup>。Ad 是一种非整合型双链 DNA 病毒,其外源基因装载能力约为 7-10 kb。然而,Ad 因具有较高的免疫原性,大大限制了该载体的临床应用<sup>[18-19]</sup>。AAV 是非整合型单链

DNA 病毒, 载体自身免疫原低, 广泛应用于体内外实验研究及临床诊疗<sup>[20]</sup>。LV 是属于逆转录病毒科的单链 RNA 病毒, 免疫原性低。临床级的 LV 无致病性且无复制能力<sup>[16,18,21]</sup>。相较于 AAV, LV 具有如下优势: (1) 整合表达。靶基因的的稳定持续表达是临床实验成功的关键, LV 能介导目的基因稳定整合到宿主细胞基因组中, 虽然 AAV 某些情况下可以整合到宿主基因组中, 但该载体并不是在所有条件下都能持续表达<sup>[18]</sup>。(2) 包装能力。AAV 的外源基因装载能力较低, 目前最多容纳约 5 kb 的外源片段, LV 相较于 AAV 具有较大的包装能力(8–9 kb)<sup>[22]</sup>。(3) 载体应用。以水疱性口炎病毒表面糖蛋白 (Vesicular stomatitis virus surface glycoprotein, VSVG) 为包膜的慢病毒载体介导基因治疗不会导致轴突末端向大脑其他部位逆行转移, 而 AAV 有超过 12 种不同的血清型, 在不同物种中有不同的表达模式, 这对解释临床前模型动物实验的结果有负面影响<sup>[18,23]</sup>。实验表明, LV 具有更强的转导神经系统终末分化细胞的能力<sup>[24]</sup>。因此, 慢病毒在 AD、PD 的基因治疗中更具优势。此篇综述将主要讨论慢病毒载体介导基因治疗 AD、PD 的研究进展。

## 1 慢病毒载体结构及特点

### 1.1 慢病毒载体的种类

慢病毒属于逆转录病毒科的 RNA 病毒家族<sup>[25]</sup>。早期慢病毒载体, 由人类免疫缺陷病毒 (Human immunodeficiency virus, HIV) 改装而来<sup>[22]</sup>, 随后, 猫免疫缺陷病毒 (Felines immunodeficiency virus, FIV)<sup>[26]</sup>、猿类免疫缺陷病毒 (Simian immunodeficiency virus, SIV)<sup>[27]</sup>、牛免疫缺陷病毒 (Bovine immunodeficiency virus, BIV)<sup>[28]</sup>、绵羊髓鞘脱落病毒 (Maedi-visna virus, MVV)<sup>[29]</sup>等载体相继研发。

### 1.2 慢病毒载体的结构

以应用最广泛的 HIV-1 型慢病毒载体为例,

目前开发的第 3 代质粒系统为四质粒系统, 包括 Rev (编码辅助蛋白)、Gag (编码结构蛋白)/Pol (编码病毒复制相关酶)、Env (编码病毒包膜蛋白) 和目的基因序列载体<sup>[30]</sup>。四质粒系统大大降低体系产生意外重组的可能性, 且未对载体感染效率产生负面影响<sup>[29-30]</sup>。

### 1.3 慢病毒载体的应用

LV 的趋向性和转导宿主类型主要取决于使用的包膜蛋白<sup>[22]</sup>。VSVG 是一种三聚体蛋白, 与其受体低密度脂蛋白受体 (LDLR) 的结合可以促进细胞内吞作用<sup>[31]</sup>。VSVG-LV 较稳定, 可以承受超速离心, 从而产生高滴度的 LV 制剂<sup>[31]</sup>。VSVG-LV 具有高度的稳定性和广泛的趋向性, 可以转导干细胞、神经元等较难转导的细胞<sup>[31-32]</sup>。目前, 使用异源包膜蛋白的慢病毒载体已被广泛使用, 淋巴细胞性脉络丛脑膜炎病毒 (Lymphocytic choriomeningitis virus, LCMV) 糖蛋白包装 LV 可实现大鼠星形胶质细胞和黑质神经元优先转导<sup>[33]</sup>; VSV 相关病毒金迪普拉 (Chandipura virus glycoprotein, CNVG) 相对于 VSVG 转导神经母瘤细胞的能力更强<sup>[31]</sup>; 狂犬病毒 (Rabies Virus, RabV) 包膜的糖蛋白受体是神经营养受体 (P75NTR)、神经细胞黏附分子 (NCAM) 和烟碱型乙酰胆碱受体 (NACHR), RabV-LV 可高效转导神经细胞<sup>[34]</sup>, 且能够通过动力蛋白复合体介导从轴突表面到细胞核的逆向运输<sup>[25]</sup>。目的基因在时空上的可控性是基因治疗成功与否的关键因素, 如四环素诱导调控表达系统具有灵敏、机理清楚等优势, 广泛应用于体内外研究, 该系统可用于 LV 实现目的基因的条件性表达<sup>[35]</sup>。因此, 慢病毒载体介导的基因治疗在临床实验中发挥着举足轻重的作用。

## 2 慢病毒介导基因治疗 PD 进展

### 2.1 PD 诊疗现状

目前, 临床治疗 PD 主要通过药物治疗和手

术治疗。治疗药物可分为抗胆碱能药物、多巴胺替代疗法药物、多巴胺受体激动剂、单胺氧化酶-B抑制剂、金刚烷胺、儿茶酚-O-甲基转移酶 (COMT) 抑制剂等<sup>[12,36-37]</sup>。抗胆碱能药物和多巴胺受体激动剂常作为 PD 辅助治疗药物,但有多种不良反应<sup>[8,36]</sup>。针对 PD 患者中脑黑质多巴胺神经元变性死亡、纹状体多巴胺水平明显降低的病理特征,左旋多巴是改善 PD 症状的现有最佳药物<sup>[12,38]</sup>。左旋多巴能有效治疗僵直及运动迟缓<sup>[36]</sup>。卡比多巴 (Carbidopa) 是外周多巴脱羧酶抑制剂,与左旋多巴合用时,减少外周组织生成多巴胺,从而减轻恶心等不良反应<sup>[8]</sup>。然而,随着 PD 的进展,内源性多巴胺储存和释放能力降低可能导致左旋多巴疗效下降,出现运动性波动和异动症<sup>[36]</sup>。PD 手术治疗包括经皮内镜下空肠造口术 (Percutaneous endoscopic gastrostomy with jejunal extension, PEG-J) 提供持续的左旋多巴/卡比多巴肠凝胶,该方式较口服左旋多巴/卡比多巴虽能更长时间控制 PD 症状,但并不能避免药物治疗后运动性波动和异动症的发生<sup>[39]</sup>。脑深部电刺激疗法 (Deep brain stimulation, DBS) 是通过脑立体定向手术在脑深部植入高频刺激电极,改善 PD 患者运动症状与非运动症状,从而提高生活质量的技术。然而,手术过程中脑脊液 (Cerebral spinal fluid, CSF) 丢失、颅内压下降可能导致脑部移位现象,术后并发症包括心肌梗死、脑血肿、中风、癫痫等<sup>[8,40]</sup>。PD 现有药物的治疗只能暂时改善患者部分运动性症状,手术治疗也需要权衡疾病进程与术后并发症的利弊,且非运动性症状还无法得到很好的改善。因此,基因治疗也许是延缓、阻止甚至逆转 PD 疾病进程的可行方式。

## 2.2 PD 的基因治疗

基因治疗 PD 的想法是由基底神经节神经元的基因修饰能弥补多巴胺释放不足,并挽救运动起始通路的活性而优化的<sup>[11]</sup>。慢病毒载体已被证明能高效地在黑质和纹状体中传递基因<sup>[21]</sup>。目前

临床基因治疗 PD 主要通过增加多巴胺合成、调节神经营养因子表达和促进神经调节弥补基底节多巴胺信号缺失,挽救 PD 运动性症状<sup>[11,41]</sup>。ProSavin 是携带酪氨酸羟化酶 (Tyrosine hydroxylase, TH)、GTP 环化水解酶 1 (GTP cyclization hydrolase 1, GCH1) 和芳香族氨基酸脱羧酶 (Aromatic acid decarboxylase, AADC) 序列的慢病毒载体,这 3 种酶是酪氨酸合成多巴胺所必需的<sup>[42]</sup>。一项临床 1/2 期开放标签实验证明,ProSavin 对 PD 患者是安全的,并且改善了运动能力,但并没有达到多巴胺替代疗法的最佳水平<sup>[43]</sup>。OXB-102 慢病毒载体与 ProSavin 基因组相似,但 3 个外源基因顺序不同,在 1-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氢吡啶 (1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine, MPTP) 猕猴模型中,多巴胺产量较 ProSavin 高,在载体注射 6 个月后,治疗动物临床评分和自发活动都有显著改善,动物未出现载体相关的临床或行为异常,目前正进行进一步临床开发<sup>[44]</sup>。研究表明,外源性单唾液酸四己糖神经节苷脂 (Trisialoganglioside-GT1b, GM1) 具有广泛的神经保护作用,抑制神经节苷脂 GD3 合酶 (Ganglioside biosynthetic enzyme GD3 synthase, GD3S) 能增加内源性 GM1 水平,近期有实验室应用慢病毒载体介导靶向 GD3S 的短发夹 RNA (Short hairpin RNA, shRNA) 抑制其表达,结果表明抑制 GD3S 可以保护小鼠与 MPTP 给药相关的黑质、纹状体损伤,并能减轻运动迟缓等症<sup>[45]</sup>。Persephin 蛋白 (PSPN) 与胶质细胞源性神经营养因子 (Glial cell line-derived neurotrophic factor, GDNF) 均具有神经营养作用。将带有 PSPN 的 LV 载体转染大鼠黑质多巴胺能神经元,处理 1 周后,将 6-羟基多巴胺 (6-hydroxydopamine, 6-OHDA) 注入大鼠内侧前脑束建立 PD 模型。PSPN 预处理组黑质多巴胺能神经元数量增加,纹状体多巴胺及其代谢产物浓度升高,表明 PSPN 对 6-OHDA 诱导的 PD 具有神经保护作用<sup>[46]</sup>。硫化氢 (H<sub>2</sub>S) 在神经系统

中起重要作用, 利用带有胱硫醚- $\beta$ -合成酶 (Cystathionine- $\beta$ -synthase, CBS) (脑内合成  $H_2S$  合成酶) 的 LV 载体转染大鼠左侧纹状体, 显著抑制 6-OHDA 诱导的氧化应激损伤, 减少黑质多巴胺能神经元的丢失, 证明 CBS 过表达对 PD 大鼠具有神经保护作用<sup>[47]</sup>。LV-GDNF 也应用于多种动物模型, GDNF 过表达对多巴胺能神经元有显著保护作用<sup>[48]</sup>。基因治疗通常对孟德尔遗传病有较好的治疗效果<sup>[16]</sup>, 家族性 PD 约占 PD 患者的 10%<sup>[11]</sup>, PINK1 (PTEN induced putative kinase 1)、 $\beta$ -葡糖脑苷脂酶 ( $\beta$ -glucocerebrosidase, GBA1)、LRRK2 (Leucine-rich repeat kinase 2) 等基因突变是造成 PD 的高风险因素<sup>[49-50]</sup>, 虽然其中的机制还未明确, 但也为基因治疗提供相应的靶点。目前, 除了前述 PD 具有复杂性、异质性外, PD 的临床诊疗同样面临如下挑战: (1) 未知 PD 确切的病因和发病机制, 大部分研究仅仅针对单一靶点, 通常也只假设单一的主要致病机制。(2) 临床前细胞、动物模型可能不能很好地反映人类 PD 发病机制。(3) 尚不清楚所使用的结果衡量标准或临床实验设计是否适用于评估疾病状态, 缺乏可靠的生物标志物反映疾病的存在和严重程度。上述慢病毒介导基因治疗 PD 在模型动物实验中有显著改善, 为临床实验打下了良好基础。同时 LV 因其转导效率高、重复性好、包装能力较强 (可承载多个目的基因, 如 ProSavin) 等优势, 具有良好前景。

### 3 慢病毒介导基因治疗 AD 进展

#### 3.1 AD 诊疗现状

如前所述, FDA 批准用于治疗 AD 的药物能延缓疾病发展, 但无法阻止或逆转 AD 的进程。轻度认知障碍患者使用胆碱酯酶抑制剂 (Cholinesterase inhibitors, ChEIs) 甚至可能恶化认知<sup>[51]</sup>。目前, AD 的非药物治疗如记忆训练、音乐疗法、有氧运动、认知行为疗法等可以提高部分患者生活质

量但同药物治疗相同, 并不能阻止 AD 引发的神经元损伤、破坏<sup>[52]</sup>。

#### 3.2 AD 的基因治疗

##### 3.2.1 A $\beta$

$\beta$  分泌酶 1 (Beta-secretase, BACE1) 是水解淀粉样前体蛋白 (Amyloid precursor protein, APP) 生成  $\beta$ -淀粉样蛋白 (Amyloid  $\beta$ -protein, A $\beta$ ) 的限速酶。鉴于 BACE1 在产生 A $\beta$  中的关键作用, 使用 LV 载体表达 BACE1-siRNA 转导 AD 小鼠, 可以减少模型动物 A $\beta$  生成并改善小鼠的行为缺陷<sup>[53]</sup>。然而有研究表明, 抑制 BACE1 对突触可塑性及认知功能有不良影响, 有证据显示低水平 A $\beta$  对认知水平有积极作用<sup>[54]</sup>。A $\beta$  的沉积影响 cAMP 反应元件结合蛋白 (cAMP-response element binding protein, CREB) 的活性, LV 过表达 CREB 转导 APP/PS1/Tau 小鼠, 能改善模型的学习和记忆障碍<sup>[55]</sup>。

##### 3.2.2 神经营养因子

神经营养因子通过诱导不同信号通路调控神经元的存活、分化等, 与 AD 密切相关。脑源性神经营养因子 (Brain-derived neurotrophic factor, BDNF) 在 AD 中表达水平下降<sup>[3]</sup>, 将 LV 过表达 BDNF 载体转导 APP 小鼠, 可以改善学习记忆、增加突触蛋白突触素 (Synaptophysin, Syn) 的表达, 防止内嗅皮层神经元死亡<sup>[56]</sup>。该实验表明, BDNF 通过与淀粉样蛋白无关的机制 (实验不伴随淀粉样蛋白的减少) 对 AD 相关的神经回路发挥保护作用<sup>[56]</sup>。LV 过表达 GDNF 载体转导 APP/PS1/Tau 小鼠, 与绿色荧光蛋白载体转导组相比, 实验组小鼠学习和记忆功能相对完好, GDNF 并没有显著缓解淀粉样蛋白和 Tau 蛋白病理学变化, 却可以诱导 BDNF 上调, 可能协同 GDNF 发挥神经保护作用<sup>[57]</sup>。一项临床 1/2 期研究将 AAV 介导的神经生长因子 (Nerve growth factor, NGF) 转导 AD 患者前脑基底大细胞核。结果表明, AAV-NGF 的治疗在 24 个月内是安全的,

且 AAV-NGF 可以使表现有 Tau 病理的神经元及正常神经元表达 NGF, 但 AD 评定量表-认知量表结果显示, 治疗组和对照组间没有显著差异<sup>[58-59]</sup>。

### 3.2.3 神经炎症

神经炎症也是 AD 发病重要原因之一, 小胶质细胞是 AD 致炎细胞因子的主要来源<sup>[60]</sup>。髓样细胞触发受体 2 (Triggering receptor expressed on myeloid cells 2, TREM2) 通过抑制小胶质细胞介导的细胞因子的产生和分泌来抑制炎症反应, 并参与吞噬途径的调节<sup>[61]</sup>。在 APP/PS1 小鼠脑内, LV 介导 TREM2 的过表达能改善 A $\beta$  的沉积、神经炎症、神经元和突触丢失, 并且伴随着空间认知功能的改善。可能的机制为 TREM2 过表达增强了小胶质细胞吞噬作用<sup>[61]</sup>。此研究者运用 LV 介导 TREM2 在 P301S (Tau 转基因) 小鼠的小胶质细胞过表达, 模型小鼠空间认知损伤得到挽救, 并改善了 Tau 过度磷酸化及神经元和突触的丢失。这种保护作用可能与抑制神经炎症和 Tau 磷酸化相关激酶 (白细胞介素 1、白细胞介素 6) 活性相关。同时, M2 型小胶质细胞标志物白细胞介素 4、白细胞介素 10 的表达明显增加, 提示 TREM2 诱导小胶质细胞活化可能是其抑制神经炎症的机制之一<sup>[62]</sup>。

### 3.2.4 氧化应激作用

氧化应激作用是 AD 的重要机制, 其中 Nrf2 (NF-E2-related factor 2) 可通过与抗氧化反应元件 ARE (Antioxidant response element) 相互作用调节抗氧化蛋白的表达<sup>[63]</sup>。Kanninen 等利用 LV 过表达 Nrf2 转染 APP/PS1 小鼠明显改善了小鼠空间学习能力<sup>[64]</sup>。

### 3.2.5 自噬作用

自噬作用是维持神经元正常生理功能的重要细胞机制<sup>[65]</sup>, Beclin1 基因也称 BECN1 基因, 是哺乳动物参与自噬的特异性基因, 该基因的表达可激活自噬作用、降低淀粉样蛋白聚集并改善认知水平<sup>[66]</sup>。实验表明, LV 介导 Beclin1 在海马区

过表达, 降低了淀粉样蛋白的积累<sup>[1]</sup>。

目前, 由于 LV 安全性以及 AD 发病的具体机制了解还不够深入等原因, LV 介导基因治疗 AD 距离临床实验仍有不小的距离。表 1 总结了近年来 LV 应用于 AD 动物模型的实验进展。

## 4 展望

目前, AD 与 PD 发病机制了解得还不够深入。LV 介导治疗 PD 的临床实验显示, 治疗效果并不比左旋多巴等药物治疗有效, 同时出于 LV 自身安全性考虑, 载体介导基因治疗 AD 与 PD 距离临床应用还有一定距离。值得肯定的是, LV 转导人 CD34<sup>+</sup> 细胞是一项成熟的技术, 已经在一些患有联合免疫缺陷症的患者中产生了疗效, 迄今已被证明是安全的<sup>[79]</sup>。综合上述进展, 未来应着手以下研究。

(1) 深入研究神经退行性疾病机制。AD 临床药物研发中, 不乏众多靶向 A $\beta$  低聚物、A $\beta$  斑块、 $\gamma$ -分泌酶、 $\beta$  分泌酶、Tau、线粒体代谢、过氧化物酶体增殖物激活受体 (Peroxisome proliferator-activated receptor, PPAR) 等, 但大多对病患认知及 ADL 没有改善作用<sup>[80]</sup>。PD 临床药物中虽有特效药左旋多巴, 但仍无法避免药物带来的“开关现象”、“剂末现象”。随着 AD、PD 机制研究更加深入, 可能为药物研发提供合适的靶点。

(2) 模型生物的合理选择。近年来转基因小鼠是 AD 研究的常用模型, 但是小鼠与人类在基因组、神经解剖学、免疫系统及行为学等方面具有差异, 并且不同实验室间小鼠研究结果缺乏可重复性, 导致该模型难以完全模拟人类 AD<sup>[81]</sup>。目前, 一些实验室使用诱导多功能干细胞 (Induced pluripotent stem cells, iPSCs) 建立细胞模型用于研究 AD 发病机制, 使用遗传学和基因编辑的手段进行 2D 或 3D 建模, 但是同一疾病的不同遗传背景和个体差异也是 iPSCs 在 AD 研究中面临的挑战之一<sup>[82]</sup>。

表 1 LV 基因治疗 AD 动物模型

Table 1 LV-mediated gene therapy in AD models

Gene	Expression type	Target/Mechanism	Animal model	Phenotypes	Reference
Klotho	OE	Microglia autophagy	APP/PS1 mouse	Ameliorated cognitive deficit and AD-like pathology	[67]
NPY	OE	Neuroprotection	APP mouse	Reversed neurodegenerative pathology and behavioral deficits	[68]
ANP32A	KD	Histone acetylation	Tau mouse	Ameliorated synaptic plasticity and memory ability	[69]
SHIP2	KD	Tau	APP/PS1/Tau mouse	Rescued tau hyperphosphorylation and memory impairments	[70]
EphB2	OE	NMDA receptor	APP/PS1 mouse	Ameliorated impaired memory deficits and anxiety or depression-like behaviors	[71]
MCT4	KD	Astrocyte	APP/PS1 mouse	Improved cognitive ability, reduced neuronal apoptosis and $\gamma$ -secretase expression	[72]
S1T	OE	ER stress	APP/PS1/Tau mouse	Enhanced the $\beta$ -secretase expression and triggered neuroinflammation	[73]
BACE1-AS	KD	BACE1	SAMP8 mouse	Improved the memory and learning behaviors, inhibited BACE1 production, and rescued tau hyperphosphorylation	[74]
NLRP1	KD	ROS	DEX mouse	Alleviated neuronal degeneration	[75]
GSK-3 $\beta$	KD	Tau	APP/PS1 mouse	Ameliorated memory ability and rescued tau hyperphosphorylation	[76]
HDAC3	KD	A $\beta$	APP/PS1 mouse	Attenuated spatial memory deficits and decreased A $\beta$ levels	[77]
ABCA7	OE	A $\beta$ , ER stress	A $\beta$ inject mouse	Improved cognitive behavior and decreased A $\beta$ levels	[78]

NPY: neuropeptide Y; ANP32A: recombinant acidic nuclear phosphoprotein 32 family member A; SHIP2: Src homology 2 domain containing inositol polyphosphate; EphB2: Erythropoietin-producing hepatocyte receptor B2; MCT4: monocarboxylate transporter 4; S1T: sarco-endoplasmic reticulum Ca<sup>2+</sup> ATPase1; BACE1-AS: BACE1 antisense transcript; NLRP1: nucleotide-binding oligomerization domain-like receptor protein 1; DEX: Dexamethasone; GSK-3 $\beta$ : Glycogen synthase kinase 3 $\beta$ ; HDAC3: histone deacetylase 3; ABCA7: ATP-binding cassette transporter A7.

(3) LV 的生物安全性及载体系统的优化。CRISPR/Cas9 介导的基因编辑可以激活转录或实现基因沉默，与 RNAi 相比具有独到优势。LV-CRISPR/Cas9 系统已广泛应用于多种疾病模型，这一技术在基础研究及临床实验应用中具有巨大潜力<sup>[1]</sup>。研究表明，胶质细胞成熟因子 (Glia maturation factor, GMF) 是一种促炎分子，在 AD 大脑的不同区域显著上调。表达化脓性链球菌 Cas9 和 GMF-sgRNAs 的 LV 转导细胞显示 GMF 表达量降低，且相较于 AAV 介导的基因编辑具有更高的效率<sup>[83]</sup>。虽然 LV 载体经过多代改造后安全性增高，但是病毒载体的某些成分 (如编码结构蛋白的基因) 仍有引发人体免疫排

斥反应的可能<sup>[17]</sup>。针对 LV 引发的免疫反应可以通过免疫抑制药物、载体加入破坏先天免疫系统的单克隆抗体缓解。LV 载体在转染细胞时，目的片段随机插入基因组有可能会造成基因突变等严重后果，整合酶缺陷型慢病毒包装系统具有更高的生物安全性<sup>[35]</sup>。另外，加入可对外源基因进行转录调节的调控元件，如四环素调节系统，是基因治疗安全性有效性的重要保障<sup>[84]</sup>。尽管理论上 LV 具有致癌的可能，但尚无相关的病例报道。对已接受 LV 为基础的基因治疗患者，定期随访对于了解载体安全性及有效性是必要的<sup>[85]</sup>。

(4) 生物标志物与诊断方式。AD、PD 现有的治疗方式只能在患者确诊后才能实施，此时的

大脑已受到不可逆损伤<sup>[86]</sup>。多种临床实验药物无法很好地改善 ADL、认知障碍、运动障碍可能与临床实验患者症状较重有关。因此,探索生物标志物,在疾病早期确诊并优化诊断方式迫在眉睫。最近有研究发现,线粒体动力蛋白相关蛋白 1 (Dynamamin related protein, DRP1) 的缺失会引发多条应激反应通路,刺激神经来源的成纤维生长因子 21 (Fibroblast growth factor 21, FGF21) 释放,导致线粒体损伤。该现象在神经退行性疾病中,发生在神经元死亡之前,有望成为新的生物标志物<sup>[87]</sup>。 $A\beta$  在大脑中广泛积累,甚至在没有任何症状的人群中也是如此<sup>[88]</sup>。相反, Tau 恰好集中在脑萎缩最严重的位置(有助于解释患者症状差异的区域),新型可注射分子 Flortaucipir 能与大脑中错误折叠的 Tau 结合,并通过正电子发射型计算机断层显像 (Positron emission computed tomography, PET) 技术扫描成像有助于诊断及预测 AD 的进程<sup>[88]</sup>。

(5) 靶向多靶点治疗。AD、PD 等神经退行性疾病进程复杂,涉及到的基因、通路众多,单一增强或抑制某个靶点,可能无法阻止疾病进程。研究表明,利用过表达 *Ascl1* (Achaete-scute complex homolog 1)、*Brn2* (POU class homeobox 2)、*Ngn2* (Neurogenin 2) 三个转录因子的 LV 注射小鼠 ( $A\beta$  处理) 海马区,可明显改善 AD 小鼠的空间学习记忆障碍<sup>[89]</sup>。LV 具有较大的克隆容量,携带多个序列进行多靶点治疗可能阻止或逆转疾病进程。

(6) 病患生活质量。临床根据 AD、PD 患者症状进行医治,往往忽视疾病并发症的诊疗。关注病患生活质量,如 PD 患者非运动性症状(便秘、失眠、抑郁、焦虑)<sup>[8]</sup>,提高生活幸福感也是完善诊疗方法的重要环节。

## 5 结语

AD、PD 两种神经退行性疾病长时间以来给

患者、患者家庭、社会带来沉重的负担。关于 AD、PD 诊疗,尽管全球在机制研究、疾病诊断、临床治疗、生物制药等方面作出努力,但距离明确疾病具体机制、临床药物成功开发、病患成功治疗仍有很长的距离。本文旨在综述目前 LV 介导基因治疗 AD、PD 进展,为相关研究提供借鉴与参考。长期研究表明, LV 具有转导效率高、免疫原性较低、克隆容量大等无可比拟的优势, CRISPR/Cas9 等技术又为其发展注入新的可能,为治疗 AD、PD 提供巨大的潜力与希望。

## REFERENCES

- [1] Raikwar SP, Thangavel R, Dubova I, et al. Neuro-immuno-gene- and genome-editing-therapy for Alzheimer's disease: are we there yet? *J Alzheimers Dis*, 2018, 65(2): 321-344.
- [2] Atri A. Current and future treatments in Alzheimer's disease. *Semin Neurol*, 2019, 39(2): 227-240.
- [3] Alves S, Fol R, Cartier N. Gene Therapy strategies for Alzheimer's disease: an overview. *Hum Gene Ther*, 2016, 27(2): 100-107.
- [4] Reitz C. Genetic diagnosis and prognosis of Alzheimer's disease: challenges and opportunities. *Expert Rev Mol Diagn*, 2015, 15(3): 339-348.
- [5] Selkoe DJ. Alzheimer's disease: genes, proteins, and therapy. *Physiol Rev*, 2001, 81(2): 741-766.
- [6] Steel K. Alzheimer's disease. *N Engl J Med*, 2010, 362(19): 1844-1845.
- [7] Agatonovic-Kustrin S, Kettle C, Morton DW. A molecular approach in drug development for Alzheimer's disease. *Biomed Pharmacother*, 2018, 106: 553-565.
- [8] Zesiewicz TA. Parkinson disease. *Continuum (Minneapolis)*, 2019, 25(4): 896-918.
- [9] Chen Y, Shen JB, Ke KF, et al. Clinical potential and current progress of mesenchymal stem cells for Parkinson's disease: a systematic review. *Neurol Sci*, 2020, 41(5): 1051-1061.
- [10] de Pablo-Fernández E, Lees AJ, Holton JL, et al. Prognosis and neuropathologic correlation of clinical subtypes of Parkinson disease. *JAMA Neurol*, 2019, 76(4): 470-479.



- [11] Valdés P, Schneider BL. Gene therapy: a promising approach for Neuroprotection in Parkinson's disease? *Front Neuroanat*, 2016, 10: 123.
- [12] Sun J, Xiong H, Yao YX. Progress in treatment of Parkinson's disease. *Medical Recapitul*, 2020, 26(6): 1157–1160, 1165 (in Chinese).  
孙静, 熊航, 姚玉玺. 帕金森病的治疗进展. *医学综述*, 2020, 26(6): 1157–1160, 1165.
- [13] Bryois J, Skene NG, Hansen TF, et al. Genetic identification of cell types underlying brain complex traits yields insights into the etiology of Parkinson's disease. *Nat Genet*, 2020, 52(5): 482–493.
- [14] Sudhakar V, Richardson RM. Gene therapy for Neurodegenerative diseases. *Neurotherapeutics*, 2019, 16(1): 166–175.
- [15] Li XM, Tsibouklis J, Weng TT, et al. Nano carriers for drug transport across the blood-brain barrier. *J Drug Target*, 2017, 25(1): 17–28.
- [16] Hitti FL, Gonzalez-Alegre P, Lucas TH. Gene therapy for Neurologic disease: a neurosurgical review. *World Neurosurg*, 2019, 121: 261–273.
- [17] Shirley JL, de Jong YP, Terhorst C, et al. Immune responses to viral gene therapy vectors. *Mol Ther*, 2020, 28(3): 709–722.
- [18] White M, Whittaker R, Gándara C, et al. A guide to approaching regulatory considerations for lentiviral-mediated gene therapies. *Hum Gene Ther Methods*, 2017, 28(4): 163–176.
- [19] Tatsis N, Ertl HJ. Adenoviruses as vaccine vectors. *Mol Ther*, 2004, 10(4): 616–629.
- [20] Flotte TR. Gene therapy progress and prospects: recombinant adeno-associated virus (rAAV) vectors. *Gene Ther*, 2004, 11(10): 805–810.
- [21] Lundberg C, Björklund T, Carlsson T, et al. Applications of lentiviral vectors for biology and gene therapy of neurological disorders. *Curr Gene Ther*, 2008, 8(6): 461–473.
- [22] Zheng CX, Wang SM, Bai YH, et al. Lentiviral vectors and adeno-associated virus vectors: useful tools for gene transfer in pain research. *Anat Rec (Hoboken)*, 2018, 301(5): 825–836.
- [23] Salganik M, Hirsch ML, Samulski RJ. Adeno-associated virus as a mammalian DNA vector. *Microbiol Spectr*, 2015, 3(4), doi: 10.1128/microbiolspec.MDNA3-0052-2014.
- [24] Lin Q, Wang DG, Zhang ZQ, et al. Applications of virus vector-mediated gene therapy in China. *Hum Gene Ther*, 2018, 29(2): 98–109.
- [25] Sizemore RJ, Seeger-Armbruster S, Hughes SM, et al. Viral vector-based tools advance knowledge of basal ganglia anatomy and physiology. *J Neurophysiol*, 2016, 115(4): 2124–2146.
- [26] da Silva LF, Walder RY, Davidson BL, et al. Changes in expression of NMDA-NR1 receptor subunits in the rostral ventromedial medulla modulate pain behaviors. *Pain*, 2010, 151(1): 155–161.
- [27] Liehl B, Hlavaty J, Moldzio R, et al. Simian immunodeficiency virus vector pseudotypes differ in transduction efficiency and target cell specificity in brain. *Gene Ther*, 2007, 14(18): 1330–1343.
- [28] Berkowitz R, Ilves H, Lin WY, et al. Construction and molecular analysis of gene transfer systems derived from bovine immunodeficiency virus. *J Virol*, 2001, 75(7): 3371–3382.
- [29] Meng FR, Chen C, Wan HS, et al. Advances of lentiviral vectors. *Chin J Lung Cancer*, 2014, 17(12): 870–876 (in Chinese).  
孟凡荣, 陈琛, 万海粟, 等. 慢病毒载体及其研究进展. *中国肺癌杂志*, 2014, 17(12): 870–876.
- [30] Escors D, Breckpot K. Lentiviral vectors in gene therapy: their current status and future potential. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*, 2010, 58(2): 107–119.
- [31] Joglekar AV, Sandoval S. Pseudotyped lentiviral vectors: one vector, many guises. *Hum Gene Ther Methods*, 2017, 28(6): 291–301.
- [32] Annoni A, Gregori S, Naldini L, et al. Modulation of immune responses in lentiviral vector-mediated gene transfer. *Cell Immunol*, 2019, 342: 103802.
- [33] Cannon JR, Sew T, Montero L, et al. Pseudotype-dependent lentiviral transduction of astrocytes or neurons in the rat substantia nigra. *Exp Neurol*, 2011, 228(1): 41–52.
- [34] Hislop JN, Islam TA, Eleftheriadou I, et al. Rabies virus envelope glycoprotein targets lentiviral vectors to the axonal retrograde pathway in motor neurons. *J Biol Chem*, 2014, 289(23): 16148–16163.
- [35] Stahlhut M, Schambach A, Kustikova OS. Multimodal lentiviral vectors for pharmacologically

- controlled switching between constitutive single gene expression and tetracycline-regulated multiple gene collaboration. *Hum Gene Ther Methods*, 2017, 28(4): 191–204.
- [36] Armstrong MJ, Okun MS. Diagnosis and treatment of Parkinson disease: a review. *Jama*, 2020, 323(6): 548–560.
- [37] Colović MB, Krstić DZ, Lazarević-Pašti TD, et al. Acetylcholinesterase inhibitors: pharmacology and toxicology. *Curr Neuropharmacol*, 2013, 11(3): 315–335.
- [38] Fahn S. The history of dopamine and levodopa in the treatment of Parkinson's disease. *Mov Disord*, 2008, 23 Suppl 3: S497–S508.
- [39] Epstein M, Johnson DA, Hawes R, et al. Long-term PEG-J tube safety in patients with advanced Parkinson's disease. *Clin Transl Gastroenterol*, 2016, 7(3): e159.
- [40] Gong S, Tao YQ, Jin H, et al. Assessment of deep brain stimulation implantation surgery: a practical scale. *World Neurosurg*, 2020, 134: e1121–e1129.
- [41] Hitti FL, Yang AI, Gonzalez-Alegre P, et al. Human gene therapy approaches for the treatment of Parkinson's disease: an overview of current and completed clinical trials. *Parkinsonism Relat Disord*, 2019, 66: 16–24.
- [42] Azzouz M, Martin-Rendon E, Barber RD, et al. Multicistronic lentiviral vector-mediated striatal gene transfer of aromatic L-amino acid decarboxylase, tyrosine hydroxylase, and GTP cyclohydrolase I induces sustained transgene expression, dopamine production, and functional improvement in a rat model of Parkinson's disease. *J Neurosci*, 2002, 22(23): 10302–10312.
- [43] Palfi S, Gurruchaga JM, Ralph GS, et al. Long-term safety and tolerability of ProSavin, a lentiviral vector-based gene therapy for Parkinson's disease: a dose escalation, open-label, phase 1/2 trial. *Lancet*, 2014, 383(9923): 1138–1146.
- [44] Badin RA, Binley K, Van Camp N, et al. Gene Therapy for Parkinson's Disease: Preclinical Evaluation of Optimally Configured TH:CH1 Fusion for Maximal Dopamine Synthesis. *Mol Ther Methods Clin Dev*, 2019, 14: 206–216.
- [45] Dhanushkodi A, Xue Y, Roguski EE, et al. Lentiviral-mediated knock-down of GD3 synthase protects against MPTP-induced motor deficits and neurodegeneration. *Neurosci Lett*, 2019, 692: 53–63.
- [46] Yin XF, Xu HM, Jiang YX, et al. Lentivirus-mediated Persephin over-expression in Parkinson's disease rats. *Neural Regen Res*, 2015, 10(11): 1814–1818.
- [47] Yin WL, Yin WG, Huang BS, et al. Neuroprotective effects of lentivirus-mediated cystathionine-beta-synthase overexpression against 6-OHDA-induced Parkinson's disease rats. *Neurosci Lett*, 2017, 657: 45–52.
- [48] Kordower JH, Bjorklund A. Trophic factor gene therapy for Parkinson's disease. *Mov Disord*, 2013, 28(1): 96–109.
- [49] Hernandez DG, Reed X, Singleton AB. Genetics in Parkinson disease: Mendelian versus non-Mendelian inheritance. *J Neurochem*, 2016, 139(S1): 59–74.
- [50] Wang N, Qiu PP, Cui W, et al. Recent advances in multi-target anti-Alzheimer disease compounds (2013 Up to the Present). *Curr Med Chem*, 2019, 26(30): 5684–5710.
- [51] Han JY, Besser LM, Xiong CJ, et al. Cholinesterase inhibitors may not benefit mild cognitive impairment and mild Alzheimer disease dementia. *Alzheimer Dis Assoc Disord*, 2019, 33(2): 87–94.
- [52] Abraha I, Rimland JM, Trotta FM, et al. Systematic review of systematic reviews of non-pharmacological interventions to treat behavioural disturbances in older patients with dementia. The SENATOR-OnTop series. *BMJ Open*, 2017, 7(3): e012759.
- [53] Singer O, Marr RA, Rockenstein E, et al. Targeting BACE1 with siRNAs ameliorates Alzheimer disease neuropathology in a transgenic model. *Nat Neurosci*, 2005, 8(10): 1343–1349.
- [54] Filser S, Ovsepian SV, Masana M, et al. Pharmacological inhibition of BACE1 impairs synaptic plasticity and cognitive functions. *Biol Psychiatry*, 2015, 77(8): 729–739.
- [55] Caccamo A, Maldonado MA, Bokov AF, et al. CBP gene transfer increases BDNF levels and ameliorates learning and memory deficits in a mouse model of Alzheimer's disease. *Proc Natl*

- Acad Sci USA, 2010, 107(52): 22687–22692.
- [56] Nagahara AH, Merrill DA, Coppola G, et al. Neuroprotective effects of brain-derived neurotrophic factor in rodent and primate models of Alzheimer's disease. *Nat Med*, 2009, 15(3): 331–337.
- [57] Revilla S, Ursulet S, Álvarez-López MJ, et al. Lenti-GDNF gene therapy protects against Alzheimer's disease-like neuropathology in 3xTg-AD mice and MC65 cells. *CNS Neurosci Ther*, 2014, 20(11): 961–972.
- [58] Rafii MS, Tuszynski MH, Thomas RG, et al. Adeno-associated viral vector (Serotype 2)-Nerve growth factor for patients with Alzheimer disease: a randomized clinical trial. *JAMA Neurol*, 2018, 75(7): 834–841.
- [59] Tuszynski MH, Yang JH, Barba D, et al. Nerve growth factor gene therapy: activation of neuronal responses in Alzheimer disease. *JAMA Neurol*, 2015, 72(10): 1139–1147.
- [60] Jiang T, Yu JT, Zhu XC, et al. TREM2 in Alzheimer's disease. *Mol Neurobiol*, 2013, 48(1): 180–185.
- [61] Jiang T, Tan L, Zhu XC, et al. Upregulation of TREM2 ameliorates neuropathology and rescues spatial cognitive impairment in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *Neuropsychopharmacology*, 2014, 39(13): 2949–2962.
- [62] Jiang T, Zhang YD, Chen Q, et al. TREM2 modifies microglial phenotype and provides neuroprotection in P301S tau transgenic mice. *Neuropharmacology*, 2016, 105: 196–206.
- [63] Sajjad N, Wani A, Sharma A, et al. *Artemisia amygdalina* upregulates Nrf2 and protects neurons against oxidative stress in Alzheimer disease. *Cell Mol Neurobiol*, 2019, 39(3): 387–399.
- [64] Kanninen K, Heikkinen R, Malm T, et al. Intrahippocampal injection of a lentiviral vector expressing Nrf2 improves spatial learning in a mouse model of Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106(38): 16505–16510.
- [65] Benito-Cuesta I, Diez H, Ordoñez L, et al. Assessment of Autophagy in Neurons and Brain Tissue. *Cells*, 2017, 6(3): 25.
- [66] Rocchi A, Yamamoto S, Ting T, et al. A *Becn1* mutation mediates hyperactive autophagic sequestration of amyloid oligomers and improved cognition in Alzheimer's disease. *PLoS Genet*, 2017, 13(8): e1006962.
- [67] Zeng CY, Yang TT, Zhou HJ, et al. Lentiviral vector-mediated overexpression of Klotho in the brain improves Alzheimer's disease-like pathology and cognitive deficits in mice. *Neurobiol Aging*, 2019, 78: 18–28.
- [68] Spencer B, Potkar R, Metcalf J, et al. Systemic central nervous system (CNS)-targeted delivery of neuropeptide Y (NPY) reduces neurodegeneration and increases neural precursor cell proliferation in a mouse model of Alzheimer disease. *J Biol Chem*, 2016, 291(4): 1905–1920.
- [69] Chai GS, Feng Q, Wang ZH, et al. Downregulating ANP32A rescues synapse and memory loss via chromatin remodeling in Alzheimer model. *Mol Neurodegener*, 2017, 12: 34.
- [70] Kam TI, Park H, Gwon Y, et al. FcγRIIb-SHIP2 axis links Aβ to tau pathology by disrupting phosphoinositide metabolism in Alzheimer's disease model. *Elife*, 2016, 5: e18691.
- [71] Hu R, Wei P, Jin L, et al. Overexpression of EphB2 in hippocampus rescues impaired NMDA receptors trafficking and cognitive dysfunction in Alzheimer model. *Cell Death Dis*, 2017, 8(3): e2717.
- [72] Hong P, Zhang XY, Gao SC, et al. Role of monocarboxylate transporter 4 in Alzheimer disease. *Neurotoxicology*, 2020, 76: 191–199.
- [73] Bussiere R, Oulès B, Mary A, et al. Upregulation of the Sarco-endoplasmic reticulum calcium ATPase 1 truncated isoform plays a pathogenic role in Alzheimer's disease. *Cells*, 2019, 8(12): 1539.
- [74] Zhang WT, Zhao H, Wu Q, et al. Knockdown of BACE1-AS by siRNA improves memory and learning behaviors in Alzheimer's disease animal model. *Exp Ther Med*, 2018, 16(3): 2080–2086.
- [75] Sun LL, Chen YL, Shen XY, et al. Inhibition of NOX2-NLRP1 signaling pathway protects against chronic glucocorticoids exposure-induced hippocampal neuronal damage. *Int Immunopharmacol*, 2019, 74: 105721.
- [76] Bian H, Bian W, Lin XY, et al. RNA interference

- silencing of glycogen synthase kinase 3 $\beta$  inhibites Tau phosphorylation in mice with Alzheimer disease. *Neurochem Res*, 2016, 41(9): 2470–2480.
- [77] Zhu XL, Wang SL, Yu LJ, et al. HDAC3 negatively regulates spatial memory in a mouse model of Alzheimer's disease. *Aging Cell*, 2017, 16(5): 1073–1082.
- [78] Li MQ, Yuan YF, Hu B, et al. Study on lentivirus-mediated ABCA7 improves neurocognitive function and related mechanisms in the C57BL/6 mouse model of Alzheimer's disease. *J Mol Neurosci*, 2017, 61(4): 489–497.
- [79] Boulad F, Mansilla-Soto J, Cabriolu A, et al. Gene therapy and genome editing. *Hematol Oncol Clin North Am*, 2018, 32(2): 329–342.
- [80] Long JM, Holtzman DM. Alzheimer disease: an update on pathobiology and treatment strategies. *Cell*, 2019, 179(2): 312–339.
- [81] Fisher EMC, Bannerman DM. Mouse models of neurodegeneration: know your question, know your mouse. *Sci Transl Med*, 2019, 11(493): eaaq1818.
- [82] Tcw J. Human iPSC application in Alzheimer's disease and Tau-related neurodegenerative diseases. *Neurosci Lett*, 2019, 699: 31–40.
- [83] Raikwar SP, Thangavel R, Dubova I, et al. Targeted gene editing of glia maturation factor in Microglia: a novel Alzheimer's disease therapeutic target. *Mol Neurobiol*, 2019, 56(1): 378–393.
- [84] Hamilton AM, Foster PJ, Ronald JA. Evaluating nonintegrating lentiviruses as safe vectors for noninvasive reporter-based molecular imaging of multipotent mesenchymal stem cells. *Hum Gene Ther*, 2018, 29(10): 1213–1225.
- [85] Milone MC, O'Doherty U. Clinical use of lentiviral vectors. *Leukemia*, 2018, 32(7): 1529–1541.
- [86] Chen P, Yan Q, Wang ST, et al. Transfer of three transcription factors via a lentiviral vector ameliorates spatial learning and memory impairment in a mouse model of Alzheimer's disease. *Gene*, 2016, 587(1): 59–63.
- [87] Restelli LM, Oettinghaus B, Halliday M, et al. Neuronal mitochondrial dysfunction activates the integrated stress response to induce fibroblast growth factor 21. *Cell Rep*, 2018, 24(6): 1407–1414.
- [88] La Joie R, Visani AV, Baker SL, et al. Prospective longitudinal atrophy in Alzheimer's disease correlates with the intensity and topography of baseline tau-PET. *Sci Transl Med*, 2020, 12(524): eaau5732.
- [89] Dubois B. The emergence of a new conceptual framework for Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*, 2018, 62(3): 1059–1066.

(本文责编 陈宏宇)