脊肌萎缩症治疗研究进展

吕亚丰　张艳君　程谟斌　刘子瑾　董文吉　张　业

摘　要　脊肌萎缩症(spinal muscular atrophy, SMA)是一种遗传性疾病,主要是由于运动神经元存活基因1(survival motor neuron 1, SMN1)纯合子缺失或突变而导致,其特征是脊髓前角细胞变性和由此引起的肌肉萎缩和无力,目前该疾病还没有有效的治疗手段,本文简要概述了SMA的分子机制及其临床治疗研究进展。

关键词　脊肌萎缩症　运动神经元存活基因1　基因治疗

中图分类号　R744.8　　**文献标识码**　A　　**DOI**　10.11969/j.issn.1673-548X.2019.02.042

脊肌萎缩症(spinal muscular atrophy, SMA)是一种单基因常染色体隐性遗传疾病,主要是由于SMN1基因的纯合子缺失而导致,其特征是脊髓前角细胞变性和由此引起的肌肉萎缩和无力,该疾病发生率为1/6000～10000,携带率为1/40～50,是导致婴儿死亡的最主要遗传病。SMA的治疗主要分为优化临床管理和药物治疗两个方面,但目前没有药物能够有效治疗SMA,尽管如此,在过去20多年累积的对SMA分子遗传学和病理生理学的认识,为药物的研发奠定了坚实的理论基础,也为迎来转化医学的新时代做好了准备。

一、脊肌萎缩症发病的分子机制

该疾病由Werdnig于1891年首次报道[1]。1995年Melki实验室克隆并鉴定该病的致病基因为运动神经元存活基因1(survival motor neuron 1, SMN1)[2],人类SMN基因位于5q13,分为SMN1和SMN2,SMN1基因位于端粒侧,转录后产生全长mRNA,编码全长为294个氨基酸的SMN蛋白质,SMN2基因位于着丝粒侧,SMN2基因与SMN1基因在外显剪接增强子处有一个核苷酸的差异,从而使得转录后的SMN2缺失第7个外显子,编码截断的SMN蛋白,截断的SMN蛋白丧失全长SMN蛋白的功能,并且在细胞内迅速降解。有趣的是,SMN2 mRNA的第7个外显子在有些情况下并不是全部缺失,SMN2基因仍然能够产生一小部分(10%～15%)全长mRNA,这部分mRNA可编码具有正常功能的SMN蛋白(图1)。

研究发现95%的SMA是由于SMN1基因的纯合子缺失而引起,SMA患者体内由于SMN1基因的缺失,不能产生足够的SMN蛋白。在疾病状态下,体内SMN蛋白主要来源于SMN2基因,由于SMN2基因只有少部分可产生功能性SMN蛋白,因此SMA主要是由于体内SMN蛋白的缺乏而引起。SMA患者中SMN2基因的拷贝数差异较大,表型分析发现一般情况下SMN2基因的拷贝数与疾病的严重程度呈负相关[3]。也有研究发现,虽然SMN2基因的拷贝数是SMA疾病严重程度的最主要决定因素,但不是唯一因素。Prior等[4]在3例3型SMA患者中发现其SMN2仅有2个拷贝,这些患者SMN2基因的第7个外显子有一个核苷酸的突变,即c.859G>C,突变后形成一个外显剪接增强子元件,从而产生了更多的全长SMN蛋白及较轻的临床表现。因此需要注意的是SMA的表型也不能完全由SMN2基因的拷贝数来推断(图1)。

二、脊肌萎缩症的分类及临床表现

根据患者的发病年龄和疾病的严重程度,脊肌萎缩症分为5种亚型:①0型患者:一般多见于胎儿或新生儿,胎儿表现为胎动减少,新生儿表现为肌肉反射消失、面部瘫痪、房间隔缺损和关节挛缩,最严重的表现为呼吸衰竭,病儿预期寿命大大缩短,大多数生存期在6个月以内[5];②1型患者:即婴儿型,也称为Werdnig-Hoffman病,患者出生后6个月内出现肌张力低下,头部控制不佳和肌腱反射减弱或消失。严重的肌张力低下,表现为躺倒时的"蛙腿"姿势,缺乏头部控制,不能端坐,肋间肌肉薄弱,膈肌相对较小,患者往往出现吞咽功能减弱,由于呼吸肌无力,SMA患儿通常在2岁前出现呼吸衰竭[6];③2型患者:即中间型,一般在出生后6～18个月内发病,患者可以在

基金项目:中国医学科学院医学与健康科技创新工程项目(2016-12M-3-002)

作者单位:100730　中国医学科学院/北京协和医学院基础医学研究所、医学分子生物学国家重点实验室

通讯作者:张业,电子信箱:yezhang@pumc.edu.cn;董文吉,电子信箱:wjdong863@163.com

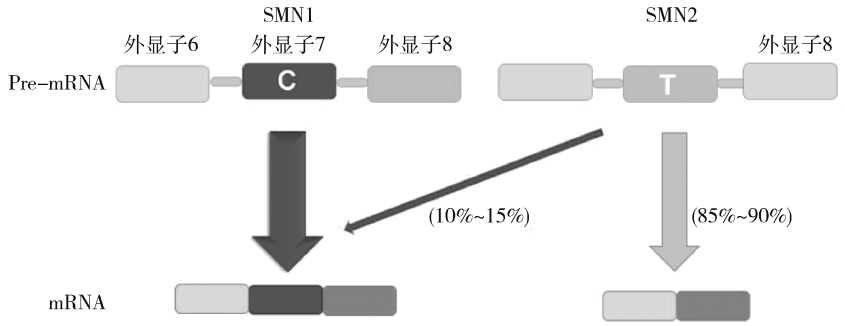

图 1　SMN1 基因与 SMN2 基因 pre－mRNA 的剪接

发育过程中的某一阶段独坐，但无法独立行走。该类患者多出现脊柱侧凸、关节挛缩和下颌关节强直等并发症，脊柱侧凸和肋间肌无力往往导致严重的肺部疾病。这些儿童的认知能力是正常的[7]；④3 型患者：即少年型，也称为 Kugelberg－Welander 病，患者一般在出生后 18 个月～5 岁内发病，在辅助物支撑的帮助下可行走。与 2 型 SMA 不同的是，这些人大多没有脊柱侧弯和呼吸肌无力等并发症，这个群体的认知和预期寿命一般不受疾病的影响[8]；⑤4 型患者：在少年之后发病的归分类为 4 型 SMA，它们大约占 SMA 患者总数的 5%，仅有轻微的症状。与 3 型相似，但是发病在成年期，通常认为在 30 岁或更晚时候发病[9]。

三、脊肌萎缩症的治疗

从 SMA 的首次报道至今已经有 100 多年的历史。在 20 世纪 90 年代之前，因为没有明确的分子靶标，SMA 的临床试验相对较少，所进行的研究通常涉及用于改善疾病症状的药物，相关研究在以肌无力为特征的其他疾病如肌萎缩侧索硬化症或肌营养不良症中表现出令人鼓舞的结果。SMA 的遗传和分子基础的阐明为基于增加 SMN 蛋白表达以治疗 SMA 的策略提供了理论基础。这些策略包括利用低分子药物或反义核苷酸药物增加 SMN2 表达（导致更多全长 SMN mRNA），以及病毒载体介导的替代全长 SMN1 的基因疗法。目前有些药物已经上市，有的药物正在进行临床试验，基于重组相关病毒载体的基因治疗药物已初露端倪。

1. 低分子药物：目前，全球正在开发多种通过不同机制增加全长 SMN 蛋白水平的低分子药物。研究发现，组蛋白去乙酰化酶抑制剂苯基丁酸钠、丙戊酸和羟基尿等可以增加 SMN2 mRNA 水平，并且在 SMA 小鼠模型和细胞系中显示出良好的结果，但是临床试验显示很少或没有疗效。其他低分子药物如氨基糖苷类，主要通过抑制 SMN2 基因 SMNΔ7 外显子 8 的终止密码子的识别，而将截短的 SMN 蛋白质延长，显著增加 SMN 蛋白在 SMA 患者成纤维细胞中的表达，皮下注射该化合物（TC007）后，虽然没有延长小鼠生存期，但增强了 SMA 转基因小鼠的运动功能[10]。除此之外，还在开发一类更有效的能够改变 SMN2 转录物剪接模式的药物，使得更有利于包含外显子 7，这些药物在 SMA 小鼠模型上具有非常显著的功效，目前正在进行临床试验。RG7800 是美国 PTC Therapeutics 公司使用高通量药物筛选平台筛选到的一种低分子药物[11]。罗氏公司对该化合物进行了化学优化，并将其作为口服生物药物进入临床，2015 年开展了 1 期多中心随机、双盲、安慰剂对照研究，以研究成人和儿童 SMA 患者对 RG7800 治疗 12 周后的安全性、耐受性、药代动力学和药效学。在招募第 1 批患者后，由于在临床前毒理学研究中观察到影响眼睛的安全性问题，研究人员终止了临床试验。最近，罗氏公司开展了两项Ⅰ/Ⅱ期临床试验，旨在研究化合物 RG7916 对 1 型、2 型和 3 型 SMA 患者的安全性、耐受性、药代动力学、药效学和疗效，这两项研究目前正在进行。诺华公司正在寻求一种类似的策略，该策略也能够增加 SMN2 转录产物中外显子 7 的保留，并且能够显著提高 SMA 小鼠模型的预期寿命[12]。2015 年 4 月在 4 个欧洲国家启动了 1 型 SMA 患者Ⅰ/Ⅱ期口服 LMI070（NCT02268552）临床研究，结果发现对周围神经、脊髓、睾丸和肾脏血管具有不良反应，在 2016 年中期，决定暂停招募患者，并将其作为平行的慢性临床前毒理学研究，此试验自宣布以来，所有参加试验的患者都得到密切监测，研究还在进行，但不再招募患者。

2. 反义寡核苷酸药物：通过改变 SMN2 剪接方式，使更多外显子 7 包含到最终的 mRNA 转录物中，并且增加全长 SMN 蛋白的表达是治疗 SMA 的一种

有希望的策略。这种策略的原理是通过设计一种能靶向 SMN2 前体 mRNA 的内含子或外显子中顺式作用序列的药物,从而通过影响各种反式剪接因子来调节 SMN2 前体 mRNA 的剪接。

反义寡核苷酸(antisense oligonucleotides, ASO)是治疗性 RNA 分子,通过靶向结合内含子或外显子内的互补序列,从而增强或破坏剪接事件。最初的 ASO 通过与外显子 8 的 3′端剪接位点结合而增加 SMN2 mRNA 中外显子 7 的保留。随后又鉴定了多个剪接调控位点,其中一个重要剪接调节位点位于 SMN2 基因内含子 7 中,称为 ISS - N1,还有内含子 7 内的 ISS - N2,内含子 6 中的 Element 1 和与 ISS - N1 部分重叠的 GC 富集序列[13, 14]。研究证实,在成纤维细胞中,ASO 诱导的 ISS - N1 阻断可明显增强细胞中 SMN2 外显子 7 的包含,并使得细胞内 SMN 蛋白质增加,同时体内实验证实 ASO 可高效增加 SMN2 外显子 7 的包含和小鼠全长 SMN 蛋白质表达水平[15]。但是全身给药后发现 ASO 未能穿透小鼠血 - 脑脊液屏障,研究者通过脑室内直接注射的办法克服了这一障碍,使得小鼠脊髓中的全长 SMN mRNA 和蛋白质表达水平增加。

目前已有多个处于临床前研究阶段的基于 ASO 的 SMA 疗法。如吗啉基反义寡核苷酸,可靶向内含子阻遏物 Element1 进而提高 SMA 小鼠的存活率[16]。Lorson 等设计了一个双功能 RNA,此双功能 RNA 含有一个针对内含子 7 /外显子 8 连接点的 ASO 和另外一个可以募集 hnRNP - A1 的序列,hnRNP - A1 是阻止外显子 8 包含的剪接因子,研究证实这种双功能 RNA 分子和其他双功能 RNA 的脑室内注射同样能够提高脑中全长 SMN 蛋白质水平[17]。反式剪接 RNA(trans - splicing RNA, tsRNA)是基于寡核苷酸的另一个策略, SMA 治疗性 tsRNA 是一种合成的 RNA 分子,可以与内源性 SMN2 前体 mRNA 相互作用,导致杂交 mRNA 内源性突变,从而产生更多全长 SMN mRNA 和蛋白质。目前 tsRNA 在 SMA 小鼠模型也已成功应用[18]。

在众多 ASO 中,最值得一提的就是 Nusinersen 即 Spinraza, Spinraza 是一种 2′ - O - 甲氧基乙基(2′ MOE)修饰的反义寡核苷酸,最初由 IONIS Pharmaceuticals 公司开发,设计用于结合 SMN2 前体 mRNA 内含子 7 中的内含子剪接沉默子,使负性剪接因子 hnRNP A1/A2 被置换且不能与 SMN2 前体 mRNA 结合,从而产生全长 mRNA 和完整的功能蛋白[19],临床前试验的成功促使 IONIS Pharmaceuticals 与 Biogen 联合开发这种药物用于治疗 SMA。经过 3 个阶段的临床试验,全面评估了 SMA 患者鞘内注射的安全性、耐受性、药代动力学和临床效果[20, 21]。基于 3 个阶段试验的积极数据,2016 年 12 月,美国 FDA 批准 SPINRAZATM(Nusinersen)作为迄今为止第 1 个也是唯一一种用于 SMA 的遗传治疗药物。

3. 基因治疗:SMA 作为一种单基因疾病,基因治疗有望彻底治愈 SMA。病毒载体介导的 SMN 基因转移在临床前研究中已经非常成功。Foust 等利用自身互补腺相关病毒血清型 9(scAAV9)作为载体成功拯救了 SMA 小鼠,这是 SMA 基因治疗发展的一个里程碑[22]。本研究中,SMA 小鼠出生后第 1 天,静脉内注射携带 SMN1 基因的 scAAV9,分析发现有 60% 的脊髓运动神经元表达 SMN1 蛋白质,且完全改善了肌肉的运动功能和强度,治疗后的小鼠寿命 >400 天,而未治疗组小鼠寿命仅有 16 天。目前,这种方法已被其他多个研究组所重复[23]。但是,值得注意的是这种方法有严格的治疗窗口期,随着年龄的增长,治疗效果迅速下降,出生后第 5 天注射只有部分效果,而在出生后第 10 天注射几乎没有效果,意味着设计基于 SMN 增强表达的疗法,无论是通过基因治疗方法还是其他方式,疾病早期诊断非常关键,在临床症状出现之前要早诊断早治疗。这一观察结果同时提示,在个体发育过程中可能存在关键时期,其间足够的 SMN 蛋白质对于运动神经元发育是必需的。

AveXis Inc. 基因治疗公司正在美国进行一项临床研究,这是第 1 个评估静脉输送 scAAV9 - SMN1 至 1 型 SMA 患者的安全性的Ⅰ期临床试验[24]。这项研究总共有 15 例 SMA 婴儿参与进来; 参与者分成两组,其中 3 例患者接受低剂量(6.7×10^{13} vg/kg)治疗,12 例接受高剂量(2.0×10^{14} vg/kg)治疗。截至 2017 年 8 月 7 日,所有 15 例患者在 20 个月大时仍然存活并无安全事件发生,而历史队列中存活率仅为 8%。在高剂量组,基因治疗后进行费城儿童医院神经肌肉障碍测试(Children′s Hospital of Philadelphia infant test of neuromuscular disorders, CHOP INTEND)记录运动功能评分(范围 0 ~ 64,分数越高表明功能越好),1 个月时增加了 9.8 个点,3 个月时增加了 15.4 个点,与此相比, 历史队列 CHOP INTEND 评分逐渐降低。在接受高剂量治疗的 12 例患者中,11 例能够端坐,9 例可以翻身,11 例能由口进食并且说话,2 例能够独立走路。2018 年 1 月 16 日 AveXis Inc.

公司又公布了针对 SMN 基因候选疗法 AVXS－101 的扩大临床试验计划。除正在开展的对 1 型患者的关键试验(STRIVE)和针对 2 型患者的 1 期试验(STRONG)外,公司计划再启动 3 项试验,涵盖新的 SMA 患者群体,针对 AVXS－101 进行更加深入的评估。此外,该公司还宣布针对 2 型患者的 1 期试验已经完成了首位患者的用药。良好的临床结果促使诺华公司于 2018 年 4 月宣布以 87 亿美元的价格收购 AveXis Inc. 公司,诺华将与 AveXis 的团队一起建设基因治疗平台,以推动越来越多的治疗领域的基因治疗药物。

4.其他治疗药物:(1)神经保护性药物:Olesoxime 是一种低分子药物,研究显示出神经保护及促进神经突触生长的特性。体外研究表明,在营养因子剥夺试验中使用 olesoxime 可以提高神经元细胞存活率。此外,在肌萎缩性侧索硬化的 SOD1G93A 转基因小鼠模型中,与对照处理相比,用 olezoxime 处理小鼠可防止体重减轻及严重肌肉功能衰退,并且使得小鼠寿命增加 10%。这种药物已经在 2013 年完成了第 2 阶段随机、多中心、双盲安慰剂对照试验。在欧洲不同国家的 23 个地点招募了 165 例 3～25 岁的 2 型和 3 型 SMA 患者,进行了为期 2 年的研究。结果表明,olesoxime 能有效保持运动功能,并改善 2 年治疗期间的总体健康状况。目前正在进行一项由 Hoffmann－La Roche 发起的开放性试验研究,该研究将评估患者接受 olesoxime 治疗后的安全性、耐受性和有效性预计将在 2020 年 12 月完成。(2)骨骼肌肌钙蛋白激活药物:肌节是骨骼肌的收缩单位,钙离子(Ca^{2+})是信息传递过程中的关键调节离子,肌钙蛋白复合物中 Ca^{2+} 与肌钙蛋白 C 的结合使得原肌球蛋白运动、肌动蛋白与肌球蛋白相互作用和肌肉收缩,由于 Ca^{2+} 释放的水平与神经肌肉传导的幅度以及肌收缩力呈正比,因此控制 Ca^{2+} 的释放成为治疗 SMA 和其他骨骼肌肉相关疾病的靶点。美国 Cytokinetics Inc 公司与英国安斯泰来公司合作开发了 CK－2127107(CK－107),这种药物主要就是通过减缓骨骼肌纤维中肌钙蛋白复合物释放钙的速率,从而改善 SMA 患者的肌肉功能和身体状况。Ⅰ期临床试验测试了 CK－2127107 药物的安全性、药代动力学和药效学。目前该药物正在进行二期临床研究,纳入对象为青少年骨骼肌疲劳患者以及 SMA 2 型、3 型和 4 型的成年患者,主要在美国和加拿大招募患者。(3)干细胞治疗:一旦运动神经元死亡,可尝试通过干细胞移植来恢复其功能,其目标之一是通过递送神经保护剂来支持内源性运动神经元,并且最理想的预期结果是部分恢复神经元细胞和非神经元细胞。通过鞘内注射脊髓前角来源的神经干细胞至 SMA 小鼠,迁移到实质的神经干细胞产生了一小部分运动神经元,治疗小鼠表现出运动能力和神经肌肉功能的改善,而且预期寿命增加 38%。尽管神经干细胞移植在小鼠中获得了良好的结果,其在人类疾病中的作用尚不清楚。目前在动物模型中也尝试了其他替代方案,其中包括使用胚胎干细胞或诱导多能干细胞进行移植,这些细胞具有在体外和体内分化成神经干细胞和运动神经元的能力,但是该策略应用于人的 SMA 治疗还为时尚早。

四、展　望

SMA 作为导致婴儿死亡的最主要遗传病,在其致病基因发现 21 年后,第 1 个用于治疗 SMA 的药物 SPINRAZA™ 最终成功上市,虽然这对于患者及家属都是一大好消息,但是 SPINRAZA™ 仍然不能最终治愈 SMA。目前 SMA 治疗的研究领域正在迅速扩展,上述治疗方案以及最近完成的 AVXS－101 一期临床试验的结果令人非常鼓舞,但仍有几个问题尚未解决。一个问题是运动神经元发育是否存在缺陷,运动神经元功能是否进行性丧失,或者两者兼有。所有这些方法的最佳干预时间在人类中并不清楚,特别是在这种情况下,是否存在不可逆转的病理变化,事实上,尽管在 SMA 小鼠模型的几项研究中确定了治疗时间和疗效之间的精确关系,但在人类中是否也是如此目前还不能确定。另外这些疗法的临床效应是否会持续下去也不清楚,特别是在成长的儿童中。此外,动物模型和有限的患者病例报告提供的证据表明,SMA 病理改变不仅限于运动神经元,还涉及骨骼肌、神经肌肉接头和中间神经元等,由于 SMA 最严重后果是全身器官功能障碍或结构改变,目前尚不能确定靶向运动神经元而不是全身组织的治疗是否会随着时间的推移而导致多器官功能障碍的发生。

参考文献

1 Dubowitz V. Ramblings in the history of spinal muscular atrophy[J]. Neuromuscul Disord,2009,19(1):69－73

2 Lefebvre S, Burglen L, Reboullet S, *et al*. Identification and characterization of a spinal muscular atrophy－determining gene[J]. Cell, 1995,80(1):155－165

3 Lefebvre S, Burlet P, Liu Q, *et al*. Correlation between severity and SMN protein level in spinal muscular atrophy[J]. Nat Genet,1997, 16(3):265－269

4 Prior TW, Krainer AR, Hua Y, *et al*. A positive modifier of spinal muscular atrophy in the SMN2 gene[J]. Am J Hum Genet, 2009, 85(3): 408 – 413

5 Dubowitz V. Very severe spinal muscular atrophy (SMA type 0): an expanding clinical phenotype[J]. Eur J Paediatr Neurol, 1999, 3(2): 49 – 51

6 Finkel R, McDermott M, Kaufmann P, *et al*. Observational study of spinal muscular atrophy type I and implications for clinical trials[J]. Neurology, 2014, 83(9): 810 – 817

7 K ZerresDavies K. 59th ENMC International Workshop: Spinal Muscular Atrophies: recent progress and revised diagnostic criteria 17 – 19 April 1998, Soestduinen, The Netherlands[J]. Neuromuscul Disord, 1999, 9(4): 272 – 278

8 Zerres K, Rudnik – Schöneborn S, Forrest E, *et al*. A collaborative study on the natural history of childhood and juvenile onset proximal spinal muscular atrophy (type II and III SMA): 569 patients[J]. J Neurol Sci, 1997, 146(1): 67 – 72

9 Piepers S, van den Berg LH, Brugman F, *et al*. A natural history study of late onset spinal muscular atrophy types 3b and 4[J]. J Neurol, 2008, 255(9): 1400 – 1404

10 Mattis VB, Ebert AD, Fosso MY, *et al*. Delivery of a read – through inducing compound, TC007, lessens the severity of a spinal muscular atrophy animal model[J]. Human Mol Genet, 2009, 18(20): 3906 – 3913

11 Naryshkin NA, Weetall M, Dakka A, *et al*. Motor neuron disease. SMN2 splicing modifiers improve motor function and longevity in mice with spinal muscular atrophy[J]. Science, 2014, 345(6197): 688 – 693

12 Palacino J, Swalley SE, Song C, *et al*. Corrigendum: SMN2 splice modulators enhance U1 – pre – mRNA association and rescue SMA mice[J]. Nat Chem Biol, 2015, 11(9): 741

13 Singh NN, Lawler MN, Ottesen EW, *et al*. An intronic structure enabled by a long – distance interaction serves as a novel target for splicing correction in spinal muscular atrophy[J]. Nucleic Acids Res, 2013, 41(17): 8144 – 8165

14 Singh NK, Singh NN, Androphy EJ, *et al*. Splicing of a critical exon of human survival motor neuron is regulated by a unique silencer element located in the last intron[J]. Mol Cell Biol, 2006, 26(4): 1333 – 1346

15 Hua YM, Vickers TA, Okunola HL, *et al*. Antisense masking of an hnRNP A1/A2 intronic splicing silencer corrects SMN2 splicing in Transgenic mice[J]. Am J Human Genet, 2008, 82(4): 834 – 848

16 Osman EY, Miller MR, Robbins KL, *et al*. Morpholino antisense oligonucleotides targeting intronic repressor Element1 improve phenotype in SMA mouse models[J]. Human Mol Genet, 2014, 23(18): 4832 – 4845

17 Baughan TD, Dickson A, Osman EY, *et al*. Delivery of bifunctional RNAs that target an intronic repressor and increase SMN levels in an animal model of spinal muscular atrophy[J]. Human Mol Genet, 2009, 18(9): 1600 – 1611

18 CoadyLorson THL. Trans – splicing – mediated improvement in a severe mouse model of spinal muscular atrophy[J]. J Neuroscience, 2010, 30(1): 126 – 130

19 Singh NN, Lee BM, DiDonato CJ, *et al*. Mechanistic principles of antisense targets for the treatment of spinal muscular atrophy[J]. Fut Med Chem, 2015, 7(13): 1793 – 1808

20 Chiriboga C, Swoboda K, Darras B, *et al*. Results from a phase 1 study of nusinersen (ISIS – SMN(Rx)) in children with spinal muscular atrophy[J]. Neurology, 2016, 86(10): 890 – 897

21 Finkel R, Chiriboga C, Vajsar J, *et al*. Treatment of infantile – onset spinal muscular atrophy with nusinersen: a phase 2, open – label, dose – escalation study[J]. Lancet, 2016, 388(10063): 3017 – 3026

22 Foust KD, Wang X, McGovern VL, *et al*. Rescue of the spinal muscular atrophy phenotype in a mouse model by early postnatal delivery of SMN[J]. Nat Biotechnol, 2010, 28(3): 271 – 274

23 Dominguez E, Marais T, Chatauret N, *et al*. Intravenous scAAV9 delivery of a codon – optimized SMN1 sequence rescues SMA mice[J]. Hum Mol Genet, 2011, 20(4): 681 – 693

24 Mendell JR, Al – Zaidy S, Shell R, *et al*. Single – dose gene – replacement therapy for spinal muscular atrophy[J]. N Engl J Med, 2017, 377(18): 1713 – 1722

(收稿日期:2018 – 05 – 15)
(修回日期:2018 – 05 – 24)

(上接第 175 页)

17 Shen L, Huang F, Ye L, *et al*. Circulating microRNA predicts insensitivity to glucocorticoid therapy in Graves′ ophthalmopathy [J]. Endocrine, 2015, 49(2): 445 – 456

18 Wei H, Guan M, Qin Y, *et al*. Circulating levels of miR – 146a and IL – 17 are significantly correlated with the clinical activity of Graves′ ophthalmopathy [J]. Endocr J, 2014, 61(11): 1087 – 1092

19 Ajjan RA, Weetman AP. The pathogenesis of Hashimoto′s thyroiditis: further developments in our understanding [J]. Horm Metab Res, 2015, 47(10): 702 – 710

20 Bernecker C, Halim F, Lenz L, *et al*. microRNA expressions in CD4 and CD8 T – cell subsets in autoimmune thyroid diseases [J]. Exp Clin Endocrinol Diabetes, 2014, 122(2): 107 – 112

21 Bernecker C, Lenz L, Ostapczuk MS, *et al*. MicroRNAs miR – 146a1, miR – 155 – 2, and miR – 200a1 are regulated in autoimmune thyroid diseases [J]. Thyroid, 2012, 22(12): 1294 – 1295

22 Zhu J, Zhang Y, Zhang W, *et al*. MicroRNA – 142 – 5p contributes to Hashimoto′s thyroiditis by targeting CLDN1 [J]. J Transl Med, 2016, 14(1): 166

23 Caturegli P, De Remigis A, Rose NR. Hashimoto thyroiditis: clinical and diagnostic criteria [J]. Autoimmun Rev, 2014, 13(4 – 5): 391 – 397

24 Peng H, Liu Y, Tian J, *et al*. Decreased expression of microRNA – 125a – 3p upregulates interleukin – 23 receptor in patients with Hashimoto′s thyroiditis [J]. Immunol Res, 2015, 62(2): 129 – 136

(收稿日期:2018 – 03 – 05)
(修回日期:2018 – 03 – 09)