·综　　述·

天冬氨酸酰基转移酶及其相关疾病的研究进展*

张颖贞,王一丹,王培昌 综述,付静轩△ 审校
首都医科大学宣武医院检验科,北京 100053

摘　要:N-乙酰-L-天冬氨酸(NAA)是由神经元产生的天冬氨酸衍生物,是大脑中含量第二高的氨基酸/氨基酸衍生物,仅次于含量第 1 位的谷氨酸。NAA 代谢通过影响水的运输、髓鞘合成、神经细胞能量代谢等方面进而影响神经系统功能,NAA 增多或减少均会引起神经系统疾病。天冬氨酸酰基转移酶(ASPA)是将 NAA 分解为天冬氨酸和乙酸盐的酶,在维持 NAA 代谢平衡过程中发挥重要作用。ASPA 突变可导致罕见病卡纳万病(CD),CD 预后极差。此外,近些年关于甲基化 ASPA 基因在衰老预测模型中的报道逐渐增多,提示了 ASPA 在神经系统之外的作用。该文将对 ASPA 的生物学功能、ASPA 突变所致 CD 的临床症状及治疗,以及甲基化 ASPA 基因在衰老中的作用进行综述。

关键词:天冬氨酸酰基转移酶;　N-乙酰-L-天冬氨酸;　卡纳万病;　衰老
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2023.21.018　　**中图法分类号:**Q504
文章编号:1673-4130(2023)21-2649-06　　**文献标志码:**A

Research progress of aspartoacylase and related disease*

ZHANG Yingzhen, WANG Yidan, WANG Peichang, FU Jingxuan△
Department of Clinical Laboratory, Xuanwu Hospital of Capital Medical University, Beijing 100053, *China*

Abstract: N-acetyl-L-aspartic acid (NAA) is a derivative of aspartic acid produced by neurons and is the second most abundant amino acid/amino acid derivative in the brain, second only to the most abundant glutamic acid. NAA metabolism affects neurological system function through its impact on water transport, myelin synthesis, and neuron energy metabolism. Increase or decrease in NAA levels can lead to neurological diseases. Aspartoacylase (ASPA) is the enzyme responsible for catalyzing NAA into L-aspartate and acetate and plays an important role in maintaining NAA metabolism balance. ASPA mutations can cause the rare disease Canavan disease (CD), which has a very poor prognosis. In addition, in recent years, there have been increasing reports of the role of methylated ASPA gene in aging prediction models, indicating its role outside of the nervous system. This article reviews the biological functions of ASPA, the clinical symptoms and treatment of CD caused by ASPA mutations, and the role of methylated ASPA gene in aging.

Key words: Aspartoacylase;　N-acetyl-L-aspartic acid;　Canavan disease;　aging

N-乙酰-L-天冬氨酸(NAA)是由神经元产生的天冬氨酸衍生物,是大脑中含量第二高的氨基酸/氨基酸衍生物,仅次于含量第一位的谷氨酸。NAA 代谢通过影响水的运输、髓鞘合成、神经细胞能量代谢等方面进而影响神经系统功能,NAA 增多或减少均会引起神经系统疾病。天冬氨酸酰基转移酶(ASPA)是将 NAA 分解为天冬氨酸和乙酸盐的酶,在维持 NAA 代谢平衡过程中发挥重要作用。ASPA 突变可导致罕见病卡纳万病(CD),CD 预后极差。此外,近些年关于甲基化 ASPA 基因在衰老预测模型中的报道逐渐增多,提示了 ASPA 在神经系统之外的作用。本文将对 ASPA 的生物学功能、ASPA 突变所致 CD 的临床症状及治疗,以及甲基化 ASPA 基因在衰老中的作用进行综述。

1　ASPA 及其底物 NAA 的生物学作用

ASPA 在大脑少突胶质细胞中广泛表达,其作用是催化脑组织中 NAA 为天冬氨酸和乙酸盐[1]。ASPA 基因位于染色体 17p13.2 上,由 6 个外显子和 5 个内含子组成。ASPA 由 313 个氨基酸构成,其相对分子质量大小为 36.7×10^3,ASPA 在肾组织中表达

*　**基金项目:**"扬帆"计划重点医学专业(ZYLX202114)。
△　**通信作者,**E-mail:fujingxuan1990@163.com。

最高，其次是脑组织、脂肪组织、小肠等。在脑组织中，ASPA 在白质束和丘脑中表达最多。细胞水平上，ASPA 仅在白质和灰质的少突胶质细胞胞质部分表达，而细胞膜部分不表达[2]。ASPA 在物种进化过程中是保守的，ASPA 及其底物 NAA 在正常大脑生物学功能中起着重要作用。

NAA 是一种由神经细胞产生的天冬氨酸衍生物，是大脑中含量第二高的氨基酸/氨基酸衍生物，仅次于含量第一位的谷氨酸。NAA 在脑组织中表达丰富，而在其他组织中含量极少。目前常用的检测方法为磁共振波谱分析(MRS)。在神经细胞线粒体中，天冬氨酸-N-乙酰转移酶(Asp-NAT)由 NAT8L 基因编码，负责将天冬氨酸和乙酰辅酶 A 合成为 NAA，与负责降解 NAA 的 ASPA 不同，Asp-NAT 只在神经细胞中表达，而 ASPA 在多种组织中均有表达。NAA 在神经细胞线粒体合成后，通过二羧酸转运酶转运至细胞质，最终转运至少突胶质细胞由 ASPA 降解。钠依赖性二羧酸共转运蛋白 3(NaDC3)参与 NAA 进入星形胶质细胞和少突胶质细胞的运输[3]。NAA 和 ATP 代谢间接相关，NAA 在神经元线粒体能量代谢中起着不可或缺的作用[4]。NAA 也是哺乳动物神经系统中第三大神经递质 N-乙酰天冬氨酸谷氨酸(NAAG)的前体[5-6]。NAA 在出生后发育期间对脂质合成至关重要。NAA 代谢产生的乙酸盐用于乙酰辅酶 A 的合成从而参与髓磷脂的合成。因此，由 NAA 代谢障碍导致乙酸盐供应不足将导致髓磷脂合成缺陷[7]。NAA 可以反映神经细胞功能，被视为神经细胞健康的标志物，有研究报道，正常衰老过程中随着年龄增加 NAA 的水平随之减少[8]。NAA 水平与多种神经疾病密切相关，在阿尔茨海默病、癫痫、精神分裂症、多发性硬化症中 NAA 水平降低，而在罕见病 CD 中，NAA 水平相对升高，CD 患者脑组织中 NAA 水平比正常水平高 30%，尿液、血浆和脑脊液中 NAA 水平比正常水平高出 300 倍[9]。

2　ASPA 突变所致疾病 CD

CD 是一种致命的儿童神经系统疾病。由 NAA 代谢障碍导致的髓鞘合成障碍和白质病变为 CD 特征性改变。目前，CD 是与 ASPA 基因突变关系最为密切的一种疾病。ASPA 基因突变包括错义/无义、剪接、缺失和插入[10]。当 ASPA 突变后，其酶活性降低或含量减少，不能将具有神经毒性的 NAA 充分水解，致使 NAA 在尿液、血浆、脑组织中聚集，使大脑发生海绵状变性、脱髓鞘以及运动功能缺陷，最终导致中枢神经系统功能异常[11-12]。CD 是一种常染色体隐性遗传病，伴随神经退行性改变，常见于德系犹太人群，发病率为 1/6 400 至 1/13 500，每 40～58 例德系犹太人中就有 1 例是携带者[13]。在非犹太患者中，CD 是最常见的遗传性脑白质营养不良[14]。在普通人群中，CD 的发病率为 1/100 000[15]。而我国关于 CD 的报道较少。

2.1　CD 的临床表现　CD 普遍在婴儿时期发病，表现为严重的智力障碍和发育迟缓[16]。CD 的早期症状包括易怒和头部控制不良的肌张力减退。通常，发育迟缓和大头畸形在 6 个月后变得明显。尽管有严重的发育迟缓，CD 患儿有时可以与他人互动、微笑、伸手拿东西。CD 患儿后期发展为视神经萎缩和视网膜退化、轴索张力持续减退、手臂和腿部的张力减退转变为肢体僵硬和痉挛。随着年龄的增长，患儿变得越来越虚弱，经常发生癫痫，无法移动或自主吞咽[17]。典型 CD 的长期预后仍然很差，通常在青春期之前死亡，而一些病情较轻的患者则能活过 20 岁。

2.2　CD 的病理机制　目前，研究人员正在使用小鼠模型研究 CD 中白质变性或髓鞘损伤的机制，并就 CD 的病理生理学提出了几个假说。一种假说是 NAA 分解代谢紊乱导致神经细胞和胶质细胞水肿。NAA 可以作为分子水泵，通过被 ASPA 水解成醋酸盐和天冬氨酸来去除神经元中的代谢水，当不断积累的 NAA 不能被 ASPA 水解时，神经细胞、胶质细胞水肿，细胞外液渗透压失衡[18]。另一种假说是合成髓磷脂所必需的醋酸盐是通过 ASPA 水解 NAA 提供的。因此，由 NAA 代谢障碍导致乙酸盐供应不足将导致髓磷脂合成缺陷[7]。还有一种假说是，NAA 代谢过程中产生的乙酰辅酶 A 既可通过影响脂肪酸合成最终影响髓鞘形成，也可通过影响 ATP 形成参与能量代谢[19-20]。然而，CD 的发病机制不仅涉及 NAA 代谢紊乱，还涉及少突胶质细胞中 NAA 相关信号传导过程[21-23]。总之，与许多其他神经系统疾病类似，多种机制共同参与 CD 的病理过程。

2.3　CD 的诊断　目前，CD 的检测方法主要包括尿 NAA 水平、脑磁共振成像(MRI)和测序等。CD 患者尿 NAA 水平明显高于健康者，通常是健康者的 100 多倍，而其他白质营养不良病例中，NAA 水平只是略有升高(约 4～6 倍)。因此，与其他白质营养不良相比，NAA 明显升高对 CD 诊断更具有特异性，检测尿 NAA 水平有助于诊断 CD[9]。MRI 在 CD 诊断中同样起重要作用。CD 的 MRI 表现为弥漫性白质受累，主要位于皮质下区域、基底神经节和桥脑背侧[24]。CD 在 MRI 也有一些非典型、罕见的特征，如多囊外观，筛状外观[25-26]。NAA 峰值升高、NAA/肌酐升高以及 NAA/胆碱升高是 CD 在磁共振波谱(MRS)中的特征表现[24]。此外，全外显子组测序可帮助 CD 诊断，特别是对缺乏特定表型的患者。有研究对 1 例疑

似 CD 的先证者进行全外显子组测序,通过先证者及其父母和兄弟的 Sanger 测序对候选变异进行验证,结果表明 ASPA 基因的复合杂合变异可能是该患者 CD 病的基础[27]。

2.4　CD 的治疗　CD 的治疗主要是对症治疗,可以分为基因治疗和药物治疗。

2.4.1　CD 的基因治疗　鉴于 CD 是由 ASPA 缺乏引起的,ASPA 基因替代疗法或降低 NAT8L 基因的表达,恢复功能性 ASPA 的表达,有望治疗 CD。注射含有 ASPA 基因的重组腺相关病毒颗粒[28-29]、敲除 NAT8L[30-32]均可以降低大脑中升高的 NAA 水平。有研究联合以上两种基因疗法,在 CD 小鼠中进行了研究,结果表明联合疗法可以使 CD 小鼠脑质量空泡减少并长期逆转 CD 小鼠所有病理特征,包括体重减轻、运动障碍、NAA 水平升高、星形胶质细胞增生和脱髓鞘[33]。此外,敲除编码 NaDC3 的 SLC13A3 基因后,CD 小鼠大脑中的 NAA 水平完全正常化,阻止了小脑和丘脑空泡化,并显著改善了运动性能[3]。

近年来,诱导性多功能干细胞(iPSC)、反义寡核苷酸也被用于 CD 的治疗。通过慢病毒转染或 CRISPR / Cas9 介导的基因编辑技术将野生型 ASPA 基因引入患者 iPSC 中,然后分离出表达野生型 ASPA 基因的神经祖细胞,证明所得神经祖细胞具有 ASPA 酶活性后进行移植。移植的 ASPA 野生型神经祖细胞能够在 CD 小鼠大脑中存活,并重建了 CD 小鼠大脑中 ASPA 的活性,降低了脑组织和脑脊液中的 NAA 水平,并使 CD 小鼠标志性病理表型,如脑海绵变性、髓鞘形成缺陷和运动功能障碍有所改善[34]。iPSC 技术为 CD 治疗提供了新思路。反义寡核苷酸是 RNA 或 DNA 的一小段单链分子,与特定的 mRNA 序列结合,改变 mRNA 剪接,从而修饰所得到的蛋白质产物或抑制翻译,从而降低蛋白质表达[35]。有研究证明,通过向年轻成年 ASPA 缺陷小鼠注入反义寡核苷酸来抑制 NAA 合成,可以逆转其先前存在的共济失调并减少小脑和丘脑空泡和浦肯野细胞树突状萎缩[36]。

最近,利用慢病毒和重组腺相关病毒(AAV)的中枢神经系统定向基因治疗取得了成功,并已尝试进行临床试验[28,37]。目前的研究表明,这种方法需要进一步优化,最近的研究重点是新型 AAV 载体和靶向治疗少突胶质细胞[29]。这些新方法可能使 ASPA 基因治疗成为现实。

2.4.2　CD 的药物治疗　CD 的药物治疗主要集中在降低脑 NAA 水平、降低 NAA 相关的氧化应激、改善渗透压失调或增加乙酰辅酶 A 和脂质合成。

(1)降低脑 NAA 水平。降低 ASPA 缺乏症中的脑 NAA 水平,可以通过阻断神经元合成或释放 NAA、阻断星形胶质细胞/少突胶质细胞对 NAA 的摄取等途径。Asp-NAT 抑制剂可以通过减少 NAA 的合成,降低脑 NAA 水平。Zn^{2+} 是 Asp-NAT 活性的直接浓度依赖性抑制剂,但 Zn^{2+} 在 CD 中的治疗作用尚未进行评估[38]。NaDC3 抑制剂可以通过阻断星形胶质细胞/少突胶质细胞对 NAA 的摄取,降低脑 NAA 水平。二羧酸盐,如琥珀酸盐、α-酮戊二酸和富马酸盐以及柠檬酸三羧酸盐能显著抑制 NAA 吸收[39]。然而,二羧酸盐不能通过血脑屏障,因此需要鉴定和开发新型可通过血脑屏障的 NaDC3 抑制剂或者通过鼻内给药绕过血脑屏障来提高生物利用度来进一步验证并提高疗效。活性 ASPA 的酶替代疗法也可以降低脑 NAA 水平[40]。(2)降低 NAA 相关的氧化应激。硫辛酸是一种已知能穿过血脑屏障的抗氧化剂。在 NAA 给药前,硫辛酸预处理 2 d,可以阻断急性 NAA 给药引起的大鼠氧化应激的所有症状[41]。这些结果提示补充抗氧化剂是一种治疗 CD 的方法,但抗氧化剂在 CD 动物模型和患者中的作用仍有待进一步研究。(3)改善渗透压失调。托吡酯是一种抗癫痫药物,能有效治疗成人和儿童广泛的癫痫类型。在两例 6 个月大的 CD 患者中使用托吡酯治疗,分别在 7 个月和 15 个月的随访中显示头部生长速度下降[42]。然而,其作用机制尚不清楚。(4)增加乙酰辅酶 A 和脂质合成。增加脑乙酸盐和乙酰辅酶 A 水平可以为 CD 治疗提供益处。三乙酸甘油(GTA)是一种短链三酰甘油,可以作为乙酸前体。GTA 方案治疗约 120 d 的 CD 大鼠大脑和脊髓中的空泡适度减少、髓磷脂增加、运动性能显著改善[43]。但是 GTA 治疗并没有缓解 CD 婴儿的症状[44]。甘油三庚酸(GTH)是一种合成的三酰甘油。GTH 衍生物转化后可增加脂质合成。新生 Nur7 小鼠(CD 模型小鼠)膳食中补充 GTH 可增加大脑中的髓磷脂,减少氧化应激,促进少突胶质细胞长期存活,改善小鼠脑海绵状变性和运动功能[45]。然而,GTA 和 GTH 治疗在临床前和临床研究中仅部分有效,对于 CD 患者,GTA 和 GTH 治疗效果仍有待检验。白藜芦醇通过影响 CD 患者成纤维细胞中的 ASPA 和参与髓鞘形成的调节转录程序的 POU3 因子的表达,可能对 CD 患者有益[46]。

由于 CD 的发病过程中存在多种机制,联合使用 Asp-NAT 抑制剂、聚乙二醇修饰的 ASPA 和 GTH 膳食补充剂,可以通过抑制 Asp-NAT 和增加 ASPA 活性来降低脑 NAA 水平,提高大脑乙酸水平,增加乙酰辅酶 A 的形成从而使 CD 患者获得更好的治疗效果[15]。

3 小　结

近些年来，利用多种基因甲基化标志物构建年龄预测模型的研究逐渐成为热点，并初步应用于法医领域。诸多研究表明，ASPA 基因甲基化程度随年龄下调，ASPA 基因不同 CpG 位点甲基化程度是多种年龄预测模型的预测因子[47-50]。ASPA 基因甲基化程度在衰老领域的研究提示了 ASPA 在神经系统之外的作用，但目前鲜见相关报道。

综上所述，ASPA 在神经系统发挥重要作用，通过降解重要氨基酸衍生物 NAA 维持其代谢平衡，保障神经系统水的运输、髓鞘合成、神经细胞能量代谢等功能的正常运行。当 ASPA 突变导致其酶活性降低时，会引起罕见疾病 CD，CD 目前预后及其不良，没有有效治疗方法，研究人员试图通过基因疗法缓解该病，但效果欠佳，且多数研究停留在动物层面。在治愈 CD 方面还需更加深入的研究。此外，近些年关于 ASPA 基因甲基化在衰老预测模型中的报道逐渐增多，提示了 ASPA 在神经系统之外的作用，但具体发挥的作用及其机制尚不清楚，仍需进一步研究。

参考文献

[1] BOGNER-STRAUSS J G. N-Acetylaspartate metabolism outside the brain: lipogenesis, histone acetylation, and cancer[J]. Front Endocrinol (Lausanne), 2017, 8: 240.

[2] KLUGMANN M, SYMES C W, KLAUSSNER B K, et al. Identification and distribution of aspartoacylase in the postnatal rat brain[J]. Neuroreport, 2003, 14(14): 1837-1840.

[3] WANG Y, HULL V, STERNBACH S, et al. Ablating the transporter sodium-dependent dicarboxylate transporter 3 prevents leukodystrophy in canavan disease mice[J]. Ann Neurol, 2021, 90(5): 845-850.

[4] A I A, HADERA M G, KOTTER M, et al. Oligodendrocytes do not export NAA-derived aspartate in vitro[J]. Neurochem Res, 2017, 42(3): 827-837.

[5] NEALE J H, YAMAMOTO T. N-acetylaspartylglutamate (NAAG) and glutamate carboxypeptidase Ⅱ: an abundant peptide neurotransmitter-enzyme system with multiple clinical applications[J]. Prog Neurobiol, 2020, 184: 101722.

[6] MORLAND C, NORDENGEN K. N-Acetyl-Aspartyl-Glutamate in brain health and disease[J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(3): 1268.

[7] HOFER D C, ZIRKOVITS G, PELZMANN H J, et al. N-acetylaspartate availability is essential for juvenile survival on fat-free diet and determines metabolic health[J]. FASEB J, 2019, 33(12): 13808-13824.

[8] KIROV I I, SOLLBERGER M, DAVITZ M S, et al. Global brain volume and N-acetyl-aspartate decline over seven decades of normal aging[J]. Neurobiol Aging, 2021, 98: 42-51.

[9] PLEASURE D, GUO F, CHECHNEVA O, et al. Pathophysiology and treatment of canavan disease[J]. Neurochem Res, 2020, 45(3): 561-565.

[10] MENDES M I, SMITH D E, POP A, et al. Clinically distinct phenotypes of canavan disease correlate with residual aspartoacylase enzyme activity[J]. Hum Mutat, 2017, 38(5): 524-531.

[11] WIJAYASINGHE Y S, PAVLOVSKY A G, VIOLA R E. Aspartoacylase catalytic deficiency as the cause of Canavan disease: a structural perspective[J]. Biochemistry, 2014, 53(30): 4970-4978.

[12] KOCAK A, YILDIZ M. Docking, molecular dynamics and free energy studies on aspartoacylase mutations involved in Canavan disease[J]. J Mol Graph Model, 2017, 74: 44-53.

[13] FEIGENBAUM A, MOORE R, CLARKE J, et al. Canavan disease: carrier-frequency determination in the Ashkenazi Jewish population and development of a novel molecular diagnostic assay[J]. Am J Med Genet A, 2004, 124A(2): 142-147.

[14] MAHDIEH N, SOVEIZI M, TAVASOLI A R, et al. Genetic testing of leukodystrophies unraveling extensive heterogeneity in a large cohort and report of five common diseases and 38 novel variants[J]. Sci Rep, 2021, 11(1): 3231.

[15] WEI H, MOFFETT J R, AMANAT M, et al. The pathogenesis of, and pharmacological treatment for, Canavan disease[J]. Drug Discov Today, 2022, 27(9): 2467-83.

[16] BLEY A, DENECKE J, KOHLSCHUTTER A, et al. The natural history of canavan disease: 23 new cases and comparison with patients from literature[J]. Orphanet J Rare Dis, 2021, 16(1): 227.

[17] BENSON M D, PLEMEL D J A, FREUND P R, et al. Severe retinal degeneration in a patient with canavan disease [J]. Ophthalmic Genet, 2021, 42(1): 75-78.

[18] BASLOW M H. Brain N-acetylaspartate as a molecular water pump and its role in the etiology of canavan disease: a mechanistic explanation[J]. J Mol Neurosci, 2003, 21(3): 185-190.

[19] FRANCIS J S, STRANDE L, MARKOV V, et al. Aspartoacylase supports oxidative energy metabolism during myelination[J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2012, 32(9): 1725-1736.

[20] PENG Y, LI M, CLARKSON B D, et al. Deficient import of acetyl-CoA into the ER lumen causes neurodegeneration and propensity to infections, inflammation, and cancer[J]. J Neurosci, 2014, 34(20): 6772-6789.

[21] APPU A P, MOFFETT J R, ARUN P, et al. Increasing N-acetylaspartate in the brain during postnatal myelina-

tion does not cause the CNS pathologies of canavan disease[J]. Front Mol Neurosci,2017,10:161.

[22] SINGHAL N K,HUANG H,LI S,et al. The neuronal metabolite NAA regulates histone H3 methylation in oligodendrocytes and myelin lipid composition[J]. Exp Brain Res,2017,235(1):279-292.

[23] MOFFETT J R,PUTHILLATHU N,VENGILOTE R,et al. Acetate revisited:a key biomolecule at the nexus of metabolism,epigenetics,and Oncogenesis-Part 2:acetate and ACSS2 in health and disease[J]. Front Physiol,2020,11:580171.

[24] CAKAR N E,AKSU UZUNHAN T. A case of juvenile Canavan disease with distinct pons involvement[J]. Brain Dev,2020,42(2):222-225.

[25] KAMATE M,KABATE V,MALHOTRA M. Spongy white matter:a novel neuroimaging finding in canavan disease[J]. Pediatr Neurol,2016,56:92-93.

[26] BHAT M D,MANJUNATH N,KUMARI R,et al. Cribriform appearance of white matter in canavan disease associated with novel mutations of ASPA gene[J]. J Pediatr Genet,2022,11(4):267-271.

[27] SUN G,ZHU X,HU S,et al. Genetic analysis and prenatal diagnosis for a chinese pedigree affected with canavan disease[J]. Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi,2022,39(8):859-863.

[28] VON JONQUIERES G,SPENCER Z H T,ROWLANDS B D,et al. Uncoupling N-acetylaspartate from brain pathology:implications for canavan disease gene therapy[J]. Acta Neuropathol,2018,135(1):95-113.

[29] FRANCIS J S,MARKOV V,WOJTAS I D,et al. Preclinical biodistribution,tropism,and efficacy of oligotropic AAV/Olig001 in a mouse model of congenital white matter disease[J]. Mol Ther Methods Clin Dev,2021,20:520-534.

[30] STARLING S. White matter disease:targeted aspartoacylase gene therapy reverts canavan disease[J]. Nat Rev Neurol,2018,14(1):4.

[31] BANNERMAN P,GUO F,CHECHNEVA O,et al. Brain Nat8l knockdown suppresses spongiform leukodystrophy in an Aspartoacylase-Deficient canavan disease mouse model[J]. Mol Ther,2018,26(3):793-800.

[32] SOHN J,BANNERMAN P,GUO F,et al. Suppressing N-Acetyl-l-Aspartate synthesis prevents loss of neurons in a murine model of canavan leukodystrophy[J]. J Neurosci,2017,37(2):413-421.

[33] FROHLICH D,KALOTAY E,VON JONQUIERES G,et al. Dual-function AAV gene therapy reverses late-stage Canavan disease pathology in mice[J]. Front Mol Neurosci,2022,15:1061257.

[34] CHAO J,FENG L,YE P,et al. Therapeutic development for Canavan disease using patient iPSCs introduced with the wild-type ASPA gene[J]. iScience,2022,25(6):104391.

[35] SMITH C I E,ZAIN R. Therapeutic oligonucleotides:state of the art[J]. Annu Rev Pharmacol Toxicol,2019,59:605-630.

[36] HULL V,WANG Y,BURNS T,et al. Antisense oligonucleotide reverses leukodystrophy in canavan disease mice[J]. Ann Neurol,2020,87(3):480-485.

[37] LOTUN A,GESSLER D J,GAO G. Canavan disease as a model for gene therapy-mediated myelin repair[J]. Front Cell Neurosci,2021,15:661928.

[38] ZYSK M,SAKOWICZ-BURKIEWICZ M,PIKUL P,et al. The impact of Acetyl-CoA and aspartate shortages on the N-Acetylaspartate level in different models of cholinergic neurons[J]. Antioxidants (Basel),2020,9(6):522.

[39] FUJITA T,KATSUKAWA H,YODOYA E,et al. Transport characteristics of N-acetyl-L-aspartate in rat astrocytes:involvement of sodium-coupled high-affinity carboxylate transporter NaC3/NaDC3-mediated transport system[J]. J Neurochem,2005,93(3):706-714.

[40] PODDAR N K,ZANO S,NATARAJAN R,et al. Enhanced brain distribution of modified aspartoacylase[J]. Mol Genet Metab,2014,113(3):219-224.

[41] PEDERZOLLI C D,ROSA A P,DE OLIVEIRA A S,et al. Neuroprotective role of lipoic acid against acute toxicity of N-acetylaspartic acid[J]. Mol Cell Biochem,2010,344(1-2):231-239.

[42] TOPCU M,YALNIZOGLU D,SAATCI I,et al. Effect of topiramate on enlargement of head in Canavan disease:a new option for treatment of megalencephaly[J]. Turk J Pediatr,2004,46(1):67-71.

[43] ARUN P,MADHAVARAO C N,MOFFETT J R,et al. Metabolic acetate therapy improves phenotype in the tremor rat model of Canavan disease[J]. J Inherit Metab Dis,2010,33(3):195-210.

[44] SEGEL R,ANIKSTER Y,ZEVIN S,et al. A safety trial of high dose glyceryl triacetate for Canavan disease[J]. Mol Genet Metab,2011,103(3):203-206.

[45] FRANCIS J S,MARKOV V,LEONE P. Dietary triheptanoin rescues oligodendrocyte loss,dysmyelination and motor function in the nur7 mouse model of Canavan disease[J]. J Inherit Metab Dis,2014,37(3):369-381.

[46] DEMBIC M,ANDERSEN H S,BASTIN J,et al. Next generation sequencing of RNA reveals novel targets of resveratrol with possible implications for Canavan disease[J]. Mol Genet Metab,2019,126(1):64-76.

[47] FREIRE-ARADAS A,GIRON-SANTAMARIA L,MOSQUERA-MIGUEL A,et al. A common epigenetic clock from childhood to old age[J]. Forensic Sci Int Genet,2022,60:102743.

[48] GUAN X,OHUCHI T,HASHIYADA M,et al. Age-re-

lated DNA methylation analysis for forensic age estimation using post-mortem blood samples from Japanese individuals[J]. Leg Med (Tokyo), 2021, 53: 101917.

[49] WOZNIAK A, HEIDEGGER A, PINIEWSKA-ROG D, et al. Development of the VISAGE enhanced tool and statistical models for epigenetic age estimation in blood, buccal cells and bones[J]. Aging (Albany NY), 2021, 13(5): 6459-6484.

[50] PAN C, YI S, XIAO C, et al. The evaluation of seven age-related CpGs for forensic purpose in blood from Chinese Han population[J]. Forensic Sci Int Genet, 2020, 46: 102251.

(收稿日期:2023-01-28　修回日期:2023-05-29)

·综　述·

二代测序技术在肿瘤治疗中的应用进展*

唐　薇 综述,侯玉磊,陈　辉△ 审校

重庆医科大学附属第一医院检验科,重庆 400016

摘　要:随着基因测序技术的进步,人们对肿瘤基因组学的认识不断深入,逐步形成以生物信息大数据和个体化治疗相结合的肿瘤诊治模式。二代测序技术(NGS)的出现,因其高通量、高灵敏等优势,在肿瘤发病机制的研究、生物学分型,以及临床诊断和治疗中的应用都取得显著成果。该文将对二代测序技术在常见恶性肿瘤治疗中的应用进展进行综述。

关键词:二代测序技术;　基因测序;　癌症;　靶向用药;　个体化治疗

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2023.21.019　　**中图法分类号:**R73.3

文章编号:1673-4130(2023)21-2654-05　　**文献标志码:**A

Advances in the application of next generation sequencing in tumor therapy*

TANG Wei, HOU Yulei, CHEN Hui△

Clinical Laboratories, the First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400016, *China*

Abstract: With the advancement of gene sequencing technology, the understanding of tumor genomics has been deepened continuously, and a tumor diagnosis and treatment model combining bioinformatics big data and individualized treatment is gradually forming. The emergence of next-generation sequencing (NGS) technology has achieved remarkable results in studying the pathogenesis, biological typing, and the usage in the clinical diagnosis and treatment of tumors due to its advantages of high throughput and high sensitivity. In this paper, the application progress of NGS in the treatment of common malignant tumors is reviewed.

Key words: next-generation sequencing;　gene sequencing;　cancer;　targeted medication;　individualized treatment

根据世界卫生组织(WHO)最新发布的全球癌症统计报告,恶性肿瘤仍是人类 70 岁之前最常见的死因[1]。目前肿瘤的传统治疗手段包括手术切除、放射治疗、化学治疗等。手术切除对于肿瘤晚期特别是伴远处转移的患者并不适用,传统的放射治疗和化学治疗虽适用于大多数肿瘤,但其不良反应会给患者带来伤害[2-3]。此外,由于肿瘤的异质性,并非所有肿瘤细胞对常规的放化疗都具有相同的敏感性,未被有效清除的癌细胞是癌症复发的关键驱动因素。肿瘤异质性是指同一种恶性肿瘤在不同患者个体间或者同一患者体内不同部位的肿瘤组织中存在不同类型的亚克隆细胞,它们在分化程度、侵袭转移能力以及对药物的反应性等方面均有差异[4]。肿瘤的异质性给肿瘤的治疗带来巨大困扰,为了能针对性制订临床治疗方案,有效提升临床治疗效果,需要对肿瘤异质性的生物学特性进行深入了解。

基因组学和表观遗传学改变与肿瘤异质性的发生密切相关,近年来,基因测序技术的迅速发展,使临床医生对肿瘤在分子生物学层面上的认识得到突破性提高[5-8]。二代测序技术(NGS)的出现,解决了原

* **基金项目:**重庆市科卫联合医学科研项目(2021MSXM095)。

△ **通信作者,**E-mail: huichen@cqmu.edu.cn。