

杜思颖,杨晋辉. 不同原发性胆汁性胆管炎小鼠模型的优缺点 [J]. 中国比较医学杂志, 2020, 30(4): 137-141.

Du SY, Yang JH. Advantages and disadvantages of different primary biliary cholangitis mouse models [J]. Chin J Comp Med, 2020, 30(4): 137-141.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2020.04.021

不同原发性胆汁性胆管炎小鼠模型的优缺点

杜思颖,杨晋辉*

(昆明医科大学第二附属医院 消化内科,昆明 650500)

【摘要】 原发性胆汁性胆管炎(primary biliary cholangitis,PBC)是由自身免疫介导的慢性炎症性、胆汁淤积性肝疾病,其特征是进行性肝内小胆管非化脓性炎症和自身抗线粒体抗体(anti-mitochondrial antibodies,AMA)的出现。目前 PBC 发病原因不明,机制不清,尚无特效疗法,其发病机制的研究成为攻克该疾病的重要靶点,而建立与人 PBC 类似的动物模型是研究 PBC 发病机制所面临的困难之一。本文简要介绍目前常用的几种 PBC 小鼠模型,综述各个模型的优缺点,探讨 PBC 动物模型构建中存在的问题,为研究者模型选择提供更多的依据。

【关键词】 原发性胆汁性胆管炎;抗线粒体抗体;模型

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2020) 04-0137-05

Advantages and disadvantages of different primary biliary cholangitis mouse models

DU Siying, YANG Jinhui*

(Department of Gastroenterology, The Second Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming 650500, China)

【Abstract】 Primary biliary cholangitis (PBC) is a chronic inflammatory cholestatic liver disease that is mediated by autoimmunity and is characterized by progressive intrahepatic small bile duct non-suppurative inflammation and the appearance of antimitochondrial autoantibodies. At present, the cause and mechanisms of PBC remain unknown, and there is no specific treatment for this disease. Research into the pathogenesis of PBC has therefore become an important target. One of the greatest difficulties in this research has been the establishment of an animal model that is similar to human PBC. This article briefly introduces several commonly used PBC mouse models, compares the advantages and disadvantages of each model, discusses the problems in the construction of PBC animal models, and provides a solid basis for the selection of a research model.

【Keywords】 primary biliary cholangitis; antimitochondrial antibody; model

原发性胆汁性胆管炎(primary biliary cholangitis,PBC,又称原发性胆汁性肝硬化)是一种女性易感的自身免疫性疾病,该病发生隐匿,进展缓慢,血清学检查可见自身抗线粒体抗体(anti-mitochondrial antibodies,AMA)、碱性磷酸酶(alkaline phosphatase,ALP)和γ-谷氨酰转肽酶(gamma-glutamyl transpeptidase,GGT)升高,病理上以肝内胆汁淤积、门脉区大量淋巴细胞浸润、进行性胆管上皮细胞特异性破坏和肉芽肿形成成为显著特征,最终导致广泛性肝胆管破坏、肝硬化甚至肝衰竭。研究

【基金项目】 国家自然科学基金(81760107);昆明医科大学研究生创新基金(2019S148)。

【作者简介】 杜思颖(1994—),女,硕士,研究方向:消化基础疾病。E-mail: 294125842@qq.com

【通信作者】 杨晋辉(1962—),男,硕士,主任医师,教授,博士生导师,研究方向:消化基础疾病。E-mail: 13608712810@163.com

表明,位于线粒体内膜上的丙酮酸脱氢酶复合物的 E2 亚基 (the E2 subunit of pyruvate dehydrogenase complex, PDC-E2) 是 AMA 识别的最主要的自身靶抗原,大多数患者外周血存在有 PDC-E2 自身反应性的 T 细胞^[1-2]。近几年来,PBC 发病率呈上升趋势,为了更好的进行 PBC 发病机制及炎症进程的研究,寻求新的治疗突破口,需要一个理想的 PBC 动物模型。本文的目的是分析比较几种应用较广泛的 PBC 小鼠模型的优缺点,探讨目前的模型在疾病研究中存在的缺陷,为研究者模型选择提供更多的依据。

1 诱导性模型

1.1 2-辛炔酸 (2-octynoic acid, 2OA) 诱导的小鼠模型

有研究指出,来自 PBC 患者的自身 AMA 不仅可与天然脂质化的 PDC-E2 交叉反应,而且还和许多与硫辛酰具有相似结构的化学异生模拟物交叉反应,其中以 2-辛炔酸 (2OA) 为典型,PBC 患者血清显示出对 2-辛炔酸-PDC-E2 肽的高 Ig 反应性,提示这种化学物质在体内具有修饰 PDC-E2 的潜力,是能够被 AMA 识别的半抗原^[3-5]。在此基础上,Wakabayashi 等^[6]用 2OA 结合牛血清白蛋白 (bovine serum albumin, BSA) 来免疫 C57BL/6 小鼠和 NOD.1101 小鼠,皆成功诱导出了类似人 PBC 的病变,这两种被诱导的小鼠都表现出自身免疫性胆管炎,典型的自身 AMA,血清肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 和干扰素- γ (interferon- γ , IFN- γ) 升高,肝门静脉区域 CD4⁺、CD8⁺ 淋巴细胞浸润,肝内小胆管损伤等病理特点,但 NOD.1101 小鼠出现 AMA 的时间比 C57BL/6 小鼠更早,在疾病的第二周开始就可观察到,而且 NOD.1101 小鼠的门脉区除 CD4⁺、CD8⁺ 淋巴细胞外,还可见中性粒细胞浸润及肉芽肿形成,表现出比 C57BL/6 小鼠更易被外源性物质诱发出 PBC 样病变的特性。

总的来说,用 2OA 诱发的 PBC 模型构建简单,重建性高,病理特点与人 PBC 相似,但这种小鼠模型的自然史和严重程度不如人类强度高,不包括纤维化改变,并且使用 2OA-BSA 乳化后腹腔注射可导致不同程度的腹膜炎,这与人 PBC 有一定差别。此外,应该强调的是,尽管 2OA 这种异生素在自然界中不存在,但它可以化学合成,并且广泛应用于香水、口红、面霜、肥皂、洗涤剂及一些食品添

加剂中,这些数据为人类 PBC 的环境起源提供了说服力。

1.2 聚肌苷-聚胞苷酸 (polyinosinic-polycytidylic acid, poly I:C) 诱导的模型

Poly I:C 是 1 型干扰素诱导物,在结构上类似双链 RNA (dsRNA),是 Toll 样受体 3 (toll-like receptor 3, TLR3) 的天然刺激物。研究表明,利用腹腔注射 poly I:C 的方法免疫 C57BL/6 雌性小鼠,可以成功建立 PBC 模型^[7-8],poly I:C 免疫小鼠后 8 周,在门静脉区可检测到单核细胞,血清 AMA 阳性小鼠频率为 27.8%;进展至 16 周,血清 AMA 阳性频率增加,肝汇管区明显炎性细胞浸润,浸润的淋巴细胞积聚在受损的胆管周围,血清干扰素- α (interferon- α , IFN- α)、ALP 水平升高,类似 PBC 的早期改变。这种模型建造方法简单,所用试剂单一,且由于 poly I:C 注射,在这些小鼠中检测到高水平的 IFN- α 和其他促炎细胞因子,受到许多科研工作者的青睐,但该方法需 4 个月才能使小鼠发展成 PBC,血清 AMA 抗体滴度较低,门静脉炎症程度轻,未见嗜酸性粒细胞浸润及纤维化或桥接样坏死改变,不及人类 PBC 严重,只适用于早期病变的研究。

1.3 2OA 与 poly I:C 联合免疫 C57BL/6 小鼠模型

基于对以上两种造模方法的观察,加上越来越多的研究表明环境和/或感染因子可以加剧自身免疫反应,故有研究提出,运用 2OA 与 poly I:C 联合免疫是否会改变疾病进程?为了验证这一假说,Ambrosini 等^[9]人使用这两种药物进行了联合免疫实验,发现与 2OA 免疫组比,联合免疫组中 poly I:C 给药加剧了 2OA 免疫小鼠肝中的自身免疫性胆管炎,包括 CD8⁺T 淋巴细胞以及血清 IL-6、IL-12、IFN- γ 、TNF- α 等促炎细胞因子的显著增加,更为重要的是,该种模型有纤维化证据,肝组织学检查可见嗜酸性粒细胞浸润和桥接样纤维化改变,与人 PBC 组织学表现非常相似。与单独用 2OA 免疫组和单独用 poly I:C 免疫组相比,这种联合免疫小鼠的实验方法较为复杂,且同样会并发腹膜炎,但该种实验方案周期短 (8 周),血清内 AMA 抗体滴度高,肝病理学检查有纤维化改变,可用于 PBC 早期及晚期病程的研究。2OA 与 poly I:C 联合免疫小鼠成功建立 PBC 模型的事实说明,PBC 疾病的发生除了自我耐受性的破坏之外,还需要在疾病进程中产生第二次“命中”,符合自身免疫性疾病的“多重打击”假说,

更真实的模仿了人类 PBC 疾病。

1.4 抗线粒体抗体 M2 抗原诱导的小鼠模型

PBC 特征性的血清学指标是自身 AMA 的出现,也是 PBC 患者最早出现的变化之一,甚至在发病前即可检测到^[10-11]。AMA 一共有 M1-M9 九个亚型,其中只有 M2 型为 PBC 特异性抗体,M2 的靶抗原是 2-氧代酸脱氢酶复合体的一些组分,主要包括 PDC-E2,OGDC-E2 和 BCOADC-E2 三种。抗线粒体抗体 M2 抗原诱导的模型是指利用基因工程的方法克隆表达 M2 型抗体的 3 个靶抗原,并将其连接成抗原蛋白三联体,免疫 C57BL/6 小鼠建成的模型^[12]。这种小鼠模型非常容易诱导出针对 M2 型自身抗原的抗体,血清 AMA 抗体滴度高,ALP 水平增加,而谷丙转氨酶(alanine aminotransferase,ALT)和总胆红素(total bilirubin,TBIL)无明显变化;胃、肌肉和肾组织没有明显的损伤,而肝有明显的病理变化,包括胆管周围单个核细胞浸润,胆管上皮细胞变性坏死,基底膜不完整,小叶间胆管损伤或增生等,符合 PBC 的肝特异性改变。虽然这种模型免疫后 66 周才观察到病变,与人 PBC 的慢性进程一致,但该方法耗时长,技术要求高,没有纤维化形成,且建成 PBC 模型时小鼠年龄已太老,无法进行下一步的观察或治疗研究,限制了该模型的广泛使用。

2 基因修饰模型

2.1 dnTGF- β RII 小鼠模型

转化生长因子- β II 型受体显性失活型(dominant-negative transforming growth factor- β receptor type II,dnTGF- β RII)小鼠模型是在 CD4 启动子的控制下,转基因小鼠过表达 TGF- β II 型受体(TGF- β RII)的显性失活形式,自发地出现 PBC 样损伤^[13]。该模型很好地模拟了人 PBC 的几个关键特征,包括自发产生 AMA、100% AMA 阳性、门静脉内有广泛的 CD4⁺和 CD8⁺淋巴细胞浸润、血清 IFN- γ 和 TNF- α 水平升高以及肝内小胆管损伤等。在众多模型中,dnTGF- β RII 小鼠模型是具有与 PBC 最接近的血清学特征的模型,被广泛使用^[14]。同时我们也不能忽视 dnTGF- β RII 小鼠模型尚存在的缺陷:第一,该方法没有显示出 dnTGF- β RII 小鼠患 PBC 的女性优势特征,缺少雌性小鼠动物模型;第二,TGF- β 是一种重要的免疫调节因子,其可诱导来自幼稚 CD4 前体细胞的 Foxp3⁺Treg 的发展,在细胞的

生长发育以及抑制主要免疫性细胞而促进调节性细胞的生成方面发挥重大的作用,该模型 TGF- β 信号的缺失引起了其他疾病的出现,如炎症性肠病、寿命期缩短等;第三,dnTGF- β RII 小鼠并不表现出循环 IgM 的持续增加,相反,它表现出 IgA 的增加;第四,不存在嗜酸性粒细胞浸润和肉芽肿形成。另外,dnTGF- β RII 小鼠自发出现这些 PBC 样损伤表明 TGF- β 信号传导的缺乏或异常活化参与了 PBC 的发病机理并导致了免疫调节失衡和自身耐受性的丧失,但具体机制有待进一步研究。

2.2 IL-2R α (CD25)^{-/-}小鼠模型

IL-2 是具有多种生物活性的细胞因子,其与 IL-2R 结合的信号传导有助于维持体内 T 细胞耐受,调节 Treg 细胞的稳态和抑制功能^[15]。白细胞介素 2 受体 α (IL-2R α /CD25) 表达缺陷的小鼠外周血中 Treg 细胞减少,且产生的特异性 AMA 可结合到 PDC-E2 内部的脂酰结构域,与人 PBC 一致,除此之外,该模型小鼠还表现出 100% AMA 阳性,80% ANA 阳性,血清 IFN- γ 、TNF- α 、IL-2 水平增加,肝汇管区淋巴细胞浸润,轻度胆管破坏和界面性肝炎等症^[10,16]。符合 PBC 样损伤特征。值得注意的是,IL-2R α (CD25)^{-/-}小鼠模型没有显示出嗜酸性粒细胞增加和肉芽肿形成,也没有提及血清内胆红素和胆汁酸的改变,而且还出现了其他类型的自身免疫性疾病,包括淋巴组织增生性自身免疫性疾病、炎症性肠病和溶血性贫血等,这也是此种小鼠寿命较短的原因,大多数小鼠在出现严重的肝病之前都因发生重度贫血死亡,不利于进行 PBC 晚期病变的研究,而且非 PBC 特异性模型。

2.3 NOD.c3c4 小鼠模型

在非肥胖型糖尿病(NOD)小鼠模型的研究过程中发现,将染色体 3 和 4 上的胰岛素依赖性糖尿病阻抗位点 B6/B10 重组入 NOD 小鼠内,可阻止 1 型糖尿病发生并且出现伴有大量淋巴细胞浸润的自身免疫性胆管疾病,因此将这种小鼠命名为 NOD.c3c4 小鼠。这种小鼠在第 8~9 周即开始产生自身 AMA 且可特异性的与 PDC-E2 的内部硫辛酰结构域结合,血清学检查可见 50%~60% AMA 阳性,80%~90% ANA 阳性;在显微镜下,NOD.c3c4 小鼠表现出特定的肝病,包括上皮样肉芽肿形成,NSDC 样病变,嗜酸性粒细胞浸润和早期纤维化,受累的胆管上皮中有 CD3⁺,CD4⁺和 CD8⁺T 细胞浸润等,符合 PBC 征象^[17]。值得一提的是,NOD.c3c4

小鼠不仅存在肝内胆管的非化脓性胆管炎样损伤,同时还累及肝外胆管,90%的小鼠在 30 周时会出现肝外胆管囊性扩张,当胆管扩张到一定程度,胆管上皮细胞就会脱落,最后发展为致死性的胆道梗阻^[17-18],与人 PBC 不符。

2.4 Scurfy 小鼠模型

Scurfy 小鼠即 *Foxp3* 基因突变的小鼠。*Foxp3* 是 Treg 细胞特异的转录因子,是由 nTregs 独特表达并且是其发育所必需的,因此 *Foxp3* 基因的突变或消失将会严重影响调节性 T 细胞主动维持自身免疫耐受的功能,最终导致免疫失调和自身免疫性疾病的发生^[19-21]。在 Scurfy 小鼠中,由于编码转录因子 *Foxp3* 的基因移码突变,使 *Foxp3*⁺Treg 细胞功能完全缺陷,最后自发地发展出 PBC 样病变。Scurfy 小鼠在第 3~4 周时就显示出 100% AMA 阳性,血清内 TNF- α 、IFN- γ 、TGF- β 、IL-6、IL-12、IL-17 和 IL-23 细胞因子显著升高,肝汇管区有中度至重度淋巴细胞浸润,肝内小胆管损伤等特点^[22]。遗憾的是,该模型并没有提及有关胆汁淤积的指标,且此种小鼠寿命极短,仅有 4 周左右,雄性小鼠没有生育能力,不利于进行 PBC 进展相关的机制研究。

2.5 Ae2_{a,b}^{-/-}小鼠模型

Cl⁻/HCO₃⁻阴离子转换器 2 (Cl⁻/HCO₃⁻ anion exchanger 2, Ae2) 是具有细胞内 pH 调节和跨上皮酸-碱转运功能的离子通道,能够帮助促胰液素刺激的胆汁碳酸氢盐有效排泄^[23], Ae2_{a,b}^{-/-}小鼠即 Cl⁻/HCO₃⁻阴离子转换器 2 基因敲除的小鼠。该模型小鼠大约有三分之一表现出广泛的门脉炎症,约有 80% 出现 AMA 阳性,效应性 T 细胞增多,调节性 T 细胞减少,血清 IL-12 和 IFN- γ 分泌明显, IgM、IgG 及 ALP 显著增加,表现出 PBC 的一些特征^[24]。与人不同的是,这种小鼠具有自发脾大的现象,伴有脾细胞内 pH 升高,小鼠个体间差异大,门静脉炎症有轻度到重度不等,且很难饲养,对 PBC 研究有一定的局限性。但同时应注意, Ae2_{a,b}^{-/-}小鼠模型的建立提示了 Ae2 在胆管功能和免疫系统稳态中的作用,为 PBC 的发病机制提供了一个新的线索,也为新的免疫调节策略提供新思路。

综上所述, PBC 样肝病变虽然能在实验动物中诱导,但无论哪一种诱导模型都存在一定的缺陷,这是由于人类 PBC 复杂而神秘的病因难以被完全复刻,且不能排除人 PBC 中涉及的参与因子可能不存在或不能在小鼠模型中持续模仿,这使得 PBC 模

型建造面临巨大的挑战。尽管已有研究报道了在 18~24 个月时超过一半的雌性 C57BL/6 小鼠在肝中可自发的发展出 PBC 样胆管炎病变^[25],但这种自然发生 PBC 的小鼠模型发现病变时年龄已太老,不利于长期进行研究,也无法测试新药和新治疗方案的效果,难以被广泛使用。目前,虽然已有相当多的科学证据揭示了 PBC 独特的临床、实验室、免疫学和组织形态学特征,但由于 PBC 患者长期无症状,其早期免疫事件及发病机制仍然模糊不清,迄今尚未寻找到可以彻底治愈 PBC 的方法,熊去氧胆酸作为 PBC 的一线治疗,能明显降低 ALP 水平,提高患者生存率和降低肝移植的必要性,但超过 1/3 的患者治疗无应答^[26],因此,积极寻找建立无限接近于人 PBC 的动物模型,进行 PBC 早期细胞和分子事件研究及创新治疗策略的开发仍然是科研工作者们努力的方向。

参考文献:

- [1] Tanaka A, Leung PS, Gershwin ME. Pathogen infections and primary biliary cholangitis [J]. Clin Exp Immunol, 2019, 195 (1): 25-34.
- [2] Wang J, Yang G, Dubrovsky AM, et al. Xenobiotics and loss of tolerance in primary biliary cholangitis [J]. World J Gastroenterol, 2016, 22(1): 338-348.
- [3] Tanaka A, Leung PSC, Gershwin ME. Environmental basis of primary biliary cholangitis [J]. Exp Biol Med (Maywood), 2018, 243(2): 184-189.
- [4] Leung PS, Wang J, Naiyanetr P, et al. Environment and primary biliary cirrhosis: Electrophilic drugs and the induction of AMA [J]. J Autoimmun, 2013, 41(3): 79-86.
- [5] Tanaka T, Zhang W, Sun Y, et al. Autoreactive monoclonal antibodies from patients with primary biliary cholangitis recognize environmental xenobiotics [J]. Hepatology, 2017, 66(3): 885-895.
- [6] Wakabayashi K, Yoshida K, Leung PS, et al. Induction of autoimmune cholangitis in non-obese diabetic (NOD).1101 mice following a chemical xenobiotic immunization [J]. Clin Exp Immunol, 2010, 155(3): 577-586.
- [7] Wang D, Zhang H, Liang J, et al. Effect of allogeneic bone marrow-derived mesenchymal stem cells transplantation in a polyI:C-induced primary biliary cirrhosis mouse model [J]. Clin Exp Med, 2011, 11(1): 25-32.
- [8] Song G, Hu C, Zhu H, et al. Comparative proteomics study on liver mitochondria of primary biliary cirrhosis mouse model [J]. BMC Gastroenterol, 2013, 13(1): 64.
- [9] Ambrosini YM, Yang GX, Zhang W, et al. The multi-hit hypothesis of primary biliary cirrhosis: polyinosinic-polycytidylic acid (poly I:C) and murine autoimmune cholangitis [J]. Clin

- Exp Immunol, 2011, 166(1): 110–120.
- [10] Terziroli Beretta-Piccoli B, Mieli-Vergani G, Vergani D, et al. The challenges of primary biliary cholangitis: What is new and what needs to be done [J]. J Autoimmun, 2019, 105: 102328.
- [11] Bali G, Szilvósi A, Inotai D, et al. Comorbidity of localized scleroderma and primary biliary cholangitis [J]. J Dtsch Dermatol Ges, 2018, 16(11): 1323–1327.
- [12] 姜小华, 仲人前, 方晓云, 等. 抗线粒体抗体 M2 抗原诱导小鼠原发性胆汁性肝硬化模型的建立 [J]. 中华肝脏病杂志, 2006, 14(3): 202–204.
- [13] Tsuda M, Zhang W, Yang GX, et al. Deletion of IL-12p35 induces liver fibrosis in dominant negative transforming growth factor β receptor type II mice [J]. Hepatology, 2013, 57(2): 806–816.
- [14] Kawata K, Yang GX, Ando Y, et al. Clonality, activated antigen-specific CD8⁺ T cells, and development of autoimmune cholangitis in dnTGF β RII mice [J]. Hepatology, 2013, 58(3): 1094–1104.
- [15] Su EW, Moore CJ, Suriano S, et al. IL-2R α mediates temporal regulation of IL-2 signaling and enhances immunotherapy [J]. Sci Transl Med, 2015, 7(311): 311ra170.
- [16] Katsumi T, Tomita K, Leung PS, et al. Animal models of primary biliary cirrhosis [J]. Clin Rev Allergy Immunol, 2015, 48(2–3): 142–153.
- [17] Ueno Y, Ambrosini YM, Moritoki Y, et al. Murine models of autoimmune cholangitis [J]. Curr Opin Gastroenterol, 2010, 26(3): 274–279.
- [18] Leung PS, Yang GX, Dhirapong A, et al. Animal models of primary biliary cirrhosis: materials and methods [J]. Methods Mol Biol, 2012, 900: 291–316.
- [19] Watanabe N, Kaminuma O, Kitamura N, et al. Induced treg cells augment the th17-mediated intestinal inflammatory response in a CTLA4-dependent manner [J]. PLoS One, 2016, 11(3): e0150244.
- [20] Galligan CL, Keystone EC, Fish EN. Fibrocyte and T cell interactions promote disease pathogenesis in rheumatoid arthritis [J]. J Autoimmun, 2016, 69: 38–50.
- [21] Deng G, Song X, Fujimoto S, et al. Foxp3 post-translational modifications and treg suppressive activity [J]. Front Immunol, 2019, 10: 2486–2498.
- [22] Zhang W, Sharma R, Ju ST, et al. Deficiency in regulatory T cells results in development of antimitochondrial antibodies and autoimmune cholangitis [J]. Hepatology, 2009, 49(2): 545–552.
- [23] Concepcion AR, Lopez M, Ardura-Fabregat A, et al. Role of AE2 for pH regulation in biliary epithelial cells [J]. Front Physiol, 2014, 4: 413.
- [24] Salas JT, Banales JM, Sarvide S, et al. Ae2_{a,b}-deficient mice develop antimitochondrial antibodies and other features resembling primary biliary cirrhosis [J]. Gastroenterology, 2008, 134(5): 1482–1493.
- [25] Ma WT, Liu QZ, Yang JB, et al. A mouse model of autoimmune cholangitis via syngeneic bile duct protein immunization [J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 15246.
- [26] Corpechot C, Poupon R, Chazouillères O. New treatments/targets for primary biliary cholangitis [J]. JHEP Rep, 2019, 1(3): 203–213.

[收稿日期]2019-11-08

(上接第 120 页)

- [6] International Committee on Standardized Genetic Nomenclature for Mice. Guidelines for Nomenclature of Genes, Genetic Markers, Alleles, and Mutations in Mouse and Rat [EB/OL]. [2018–08.] <http://www.informatics.jax.org/mgihome/nomen/gene.shtml#tarm>.
- [7] Jimenez-Caliani AJ, Jimenez-Jorge S, Molinero P, et al. Treatment with testosterone or estradiol in melatonin treated females and males MRL/MpJ-Faspr mice induces negative effects in developing systemic lupus erythematosus [J]. J Pineal Res, 2008, 45(2): 204–211.
- [8] 周舒雅, 左琴, 刘甦苏, 等. C57-ras 转基因小鼠模型的建立 [J]. 药物分析杂志, 2013, 33(11): 1928–1934.
- [9] Wu X, Liu S, Lyu J, et al. Endogenous controls of gene expression in N-methyl-N-nitrosourea-induced T-cell lymphoma in p53-deficient mice [J]. BMC Cancer, 2017, 17(1): 545.
- [10] Zhou S, Liu Q, Wu X, et al. A safe and sensitive enterovirus A71 infection model based on human SCARB2 knock-in mice [J]. Vaccine, 2016, 34(24): 2729–2736.
- [11] Fan C, Wu X, Liu Q, et al. A Human DPP4-Knockin Mouse's Susceptibility to Infection by Authentic and Pseudotyped MERS-CoV [J]. Viruses, 2018, 10(9): E448.
- [12] 苏春晓, 张晓玉, 曾晗, 等. 肝脏特异性 CD36 基因敲除小鼠的制备及鉴定 [J]. 中国生物工程杂志, 2018, 38(8): 26–33.
- [13] 史光华, 李麟辉, 吕龙宝, 等. 实验动物仁慈终点及安乐死的法规现状与思考 [J]. 实验动物科学, 2019, 36(2): 72–75.

[收稿日期]2019-06-11