

陈雨荣,安星兰,汪正铸,等. 猪作为人类疾病模型的研究进展 [J]. 中国比较医学杂志, 2020, 30(7): 110-119.
Chen YR, An XL, Wang ZZ, et al. Research progress on pigs as human disease models [J]. Chin J Comp Med, 2020, 30(7): 110-119.
doi: 10.3969/j.issn.1671-7856. 2020.07.016

猪作为人类疾病模型的研究进展

陈雨荣^{1,2#}, 安星兰^{1#}, 汪正铸¹, 张 胜¹, 翟岩辉¹, 代相鹏^{1*}, 李子义^{1*}

(1. 吉林大学第一医院人类疾病动物模型国家地方联合工程实验室, 长春 130021;
2. 吉林大学动物医学学院, 长春 130062)

【摘要】 人类疾病动物模型在阐明疾病发生机制、探索治疗方法等基础医学及临床前研究具有重要作用。与啮齿类动物相比,猪在解剖、生理、营养代谢以及伦理方面更有优势,更适合做人类疾病动物模型。目前,通过基因编辑技术和体细胞克隆技术等方法产生了多种人类疾病模型猪。本文综述了近年来猪模型在糖尿病、心血管疾病、神经退行性疾病、遗传病以及肿瘤等多领域的研究进展,并探讨了不同模型存在的表型不稳定、不能准确模拟人类疾病等问题。本文为了解和推动猪在人类疾病动物模型中的应用提供重要参考。

【关键词】 动物模型; 人类疾病; 猪

【中图分类号】 R-33 【文献标识码】 A 【文章编号】 1671-7856(2020) 07-0110-10

Research progress on pigs as human disease models

CHEN Yurong^{1,2#}, AN Xinglan^{1#}, WANG Zhengzhu¹, ZHANG Sheng¹, ZHAI Yanhui¹, DAI Xiangpeng^{1*}, LI Ziyi^{1*}

(1. National & Local Joint Engineering Laboratory for Animal Models of Human Diseases, First Hospital, Jilin University, Changchun 130021, China. 2. College of Veterinary Medicine, Jilin University, Changchun 130062)

【Abstract】 Animal models of human disease have an important role in elucidating the pathogenesis of disease and exploring therapeutic method in basic medicine and pre-clinical research. Compared with rodents, there are many advantages to the use of pigs as animal models of disease because of their anatomy, physiology, nutrition metabolism, and for ethical reasons. A variety of human disease model pigs have been produced using method such as gene editing and somatic cell nuclear transfer. This paper reviews the research progress made on pig models in the fields of diabetes, cardiovascular disease, neurodegenerative disease, genetic disease, and tumors in recent years, and discusses the phenotypic instability of different models that could not accurately simulate human disease. We discuss important references for understanding and promoting the application of pigs as animal models of human disease.

【Keywords】 animal model; human disease; pigs

动物模型指非人类的活体实验动物,用于疾病、基因功能、药学及其他科学问题的研究^[1]。“动物模型”这一术语在文献中首次出现于上世纪 60 年代,到目前为止,已有数以千计有价值的动物模

【基金项目】国家重点研发计划(2017YFA0104400)。

【作者简介】陈雨荣(1998—),女,本科,研究方向:发育生物学和疾病模型。E-mail: 18843007591@139.com

安星兰(1987—),女,博士,研究方向:干细胞和疾病模型。E-mail: anxinglan@jlu.edu.cn *共同第一作者

【通信作者】李子义,男,博士生导师,研究方向:发育生物学和疾病模型。E-mail: ziyi@jlu.edu.cn

代相鹏,男,博士生导师,研究方向:蛋白翻译后修饰和疾病模型。E-mail: daixiangpeng@hotmail.com * 共同通信作者

型被应用于医学研究的各个领域^[2]。啮齿类动物是目前数量最大、应用最广泛的动物模型。然而啮齿类动物与人亲缘关系较远,其遗传、体型以及寿命与人类有较大差异^[3]。啮齿类动物模型存在的缺陷限制了研究人员对人类疾病、药物开发以及疾病治疗方案的研究。非人灵长类动物与人类亲缘关系近,是最好的人类疾病动物模型,但存在实验费用昂贵、实验技术复杂、动物资源匮乏和伦理等问题^[4]。大量研究表明,猪与人的氨基酸同源性达 84.1%,在解剖结构、生理代谢以及疾病发生机理上与人有很多相似之处^[5]。猪作为人类疾病研究的动物模型优势众多,其应用可追溯到上世纪九十年代末^[6]。以猪作为人类疾病动物模型的研究涉及糖尿病、心血管疾病、神经退行性疾病、遗传性疾病、肿瘤以及其他领域,这些模型对于揭示疾病发生的机制、寻找药物靶点、开展药物筛查和药效评价、找到治疗及诊断疾病的方法等具有重要意义。由于猪的品种、获得模型的方法以及检测指标差异,造成很多模型在表面效度、结构效度、预测效度方面存在差异,从而影响了猪在人类疾病研究中的应用。为深入理解不同疾病的猪模型、不同方法建立的猪模型在模拟人类疾病中存在的问题,为更好的利用猪作为人类疾病模型研究人类疾病的发生发展和探索药物治疗策略,本文将重点综述近年来获得的猪模型在人类疾病研究中的应用现状和存在的问题,为优化猪模型的建立和应用提供理论参考。

1 人类疾病模型猪的研究进展

1.1 糖尿病

我国成人糖尿病患者数量达 1.14 亿,高居世界第一^[7]。糖尿病会引起心血管和脑血管疾病、视网膜病变、肾病、周围神经病变以及下肢动脉病变等多种并发症^[8]。研究表明,猪在进食方式、胰腺形态及发育水平、胃肠道结构、代谢水平以及血糖水平方面与人类非常相似,且糖尿病模型猪在疾病发展方面更接近人^[9-10]。I 型糖尿病 (type 1 diabetes mellitus, T1DM) 的特征是胰岛素依赖性,主要是由于胰岛 β 细胞功能遭到破坏引起胰岛素的极度缺乏^[11]。通过胰腺切除术获得的 I 型糖尿病猪模型的发病率和死亡率较高且影响了胰腺的外分泌功能,而通过静脉注射链脲佐菌素 (streptozocin, STZ, 150 mg/kg) 诱导的糖尿病动物存活时间长,更适合

用于长期的糖尿病研究^[12]。II 型糖尿病 (type 2 diabetes mellitus, T2DM) 占糖尿病总人数的 90% 以上,其特征是胰岛素抵抗性^[13]。1979 年,Phillips 等^[14]人培育成自发性 II 型糖尿病猪 “Low K” 品系,该品系猪的葡萄糖清除率明显降低, F-5 代的葡萄糖耐量降低的遗传率约为 0.26, 但 “Low K” 品系葡萄糖耐量降低的特性最终未能维持下来。Xi 等^[15]利用高脂高糖饲料对中国贵州小型猪进行 6 个月的诱导饲养后,该猪出现胰岛素抵抗、轻度糖尿病和动脉粥样硬化病变。该模型猪可能是研究糖尿病性血脂异常并发动脉粥样硬化的良好动物模型。吴延军等^[16]采用高脂高糖饲料联合低剂量 STZ 方法成功建立广西巴马小型猪 T2DM 模型,该模型猪特征明显且更为稳定,均出现胰岛素抵抗和葡萄糖耐量受损等症状。Renner 等^[17]培育出在胰岛中表达显性抑制肠促胰岛素 (glucose-dependent insulinotropic polypeptide receptor, GIP) 受体 (GIPR^{dn}) 的转基因猪,该猪葡萄糖耐量受损,胰岛素分泌减少, β 细胞数量减少但凋亡不明显。GIPR^{dn} 转基因猪可用于研究 GIP 在葡萄糖稳态和胰腺发育中的作用。Umeyama 等^[18]培育出人肝细胞核因子 (hepatocyte nuclear factor 1 α , HNF1 α) 突变体猪, 22 头转基因仔猪中 18 头在断奶前死亡,其余仔猪胰岛发育不全,非空腹时血糖高于正常水平,该模型可用于研究青少年发病的成人型糖尿病 (maturity-onset diabetes of the young, MODY)。胰岛素 (insulin, INS) 基因的突变会引起永久性新生儿糖尿病 (permanent neonatal diabetes mellitus, PNDM)^[19]。Renner 等^[20]培育出在猪胰岛 β 细胞中特异性表达 INS^{C94Y} 的突变体猪,该猪的胰岛素蛋白错误折叠,糖尿病表型稳定且其症状可通过胰岛素治疗改善,是胰岛素补充和胰岛移植的良好实验模型 (见表 1)。

1.2 心血管疾病

动脉粥样硬化 (atherosclerosis, AS) 是心血管疾病发病的主要病理基础,严重威胁人类健康^[21]。Prescott 等^[22]发现了第一个出现自发性高胆固醇症和动脉粥样硬化病变的猪品种。该猪的载脂蛋白 B 和载脂蛋白 U 的 Lpb5 和 Lpu1 等位基因发生突变,猪的动脉出现脂质条纹以及钙化、坏死的斑块,这些病变特征与人类晚期动脉粥样硬化病变非常相似。刘录山等^[23]采用高脂高胆固醇饲料 (基础饲料 +2% 胆固醇和 10% 猪油) 喂养贵州小香猪 12 个月

表 1 糖尿病模型猪
Table 1 Pig models of diabetes

年份 Year	实验室 Laboratory	疾病模型 Models	靶向基因/方法 Targeted gene/methods	表型 Phenotype	参考文献 References
1979	科罗拉多州立大学 Colorado State University	Ⅱ型糖尿病 T2DM	人工选育 Artificial breeding	葡萄糖清除率低 Low glucose clearance	[14]
1986	沃登山谷医院 Woden Valley Hospital	Ⅰ型糖尿病 T1DM	静脉注射 STZ Intravenous injection of STZ	1.存活时间长 2.表现糖尿病临床症状 1. Long survival time 2.Clinical manifestations of diabetes	[12]
1986	沃登山谷医院 Woden Valley Hospital	Ⅰ型糖尿病 T1DM	全胰切除 Pancreatectomy	高发病率和死亡率 High morbidity and mortality	[12]
2004	南华大学 Nanhua University	Ⅱ型糖尿病 T2DM	高脂高糖饲料 High fat/high carbohydrates diet	1.胰岛素抵抗 2.肥胖 1. Insulin resistance 2. Obesity	[15]
2009	明治大学 Meiji University	青少年发病的成人型糖尿病 MODY	转 HNF1α Transgene HNF1α	1.胰岛发育不全 2.非空腹时血糖水平高 1. Islet hypoplasia 2. High blood glucose level when not fasting	[18]
2010	慕尼黑大学 Ludwig Maximilian University	Ⅱ型糖尿病 T2DM	转 GIPR ^{dn} Transgene GIPR ^{dn}	1.胰岛素分泌减少 2.β 细胞减少 1. Reduced insulin secretion 2. Decreased beta cells	[17]
2013	慕尼黑大学 Ludwig Maximilian University	永久性新生儿糖尿病 PNDM	转 INS ^{C94Y} Transgene INS ^{C94Y}	1.高血糖 2.β 细胞正常 1. Hyperglycemia 2. Normal beta cells	[20]
2017	广西大学 Guangxi University	Ⅱ型糖尿病 T2DM	高脂高糖饲料联合低剂量 STZ Combination of high fat/high carbohydrates diet and low-dose STZ	1.胰岛素抵抗 2.葡萄糖耐受量受损 1. Insulin resistance 2. Impaired glucose tolerance	[16]

后发现其血脂水平明显升高，并出现 AS 病变斑块，病理形态学结果表明这些斑块具有人类成熟斑块的特点且病变分布特点也与人类 AS 病变一致。冯大明等^[24]选用贵州小香猪，采用颈总动脉球囊损伤方法联合高脂饲料喂养方式建立了 AS 小型猪模型，模型猪血管内膜增厚并出现病理性血管重构。此外，Whyte 等^[25]人建立了过表达人过氧化氢酶（human catalase, hCat）转基因猪。转基因仔猪 hCat mRNA 表达和 hCat 蛋白表达量均升高。内皮型一氧化氮合成酶（endothelial nitric oxide synthase, eNOS）可释放一氧化氮（NO），进而调节血管功能及结构。Hao 等^[26]通过核移植建立了胎盘血管内皮细胞过表达 eNOS 的转基因猪，研究人员预测该模型猪成年后会出现血管损伤表型（见表 2）。

1.3 遗传性疾病

囊性纤维化（cystic fibrosis, CF）是第 7 对染色体上 CF 基因突变引起的常染色体隐性遗传病。CF 小鼠模型无法表现与人类相似的肝、肺、呼吸道及

肠道病变^[27]。2008 年，Rogers 等^[28]采用腺相关病毒（adeno-associated virus, AAV）介导的同源重组技术获得了 CFTR 双等位基因敲除猪。新生 CFTR^{-/-}猪的临床、电生理和病理结果与 CF 新生儿相似，出现胎粪性肠梗阻、胰腺外分泌功能不全等症状。2013 年，Stoltz 等^[29]建立肠内表达 CFTR 的 CF 猪模型。CFTR 基因表达可诱导新生仔猪回肠负离子转运，挽救胎粪肠梗阻表型，但无法改善胰腺外分泌功能。血友病 A 是一种 X 染色体上的凝血因子Ⅷ异常导致的遗传性疾病。2012 年，Kashiwakura 等^[30]建立了敲除 F8 基因的血友病 A 猪模型。模型猪具有与人类血友病 A 类似的严重出血倾向，且注射人 F8 凝血因子可起到治疗效果。家族性高胆固醇血症（familial hypercholesterolemia, FH）是一种罕见的常染色体显性遗传病，患者低密度脂蛋白（low density lipoprotein, LDL）水平增高并常伴有早发型冠心病。Carlson 等^[31]利用 TALEN 技术构建了 LDL 受体（LDL receptor, LDLR）基因敲除小型猪，该模型猪是研究 FH 的理想实验动物模型。家族性腺

瘤性息肉病 (familial adenomatous polyposis, FAP) 是一种常染色体显性遗传性疾病,患者整个结直肠布满大小不一的腺瘤。Flisikowska 等^[32] 通过将突变的腺瘤性息肉病基因 (adenomatous polyposis coli, APC) 定点插入到猪基因组获得 FAP 猪,具有与人类相似的发病进程和息肉生长位置。血管性血友病 (von Willebrand disease, vWD) 是血管性血友病因子 (von Willebrand Factor, vWF) 基因突变引起的遗传性出血性疾病。利用 CRISPR/Cas9 技术敲除猪 vWF 双等位基因,可以获得 vWD 猪模型^[33],该猪出

血时间明显延长,表现出严重凝血障碍且血浆中无 vWF 抗原。酪氨酸血症 I 型 (hereditary tyrosinemia type I, HT1) 是由于延胡索二酰乙酰乙酸水解酶 (fumarylacetoacetate hydrolase, FAH) 基因突变而导致 FAH 缺乏,酪氨酸及其代谢产物蓄积,造成肝损害的伴常染色体隐性遗传病。通过敲除猪 FAH 基因而建立的人遗传性 HT1 猪模型,仔猪出现严重肝损伤和与急性肝衰竭等症状。FAH 基因敲除猪可用于 HT1 和自发性急性肝衰竭的研究以及肝细胞治疗效果的临床前测试^[34]。酪氨酸酶 (tyrosinase,

表 2 心血管疾病模型猪

Table 2 Pig models of cardiovascular disease

年份 Year	实验室 Laboratory	疾病模型 Models	靶向基因/方法 Targeted gene/methods	表型 Phenotype	参考文献 References
1991	威斯康星大学 University of Wisconsin	动脉粥样硬化 AS	AS 脂蛋白自然突变 AS lipoprotein natural mutation	动脉狭窄、纤维化 Arterial stenosis and fibrosis	[22]
2005	南华大学 Nanhua University	动脉粥样硬化 AS	颈总动脉球囊损伤 联合高脂饲料喂养 Balloon hyperinflation and hyper lipid diet	1. 血管内膜增厚 2. 病理性血管重构 1. Intimal thickening 2. Pathological vascular remodeling	[24]
2006	南华大学 Nanhua University	动脉粥样硬化 AS	高脂高胆固醇饲料 High fat and high cholesterol diet	1. 高血脂 2. AS 病变斑块 1. Hyperlipidemia 2. AS lesions plaque	[23]
2006	密苏里大学 University of Missouri	转 eNOS Transgene eNOS	转 eNOS Transgene eNOS	胎盘以及脐带血管内皮细胞有 eNOS 的表达 eNOS expression in placenta and umbilical cord endothelial cells	[26]
2011	密苏里大学 University of Missouri	转 hCat Transgene hCat	转 hCat Transgene hCat	脐带内皮细胞 hCat 及 hCat mRNA 表达量升高 Increased hCat and hCat mRNA expression in umbilical cord endothelial cells	[25]

表 3 遗传性疾病模型猪

Table 3 Pig models of hereditary disease

年份 Year	实验室 Laboratory	疾病模型 Models	靶向基因/方法 Targeted gene/methods	表型 Phenotype	参考文献 References
2008	爱荷华大学 University of Iowa	囊性纤维化 CF	敲除 CFTR CFTR knockout	胎粪性肠梗阻 Meconium intestinal obstruction	[28]
2012	自治医科大学 Jichi Medical University	血友病 A Hemophilia A	敲除 F8 F8 knockout	严重出血倾向 Severe bleeding tendency	[30]
2012	明尼苏达大学 University of Minnesota Twin Cities	家族性高胆固醇血症 FH	敲除 LDLR LDLR knockout	仔猪健康状况良好 Healthy piglets	[31]
2012	慕尼黑工业大学 Technical University of Munich	家族性腺瘤性息肉病 FAP	突变 APC ¹³¹¹ Mutation of APC ¹³¹¹	大肠腺瘤 Colorectal adenoma	[32]
2013	爱荷华大学 University of Iowa	囊性纤维化 CF	敲除 CFTR 并 转 iFABP-CFTR CFTR knockout and transgene iFABP-CFTR	肠内表达 CFTR 对 CF 猪有治疗作用 Intestinal expression of CFTR had therapeutic effect on CF pigs	[29]
2014	中国科学院 Chinese Academy of Sciences	血管性血友病 vWD	敲除 vWF vWF knockout	严重凝血障碍 Severe coagulopathy	[33]
2014	梅奥医学中心 Mayo Clinic	酪氨酸血症 I 型 HT1	敲除 FAH FAH knockout	严重肝损伤 Severe liver injury	[34]
2015	中国科学院 Chinese Academy of Sciences	白化病 Albinism	突变 TYR TYR mutation	皮肤、毛发和眼睛中的黑色素消失 Disappearance of Melanin in the skin, hair and eyes	[35]

TYR)与人类皮肤白化病的发生相关。TYR 双等位基因突变猪的仔猪皮肤、毛发和眼睛中的黑色素完全消失,该模型猪是研究人类白化病发病机制及治疗的重要模型^[35](见表 3)。

1.4 神经退行性疾病

神经退行性疾病是一类进行性发展的致残,严重可致死的疾病,其主要特征为特异性神经元的大量丢失。常见的神经退行性疾病包括亨廷顿舞蹈症(huntington's disease, HD)、阿尔茨海默病(alzheimer disease, AD)、帕金森综合征(parkinson's disease, PD)和肌萎缩侧索硬化症(amyotrophic lateral sclerosis, ALS)等。HD 是由位于第四号染色体上的亨廷顿基因(huntingtin, HTT)发生突变所导致的常染色体显性遗传病。2001 年建立的 *htt*^{75Q} 突变猪并没有出现 HD 表型^[36]。*htt*^{N208-105Q} 突变猪脑内的变异蛋白虽然可诱导神经元凋亡,但转基因猪吮吸困难,存活时间较短^[37]。2018 年,李晓江、李世华和赖良学团队^[38]首次利用 CRISPR/Cas9 技术成功建立 HTT 基因敲入猪模型,模型猪表现出如体重下降、行为异常以及多棘神经元严重退行性病变等 HD 症状。脑内 β 淀粉蛋白(amyloid β -protein, A β)沉积是诱发 AD 的原因,A β 蛋白是由淀粉样肽前体蛋白(amyloid precursor protein, APP)水解产生,目前已明确早老素 1 基因(presenilin 1, PSEN1)、早老素 2 基因(presenilin 2, PSEN2)、APP 基因和载脂蛋白 E 基因(apolipoprotein E, ApoE)为 AD 四大致病基因^[39]。2009 年,Kragh 等^[40]建立了 APP^{G95sw} 转基因 AD 猪模型,但 1 岁的 AD 转基因猪没有表现出记忆障碍^[41]。携带 APP^{G95sw} 和 PSEN1^{M146I} 双基因的转基因 AD 猪在 10-18 月龄的猪脑神经元中会出现 A β -42 的蓄积^[42]。2017 年, Lee 等^[43]利用多顺反子系统建立了携带 hAPP、hTau 和 hPSEN1 三个突变基因的 AD 转基因猪,该转基因猪大脑中出现 A β -40 和 A β -42 的蓄积。PD 是神经系统退化性疾病,黑质多巴胺神经元变性死亡是主要诱因,部分患者出现 parkin 基因、帕金森蛋白 7 基因(DJ-1)和磷酸酶及张力蛋白同源物诱导的蛋白激酶(PTEN-induced putative kinase, PINK)的突变。但用 CRISPR/Cas9 系统建立的 parkin、DJ-1 和 PINK 三基因敲除猪并未出现 PD 症状^[44]。同样,PINK1 和 PINK2 双基因敲除猪直至 7 月龄时仍未表现出 PD 症状^[38]。Nielsen 等^[45]采用肌注 1-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氢吡啶(1-methyl-4-

phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine, MPTP) 11 周的方法获得了具有 PD 症状的猪,动物出现运动迟缓、僵硬、协调和咀嚼困难等症状。ALS 为脊髓前角及脑干运动神经元及锥体束进行性变性引起的病征。研究表明,超氧化歧化酶 1(superoxide dismutase 1, SOD1)、反式激活应答 DNA 结合蛋白(transactive response DNA binding protein, TARTDP)、融合肉瘤蛋白基因(fused in sarcoma, FUS)、血管生成素(angiogenin, ANG)和自噬受体蛋白基因(optineurin, OPTN)这 5 种基因突变后可引起典型的 ALS 疾病表型^[46]。实验表明,hSOD1^{G93A} 转基因猪表现有运动神经受损、骨骼肌变性等 ALS 的典型症状^[47]。TDP-43^{M337V} 突变的转基因猪出现皮肤松弛、运动障碍和过早死亡等症状,检测发现了 PSF 相关的、频繁出现在的 ALS 患者脑神经元中的异常 RNA 剪接^[48](见表 4)。

1.5 肿瘤模型

模型猪也被用于研究不同类型的肿瘤的发生机制。密苏里大学^[49]通过选育获得的 Sinclair 小型猪具有较高的皮肤黑色素瘤发病率,且其黑色素瘤与人类黑色素瘤在遗传上有一定的相似性。Sinclair 猪和德国慕尼黑大学^[50]选育的 MMS-TROLL 猪以及由 Libechov 研究所^[51]选育的 MeLiM 猪是常用的自发黑色素瘤模型。研究人员发现黑色素瘤与猪单细胞抗原复合体(swine leukocyte antigen, SLA)、黑素皮质素 1 型受体基因(melanocortin 1 receptor, MC1R)和小眼畸形相关转录因子(microphthalmia-associated transcription factor, MITF)基因等相关^[52]。2011 年,Luo 等^[53]利用重组腺相关病毒(recombinant adeno-associated virus, rAAV)介导的同源重组基因打靶技术获得 BRCA1 基因敲除的杂合子(BRCA1^{+/-})乳腺癌 Yucatan 小型猪,但均在出生后 18 d 内死亡。2015 年,Donninger 等^[54]分离猪乳腺上皮细胞,用 SV40LT(simian virus 40 large t antigen)载体转染获得永生化的猪乳腺癌细胞,利用 RNA 干扰技术使 BRCA1 基因失活(BRCA1^{+/-})建立了第一个猪乳腺癌细胞系,该细胞系具有乳腺癌干细胞的特征。2012 年,Leuchs 等^[55]培育了 Tp53^{R167H}(tumor protein 53)基因突变猪,但仔猪表型正常。随后,2014 年,Sieren 等^[56]也建立了 Tp53 基因突变猪,性成熟的纯合子猪发生了淋巴瘤、成骨肿瘤和肾肿瘤病变。敲除 Tp53 的猪可以作为自发性骨肉瘤猪模型,其长骨和颅骨发生多

表 4 神经退行性疾病模型猪
Table 4 Pig models of neurodegenerative disease

年份 Year	实验室 Laboratory	疾病模型 Models	靶向基因/方法 Targeted gene/methods	表型 Phenotype	参考文献 References
2001	SLA 研究公司 SLA Research Inc	亨廷顿舞蹈症 HD	转 HTT ^{75Q} Transgene HTT ^{75Q}	无 HD 表型 No HD phenotype	[36]
2009	奥胡斯大学 Aarhus University	阿尔茨海默病 AD	转 APP ^{695sw} Transgene APP ^{695sw}	未表现出记忆障碍表型 No phenotype of memory impairment	[40]
2010	中国科学院 Chinese Academy of Sciences	亨廷顿舞蹈症 HD	转 HTT ^{N208-105Q} Transgene HTT ^{N208-105Q}	1.神经元凋亡 2.存活时间较短 1.Neuronal apoptosis 2.Short survival time	[37]
2014	中国科学院 Chinese Academy of Sciences	肌萎缩侧索硬化症 ALS	转 hSOD1 ^{G93A} hSOD1 ^{G93A} transgene	1.运动神经受损 2.骨骼肌变性 1.Motor nerve damage 2.Skeletal muscle degeneration	[47]
2015	中国科学院 Chinese Academy of Sciences	帕金森综合征 PD	敲除 PINK1 和 PINK2 PINK1 and PINK2 knockout	表型正常 Phenotype normal	[35]
2015	中国科学院 Chinese Academy of Sciences	肌萎缩侧索硬化症 ALS	转 TDP-43 ^{M337V} TDP-43 ^{M337V} transgene	1.皮肤松弛、运动障碍、过早死亡 2.与 PSF 相关的异常神经元 RNA 剪接 1.Sagging skin, dyskinesias, premature death 2.Abnormal neuronal RNA splicing associated with PSF	[48]
2016	奥胡斯大学 Aarhus University	阿尔茨海默病 AD	转 APP ^{695sw} 和 PSEN1 ^{M146I} APP ^{695sw} and PSEN1 ^{M146I} transgene	1.表型正常 2.脑神经元有 Aβ42 的蓄积 1.Phenotype normal 2.Accumulation of Aβ42 in brain neurons	[42]
2016	中国科学院 Chinese Academy of Sciences	帕金森综合征 PD	敲除 Parkin、DJ-1 和 PINK1 Parkin, DJ-1 and PINK1 knockout	表型正常 Phenotype normal	[44]
2017	济州国立大学 Jeju National University	阿尔茨海默病 AD	突变 hAPP、hTau 和 hPSEN1 hAPP, hTau and hPSEN1 mutation	1.表型正常 2.脑神经元有 Aβ40/42 的蓄积 1.Phenotype normal 2.Accumulation of Aβ40/42 in brain neurons	[43]
2017	奥胡斯大学 Aarhus University	帕金森综合征 PD	肌注 MPTP Intramuscular injection of MPTP	1.运动迟缓 2.咀嚼困难 1.Slow movement 2.Dysmasesia	[45]
2018	中国科学院 Chinese Academy of Sciences	帕金森综合征 PD	敲入 HTT Knock in HTT	1.体重下降、行为异常 2.中等多棘神经元严重退行性病变 1.Weight loss and abnormal behavior 2.Severe degenerative lesions in the medium spiny neurons	[38]

个骨肉瘤^[57]。鼠类肉瘤病毒癌基因 (kirsten rat sarcoma viral oncogene, KRAS) 突变对于胰腺癌、非小细胞肺炎以及大肠癌的发生至关重要^[58-59]。2015 年, Li 等^[60]建立的 KRAS 基因突变猪的新生仔猪未发生肿瘤。Schook 等^[61]建立的 KRas^{G12D}和 TP53^{R167H}诱导表达的转基因猪“oncopig”可发生间质瘤。Callesen 等^[62]通过激活 KRAS 和 cMyc (cellular myelocytomatosis oncogene), 失活 p53 和视网膜膜细胞瘤蛋白基因 (retinoblastoma protein, pRB), 建立了诱导性“oncopig”肠癌模型, 经诱导处理后, 三分之一的猪表现为十二指肠神经内分泌癌, 并伴有淋巴结转移。通过在不同部位诱导这些

基因表达, 可以获得“oncopig”软组织瘤猪模型^[63]以及“oncopig”胰腺导管腺癌猪模型^[64](见表 5)。

1.6 其它疾病模型

免疫缺陷动物可用于肿瘤标本异种移植以及建立免疫系统人源化动物模型, 为研究癌症的发病机制和肿瘤药物的安全性与有效性奠定基础。SCID (severe combined immunodeficient, SCID) 猪可由自然突变或通过基因编辑而得到, 涉及 Artemis 基因、白介素受体 γ 链基因 (interleukin-2 receptor gamma gene, IL2RG) 和重组活化基因 RAG1/2 基因 (recombination activating gene 1/2)^[65]。2012 年发现的 Artemis 基因自然突变猪的外周血中缺乏 B、T

表 5 肿瘤模型猪
Table 5 Pig models of cancer

年份 Year	实验室 Laboratory	疾病模型 Models	靶向基因/方法 Targeted gene/methods	表型 Phenotype	参考文献 References
1974	密苏里大学 University of Missouri	黑色素瘤 Melanoma	人工选育 Artificial breeding	高自发率 High spontaneous rate	[49]
1986	慕尼黑大学 Ludwig Maximilian University	黑色素瘤 Melanoma	人工选育 Artificial breeding	高自发率 High spontaneous rate	[50]
1999	捷克科学院 Academy of Sciences of the Czech Republic	黑色素瘤 Melanoma	人工选育 Artificial breeding	高自发率 High spontaneous rate	[51]
2011	奥胡斯大学 Aarhus University	乳腺癌 Breast carcinoma	敲除 BRCA1 ^{+/-} BRCA1 ^{+/-} knockout	仔猪第 18 天死亡 Piglets died on day 18	[53]
2012	慕尼黑大学 Ludwig Maximilian University	p53 敲除 p53 knockout pig	敲除 p53 ^{R167H} p53 ^{R167H} knockout	表型正常 Phenotype normal	[55]
2014	爱荷华大学 University of Iowa	p53 敲除 p53 knockout pig	敲除 p53 ^{R167H/R167H} p53 ^{R167H/R167H} knockout	淋巴瘤、成骨肿瘤、肾肿瘤 Lymphoma, osteogenic tumor, kidney tumor	[56]
2015	伊利诺伊大学 University of Illinois	癌症猪 “Oncopig”	KRAS ^{G12D} /p53 ^{R167H} 突变 KRAS ^{G12D} /p53 ^{R167H} mutation	注射部位生长间质瘤 Stromal tumors growing at the injection site	[61]
2015	路易斯维尔大学 University of Louisville	乳腺癌 Breast carcinoma	敲除 BRCA1 ^{+/-} BRCA1 ^{+/-} knockout	BRCA1 杂合突变的成纤维细胞克隆 Fibroblast clone with a heterozygous mutation in the BRCA1 gene	[54]
2016	慕尼黑大学 Ludwig Maximilian University	骨肉瘤 Osteosarcoma	敲除 p53 p53 knockout	长骨、颅骨骨肉瘤 Osteosarcoma of long bone and skull	[57]
2017	伊利诺伊大学 University of Illinois	软组织瘤 Soft tissue tumor	肌肉注射 AdCre Intramuscular injection of AdCre	后腿出现肿瘤块 Tumor mass in hind legs	[63]
2018	伊利诺伊大学 University of Illinois	胰腺癌 Pancreatic carcinoma	主胰管注射 AdCre Injecting AdCre into the main pancreatic duct	胰管出现结节性肿瘤 Nodular tumor of pancreatic duct	[64]

细胞而 NK 细胞正常,胸腺和淋巴结明显萎缩^[66],耳皮下注射的人黑色素瘤细胞和胰腺癌细胞能形成肿瘤^[67]。IL2RG 基因敲除猪的胸腺发育不全,T、NK 细胞缺乏,B 细胞数量正常但无法正常分泌抗体和发挥抗原递呈作用^[68]。采用锌指核酸酶技术(zinc-finger nucleases,ZFNs)获得的 IL2RG 基因敲除公猪表现出 SCID 样表型^[69]。CRISPR/Cas9 技术获得的 IL2RG 基因敲除的纯合母猪全部表现 SCID 表型,并且缩短了实验周期^[70]。2014 年,赖良学团队^[71]发现 RAG1 以及 RAG2 双等位基因突变的仔猪免疫器官发育不全,外周血中缺乏成熟的 B 和 T 细胞,而 RAG2 杂合突变仔猪表型正常。进一步研究发现,RAG1 基因纯合纯合敲除猪的新生仔猪胸腺发育不全且外周血中缺乏成熟 T、B 细胞^[72]。将人诱导多能干细胞注入 RAG2 双等位基因敲除猪耳

部及腹部,受体猪分别于 12 d、7.5 周后在注射部位形成明显畸胎瘤^[73]。Suzuki 等^[74]建立的 RAG2 双等位基因敲猪最长存活至 34 d。而 RAG2 和 IL2RG 双基因敲除猪的仔猪胸腺发育异常,外周血中缺乏成熟的 B、T 细胞,NK 细胞减少^[75]。IL2RG 和 ARTEMS 双基因敲除猪的仔猪缺乏 B、T、NK 细胞^[65]。吉林大学第一医院人类疾病动物模型国家地方联合工程实验室李子义、杨永广团队联合中科院动物所周琪团队,目前已获得 RAG1 和 IL2RG 双基因突变的(RAG1^{-/-}/IL2Rγ^{-/-}) SCID 猪,仔猪表现出明显的 SCID 症状,这些免疫缺陷动物模型对免疫系统人源化猪模型的建立具有重要意义。

2 展望

猪的生理学、解剖学和遗传学特征与人类非常

接近,是目前很多人类疾病的理想动物模型。表面效度、结构效度、预测效度是评价动物模型的三个方面。表面效度指模型的表征与人类疾病特征相似,利用人类疾病的发病机制建立的模型则具有结构效度,模型产生的预测在临床有效则具有预测效度^[76]。对于糖尿病猪模型,胰腺切除副作用大,表面效度不佳。利用人工选育、化学或膳食诱导以及基因工程技术建立的猪糖尿病模型均能较好地模拟人类糖尿病的临床症状,具有表面效度,但其中绝大多数模型仍缺乏结构效度和预测效度。转 GIPR^{dn} 模型猪被用于研究利拉鲁肽治疗青少年 MODY 患者的安全性及有效性的研究,具有一定的预测效应^[77]。对于 AS 猪模型,猪与人的心血管系统相似度高,猪 AS 模型具有较好的表面效度,尚无预测效度。利用基因工程技术建立的疾病模型表面效度直接,一些通过对致病基因进行编辑从而建立的动物模型还具有结构效度,可以满足研究者的不同需要,但预测效度尚未体现,如敲除 CFTR 基因的 CF 猪模型以及敲除 F8 基因的血友病 A 模型等。一些基因工程模型具有结构效度但缺乏表面效度,如转 htt^{75Q} 的 HD 猪模型未表现出 HD 表型。

目前,研究人员已经成功建立了大量的人类疾病猪模型,这些模型对于研究人类重大疾病发病机制、寻找预防和治疗办法具有重要意义。但其中一些模型未形成稳定表型、仍无法准确模拟人类疾病以及未能广泛应用于基础理论研究等。因此,在人类疾病猪模型的研究中,我们需要有针对性的深入研究,形成完善的技术体系,并将疾病动物模型建立和疾病发病机制基础研究和治疗等临床研究有机结合,为人类疾病的研究提供适合的动物模型。

参考文献:

- [1] 徐林. 人类疾病的动物模型 [J]. 动物学研究, 2011, 32(1): 1-3.
- [2] 张伟皓. 动物模型与实验外科 [J]. 中华实验外科杂志, 2003, 20(4): 293-295.
- [3] 夏厚军, 陈策实. 非人灵长类肿瘤模型研究进展 (英文) [J]. 动物学研究, 2011, 32(1): 70-80.
- [4] 雷瑞鹏, 邱仁宗. 非人灵长类动物实验的伦理问题 [J]. 科学与社会, 2018, 8(2): 74-88.
- [5] Fang X, Mou Y, Huang Z, et al. The sequence and analysis of a Chinese pig genome [J]. GigaScience, 2012, 1(1): 16.
- [6] Sippel KC, Destefano JD, Berson EL, et al. Evaluation of the human arrestin gene in patients with retinitis pigmentosa and stationary night blindness [J]. Invest Ophthalmol Visual Sci, 1998, 39(3): 665-670.
- [7] 母义明, 贾伟平. 中国糖尿病研究进展专辑简介 [J]. 中国科学: 生命科学, 2018, 48(8): 3-5.
- [8] 杨文英. 中国糖尿病的流行特点及变化趋势 [J]. 中国科学: 生命科学, 2018, 48(8): 807-809.
- [9] Bellinger DA, Merricks EP, Nichols TC. Swine models of type 2 diabetes mellitus: insulin resistance, glucose tolerance, and cardiovascular complications [J]. ILAR J, 2006, 47(3): 243-258.
- [10] Murakami T, Hitomi S, Ohtsuka A, et al. Pancreatic insulo-acinar portal systems in humans, rats, and some other mammals: Scanning electron microscopy of vascular casts [J]. Microsc Res Tech, 1997, 37(5-6): 478-488.
- [11] 陈宇, 陈国江, 韩根成, 等. 小剂量抗 CD3 单克隆抗体有效逆转新发的 I 型糖尿病 [J]. 中国比较医学杂志, 2008, (4): 47-50, 81.
- [12] Wilson JD, Dhall DP, Simeonovic CJ, et al. Induction and management of diabetes mellitus in the pig [J]. Aust J Exp Bio Med Sci, 1986, 64(Pt 6): 489-500.
- [13] 杜小燕, 李长龙, 王冬平, 等. 长爪沙鼠自发性糖尿病模型近交系培育及其生物学特性的研究进展 [J]. 中国实验动物学报, 2018, 26(4): 507-511.
- [14] Phillips RW, Panepinto LM, Will DH. Genetic selection for diabetogenic traits in Yucatan miniature swine [J]. Diabetes, 1979, 28(12): 1102-1107.
- [15] Xi S, Yin W, Wang Z, et al. A minipig model of high-fat/high-sucrose diet-induced diabetes and atherosclerosis [J]. Int J Exp Pathol, 2004, 85(4): 223-231.
- [16] 吴延军, 夏攀洁, 严雪瑜, 等. 高脂高糖饲料联合低剂量链脉佐菌素 (STZ) 诱导广西巴马小型猪 2 型糖尿病动物模型的建立 [J]. 基因组学与应用生物学, 2017, 36(6): 2393-2398.
- [17] Renner S, Fehlings C, Herbach N, et al. Glucose intolerance and reduced proliferation of pancreatic β -cells in transgenic pigs with impaired glucose-dependent insulinotropic polypeptide function [J]. Diabetes, 2010, 59(5): 1228-1238.
- [18] Umeyama K, Watanabe M, Saito H, et al. Dominant-negative mutant hepatocyte nuclear factor 1 α induces diabetes in transgenic-cloned pigs [J]. Transgenic Res, 2009, 18(5): 697-706.
- [19] 刘颖, 宋福英, 叶雪, 等. 2 例新生儿糖尿病患者致病基因型及疗效分析 [J]. 中国医刊, 2015, 50(8): 63-67.
- [20] Renner S, Braun-Reichhart C, Blutke A, et al. Permanent neonatal diabetes in INSC94Y transgenic pigs [J]. Diabetes, 2013, 62(5): 1505-1511.
- [22] Laughlin MH, Overholser KA, Bhatte MJ. Exercise training increases coronary transport reserve in miniature swine [J]. J Appl Physiol, 1989, 67(3): 1140-1149.
- [21] 蔡宏文, 陈晨, 李家英, 等. 心肌缺血和动脉粥样硬化斑块血管新生双靶点小鼠模型的建立 [J]. 中国比较医学杂志, 2019, 29(2): 32-36.
- [22] Prescott MF, McBride CH, Hasler-Rapacz J, et al. Development of complex atherosclerotic lesions in pigs with inherited hyper-

- LDL cholesterolemia bearing mutant alleles for apolipoprotein B [J]. *Am J Pathol*, 1991, 139(1): 139-147.
- [23] 刘录山, 杨永宗, 冯大明, 等. 小型猪动脉粥样硬化斑块稳定性模型研究 [J]. *生物化学与生物物理进展*, 2006, 33(2): 196-200.
- [24] 冯大明, 王仁, 孙文清, 等. 贵州小香猪颈总动脉球囊损伤致动脉粥样硬化血管重构 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2005, 13(1): 20-24.
- [25] Whyte JJ, Samuel M, Mahan E, et al. Vascular endothelium-specific overexpression of human catalase in cloned pigs [J]. *Transgenic Res*, 2011, 20(5): 989-1001.
- [26] Hao YH, Yong HY, Murphy CN, et al. Production of endothelial nitric oxide synthase (eNOS) over-expressing piglets [J]. *Transgenic Res*, 2006, 15(6): 739-750.
- [27] Guilbault C, Saeed Z, Downey GP, et al. Cystic fibrosis mouse models [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2007, 36(1): 1-7.
- [28] Rogers CS, Stoltz DA, Meyerholz DK, et al. Disruption of the CFTR gene produces a model of cystic fibrosis in newborn pigs [J]. *Science*, 2008, 321(5897): 1837-1841.
- [29] Stoltz DA, Rokhlina T, Ernst SE, et al. Intestinal CFTR expression alleviates meconium ileus in cystic fibrosis pigs [J]. *J Clin Invest*, 2013, 123(6): 2685-2693.
- [30] Kashiwakura Y, Mimuro J, Onishi A, et al. Porcine model of hemophilia A [J]. *PLoS One*, 2012, 7(11): e49450.
- [31] Carlson DF, Tan W, Lillico SG, et al. Efficient TALEN-mediated gene knockout in livestock [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2012, 109(43): 17382-17387.
- [32] Flisikowska T, Merkl C, Landmann M, et al. A porcine model of familial adenomatous polyposis [J]. *Gastroenterology*, 2012, 143(5): 1173-1175.
- [33] Hai T, Teng F, Guo R, et al. One-step generation of knockout pigs by zygote injection of CRISPR/Cas system [J]. *Cell Res*, 2014, 24(3): 372-375.
- [34] Hickey RD, Mao SA, Glorioso J, et al. Fumarylacetoacetate hydrolase deficient pigs are a novel large animal model of metabolic liver disease [J]. *Stem Cell Res*, 2014, 13(1): 144-153.
- [35] Zhou X, Xin J, Fan N, et al. Generation of CRISPR/Cas9-mediated gene-targeted pigs via somatic cell nuclear transfer [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2015, 72(6): 1175-1184.
- [36] Uchida M, Shimatsu Y, Onoe K, et al. Production of transgenic miniature pigs by pronuclear microinjection [J]. *Transgenic Res*, 2001, 10(6): 577-582.
- [37] Yang D, Wang CE, Zhao B, et al. Expression of Huntington's disease protein results in apoptotic neurons in the brains of cloned transgenic pigs [J]. *Hum Mol Genet*, 2010, 19(20): 3983-3994.
- [38] 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.e13.
- [39] 高珊, 陈超, 李志鹏, 等. 阿尔茨海默病的遗传学研究进展 [J]. *中国老年保健医学*, 2017, 15(4): 22-29.
- [40] Kragh PM, Nielsen AL, Li J, et al. Hemizygous minipigs produced by random gene insertion and handmade cloning express the Alzheimer's disease-causing dominant mutation APPsw [J]. *Transgenic Res*, 2009, 18(4): 545-558.
- [41] Søndergaard LV, Ladewig J, Dagnæs-Hansen F, et al. Object recognition as a measure of memory in 1-2 years old transgenic minipigs carrying the APPsw mutation for Alzheimer's disease [J]. *Transgenic Res*, 2012, 21(6): 1341-1348.
- [42] Jakobsen JE, Johansen MG, Schmidt M, et al. Expression of the Alzheimer's disease mutations AβPP695sw and PSEN1M146I in double-transgenic möttingen minipigs [J]. *J Alzheimers Dis*, 2016, 53(4): 1617-1630.
- [43] Lee SE, Hyun H, Park MR, et al. Production of transgenic pig as an Alzheimer's disease model using a multi-cistronic vector system [J]. *PLoS One*, 2017, 12(6): e0177933.
- [44] Wang X, Cao C, Huang J, et al. One-step generation of triple gene-targeted pigs using CRISPR/Cas9 system [J]. *Sci Rep*, 2016, 6(1): 20620.
- [45] Nielsen MS, Glud AN, Møller A, et al. Continuous MPTP intoxication in the Göttingen minipig results in chronic parkinsonian deficits [J]. *Acta Neurobiol Exp (Wars)*, 2016, 76(3): 199-211.
- [46] Kiernan MC, Vucic S, Cheah BC, et al. Amyotrophic lateral sclerosis [J]. *Lancet*, 2011, 377(9769): 942-955.
- [47] Yang H, Wang G, Sun H, et al. Species-dependent neuropathology in transgenic SOD1 pigs [J]. *Cell Res*, 2014, 24(4): 464-481.
- [48] Wang G, Yang H, Yan S, et al. Cytoplasmic mislocalization of RNA splicing factors and aberrant neuronal gene splicing in TDP-43 transgenic pig brain [J]. *Mol Neurodegener*, 2015, 10(1): 42.
- [49] Millikan LE, Boylon JL, Hook RR, et al. Melanoma in sinclair swine: a new animal model [J]. *J Invest Dermatol*, 1974, 62(1): 20-30.
- [50] Muller, Wanke, Distl. Inheritance of melanocytic lesions and their association with the white colour phenotype in miniature swine [J]. *J Anim Breed Genet*, 2001, 118(4): 275-283.
- [51] Horak, Fortýn K, Hruban, et al. Hereditary melanoblastoma in miniature pigs and its successful therapy by devitalization technique [J]. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)*, 1999, 45(7): 1119-1129.
- [52] Bourneuf E. The MeLiM minipig: an original spontaneous model to explore cutaneous melanoma genetic basis [J]. *Front Genet*, 2017, 8: 146.
- [53] Luo Y, Li J, Liu Y, et al. High efficiency of BRCA1 knockout using rAAV-mediated gene targeting: developing a pig model for breast cancer [J]. *Transgenic Res*, 2011, 20(5): 975-988.
- [54] Donninger H, Hobbing KR, Schmidt ML, et al. A porcine model system of BRCA1 driven breast cancer [J]. *Front Genet*, 2015, 6: 269.
- [55] Leuchs S, Saalfrank A, Merkl C, et al. Inactivation and

- inducible oncogenic mutation of p53 in gene targeted pigs [J]. PLoS One, 2012, 7(10): e43323.
- [56] Sieren JC, Meyerholz DK, Wang X-J, et al. Development and translational imaging of a TP53 porcine tumorigenesis model [J]. J Clin Invest, 2014, 124(9): 4052-4066.
- [57] Saalfrank A, Janssen KP, Ravon M, et al. A porcine model of osteosarcoma [J]. Oncogenesis, 2016, 5(3): e210.
- [58] Karnoub AE, Weinberg RA. Ras oncogenes: split personalities [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2008, 9(7): 517-531.
- [59] Pylayevagupta Y, Grabocka E, Barsagi D. RAS oncogenes: weaving a tumorigenic web [J]. Nat Rev Cancer, 2011, 11(11): 761-774.
- [60] Li S, Edlinger M, Saalfrank A, et al. Viable pigs with a conditionally-activated oncogenic KRAS mutation [J]. Transgenic Res, 2015, 24(3): 509-517.
- [61] Schook LB, Collares T, Hu W, et al. A genetic porcine model of cancer [J]. PLoS One, 2015, 10(7): e0128864.
- [62] Callesen MM, Arnadottir SS, Lyskjaer I, et al. A genetically inducible porcine model of intestinal cancer [J]. Mol Oncol, 2017, 11(11): 1616-1629.
- [63] Schacht Schneider KM, Liu Y, Makelainen S, et al. Oncopig soft-tissue sarcomas recapitulate key transcriptional features of human sarcomas [J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 2624.
- [64] Principe DR, Overgaard NH, Park AJ, et al. KRAS (G12D) and TP53 (R167H) cooperate to induce pancreatic ductal adenocarcinoma in sus scrofa pigs [J]. Sci Rep, 2018, 8(1): 12548.
- [65] Boettcher AN, Loving CL, Cunnick JE, et al. Development of severe combined immunodeficient (SCID) pig models for translational cancer modeling: future insights on how humanized SCID pigs can improve preclinical cancer research [J]. Front Oncol, 2018, 8: 559.
- [66] Ozuna AGC, Rowland RRR, Nietfeld JC, et al. Preliminary findings of a previously unrecognized porcine primary immunodeficiency disorder [J]. Vet Pathol, 2013, 50(1): 144-146.
- [67] Basel MT, Balivada S, Beck AP, et al. Human xenografts are not rejected in a naturally occurring immunodeficient porcine line: a human tumor model in pigs [J]. Bio Research Open Access, 2012, 1(2): 63-68.
- [68] Suzuki S, Iwamoto M, Saito Y, et al. IL2rg gene-targeted severe combined immunodeficiency pigs [J]. Cell Stem Cell, 2012, 10(6): 753-758.
- [69] Watanabe M, Nakano K, Matsunari H, et al. Generation of interleukin-2 receptor gamma gene knockout pigs from somatic cells genetically modified by zinc finger nuclease-encoding mRNA [J]. PLoS One, 2013, 8(10): e76478.
- [70] Kang JT, Cho B, Ryu J, et al. Biallelic modification of IL2RG leads to severe combined immunodeficiency in pigs [J]. Reprod Biol Endocrinol, 2016, 14(1): 74.
- [71] Huang J, Guo X, Fan N, et al. RAG1/2 knockout pigs with severe combined immunodeficiency [J]. J Immunol, 2014, 193(3): 1496-1503.
- [72] Ito T, Sendai Y, Yamazaki S, et al. Generation of recombination activating gene-1-deficient neonatal piglets: A model of t and b cell deficient severe combined immune deficiency [J]. PLoS One, 2014, 9(12): e113833.
- [73] Lee K, Kwon D, Ezashi T, et al. Engraftment of human iPS cells and allogeneic porcine cells into pigs with inactivated RAG2 and accompanying severe combined immunodeficiency [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2014, 111(20): 7260-7265.
- [74] Suzuki S, Iwamoto M, Hashimoto M, et al. Generation and characterization of RAG2 knockout pigs as animal model for severe combined immunodeficiency [J]. Vet Immunol Immunopathol, 2016, 178: 37-49.
- [75] Lei S, Ryu J, Wen K, et al. Increased and prolonged human norovirus infection in RAG2/IL2RG deficient gnotobiotic pigs with severe combined immunodeficiency [J]. Sci Rep, 2016, 6(1): 25222.
- [76] 罕园园, 代解杰. 抑郁症动物模型与其发病机制研究的进展 [J]. 中国实验动物学报, 2016, 24(3): 321-326.
- [77] Kumarathurai P, Anholm C, Nielsen OW, et al. Effects of the glucagon-like peptide-1 receptor agonist liraglutide on systolic function in patients with coronary artery disease and type 2 diabetes: a randomized double-blind placebo-controlled crossover study [J]. Cardiovasc Diabetol, 2016, 15(1): 105.

〔收稿日期〕2019-12-26