

I 型遗传性酪氨酸血症动物模型研究进展

顾 鹏^{1,2}, 刘 闻¹, 袁 进¹, 徐名衬¹, 陈傍柱^{1,2}, 徐 涛¹, 顾为望^{1,2*}

(1. 南方医科大学比较医学研究所暨实验动物中心, 广州 510515;
2. 东莞松山湖明珠实验动物科技有限公司, 广东 东莞 523808)

【摘要】 I 型遗传性酪氨酸血症 (hereditary tyrosinemia type 1, HT1) 是一种常染色体隐性遗传病, 主要是由于 *FAH* 基因 (fumarylacetoacetate hydroxylase, FAH) 突变导致酪氨酸代谢发生障碍, 不能正常代谢延胡索酸和乙酰乙酸。临床上主要表现为严重的肝、肾损伤, 甚至肝癌。依赖基因编辑技术的发展, *Fah* 基因修饰的小鼠、大鼠、兔和小型猪模型均相继成功制备。目前, 这些动物模型已经广泛应用于人类 HT1 疾病的病理生理、肝脏生物学、肝干细胞以及肝癌基因治疗的研究, 同时也用于制备人源化肝和人肝细胞扩增的生物反应器。本文拟对 I 型遗传性酪氨酸血症动物模型的相关研究进展进行综述和探讨, 为更好的研究该疾病提供一些线索。

【关键词】 酪氨酸血症 I 型; FAH; 肝损伤; 动物模型

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2018)12-0119-05

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2018.12.020

Research progress of animal models of hereditary tyrosinemia type 1

GU Peng^{1,2}, LIU Wen¹, YUAN Jin¹, XU Mingchen¹, CHEN Bangzhu^{1,2}, XU Tao¹, GU Weiwang^{1,2*}

(1. Institute of Comparative Medicine & Laboratory Animal Center, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China;
2. Songshan Lake Pearl Laboratory Animal Science and Technology Co. Ltd., Dongguan 523808)

【Abstract】 Hereditary tyrosinemia I (HT I) is an autosomal recessive disease characterized by progressive liver and kidney damage with a high risk of hepatocellular carcinoma. HT I is caused by mutations of the gene encoding fumarylacetoacetate hydrolase (FAH), the last enzyme in the tyrosine catabolic pathway. Several animal models of *Fah* deficiency have been established, including mouse, rats, rabbits, and pigs, using a recently developed gene-modifying technique. These animal models have become important for liver biology research and are widely used in liver stem cell and hepatic gene therapy studies. Furthermore, *Fah* mutants can be used as a bioreactor for the expansion of hepatocytes. These chimeric animals have become valuable models for basic research of infectious diseases, metabolism, and gene therapy. Here, we review the progress of animal models of HT I and their applications.

【Keywords】 hereditary tyrosinemia I; animal model; *Fah*; liver disease

I 型遗传性酪氨酸血症 (HT1) 是一种常染色体隐性遗传病, 临床上主要变现为严重的肝、肾损伤, 甚至肝癌^[1]。HT1 患者肝中基因表达的改变是导

致该病发病的原因, 通过基因表达分析可以更好地了解该疾病的具体发病机制。然而, 受到伦理道德的限制, 很多研究无法直接在人体中进行, 必须首

【基金项目】 广州市科技计划项目 (201704020012)、国际科技合作项目 (2011DFA33290)、广东省科技计划项目 (2010A011200003、2012B011000004)。

【作者简介】 顾鹏 (1993—), 男, 硕士研究生, 研究方向: 基因修饰小型猪模型的研究。E-mail: gergegu@hotmail.com

【通信作者】 顾为望 (1956—), 男, 教授, 博士生导师, 研究方向: 实验动物培育、人类疾病动物模型制备与比较医学, E-mail: Guww100@

先依靠动物模型进行广泛的实验评估和论证。因此,建立可靠地实验动物模型将更有助研究人员认识该疾病本质及其相关的治疗方法。为此,本文对 I 型遗传性酪氨酸血症动物模型的相关研究进展进行综述和探讨,为更好的研究该疾病提供一些线索。

1 I 型遗传性酪氨酸血症临床表现及致病机制

I 型遗传性酪氨酸血症又称肝肾性酪氨酸血症,总体患病约为 1/2000 ~ 1/100000^[2-3]。根据 I 型遗传性酪氨酸血症患者发病年龄,临床上将该疾病分为急性型(发病年龄 < 2 个月)、亚急性型(发病年龄 2 ~ 6 个月)和慢性型(发病年龄 > 6 个月)^[4]。急性患儿多在出生后 2 个月内急性发病,病情迅速恶化,常在出生后第 3 ~ 9 月死于肝功能衰竭^[5-6]。亚急性型与急性型相似,但症状出现在出生后 2 ~ 6 个月之间。慢性型发病时间通常在出生 6 个月之后,临床表现以渐进性肝和肾损害为主,随着病情的发展最终会导致肝硬化和 Fanconi 综合征,甚至出现佝偻病^[7]。I 型遗传性酪氨酸血症(HT1)发病原因是由于患者体内缺乏延胡索酰乙酰乙酸水解酶所致。FAH 酶是酪氨酸代谢分解途径的最后一步所需的酶,可将延胡索酸乙酰乙酸(fumarylacetoacetate, FAA)水解为富马酸酯(fumarate)和乙酰乙酸(acetoacetate)^[8]。FAH 酶缺乏会导致有毒代谢物的积累,包括延胡索酰乙酰乙酸(FAA)和马来酸乙酰乙酸(maleylacetoacetate)。由于其上游代谢物酪氨酸(tyrosine)、4-羟苯基丙酮酸(4-hydroxyphenylpyruvate)含量升高,使中间代谢产物马来酰乙酰乙酸进一步积累,从而刺激产生旁代谢通路,导致其代谢产物琥珀酰乙酰乙酸(succinylacetoacetate)、琥珀酰丙酮增高(succinylacetone, SA)^[9]。这两种旁代谢产物可以与蛋白质的巯基结合,是造成肝、肾损害的主要原因。当不接受治疗时,大多数 HT1 患者在婴儿早期就会死于急性严重肝肾功能衰竭^[7]。

2 I 型遗传性酪氨酸血症小鼠模型

FAH 基因在哺乳动物中非常保守,人、猪、大鼠和小鼠的 cDNA (80% 同源性)及蛋白质(94% 同源性)均有着高度同源性^[6]。Fah 基因缺陷小鼠最先报导作为研究人类 HT1 疾病的动物模型并可以通过尼替西农(NTBC)给药进行维持治疗。停药后,该小鼠会发生渐进性肝衰竭和肾小管功能障碍。

1979 年 Gluecksohn、Russell 等^[10-11]报导了 c¹⁴CoS 小鼠,该小鼠由于辐射造成了 7 号染色体大片段的删除。纯合的 c¹⁴CoS 小鼠在出生后数小时内死亡同时伴有严重的肝损伤。研究发现,该小鼠体内许多肝特异性酶都有减少甚至消失,包括酪氨酸氨基转移酶(Tat)^[12]、葡萄糖-6-磷酸酶(G-6P)^[10]、谷氨酰胺合成酶(Gs)^[9]、磷酸烯醇丙酮酸羧激酶(Pepck)^[13]、醛缩酶 B 和血清白蛋白^[14-15]等。相反,导致肝损伤的 mRNA 水平(Chop-1、Nmo-1)则都有上升^[16-17]。肝、肾组织学上的损伤在 c¹⁴CoS 小鼠也有发现。但是,由于该小鼠的突变类型是大片段的基因删除,导致例如酪氨酸激酶在内的很多基因也被删除了,因此与人类 HT1 患者的基因型表现存在一定的差异性。

1993 年 Grompe 等^[18]通过同源重组技术将小鼠 Fah 基因 5 号外显子删除,成功制备了 Fah 基因敲除小鼠(Fah^{Δexon5} mouse)并显示出与 c¹⁴CoS 小鼠完全相同的表型。此后 Overturf (1996)、Paulk (2010)、Lisowski (2012)、Huang (2011)、Zhu (2014)等先后制备了 Fah 基因敲除的小鼠模型^[19-23]。Fah 基因敲除小鼠往往会在新生仔鼠出生后 1 周内死于严重肝损伤,但是通过在水中添加 NTBC 可以有效改善肝的损伤。NTBC 撤药后若继续给予正常蛋白质含量的饮食将会导致严重的肝、肾疾病,通常 6 周后即会死亡^[24]。目前,Fah^{-/-}小鼠已经成为研究 I 型遗传性酪氨酸血症理想的动物模型。2001 年 Aponte 等^[25]人通过 ENU 诱导制备了 Fah 基因点突变小鼠。这种单一碱基改变扰乱了核苷酸的剪接并产生一个编码无效蛋白质的等位基因。因此,该小鼠生化表型与其他 Fah^{-/-}突变动物一样^[20]。

2007 年, Azuma 等^[26]将 Fah^{-/-}小鼠和 Rag2^{-/-}/Il-2rg^{-/-}小鼠杂交获得 FRG (Fah^{-/-}/Rag2^{-/-}/Il-2rg^{-/-})小鼠,这为之后将人肝细胞移植到免疫缺陷的 Fah^{-/-}小鼠上实现肝脏的人源化奠定了基础。但该方法须要进行多次杂交和回交,费时费力。近年来兴起的锌指蛋白酶(ZFN)、TALEN、CRISPR/Cas9 等基因编辑技术可以直接在受精卵中进行基因编辑而受到广泛关注。Winer 等^[27]利用锌指蛋白酶将 NOD Rag1^{-/-}/Il2rg^{-/-}(NRG)小鼠受精卵的 Fah 基因 5 号外显子敲除,获得的小鼠与 Fah^{-/-}小鼠和 NRG 小鼠杂交得到的 FRG 小鼠相比,人源肝细胞再植率几乎相同;Li

等^[28]应用 CRISPR/Cas9 技术也实现了 NRG 小鼠中 *Fah* 基因的敲除,而耗时仅需 6 周,相比于传统方法操作更为简单,耗时更短。尽管如此,*Fah* 基因敲除小鼠模型无法反映 HT1 患者关键的慢性病变,即肝纤维化和肝硬化^[29]。

3 I 型遗传性酪氨酸血症大鼠模型

作为实验动物模型,在各种生理和病理方面,大鼠比小鼠更接近人类。大鼠体重比小鼠大至少 10 倍,能够提供的血液、胆汁酸、细胞和组织也更多,对于后续实验分析更为有利^[30]。

2016 年 Zhang 等^[30]通过 CRISPR/Cas9 技术成功制备了 *Fah* 基因敲除大鼠。*Fah*^{-/-}大鼠在 NTBC 停止给药后出现体重下降,进而死于渐进性肝衰竭等其他并发症,表现出与人类 HT1 患者常见症状相似的特征。相比于 *Fah*^{-/-}基因敲除小鼠,*Fah*^{-/-}大鼠在 NTBC 停药后血清 ALT,AST 和 TBIL 水平更高,组织学分析也发现大量肝细胞死亡,这表明 *Fah*^{-/-}大鼠具有更严重的肝损伤现象^[25,31]。此外,在 NTBC 停止给药后,*Fah*^{-/-}大鼠也检测到肾小管损伤。与 *Fah* 基因突变小鼠不同,通过肝的宏观变化,组织学分析和生化检查发现 *Fah* 基因敲除的大鼠具有明显的肝纤维化和肝硬化表型。

同年,Kuijk 等^[32]报导 *Fah*^{-/-}/*Il2rg*^{-/-}大鼠模型可以用于评估体内大鼠肝干细胞的功能。同时也证明了大鼠肝干细胞系特别适用于研究人类代谢紊乱大鼠模型,例如 Gunn 大鼠(CN 综合征型 I 型),*Fah*^{-/-}模型(酪氨酸血症型 I 型),血色素沉着症模型以及 Long Evans Cinnamon 大鼠(威尔森氏病的模型)^[33-35]。受益于大鼠肝干细胞系,这些模型将作为潜在的工具进一步阐明这些疾病的分子机制以及检查肝干细胞在移植后恢复肝功能的能力。

4 I 型遗传性酪氨酸血症兔模型

目前,酪氨酸血症 I 型小鼠和大鼠模型均已受到广泛的重视和应用。但是受限于啮齿类动物大小、体型、生理及遗传发育等与人类的差异性,因此一定程度上不能完全反应人类 HT1 疾病的本质。实验兔作为中等动物模型,生理结构、遗传代谢以及发育上更加接近人类,且具有更长的寿命^[36-37]。*Fah*^{-/-}兔模型的建立可以为 HT1 肝损伤疾病的机理研究和治疗提供更为可靠的模型。

2017 年,Li 等^[38]通过 TALENs 基因打靶技术获

得了 *Fah* 双等位基因敲除兔。*Fah*^{-/-}基因敲除兔表现出 HT1 患者肝和肾损伤表型,但也有频繁的眼部病变表型(主要是角膜炎)。这就使得其成为研究如何预防和治疗 HT1 患者潜在并发眼部疾病良好的模型^[39-40]。此外,从 DNA 水平、蛋白表达水平,血液生理生化水平以及病理变化等方面检测结果显示,与小鼠相比,*Fah*^{-/-}兔更好的模拟了人类 HT1 疾病的表型。通过同种异体肝细胞移植发现,移植 3 个月后外源性肝细胞在 *Fah*^{-/-}兔模型肝脏中整合率达到 80%,有效缓解了 *Fah*^{-/-}基因敲除兔的肝损伤,治疗效果明显^[38]。

5 I 型遗传性酪氨酸血症小型猪模型

小型猪体型大小、生理学、疾病发展等方面与人相似性更大,是生物医学研究中理想的实验动物模型,在探究人类疾病的预防措施、致病机制、治疗效果、药物筛选以及探索人类生命活动规律等方面均更有优势^[41]。小型猪的解剖学特征比小型动物模型更接近人类,利用小型猪制备动物模型不仅更能模拟人类疾病的发生发展,而且手术操作更为宏观简单^[42]。此外,小型猪器官的大小也使他们成为生产人类细胞、组织甚至异种器官移植最理想的选择^[43-44]。

2011 年,Hickey 等^[29]通过腺相关病毒(AAV)和同源重组技术靶向破坏猪 7 号染色体 *Fah* 基因成功制备了 *Fah* 基因敲除杂合子猪(*Fah*^{+/-})。通过 AAV 载体打靶猪胎儿成纤维细胞 5 号外显子,平均敲除效率达到 5.4%。这些 *Fah* 基因敲除杂合子猪表型正常,具有良好的繁殖能力,突变的等位基因能够稳定遗传,同时肝脏病理学没有任何异常。虽然是杂合敲除,但是 *Fah* 杂合子猪的 FAH 蛋白水平和水解延胡索酰乙酰乙酸(FAA)的能力显著降低。2014 年,Hickey 等^[45]将 *Fah* 基因敲除杂合子猪进行互交,成功培育了 *Fah*^{-/-}双等位基因敲除纯合子猪。研究发现,与 HT1 患者相似,如停止 NTBC 给药时 *Fah*^{-/-}基因敲除纯合子猪无法发育。其次,由于 *Fah* 酶缺乏,*Fah*^{-/-}基因敲除纯合子猪血液和尿液中酪氨酸和琥珀酰丙酮含量显著上升。*Fah* 酶缺陷导致延胡索酰乙酰乙酸(FAA)在细胞中积聚引起严重的肝损伤^[46-47]。生化检测发现血液中 AST,碱性磷酸酶,氨和总胆红素显著上升,提示该猪有严重的肝损伤。除此以外,在 NTBC 撤药后也检测到肾小管损伤。2017 年,该课题组通过降低 NTBC

维持给药剂量后发现, *Fah*^{-/-} 猪表现出生长迟缓和生化异常, 如转氨酶升高, 琥珀酰丙酮 (SA) 和甲胎蛋白 (AFP) 升高, 并呈现出 NTBC 剂量依赖特征。随后, *FAH*^{-/-} 猪出现了肝纤维化、肝硬化和门静脉高压等慢性肝病表型^[48]。该模型证实了 *Fah*^{-/-} 猪作为一种新型肝硬化大动物模型, 可以应用于包括药物开发和毒性测试以及评估现代成像等技术的研究。

6 总结与展望

最初, I 型遗传性酪氨酸血症动物模型作为研究人类 HTI 疾病的病理生理以及治疗效果的理想动物模型而开发。而目前, 它们已经被广泛应用于肝生物学、肝干细胞以及肝癌基因治疗的研究, 同时也可用于制备人源化肝以及作为人肝细胞扩增的生物反应器。除此以外, I 型遗传性酪氨酸血症动物模型也可用于评估肝外源细胞移植, 如骨髓或成人胰岛细胞移植的疗效。这将使它们成为研究 I 型遗传性酪氨酸血症致病机制以及评估最新发现的肝祖细胞和肝细胞样细胞临床前疗效理想的模型。

参考文献:

- [1] Scott C R. The genetic tyrosinemias [J]. Am J Med Genet C Semin Med Genet, 2006, 142C(2): 121–126.
- [2] Held PK. Disorders of tyrosine catabolism [J]. Mol Genet Metab, 2006, 88(2): 103–106.
- [3] Kenney D. Inborn metabolic diseases: diagnosis and treatment, fifth edition [J]. Neurol, 2013, 80(16): 1540.
- [4] Masural-Paulet A, Poggi-Bach J, Rolland M-O, et al. NTBC treatment in tyrosinaemia type I: Long-term outcome in French patients [J]. J Inher Metab Dis, 2008, 31(1): 81–87.
- [5] Tanguay RM, Valet JP, Lescault A, et al. Different molecular basis for fumarylacetoacetate hydrolase deficiency in the two clinical forms of hereditary tyrosinemia (type 1) [J]. Am J Hum Genet, 1990, 47(2): 308–316.
- [6] ST-Louis M, Tanguay RM. Mutations in the fumarylacetoacetate hydrolase gene causing hereditary tyrosinemia type I: overview [J]. Hum Mutat, 1997, 9(4): 291–299.
- [7] Russo P, O' REGAN S. Visceral pathology of hereditary tyrosinemia type I [J]. Am J Hum Genet, 1990, 47(2): 317–324.
- [8] Lindblad B, Lindstedt S, STEEN G. On the enzymic defects in hereditary tyrosinemia [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1977, 74(10): 4641–4645.
- [9] Kvittingen EA. Hereditary tyrosinemia type I – an overview [J]. Scand J Clin Lab Invest Suppl, 1986, 184: 27–34.

- [10] Gluecksohn-Waelsch S. Genetic control of morphogenetic and biochemical differentiation: lethal albino deletions in the mouse [J]. Cell, 1979, 16(2): 225–237.
- [11] Russell LB, Russell WL, Kelly EM. Analysis of the albino-locus region of the mouse. I. Origin and viability [J]. Genetics, 1979, 91(1): 127–139.
- [12] Schmid W, Müller G, Schütz G, et al. Deletions near the albino locus on chromosome 7 of the mouse affect the level of tyrosine aminotransferase mRNA [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1985, 82(9): 2866–2869.
- [13] Loose DS, Shaw PA, Krauter KS, et al. Trans regulation of the phosphoenolpyruvate carboxykinase (GTP) gene, identified by deletions in chromosome 7 of the mouse [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1986, 83(14): 5184–5188.
- [14] Ruppert S, Boshart M, Bosch FX, et al. Two genetically defined trans-acting loci coordinately regulate overlapping sets of liver-specific genes [J]. Cell, 1990, 61(5): 895–904.
- [15] Sala-Trepat JM, Poiriet M, Sellem CH, et al. A lethal deletion on mouse chromosome 7 affects regulation of liver-cell-specific functions: posttranscriptional control of serum protein and transcriptional control of aldolase B synthesis [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1985, 82(8): 2442–2446.
- [16] Fornace AJ Jr, Nebert DW, Hollander MC, et al. Mammalian genes coordinately regulated by growth arrest signals and DNA-damaging agents [J]. Mol Cell Biol, 1989, 9(10): 4196–4203.
- [17] Petersen DD, Gonzalez FJ, Rapic V, et al. Marked increases in hepatic NAD(P)H: oxidoreductase gene transcription and mRNA levels correlated with a mouse chromosome 7 deletion [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1989, 86(17): 6699–6703.
- [18] Grompe M, al-Dhalimy M, Finegold M, et al. Loss of fumarylacetoacetate hydrolase is responsible for the neonatal hepatic dysfunction phenotype of lethal albino mice [J]. Genes Dev, 1993, 7(12A): 2298–2307.
- [19] Overturf K, Al-Dhalimy M, Tanguay R, et al. Hepatocytes corrected by gene therapy are selected in vivo in a murine model of hereditary tyrosinaemia type I [J]. Nat Genet, 1996, 12(3): 266–273.
- [20] Paulk NK, Wursthorn K, Wang Z, et al. Adeno-associated virus gene repair corrects a mouse model of hereditary tyrosinemia in vivo [J]. Hepatology, 2009, 51(4): 1200–1208.
- [21] Lisowskil, Lau A, Wang Z, et al. Ribosomal DNA integrating rAAV-rDNA vectors allow for stable transgene expression [J]. Mol Ther, 2012, 20(10): 1912–1923.
- [22] Huang P, He Z, Ji S, et al. Induction of functional hepatocyte-like cells from mouse fibroblasts by defined factors [J]. Nature, 2011, 475(7356): 386–389.
- [23] Zhu S, Rezvani M, Harbell J, et al. Mouse liver repopulation with hepatocytes generated from human fibroblasts [J]. Nature, 2014, 508(7494): 93–97.
- [24] Grompe M, Lindstedt S, al-Dhalimy M, et al. Pharmacological correction of neonatal lethal hepatic dysfunction in a murine

- model of hereditary tyrosinaemia type I [J]. *Nat Genet*, 1995, 10(4): 453–460.
- [25] Aponte JL, Sega GoA, Hauser LJ, et al. Point mutations in the murine fumarylacetoacetate hydrolase gene: Animal models for the human genetic disorder hereditary tyrosinemia type 1 [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98(2): 641–645.
- [26] Azuma H, Paulk N, Ranade A, et al. Robust expansion of human hepatocytes in *Fah^{-/-}/Rag2^{-/-}/Il2rg^{-/-}* mice [J]. *Nat Biotechnol*, 2007, 25(8): 903–910.
- [27] Winer BY, Huang T, Low BE, et al. Recapitulation of treatment response patterns in a novel humanized mouse model for chronic hepatitis B virus infection [J]. *Virology*, 2017, 502: 63–72.
- [28] Li F, Cowley DO, Banner D, et al. Efficient genetic manipulation of the NOD-Rag1^{-/-} IL2RgammaC-null mouse by combining in vitro fertilization and CRISPR/Cas9 technology [J]. *Sci Rep*, 2014, 4: 237–237.
- [29] Hickey RD, Lillegard JB, Fisher JE, et al. Efficient production of *Fah*-null heterozygote pigs by chimeric adeno-associated virus-mediated gene knockout and somatic cell nuclear transfer [J]. *Hepatology*, 2011, 54(4): 1351–1359.
- [30] Zhang L, Shao Y, Li L, et al. Efficient liver repopulation of transplanted hepatocyte prevents cirrhosis in a rat model of hereditary tyrosinemia type I [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 1–14.
- [31] MAashimo T, Takizawa A, Kobayashi J, et al. Generation and characterization of severe combined immunodeficiency rats [J]. *Cell Rep*, 2012, 2(3): 685–694.
- [32] Kuijk EW, Rasmussen S, Blokzijf F, et al. Generation and characterization of rat liver stem cell lines and their engraftment in a rat model of liver failure [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 22154.
- [33] Bartnikas TB, Wildt SJ, Wineinger AE, et al. A novel rat model of hereditary hemochromatosis due to a mutation in transferrin receptor 2 [J]. *Comp Med*, 2013, 63(2): 143–155.
- [34] Terada K, Sugiyama T. The Long-Evans Cinnamon rat: An animal model for Wilson's disease [J]. *Pediatr Int*, 1999, 41(4): 414–418.
- [35] Puppi J, Dhawan A. Human hepatocyte transplantation overview [M]. *Methods Mol Bio* (Clifton, N.J.), Totowa, NJ: Humana Press, 2009, 481(Chapter 1): 1–16.
- [36] Wang Y, Fan N, Song J, et al. Generation of knockout rabbits using transcription activator-like effector nucleases [J]. *Cell Regen (Lond)*, 2014, 3(1): 3.
- [37] Bosze Z, Houdebine LM. Application of rabbits in biomedical research: a review [J]. *World Rabbit*, 2010, 14(1): 1–14.
- [38] Li L, Zhang Q, Yang H, et al. Fumarylacetoacetate hydrolase knock-out rabbit model for hereditary tyrosinemia type 1 [J]. *J Biol Chem*, 2017, 292(11): 4755–4763.
- [39] Schauwvlieghe PP, Jaeken J, Kestelyn P, et al. Confocal microscopy of corneal crystals in a patient with hereditary tyrosinemia type I, treated with NTBC [J]. *Cornea*, 2013, 32(1): 91–94.
- [40] Gissen P, PreeceE MA, Willshaw HA, et al. Ophthalmic follow-up of patients with tyrosinaemia type I on NTBC [J]. *J Inherit Metab Dis*, 2003, 26(1): 13–16.
- [41] Lunney JK. Advances in swine biomedical model genomics [J]. *Int J Biol Sci*, 2007, 3(3): 179–184.
- [42] Suzuki Y, Yeung AC, Ikeno F. The representative porcine model for human cardiovascular disease [J]. *J Biomed Biotechnol*, 2011, 2011: 195483.
- [43] Cooper DK, Gollackner B, Sachs DH. Will the pig solve the transplantation backlog? [J]. *Annu Rev Med*, 2002, 53: 133–147.
- [44] Aigner B, Renner S, Kessler B, et al. Transgenic pigs as models for translational biomedical research [J]. *J Mol Med (Berl)*, 2010, 88(7): 653–664.
- [45] 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.
- [46] Jorqyera R, Tanguay RM. The mutagenicity of the tyrosine metabolite, fumarylacetoacetate, is enhanced by glutathione depletion [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1997, 232(1): 42–48.
- [47] Kubo S, Sun M, Miyahara M, et al. Hepatocyte injury in tyrosinemia type 1 is induced by fumarylacetoacetate and is inhibited by caspase inhibitors [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95(16): 9552–9557.
- [48] Elgilani F, Mao SA, Glorioso JM, et al. Chronic phenotype characterization of a large-animal model of hereditary tyrosinemia type 1 [J]. *Am J Pathol*, 2017, 187(1): 33–41.

[收稿日期]2018–05–14