



评述

我国疾病动物模型的研究现状和展望

薛丽香, 张凤珠, 孙瑞娟*, 董尔丹

国家自然科学基金委员会医学科学部, 北京 100085;

* 联系人, E-mail: sunrj@nsfc.gov.cn

收稿日期: 2014-06-26; 接受日期: 2014-07-04

doi: 10.1360/N052014-00186

摘要 由于医学科学研究的需要, 各类疾病动物模型被广泛用来研究人类疾病的发生发展机制、药物筛选以及治疗评价等. 本文全面梳理了我国疾病动物模型的研究和发展现状, 分析了我国在这方面的特色优势以及与国际上的差距, 内容涵盖了肿瘤、神经及精神疾病、感染及免疫性疾病、心血管与代谢性疾病、药物筛选等不同领域. 简要介绍了国家自然科学基金对疾病动物模型项目的资助情况, 同时指出了我国疾病模型今后的主要发展方向.

关键词
模式动物
动物模型
人类疾病

疾病动物模型是生物医学研究和生物医药等产业发展的不可或缺的支撑条件. 一个好的疾病动物模型须尽可能满足与人类疾病比较的“三性”特征, 即发病机理同源性、行为表象一致性、药物治疗预见性^[1], 同时具有创建易行性, 重现性与经济性的特点. 缺乏合适的动物模型是许多重大疾病发病机制解析、预防、诊断预后标志物发现、药物筛选和评价、疫苗开发的重要瓶颈. 因此, 各国都在不断开发、建立与完善各类疾病动物模型. 本文基于 2013 年 11 月 25~27 日由国家自然科学基金委员会医学科学部主办、中国科学院昆明动物研究所承办的“疾病动物模型学术及战略研讨会暨第二届灵长类动物模型学术论坛”与会专家的报告和研讨并结合文献报道, 总结和讨论了我国近年来疾病动物模型的发展现状、目前面临的困难、机遇与挑战以及今后的发展方向.

1 我国疾病动物模型发展总体现状

在国家与地方的共同资助下, 我国近年来在疾

病动物模型领域, 取得了长足的进步. 无论是硬件平台建设, 还是各类疾病动物模型的研发, 均处在蓬勃发展阶段. 目前我国分别在北京、上海、南京、武汉、广东、昆明、哈尔滨等地建成啮齿类实验动物种质中心、国家小鼠遗传资源中心、南京模式动物资源库、实验灵长类种质资源中心、无特定病原体(specific pathogen free, SPF)禽类种源基地、实验兔种源基地、实验用小型猪种质资源基地、实验用比格犬种源基地以及斑马鱼实验动物中心等多个实验动物基地. 并在这些基地先后研发了千余种基因工程小鼠(*Mus musculus*)模型、百余种基因工程大鼠(*Rattus norvegicus*)模型、若干种转基因猪(*Sus scrofa domestica*)疾病模型和非人灵长类疾病模型以及建设了斑马鱼(*Danio rerio*)药物筛选平台等.

总体来说, 我国已经基本搭建起来各类疾病动物模型的硬件框架, 但是与发达国家相比仍有相当的距离, 主要表现在硬件平台建设与布局、管理水平、基础生物学研究、疾病模型创建与推广和基于动物模型的疾病机制解析与药物研发等几个方面: (i)

引用格式: 薛丽香, 张凤珠, 孙瑞娟, 等. 我国疾病动物模型的研究现状和展望. 中国科学: 生命科学, 2014, 44: 851-860

Xue L X, Zhang F Z, Sun R J, et al. Research status and perspective of disease animal models in China. SCIENTIA SINICA Vitae, 2014, 44: 851-860, doi: 10.1360/N052014-00186

硬件平台建设与布局. 美国现有政府资助的啮齿类国家中心 12 个, 非人灵长类研究和资源中心 8 个, 黑猩猩(*Pan troglodytes*)研究资源中心 3 个, 并建有 6 个遗传资源分析库; 而我国目前不仅在平台中心数量上不及美国, 而且对于灵长类实验动物, 即便看起来保有数量充足(我国灵长类实验动物存栏数近 30 万只), 但是在内部的组成结构上尚存在很大的问题, 85% 以上是用于药物研发的食蟹猴(*Macaca fascicularis*), 而大量用于科学研究的猕猴(*Macaca mulatta*)等其他种类不足 4 万只. (ii) 管理水平. 我国模式动物维护专业技术队伍及管理机制严重落后. 模式动物健康维护及动物实验方案审核所必需的专业兽医队伍也严重欠缺. 各实验动物中心在动物的质量控制特别是智能化管理程度上需要进一步提升和改进, 目前的管理水平对我国生物医药科研及产业发展的支撑力度远远不够. (iii) 基础生物学研究. 发达国家对于模式动物的基础生物学研究覆盖了各个领域, 而我国在此方面仍较为薄弱. (iv) 疾病模型创建与推广. 在遗传操作的技术上, 我国目前尚无原创性贡献, 无论从最初的胚胎干细胞(embryonic stem cell, ES cell)打靶技术, 还是近年来发展的锌指核酸酶(zinc finger nuclease, ZFN)技术、TALEN(transcription activator-like effector nucleases)核酸酶技术以及 CRISPR/Cas9(clustered regulatory interspaced short palindromic repeat/CRISPR associated systems)系统等^[2,3], 我国均处在技术跟踪阶段. 在模型的创建上, 美国目前啮齿类人类疾病动物模型近万种, Jackson 实验室向全球的生命医药研究领域提供动物模型服务. 仅在基因工程动物模型资源一项, 与美国相比存在很多不足, 另外, 目前全国各地的模式动物中心创建的各种动物模型尚无统一的数据信息平台, 存在信息交流不畅、资源共享不足的问题. 为促进信息交流和资源共享, 中国遗传工程小鼠资源共享联盟(<http://cmsr.nrcmm.cn/>)于 2013 年成立, 并开始在联盟成员单位之间收集、共享各种基因工程小鼠信息, 同时开始招募新的联盟成员; 国家重大科学研究计划斑马鱼资源中心, 即国家斑马鱼资源中心(China Zebrafish Resource Center, <http://zfish.cn/>)也于 2013 年 2 月正式成立. (v) 基于动物模型的疾病机制解析与药物研发. 在各类疾病的发病机制解析方面, 尽管我国科学家近年来相继有不少重要成果发表, 但总体上说, 仍落后于欧美等科技强国. 同时, 在各

类随机化合物、活性小分子化合物、蛋白多肽、疫苗以及单克隆抗体等方面的药物研发试验中, 我国各类动物模型的利用水平与世界水平还存在较大差距, 远不能满足我国生物医药产业发展的需求.

2 各类疾病动物模型的发展现状、存在的问题与发展趋势

2.1 肿瘤领域

肿瘤模型主要有自发性模型、物理化学等因素诱发模型、移植瘤模型和基因修饰动物模型等. 目前的现状与问题如下: (i) 没有效果特别好的自发性动物模型. 例如, 乳腺癌自发性动物模型有天津的 TA2 小鼠, 但存在机制研究滞后、发病时间长、非乳腺部位也会发生肿瘤等问题. 树鼩(*Tupaia belangeri*)自发乳腺癌的发生比较频繁, 但尚未建立品系. (ii) 诱发模型因为诱导剂及动物质量(尤其是遗传背景)等差异, 稳定性不是很好, 且肿瘤发生的遗传变异机制各不相同. (iii) 移植模型比较常用, 肿瘤特征与所用移植细胞特征相似, 但这种模型只能研究肿瘤细胞增殖形成肿瘤的过程, 不能模拟肿瘤由正常细胞恶性转化所导致的过程, 因此不能研究肿瘤发生阶段机制, 且较少发生转移, 同时存在伦理学限制. (iv) 基因修饰动物的肿瘤模型因其遗传机制明确, 在研究基因和肿瘤的关系中得到了广泛应用^[4], 但多与单个基因突变有关, 与临床相关性较低, 能与环境因素结合促发肿瘤的模型日趋看好. (v) 肿瘤模型中有关干细胞及转移的研究模型严重缺乏.

结合基础和临床研究与治疗的需求, 肿瘤动物模型的未来发展需关注的热点问题如下: (i) 由于肿瘤的异质性以及“个体化治疗”的要求, 建立各类肿瘤患者来源的异种移植(patient-derived xenograft, PDX)模型势在必行^[5], 这将最大程度地降低传统治疗模式带来的种种弊端. 由于一些肿瘤(如乳腺癌和胃癌)的 PDX 模型的建立比较困难, 急需引进并建立深度免疫缺陷小鼠群体, 即 NSG 小鼠(NOD-SCID IL-2 receptor gamma null 小鼠, 缺失 T 细胞、B 细胞和 NK 细胞). (ii) 需要建立免疫系统人源化的小鼠模型, 包括来源于病人自身的 T 细胞, 以用于肿瘤免疫治疗研究. (iii) 要建立多基因敲除模型等遗传工程鼠模型, 以模拟肿瘤由多个驱动突变引起的真实情况, 新的基因工程技术使得构建这类模型更加简

单快速。(iv) 建立环境因素对肿瘤发生发展的动物模型, 从而有利于肿瘤的预防研究。(v) 利用斑马鱼等低等脊椎动物来建立血管增生以及肿瘤转移模型。(vi) 拓展新型实验动物(如树鼯)的肿瘤模型创建。树鼯是进化上与灵长类最接近的动物^[6,7], 建立的动物模型在疾病发生机制和对药物的反应等方面应与人更类似^[8]。总之, 肿瘤的动物模型比较多, 但各有优缺点, 需要根据所研究的相关科学问题选择合适的动物模型。

2.2 神经和精神领域

(1) 帕金森氏病(Parkinson's Disease, PD)模型^[9]。

(i) 啮齿类。目前国际上常规用的啮齿类帕金森氏病动物模型国内基本具有, 这些模型主要被用于药物评价和一些机制研究。但由于不能模拟病因, 所以这些模型不能进行发病原因以及早期防治方面的研究。虽然国际上利用致病基因进行转基因造模已经研发出近 10 种帕金森氏病小鼠模型, 但是这些模型的最大问题是无明显表型, 因此对帕金森氏病的病因和发病机制的研究有一定影响。(ii) 非人灵长类。国际上现有的非人灵长类诱导帕金森氏病模型大多采用 1-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氢吡啶(1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine, MPTP)在猕猴、食蟹猴的皮下、肌肉或动脉注射造模, 这些方法构建的模型在国内都已建立, 并且在研究多巴胺神经损伤、线粒体功能以及抗帕金森病药物方面具有较高的价值。目前国际上还没有成熟的树鼯模型, 因为其体积小、生长周期短等生物学特性, 具有良好的建模优势, 应尽快利用树鼯建成帕金森氏病诱导模型。(iii) 发展方向。在灵长类动物, 如树鼯和猕猴(*Macaca mulatta*)建立 α -synucline 诱导转基因模型; 在啮齿类动物用立体定向仪将 α -synucline 注射到黑质纹状体, 研究 α -synucline 蛋白在脑中的传递和导致神经变性的过程; 改进转基因的工具和方法, 以构建表型明显的帕金森氏病动物模型, 其中包括开发新的转基因方法、新的载体等; 研究基因与环境因素在疾病发生发展中的相互作用, 在化学诱导和转基因模型中, 给予一定环境毒素以加重帕金森氏病的表型。

(2) 阿尔茨海默病(脑退化症)(Alzheimer's disease, AD)模型。目前, 啮齿类转基因模型占主导地位, 但这些模型表型不全面。在非人灵长类的 AD 模型中, 除了自然衰老的老年猴外, 目前国际上还没

有得到广泛认可的 AD 非人灵长类诱导模型。目前用甲醇诱导的猴模型在病理和功能症状方面比较接近^[10], 将来的发展方向是建立转基因模型和环境因素诱导模型。

(3) 抑郁症模型。目前, 在啮齿类模型中应激诱导模型占主导地位, 也存在一些自发和药物诱导模型。我国已基本具备国际上的常用模型。建立选择性对某些特定神经递质如 GABA(γ -氨基丁酸)、谷氨酸系统靶点药物敏感的模型是未来发展方向, 这将为解决抑郁症发病机制和抗抑郁症药物药效学评价提供有力的支撑。在非人灵长类模型中, 目前比较好的模型是环境因素, 如社会压力、光照等诱导的模型。国内已建立环境因素诱导的树鼯抑郁症模型^[11,12]。对上述帕金森氏病、阿尔茨海默病以及抑郁症模型的研究中, 一个共性的发展方向是会更加注重基因与环境因素(包括环境毒素(如重金属、杀虫剂、除草剂以及食品添加剂等)、空气污染以及生存环境压力(如社会压力、慢性缺氧等))在疾病发生发展中的相互作用。

(4) 精神分裂症。由于精神分裂症遗传度较高, 建立精神分裂症的动物模型需要针对遗传易感基因进行基因操作, 建立疾病表型的动物模型。由于表型分析困难, 目前还没有很好的精神分裂症模型。未来仍然会从基因操作的角度来建立模型, 并用临床药物进行验证。特别是由于精神分裂症是一种思维障碍性疾病, 建议以猕猴来建模较好。

(5) 孤独症(自闭症)。孤独症的遗传度更高(>90%), 因此建立孤独症的动物模型需要针对遗传易感基因进行基因操作, 建立疾病表型的动物模型。由于表型分析困难, 虽然在啮齿类有一些转基因模型, 但整体上目前还没有很好的模型。和精神分裂症一样, 将来发展方向是从基因操作的角度来建立模型, 并用临床药物进行验证, 但由于它不是一种思维障碍性疾病, 可以大动物和小动物来建模。

(6) 肌萎缩侧索硬化症(amyotrophic lateral sclerosis, ALS)。ALS 是一种运动神经元退行性疾病, 目前该病缺乏有效治疗药物, 但有很好的小鼠转基因模型, 从表型到机制都能很好复制。这方面的发展方向是利用成熟的模型进行药物筛选。

2.3 代谢与心血管疾病领域

目前国内绝大部分工作集中在以小鼠为代表的

模式动物体系的研究, 以及环境与遗传因素方面研究, 也有部分研究工作是以秀丽线虫(*Caenorhabditis elegans*)、果蝇(*Drosophila melanogaster*)、斑马鱼、兔(*Oryctolagus cuniculus*)等实验动物作为代谢性疾病研究的动物模型。

(1) 糖尿病。在基因敲除和转基因糖尿病动物模型中, 瘦素(leptin)缺陷 *ob/ob* 及瘦素受体缺陷 *db/db* 小鼠是被广泛应用于糖尿病及其他代谢性疾病的良好动物模型。食物诱导中, 主要通过饲喂高脂特别是含有高饱和脂肪酸、高糖、高胆固醇等食物诱导动物出现肥胖、胰岛素抵抗、高血糖等症状。在非人灵长类动物中, 也有多种自发性糖尿病动物模型, 如松鼠猴(*Saimiri sciureus*)、食蟹猴、猕猴、狒狒(*Papio hamadryas*)、黑猩猩(*Pan troglodytes*)、以及灵长类动物近亲树鼩。近几年来, 国内不仅大量引入国外的代谢性疾病转基因模型, 而且也大力发展和创建具有自主知识产权的转基因动物模型。未来需要加强灵长类近亲树鼩以及低等小型灵长类糖尿病模型的创建和应用研究。

(2) 非酒精性脂肪肝。非酒精性脂肪肝病理发展过程主要包括肝脏脂肪变性(steatosis)、脂肪性肝炎(nonalcoholicsteatohepatitis, NASH)、肝脏硬化(cirrhosis)等几个阶段, 目前, 通过自发性筛选、遗传工程、食物诱导、药物诱导等多种方法, 人们已成功地创建了大鼠、小鼠、兔、犬(*Canis lupus familiaris*)、猴等非酒精性脂肪肝动物模型。然而, 至今为止, 没有任何一种动物模型能完全模拟人类非酒精性脂肪肝的病理和病程。由于种属差异性, 啮齿类大鼠和小鼠的非酒精性脂肪肝(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)模型往往只能部分与人类非酒精性脂肪肝病理过程和特征吻合。胆碱-蛋氨酸缺乏(methionine-choline deficiency, MCD)饮食是经典的非酒精性脂肪性肝炎动物模型, 操作方法简便, 造模时间短, 应用广泛。但人类肝脏不含胆碱氧化酶, 不存在胆碱缺乏问题, 所以该模型的发病机制与人类完全不同, 它最大的缺点是缺乏人类 NAFLD 所具有的胰岛素抵抗。最近, Savard 等人^[13]报道, 通过饲喂高脂高胆固醇食物, 能够实现小鼠从肝脏脂肪变性到脂肪性肝炎的病程发展, 我国科学家在灵长类近亲树鼩上也成功地利用高脂高胆固醇食物实现了类似的非酒精性脂肪肝病程变化, 其机制可能与啮齿类不完全相同(未发表结果)。对于代谢性疾病动物模型的发展趋势,

要善于利用每种动物模型的自身优势, 以回答不同的科学问题, 达到不同的研究目标, 建立更合适的模型与评价体系。以果蝇为例, 果蝇是研究脂代谢调控的优良动物模型, 可以开展大规模的遗传筛选, 研究基因和信号通路调控脂肪储存和分布的机制^[14]。此外, 要从遗传复杂疾病角度全方位揭示参与代谢性疾病的遗传因子和环境因素。

(3) 心血管疾病领域。根据不完全统计, 国际常用心脑血管病相关基因工程模型资源近 600 种, 而且仍在快速增长中。相比之下, 我国相应的资源不超过 120 种^[15]。由于与小鼠相比, 仓鼠(*Mesocricetus auratus*)、大鼠、兔、猪等的循环系统生理功能和解剖结构等方面和人类更接近, 是心脑血管病等更好的疾病模型。在大动物的基因工程技术方面, 由于各国都在起步阶段, 我国和发达国家差距不大, 是我国可以同发达国家竞争的主要领域之一。所以, 在基因工程新技术能够应用于非小鼠等其他实验动物时, 加强我国心脑血管疾病仓鼠、大鼠、兔、猪等的模型研究具有意义。同时, 应加强对我国大部分已有心血管实验动物和动物模型资源的种质保存、种子供应、实验动物数据库的标准化等方面的有效管理, 以提升已有资源和新生资源的社会共享程度, 形成小鼠、仓鼠、大鼠、小型猪、兔模型各有侧重和相互补充的全国性的资源集成。心脑血管病研究面临的问题之一是心血管疾病诱导模型的不稳定性。而另一个极为突出的问题是模型发病与临床患者不一致。临床上最常见、又最严重的冠心病和脑卒中, 其病理基础是动脉粥样硬化; 然而目前应用的模式动物现状是动脉粥样硬化模型没有冠心病和脑卒中, 冠心病和脑卒中的模型没有动脉粥样硬化。须知冠心病和脑卒中是在长期动脉粥样硬化、器官灌注不足的基础上发展起来的, 心脏和脑的内源性保护物质可能消耗殆尽或异常诱导。在目前这些动脉粥样硬化、冠心病和脑卒中模型上研发出来的各种药物, 或许可以减轻动物模型的动脉粥样硬化, 但对临床冠心病、脑卒中中没有作用; 或许对模式动物中结扎冠脉的心肌梗塞、机械阻断脑血流的脑卒中有效, 但却对临床上在动脉粥样硬化基础上发展起来的冠心病、脑卒中无效。这样不仅耗费了大量资源, 而且还造成了很大的认识误区和理论缺陷。因此, 需要着力发展难度大的自发性动脉粥样硬化的冠心病和脑卒中疾病模型, 或将转基因/基因敲除与经典的手术或饲料、药物诱导

相结合而创制出的半自发性新型心脑血管疾病模型。

2.4 免疫以及感染性疾病领域

对于感染性疾病,首先要建立病原体感染与复制动物模型,然后从中发现与建立动物疾病模型。灵长类动物是感染性疾病最合适甚至是唯一的模型动物,包括艾滋病在内的73种人类传染性疾病都应用灵长类动物模型^[16]。

(1) 人类免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus, HIV)感染与艾滋病(acquired immune deficiency syndrome, AIDS)动物模型。灵长类动物感染猴免疫缺陷病毒(simian immunodeficiency virus, SIV)和猴人免疫缺陷嵌合病毒(simian/human immunodeficiency chimeric virus, SHIV)后发病机制、过程、机会性感染等与人艾滋病相似,目前国内外研究基本上都是用SIV和SHIV感染灵长类动物来作为AIDS发病机制、药物和疫苗的研究动物模型。目前研究显示,中国恒河猴(*Macaca mulatta*)是较印度恒河猴更合适的HIV感染与AIDS模型动物^[17,18];我国科学家建立了SIVmac239, SIVmac251, SHIV89.6, SHIVSF162P3, SHIVwhu等静脉或黏膜感染中国猕猴模型^[19-21]以及SIVmac239和结核杆菌H37Rv共感染猕猴模型^[22]。阐明了北平顶猴(*Macaca leonina*)对HIV-1易感的重要分子机制,在细胞和分子水平上支持了北平顶猴是较理想的艾滋病模型动物^[23,24]。上述模型虽然不能模拟AIDS发病过程,但其建立有助于阐明如下科学问题^[25]:病毒感染和传播的早期分子和细胞机制;病毒急性感染期的免疫学和病毒学精确特征;感染后各组织中的详细病理学特点;病毒特异性蛋白的体内作用(如HIV-1 Nef,等);通过“剔除(depletion)”技术,阐明了宿主免疫反应控制病毒复制的机制;通过“侵入(invasion)”技术(如重复活检、细胞标记等技术),研究了发病机制;明确了自然宿主不发病的机制;此外还提供了临床前疫苗评价、中和性抗体、杀微生物剂和抗病毒治疗的检测平台。

(2) 乙肝病毒(hepatitis B virus, HBV)动物模型。大猩猩为当前唯一的HBV感染与疾病模型,但国际上已禁止将大猩猩再用于疾病模型研究,因此利用其他实验动物建立HBV感染与致病动物模型将成为此类感染动物模型研究的重点方向。此外,啮齿类动物HBV/HCV(hepatitis C virus)模型有望实现得到更好提升;具有人类肝细胞与人免疫系统的人源化小

鼠将为HBV感染提供强有力的支持。目前面临的困难包括至今没有建立起病毒HBV感染细胞培养系统和小动物感染复制模型,而且至今HBV受体尚不完全清楚。令人欣喜的是第一个受体(sodium taurocholate cotransporting peptide, NTCP)于2012年被我国学者鉴定出来^[26],但单独NTCP受体还不足以导致HBV非常有效的感染,因此加强对HBV受体的研究将有助于HBV动物感染模型的建立^[27]。

(3) 丙肝病毒(hepatitis C virus, HCV)动物模型。随着HCV受体的深入了解,近年来HCV动物感染模型的建立不断取得突破。目前,我国科学家建立了可以反映免疫病理进程的HCV自然感染转基因小鼠模型,可以用于比较自限性感染和持续性感染中各免疫细胞亚群在病灶原位的功能;以及研究各免疫细胞亚群在慢性肝炎病理进展中的动态变化规律和调节网络。同时,也为全面评价、探索HCV的抗病毒药物、免疫干预策略提供了可能^[28]。

(4) 耐药细菌感染和败血症动物模型。感染是目前医院住院病人死亡的主要原因之一,以美国为例,脓毒血症患者数量是75万/年,死亡21.5万,而大量耐药菌株的出现使人类在各类感染面前又面临新的挑战^[29]。至今还没有针对败血症的有效药物,缺乏同人类败血症具有相似病理过程的实验动物模型是研发治疗败血症药物的一个主要瓶颈^[30]。目前,常用的败血症模型主要是用啮齿类动物建立(如小鼠、大鼠),包括内毒素诱导的败血症模型、外源性细菌感染诱导的败血症模型、以及盲肠结扎与穿孔诱导的败血症模型。这3种模型均只能部分模拟人类败血症的病理机制。用犬、绵羊(*Ovis aries*)、马(*Equus caballus*)建立的败血症模型都不能很好地模拟人类败血症^[31,32]。未来研究方向是尝试用同人类亲缘关系近的实验动物,尤其是低等、小型非人灵长类动物或灵长类动物的近亲如树鼩创建败血症模型^[33];尝试新的方法创建败血症模型,如采用多病因方法、免疫抑制联合肠源性细菌感染等。

2.5 药物筛选和评价领域

疾病动物模型的最终目的在于以下2个方面:(i)解析疾病发生的生理病理机制;(ii)服务于疾病预防和治疗的药物研发。

用于药物研发的疾病动物模型目前需要关注的主要方向在于:(i)大量的人类疾病目前还没有任

何动物模型或者没有可靠的动物模型,如重大感染性疾病、神经系统疾病等,需要创建合适的疾病动物模型,以更好地理解这些疾病发病的生物学机制;(ii)有的疾病已经有了多种合适的动物模型,需要对已有模型进行系统地评价,选择最合适有效、低成本和标准化的疾病动物模型,以保证药物研发和产业应用时的简便适用和可重复性;(iii)为尽可能减少实验动物与人类之间的差异,在条件允许情况下,尽可能创制和使用人源化疾病动物模型。

在今后新药筛选和研发方面要注意以下发展方向:(i)斑马鱼作为人类疾病的动物模型,是连接非脊椎动物(小模式生物体)和哺乳动物(大模式生物体)的“桥梁”,其独特的生物学、基因组学、遗传学优势及其高度保守的疾病信号转导通路,使其成为以表型驱动的“正向”及“反向”遗传学(forward and reverse genetics)和在基因组规模上研究人类疾病相关病理生理学及在活体内进行先导药物筛选的最佳模式生物之一^[34,35]。斑马鱼作为新型的模式生物,与细胞和小鼠相比,具有高通量、给药方法、生物和靶点等优势,因此,斑马鱼活体高通量药物筛选(whole-animal HTS, W-HTS)已广泛应用于药物筛选领域^[36];(ii)从药物靶标的角度来看,除了继续关注 G 蛋白偶联受体(G-protein coupled receptor, GPCR)靶向药物以外,应同时关注离子通道、转运体以及其他细胞膜蛋白靶向的药物筛选和研发,提高药物作用的药效专一性和降低副作用的风险性;(iii)从药物实体的角度来看,除了继续保持传统的以化学小分子药物为主要对象的药物筛选策略以外,还需要发展更多以多肽、蛋白质、抗体等生物大分子为基础的药物筛选和研发,提高候选药物的药效并降低副作用^[37]。

目前,尽管啮齿类(大鼠、小鼠)被广泛应用于建立人类疾病(如肿瘤、糖尿病等)的动物模型,但是由于啮齿类与人类之间存在的极大种属差异:(i)许多研发的对鼠“有效”药物在临床阶段由于对人无效而失败;(ii)药物筛选中大量可能对人“有效”的活性物质由于对鼠无效而被淘汰^[38]。因此,构建满足“三性”特征要求的疾病动物模型是新药研发不可或缺的支撑平台^[39]。建立并使用符合“三性”特征要求并具有快捷、准确、经济特点的疾病动物模型,对于建立国际化、标准化的新药筛选和评价的优势技术平台,创新药物研制和相关产业发展具有重要的意义也符合疾病动物模型的发展方向。

3 我国特色与优势疾病动物模型

灵长类动物是人类的近亲,其组织结构、免疫、生理和代谢、生殖、大脑活动和行为方式等很多方面与人类高度相似,利用其创建的人类疾病模型,比其他模式动物能更好地复制人类疾病,特别是神经性疾病和各种感染性等疾病。相比于传统的小鼠实验动物模型,我国非人灵长类动物模型具有自身的特色优势与发展机遇。

(1)我国拥有较丰富的灵长类动物资源。我国拥有灵长类动物 24 种,约占全球灵长类物种的 6%^[15]。近年来,随着生命科学研究以及转化医学研究快速发展的需要,灵长类动物饲养繁殖得到迅速发展,目前人工养殖存栏数已达到 30 余万只。我国近年来针对非人灵长类的研究也作了重点部署,并在若干领域取得突破,例如,2010 年,我国第一只转基因灵长类动物被报道^[40]。结合目前新的遗传操作技术的发展和我国灵长类资源优势,产生批量灵长类遗传修饰动物将不是遥远的期待。

(2)在灵长类的近亲树鼩研究方面取得了一定进展。针对中缅树鼩的高质量的全基因组测序以及针对其中 2117 个单拷贝基因,我国科学家重构了树鼩与 14 个哺乳类动物(其中包括 6 个灵长类物种)的系统发育关系,显示树鼩与灵长类的亲缘关系更近,解决了长久以来关于树鼩进化地位的争议^[6]。在将树鼩和啮齿类的蛋白质序列与人的同源基因进行一对一比较时,发现人与树鼩之间较人与啮齿类之间拥有更高的蛋白质相似度,进一步说明树鼩与灵长类亲缘关系更近。同时发现,树鼩与灵长类在一些重要的神经系统和免疫系统信号通路中拥有高度的同源性^[6]。这些树鼩资源优势和研究积累,为进一步发掘树鼩资源,建立树鼩实验动物品系和模型奠定了极好的基础。而且,以树鼩作为模型的研究工作,可以填补以往由啮齿类动物模型、到犬、再到高等灵长类研究之间的一个空缺,从而能在更大程度上降低新药创制失败风险和节约药物开发成本。

(3)潜在机遇。目前国际上饲养、繁殖树鼩的中心不多,且以利用树鼩进行疾病机制研究为主,而进行新药评价动物模型研究却很少,我国在这方面完全有机会抢占制高点,尽早开发出成熟的国际公认的树鼩动物模型。

除了非人灵长类实验动物之外,猪也是一个极

好的补充,其心脏大小和生理代谢与人类接近.自2005年我国成功获得第一例克隆猪以来,转基因修饰猪在人类疾病模型和异种器官移植模型方面得到极大发展.对于灵长类动物和猪这些大型实验动物的研究和利用,有望提高我国在领域中的国际影响力和引领作用.

4 国家自然科学基金委员会对疾病动物模型项目的资助情况

国家自然科学基金委员会医学科学部在充分调研的基础上,从2011年起开始资助“疾病动物模型”的研究^[41,42].4年来共资助了74个项目,总经费7517万元.排在前3位的分别是各类肿瘤动物模型(占23%),各类神经、精神系统疾病(占20%),感染与免疫相关疾病(占18%),其余模型覆盖了代谢与内分泌系统疾病模型、呼吸系统疾病、运动创伤疾病、泌尿生殖系统疾病以及中医症候疾病等.建模策略以基因修饰类动物模型为主,自发性疾病动物模型、环境诱导、物理因素以及几种策略的组合也有涉及.项目资助4年来,先后取得了一定的进展,例如,在斑马鱼中建立了白血病模型,建立了理想的可持续性潜伏感染艾滋病的北平顶猴模型,建立了具有人类免疫系统的人源化小鼠模型等.

有别于国家相关部委及地方政府的动物模型基地平台建设,国家自然科学基金委员会资助的疾病动物模型研究是以项目为依托,从科学问题出发,希望通过长期的稳定支持,推动我国在疾病动物模型建立方面的研究,为医学科学研究基础平台建设打下基础.针对此类项目,基金指南中明确指出,此类项目要求申请人面对人类尤其是我国重大、常见、多发疾病谱,围绕建立新的疾病动物模型(包含中医症候的动物模型)开展研究,而不是直接利用已有疾病动物模型进行相关疾病的机制性研究(此类情况应该申请对应的面上项目,否则不予资助).不资助不具备建立动物模型工作条件的申请人利用此经费直接从公司购买或委托相关机构制备^[43].在广泛收集各领域专家的意见和建议的基础上,国家自然科学基金委员会下一步将进一步完善资助格局与评审程序,以期遴选出更多更优秀的项目予以资助,推动我国疾病动物模型的发展.

5 展望

根据人口与健康领域的发展趋势与国家战略重大需求,通过建立各类疾病动物模型,推动我国相关领域基础研究及产业的跨越式发展是一项重要战略举措.随着国际小鼠基因剔除计划(knockout mouse project, KOMP)、欧洲小鼠条件性剔除计划(European conditional mouse mutagenesis program, EuCOMM)以及国际小鼠表型分析联盟(international mouse phenotyping consortium, IMPC)的成立(网络版附录1),该领域在知识产权上的竞争日趋激烈.因此,我国疾病动物模型领域应从多方面加大研究力度,加快研究步伐.

5.1 积极参与国际协作计划,与本领域世界前沿保持同步

“国际小鼠表型分析计划”旨在建立第一本“哺乳动物基因功能百科全书”,该计划是和“人类基因组计划”同等重要的多国联合倡导的大科学计划.小鼠各种表型分析后,多数潜在药物新靶标将基本被发掘干净,在此领域寻找新的知识产权成果将非常困难;也就是说如果没有新靶标的专利,中国的新药研发未来将很难摆脱大量受制于人的仿制药的困境.所幸的是,我国南京大学模式动物研究所作为目前国内唯一的参与单位,将要承担1000个基因的表型分析任务,大概占到整体计划的5%.2014年6月,美国Jackson实验室在中国湖北武汉与国内菲沙基因信息公司(Frasergen)联合成立肿瘤基因组中心(<http://www.jax.org/>),这也将极大地促进我国各类小鼠肿瘤模型的发展以及药物筛选进程.

5.2 加紧建立大鼠、斑马鱼、猪等疾病动物模型,实现多模型互补研究

继小鼠之后,大鼠基因工程资源的研制也已成为各国争相竞争的科技制高点之一,因此,建立我国基因工程大鼠研发技术体系,抢占大鼠疾病动物模型资源的研发和知识产权具有极强的战略意义和应用价值.此外,国内新成立的斑马鱼敲除基因联盟(网络版附录2)正在进行1号染色体全基因(1418个基因,包括编码和非编码基因)敲除项目,目前已经完成50%~70%的任务,其潜在的价值是筛选得到的1000

余种突变体,可能给医学领域带来各种斑马鱼疾病模型.因此我国应当有紧迫的意识,从顶层设计牵头带动其他动物模型的研发.

5.3 将丰富的灵长类资源转化为突出的研究实力,并实现可持续利用

美国政府认为,“灵长类动物资源的短缺,可能严重阻碍其科学的发展,如果不能有效地提供这一生死攸关的国家战略研究资源,就有可能严重地危害到国家对保护其公民免受生物恐怖、艾滋病和其他严重危害人类健康疫病的能力”^[44].非人灵长类实验动物以及灵长类近亲树鼯是我国的优势与特色模式动物.我国应当加快非人灵长类战略资源的实验动物化,化灵长类资源优势为最终的研究实力优势,对于新型灵长类动物资源如平顶猴和树鼯,需加大加快其实验动物化进程,建立稳定的针对灵长类动物的基因操作技术,针对灵长类脑科学重大问题以及其他只有利用灵长类动物才能够模拟的人类疾病,创建一批遗传修饰灵长类动物,建立遗传背景可控的灵长类品系,与此同时,加强创建环境因素诱导的,能较好模拟疾病的自然发展过程的非人灵长类模型.可喜的是,我国科学家近期采用最先进的TALEN和CRISPR/Cas9技术在猕猴遗传操作方面取得了重大突破,走在了世界前列^[45,46].

5.4 加紧建立统一、有效的信息发布平台,并实现有序管理和资源共享

经过近年来的发展,目前我国已经建立了一定数量的非人灵长类、大鼠、小鼠、斑马鱼等疾病动物模型品系,但建成模型的利用率很低,基本仅用于某一课题组使用,因此也缺少了对其模型可行性与稳定性等第三方客观检验,这是一种效率极低的资源配置与巨大的资源浪费.因此,目前急需加紧我国疾病动物模型的数据库建设,对于已建立的各个数据库实现有机整合.另外,要通过国家相关政策的制定、引导与管理,实现国家投入创建动物模型的绩效考核,相关种质资源在创建后必须实现共享和集中保存,避免重复建设和浪费.

对于疾病动物模型,没有最好,只有最适合.总之,各类疾病动物模型的创建将极大地促进从单一生命科学研究向跨学科交叉与系统研究的转变;促进从小规模、小作坊方式向大规模集成性、智能性转变;促进从纯基础研究向生物医药高技术应用研究的战略转变.我国应当有长期的战略眼光,制定长效、稳定的资助机制,不断完善各种疾病模型评价与体系的标准化建设,在不断创制新模型的基础上力争有更多原创性的发现,以更科学、更集约、更高效的方式引导疾病动物模型的发展,并以此推动生物医学科学的跨越式发展^[47].

致谢 感谢中国科学院昆明动物研究所疾病动物模型重点实验室徐林研究员、姚永刚研究员、郑永唐研究员、张云研究员、胡新天研究员、陈策实研究员、赖仞研究员、梁斌研究员、陈勇彬研究员,中国科学院上海生命科学院健康科学研究所乐卫东研究员,中国科学院遗传与发育生物学研究所黄勋研究员,中国科技大学柳素玲教授,上海南方模式生物研究中心王铸钢教授,军事医学科学院杨晓研究员,北京大学刘国庆教授,武汉大学李红良教授,吉林大学杨永广教授,南方医科大学张文清教授,以及美国宾夕法尼亚州立大学陈功教授等给予的帮助与关注!

参考文献

- 1 徐林. 人类疾病的动物模型. 动物学研究, 2011, 32: 1-3
- 2 Cong L, Ran F A, Cox D, et al. Multiplex genome engineering using CRISPR/Cas systems. *Science*, 2013, 339: 819-823
- 3 Wang H, Yang H, Shivalila C S, et al. One-step generation of mice carrying mutations in multiple genes by CRISPR/Cas-mediated genome engineering. *Cell*, 2013, 53: 910-918
- 4 Huse J T, Holland E C. Genetically engineered mouse models of brain cancer and the promise of preclinical testing. *Brain Pathol*, 2009, 19: 132-143
- 5 Siolas D, Hannon G J. Patient derived tumor xenografts: transforming clinical samples into mouse models. *Cancer Res*, 2013, 73: 5315-5319

- 6 Fan Y, Huang Z Y, Cao C C, et al. Genome of the Chinese tree shrew. *Nat Commun*, 2013, 4: 1426
- 7 许凌, 范宇, 蒋学龙, 等. 树鼩进化分类地位的分子证据. *动物学研究*, 2013, 34: 70–76
- 8 徐林, 张云, 梁斌, 等. 实验动物树鼩和人类疾病的树鼩模型研究概述. *动物学研究*, 2013, 34: 59–69
- 9 Le W, Sayana P, Jankovic J. Animal models of Parkinson's disease: a gateway to therapeutics? *Neurotherapeutics*, 2014, 11: 92–110
- 10 Yang M, Miao J, Rizak J, et al. Alzheimer's disease and methanol toxicity (part 2): lessons from four Rhesus Macaques (*Macaca mulatta*) chronically fed methanol. *J Alzheimers Dis*, 2014, 41: 1131–1147
- 11 王静, 周启心, 吕龙宝, 等. 社会竞争失败病因学的抑郁症树鼩模型. *动物学研究*, 2012, 33: 92–98
- 12 Wang J, Chai A, Zhou Q, et al. Chronic clomipramine treatment reverses core symptom of depression in subordinate tree shrews. *PLoS One*, 2013, 8: e80980
- 13 Savard C, Tartaglione E V, Kuver R, et al. Synergistic interaction of dietary cholesterol and dietary fat in inducing experimental steatohepatitis. *Hepatology*, 2013, 57: 81–92
- 14 Tian Y, Bi J, Shui G, et al. Tissue-autonomous function of *Drosophila seipin* in preventing ectopic lipid droplet formation. *PLoS Genetics*, 2011, 7: e1001364
- 15 “疾病动物模型学术及战略研讨会暨第二届灵长类动物模型学术论坛”会议手册. 2013年11月25–27日, 昆明. 国家自然科学基金委员会医学科学部, 2013
- 16 Van Rompay K K. The use of nonhuman primate models of HIV infection for the evaluation of antiviral strategies. *AIDS Res Hum Retroviruses*, 2012, 28: 16–35
- 17 Ling B, Veazey R S, Luckay A, et al. SIV(mac) pathogenesis in rhesus macaques of Chinese and Indian origin compared with primary HIV infections in humans. *AIDS*, 2002, 16: 1489–1496
- 18 Zhou Y, Bao R, Haigwood N L, et al. SIV infection of rhesus macaques of Chinese origin: a suitable model for HIV infection in humans. *Retrovirology*, 2013, 10: 89
- 19 Xia H J, Zhang G H, Ma J P, et al. Dendritic cell subsets dynamics and cytokine productions in SIVmac239 infected Chinese rhesus macaques. *Retrovirology*, 2010, 7: 102
- 20 Xia H J, Ma J P, Zhang G H, et al. Effect of plasma viremia on apoptosis and immunophenotype of dendritic cells subsets in acute SIVmac239 infection of Chinese rhesus macaques. *PLoS One*, 2011, 6: e29036
- 21 Wang H, Zhuang K, Liu L, et al. Acute infection of Chinese macaques by a CCR5-tropic SHIV carrying a primary HIV-1 subtype B' envelope. *J Acquir Immune Defic Syndr*, 2010, 53: 285–291
- 22 Zhang J, Ye Y Q, Wang Y, et al. *M. tuberculosis* H37Rv infection of Chinese rhesus macaques. *J Neuroimmune Pharmacol*, 2011, 6: 362–370
- 23 Liao C H, Kuang Y Q, Liu H L, et al. A novel fusion gene mnTRIMCyp in pig-tailed macaque determines its susceptibility to HIV-1 infection. *AIDS*, 2007, 21: S19–S26
- 24 Kuang Y Q, Tang X, Liu F L, et al. Genotyping of TRIM5 locus in Northern pig-tailed macaques (*Macaca leonina*), a primate species susceptible to human immunodeficiency virus type 1 infection. *Retrovirology*, 2009, 6: 58
- 25 Evans D T, Silvestri G. Nonhuman primate models in AIDS research. *Curr Opin HIV AIDS*, 2013, 8: 255–261
- 26 Yan H, Zhong G, Xu G, et al. Sodium taurocholate cotransporting polypeptide is a functional receptor for human hepatitis B and D virus. *eLife*, 2012, 1: e00049
- 27 Zhong G, Yan H, Wang H, et al. Sodium taurocholate cotransporting polypeptide mediates woolly monkey hepatitis B virus infection of *Tupaia* hepatocytes. *J Virol*, 2013, 87: 7176–7184
- 28 Chen H, Pei R, Chen X. Different responses of two highly permissive cell lines upon HCV infection. *Virology*, 2013, 28: 202–208
- 29 Arias C A, Murray B E. Antibiotic-resistant bugs in the 21st century—a clinical super-challenge. *New Engl J Med* 2009, 360: 439–443
- 30 Poole D, Bertolini G, Garattini S. Withdrawal of 'Xigris' from the market: old and new lessons. *J Epidemiol Community Health*, 2012, 66: 571–572
- 31 Rittirsch D, Hoesel L M, Ward P A. The disconnect between animal models of sepsis and human sepsis. *J Leukoc Biol*, 2007, 81: 137–143
- 32 Raven K. Rodent models of sepsis found shockingly lacking. *Nat Med*, 2012, 18: 998
- 33 李盛安, 李文辉, 张云. 树鼩细菌感染模型的建立及抗菌药物的治疗效果评价. *动物学研究* 2012, 33: 1–6
- 34 Gibert Y, Trengove M C, Ward A C. Zebrafish as a genetic model in pre-clinical drug testing and screening. *Curr Med Chem*. 2013, 20: 2458–2466
- 35 Shin J T, Fishman M C. From Zebrafish to human: modular medical models. *Annu Rev Genomics Hum Genet*, 2002, 3: 311–340
- 36 North T E, Goessling W, Walkley C R, et al. Prostaglandin E2 regulates vertebrate haematopoietic stem cell homeostasis. *Nature*, 2007, 447: 1007–1011

- 37 Sliwkowski M X, Mellman I. Antibody therapeutics in cancer. *Science*, 2013, 341: 1192–1198
- 38 Pangelos M N, Schechter L E, Hurko O. Drug development for CNS disorders: strategies for balancing risk and reducing attrition. *Nat Rev Drug Discov*, 2007, 6: 521–532
- 39 Plenge R M, Scolnick E M, Altshuler D. Validating therapeutic targets through human genetics. *Nat Rev Drug Discov*, 2013, 12: 581–594
- 40 Niu Y, Yu Y, Bernat A, et al. Transgenic rhesus monkeys produced by gene transfer into early-cleavage-stage embryos using a simianimmunodeficiency virus-based vector. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107: 17663–17667
- 41 江虎军, 冯锋, 董尔丹. 模式动物与人类疾病的动物模型. *生命科学*, 2011, 23: 234–238
- 42 薛丽香, 霍名赫, 闫章才, 等. 建设动物模型平台, 推动医学科学发展——科学基金“疾病动物模型”项目介绍与资助分析. *中国科学基金*, 2013, 27: 79–82
- 43 国家自然科学基金委员会. 2014 年度国家自然科学基金项目指南. 北京: 科学出版社, 2014
- 44 Demands for rhesus monkeys in biomedical research: a workshop report. *ILAR J*, 2003, 44: 222–235
- 45 Liu H, Chen Y, Niu Y, et al. TALEN-mediated gene mutagenesis in rhesus and cynomolgus monkeys. *Cell Stem Cell*, 2014, 14: 323–328
- 46 Niu Y, Shen B, Cui Y, et al. Generation of gene-modified cynomolgus monkey via Cas9/RNA-mediated gene targeting in one-cell embryos. *Cell*, 2014, 156: 836–843
- 47 董尔丹, 胡海, 洪微. 浅析转化医学与医学实践, *科学通报*, 2013, 58: 53–62

Research Status and Perspective of Disease Animal Models in China

XUE LiXiang, ZHANG FengZhu, SUN RuiJuan & DONG ErDan

Department of Health Sciences, National Natural Science Foundation of China, Beijing 100085, China

With the increasing demand of medical research, disease animal models are widely used to study the mechanism of human disease initiation and development, drug screening, and treatment evaluation. The development of different kinds of disease animal models is reviewed. The advantages of China and the gap between China and the world in this field are analyzed. This review covers the fields of cancer, neurological diseases and mental health, infectious and immune diseases, cardiovascular and metabolic diseases, and drug screening. The main future directions in this field are pointed out and the funding related to ‘disease animal models’ by the National Natural Science Foundation of China is introduced briefly.

animal models, model animals, human diseases

doi: 10.1360/N052014-00186