

陈雨荣,安星兰,张胜,等. 中国小型猪在生物医药领域的研究进展 [J]. 中国实验动物学报, 2021, 29(5): 695-706.

Chen YR, An XL, Zhang S, et al. Progress in the use of Chinese miniature pigs in biomedical research [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2021, 29(5): 695-706.

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2021.05.019

中国小型猪在生物医药领域的研究进展

陈雨荣¹, 安星兰¹, 张胜¹, 翟岩辉¹, 于浩², 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. 吉林大学动物科学学院, 长春 130062)

【摘要】 小型猪在生理、解剖结构、营养代谢、药物代谢以及疾病发生发展上与人类相似, 被广泛应用于人类疾病研究中。我国小型猪资源丰富, 不同种群遗传性状稳定并各具特色。但如何结合中国小型猪的特点, 建立符合生物医药研究需要的人类疾病小型猪模型仍处于探索阶段。本文对不同品种中国小型猪在人类疾病模型研究中的应用现状进行概述, 以期为进一步利用中国小型猪研究人类疾病提供参考和指导。

【关键词】 中国小型猪; 生物医药; 疾病模型

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2021)05-0695-12

Progress in the use of Chinese miniature pigs in biomedical research

CHEN Yurong¹, AN Xinglan¹, ZHANG Sheng¹, ZHAI Yanhui¹, YU Hao², 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 Animal Science, Jilin University, Changchun 130062)

Corresponding author: LI Ziyi. E-mail: ziyi@jlu.edu.cn; DAI Xiangpeng. E-mail: daixiangpeng@hotmail.com

【Abstract】 Miniature pigs are similar to humans in terms of their physiology, anatomy, nutrition, metabolism, drug metabolism, and disease development and are therefore widely used in the study of human disease. Chinese miniature pigs have stable genetics but are also outbred. However, the harnessing of the characteristics of Chinese miniature pigs in the establishment of mini-pig models of human disease that meet the needs of biomedical research is still in the exploratory stage. In this article, we summarize the status of the breeds of Chinese miniature pig with respect to research into human diseases in order to provide a reference and guidance for the further use of this species in the study of human diseases.

【Keywords】 Chinese miniature pig; biomedicine; human disease model

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

人类疾病动物模型是为阐明人类疾病的发生发展机制或建立预防、诊断和治疗方法而制作的具有人类疾病模拟表现的实验动物^[1]。小型猪在生理生化指标、解剖结构、营养代谢、药物代谢和疾病发展等方面与人类相似, 是理想的研究人类疾病的动物模型^[2]。我国小型猪实验动物化研究开

展于上世纪 80 年代, 与欧美国家相比落后 40 多年。但我国小型猪资源丰富, 一些地方小型猪种长期在封闭环境中进行繁育, 形成了体型小、性成熟早、遗传性状稳定等优良特性, 具有广阔的应用前景。我国实验动物化培育的小型猪品系包括: 巴马小型猪、贵州小型猪、中国实验用小型猪、五

【基金项目】 国家重点研发计划(干细胞及转化研究重点专项)(2017YFA0104400), 吉林大学第一医院启动经费(04035020001)。

Funded by National Key R&D Program of China (the Key Project of Stem Cell and Transformation) (2017YFA0104400), Startup Funding of First Hospital, JLU(04035020001)。

【作者简介】 陈雨荣(1998—), 女, 硕士, 研究方向: 发育生物学。Email: 18843007591@139.com

【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。Email: 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。Email: daixiangpeng@jlu.edu.cn。

* 共同通信作者

指山小型猪、西藏小型猪、版纳微型猪、蕨麻小型猪等^[3-4]。目前研究人员已建立了多种基于中国小型猪的人类疾病模型,但不同品系的小型猪在模拟不同的人类疾病上具有差异。为方便科研人员依照研究目的选择合适的小型猪进行疾病研究,本文将对中国小型猪资源现状及近年来建立的人类疾病模型进行综述,为利用中国小型猪研究人类疾病提供参考和指导。

1 中国小型猪的资源现状

在国家畜禽遗传资源委员会办公室近期公布的《国家畜禽遗传资源品种名录-猪志》中总共提及 83 个猪地方品种,其中属于小型猪有香猪、五指山猪、藏猪、滇南小耳猪等。中国小型猪具有体重小、抗逆性强、性成熟早、肉质好等特点,是发展生猪产业、培育新品种、保护遗传多样性、研究人类疾病的重要资源。由于中国小型猪种类较多,品种形成历史复杂,为了进一步明确中国小型猪的起源和进化

关系,选择了 12 个代表性的各个地域的小型猪品种,以西南野猪、东北野猪、欧洲野猪为种的外类群,非洲疣猪为属的外类群。利用 MEGA X 软件,采用最小进化法基于线粒体 DNA 全基因组序列进行系统发生树的构建(见图 1)^[5-10]。结果表明:中国小型猪主要起源于西南野猪,而与东北野猪、欧洲野猪的进化距离较远。首先从西南野猪分化出来的是江浙地区的金华猪,另外一个是由两个亚类群组成的大类群,其中一支由云贵地区的版纳微型猪、从江香猪与滇南小耳猪组成的亚类群,另一支则是由巴马香猪、五指山猪、陆川猪、藏猪、碧湖猪、隆林猪、莱芜猪和荷包猪构成的最大类群。在最大的子类群中,云贵地区的小型猪无论从地理上还是遗传距离上都更接近西南野猪。推测中国的小型猪品种最初是从西南地区,尤其是云贵地区开始品种形成并逐渐向外扩散,可能由于人类迁移的不确定性等因素的影响,后期形成的小型猪种并没有形成地理依赖性聚类。

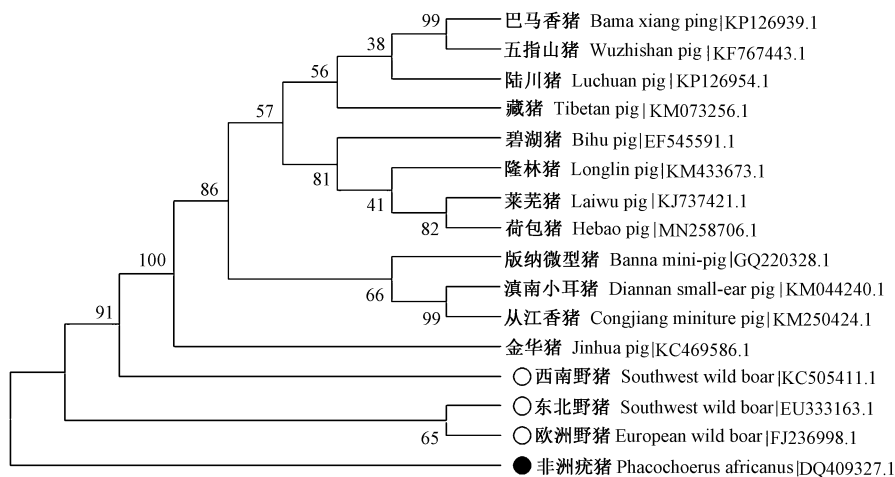


图 1 基于线粒体全基因组构建的中国小型猪分子发生树

Figure 1 Molecular phylogenetic trees of Chinese miniature pigs based on complete mitochondrial genome

2 中国小型猪在生物医药领域的研究

2.1 香猪

香猪包括从江香猪、环江香猪、剑白香猪、久仰香猪以及巴马香猪^[11]。

2.1.1 巴马香猪(Bama xiang pig)

巴马香猪原产于广西巴马瑶族自治县,因其肉味鲜香得名“香猪”。巴马香猪体型较小,具有臀头黑、其余白的“两头乌”的毛色。成年母猪体重为(40.88 ± 1.14)kg,公猪(27.13 ± 2.06)kg,母猪 72 日龄,公猪 110 日龄性成熟,母猪多产,平均窝产仔数 10.07 头。巴马县巴马镇设有一巴马香猪国家级

保种厂^[11]。

广西巴马小型猪是 1987 年广西大学王爱德教授等^[12-13]以巴马香猪为原始基础群,采用闭锁纯繁近交方式培育而成的小型猪封闭群品系。1994 年定名为“广西巴马小型猪”,简称“巴马小型猪”。该品系成年母猪体重为 40 kg 左右,公猪 35 kg 左右^[12-13]。

(1) 在心血管系统疾病中的研究

巴马小型猪的部分血液生理指标、心脏解剖结构以及冠脉系统的分布与人类相似,目前已被广泛应用于心血管疾病的研究中^[14]。

采用球囊封堵冠状动脉法可制备巴马小型猪急性心肌梗死模型,该方法对实验动物的创伤小,但容易引起心室颤动以及血栓^[15]。开胸结扎冠状动脉可建立良好的巴马小型猪心肌缺血模型,该方法操作简单,但创伤大且死亡率较高^[16]。

李艳君等^[17]采用高脂高胆固醇饲料持续饲喂诱导巴马小型猪发生动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS),动脉粥样硬化指数可达 3.8 以上,且 AS 特征可稳定持续 3 个月以上。Fang 等^[18]采用 CRISPR 技术使载脂蛋白 E 基因(apolipoprotein E, ApoE)发生移码突变,获得 ApoE^{-/-}巴马小型猪,经高脂高糖饲料喂养 6 个月后模型猪出现严重的高胆固醇血症和动脉粥样硬化。研究人员认为该模型对 AS 的转化研究具有重要意义。

采用高脂高盐饲料连续诱导 8 周可建立巴马小型猪高血压模型,模型猪的收缩压和舒张压显著上升。该模型模拟了人类自然状态下高血压发生进程,对人类高血压病的预防和干预具有重要意义^[19]。

Hai 等^[20]利用 CRISPR 技术敲除猪血管性血友病因子基因,建立了血管性血友病巴马小型猪模型,模型猪出现严重凝血功能障碍,与临床血友病患者症状较为相似。

(2) 在内分泌系统疾病中的研究

此外,巴马小型猪可用于糖、脂代谢紊乱等相关代谢疾病的研究。研究人员也建立了巴马小型猪 II 型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)模型。Li 等^[21]、相磊等^[22]利用高脂高糖饲料诱导建立了巴马小型猪 T2DM 模型,实验组小型猪出现高胰岛素血症以及肥胖症状。而采用饮食诱导联合链脲佐菌素(streptozotocin, STZ)的方法可成功建立疾病特征更为稳定的 T2DM 模型^[23-24]。

(3) 在消化系统疾病中的研究

巴马小型猪的肝质量、肝内血管及胆管分布、肝轮廓等方面与人类相似,是研究肝疾病的理想动物模型^[25]。周忠信等^[26]及廖锦元等^[27]采用四氯化碳(CCl₄)复合因素造模法成功制备出小型猪肝硬化模型,实验组小型猪丙氨酸转氨酶、天冬氨酸转氨酶及总胆红素等水平逐渐升高,而球蛋白水平下降。并且,随造模时间的延长,模型猪由肝纤维化逐步发展为不可逆转的肝硬化,可用于研究肝炎、肝硬化的病理及生化指标的变化。

(4) 在神经系统疾病中的研究

为建立巴马小型猪帕金森病(Parkinson disease, PD)模型,2015 年赖良学团队利用 CRISPR 技术成功敲除巴马小型猪的磷酸酶及张力蛋白同源物诱导的蛋白激酶 1 (PTEN-induced putative kinase 1, PINK1) 和帕金森蛋白 2 基因(parkin 2, PARK2)基因,但 7 月龄小型猪未表现出如震颤、运动迟缓等帕金森病的典型症状^[28]。随后,该团队以相同方法敲除巴马小型猪 parkin、PINK1 和 DJ-1 基因,但 10 月龄时小型猪表现正常^[29]。Zhu 等^[30]采用 CRISPR 技术使 α 突触核蛋白(α -synuclein)基因发生错义突变,但 3 月龄小型猪未出现帕金森症状,仍需定期检查是否会出现疾病表型。

(5) 在免疫系统疾病中的研究

α -1, 3-半乳糖基转移酶(α -1, 3-galactosyltransferase, GGTA1)、胞苷磷酸-N-乙酰神经氨酸羟化酶(cytidine monophosphate-N-acetylneuraminic acid hydroxylase, CMAH)和 β -1, 4 N-乙酸氨基半乳糖转移酶(β -1, 4 N-acetylgalactosaminyltransferase 2, β 4GalNT2)是 3 种引起异种移植排斥的主要抗原。潘登科团队利用 CRISPR 等技术分别建立了 GTTA1/ β 4GalNT2 双基因敲除^[31]、CMAH/GTTA1 双基因敲除^[32]以及表达 hCD47 的 GTTA1/hCD47^[33]巴马小型猪模型。模型猪的健康状况和繁殖能力正常,可为进一步降低异种器官移植急性排斥反应提供低免疫原性供体,并可用于探究 hCD47 基因在减弱受体巨噬细胞对异种移植各器官的排斥反应。2017 年,杨璐菡团队利用 CRISPR 技术培育出了世界上首批不携带内源性逆转录病毒(porcine endogenous retroviruses, PERV)的巴马猪,解决了 PERV 可能感染人的问题,大大提高了一种移植的安全性^[34]。2020 年,该团队在 PERV 灭活巴马猪的基础上利用 CRISPR 技术敲除 GGTA1, CMAH 和 β 4GalNT2 基因,并通过转座子敲入了 9 个降低异种排斥反应的人源基因(hCD46、hCD55、hCD59、hB2M、HLA-E、hCD47、hTHBD、hTFPI 和 hCD39),实现了异种移植的又一重大突破。体外实验中,模型猪细胞对人体体液免疫、细胞介导的损伤以及凝血功能失调相关的发病机制具有抵抗性^[35]。

白介素受体 γ 链基因(interleukin-2 receptor gamma gene, IL2RG)和重组活化基因 1/2(recombination activating gene 1/2, RAG1/2)与淋巴细胞发育相关。RAG1/2 敲除纯合猪表现出 T、B 细

胞缺乏、脾发育不良等明显的严重联合免疫缺陷 (severe combined immune deficiency, SCID) 症状^[36]。2014 年, Huang 等^[37] 利用类转录激活效应因子核酸酶 (transcription activator-like effector nuclease, TALEN) 技术成功敲除巴马小型猪 RAG1/2 基因, 模型猪表现出免疫器官发育不全、无法进行 V(D)J 重组、缺乏成熟的 B、T 细胞等典型的 SCID 症状。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, 在国家重点研发项目和中科院先导项目等支持下, 目前已获得 RAG1 和 IL2RG 双基因突变的 (RAG1^{-/-}/IL2R γ ^{-Y}) SCID 猪, 仔猪表现出明显的 SCID 症状。这些免疫缺陷模型对研究人类 SCID 相关疾病、评价干细胞移植的效率和安全性以及生产人源化动物模型具有重要意义 (未发表)。

(6) 在其他疾病中的研究

Zhang 等^[38] 利用乙酰基亚硝基脲 (ethylnitrosourea, ENU) 诱导双氧化酶 2 (dual oxidase 2, DUOX2) 基因发生纯合错义突变, 建立了甲状腺功能减退巴马小型猪模型。模型猪出现严重的甲状腺功能减退、贫血和免疫缺陷。

敲除 4-羟基苯丙酮酸氧化酶 (4-OH phenylpyruvate dioxygenase, 4HPPD/HPD) 可建立 III 型酪氨酸血症巴马小型猪模型。模型猪血液中酪氨酸含量以及尿液中 4-羟基苯乳酸和 4-羟基苯乙酸水平显著上升, 符合人类 III 型酪氨酸血症的临床特征, 可作为人类 III 型酪氨酸血症的理想模型^[39]。

2.1.2 从江香猪 (Congjiang xiang pig)

从江香猪 (贵州香猪) 主要分布在贵州从江、苗族自治区及广西环江县等地。该品系猪被毛全黑, 成年体重 (母猪) 为 (55.88 ± 2.91) kg, 性成熟较早, 公猪 30 日龄即有精液排出, 窝产仔数为 (7.11 ± 2.35) 头^[11]。

贵州小型猪是 1985 年贵州中医学院甘世祥教授等以贵州小型香猪为基础群, 通过封闭培育、适度近交培育而成小型猪品系。1987 年经专家鉴定后正式命名为“贵州小型猪”。该品系小型猪 12 月龄不超过 25 kg^[40]。

中国实验用小型猪是 1985 年中国农业大学的裴德智等以川黔交界山区小香猪为基础群, 采用全同胞近交、负向选择方法培育而成的小型猪品系。该品系小型猪成年体重为 35 ~ 40 kg^[41]。

(1) 在心血管系统疾病中的研究

采用开胸结扎法^[42]、球囊封堵法^[43] 以及导丝介入栓塞法^[44] 均可建立贵州小型猪急性心肌梗死模型, 研究人员认为相比开胸结扎法, 球囊封堵法以及介入栓塞法对实验结果干扰小, 与临床条件更为相近。

刘录山等^[45] 采用高脂高胆固醇饲喂法成功建立了贵州小型猪动脉粥样硬化模型。模型猪冠脉和腹主动脉管腔内出现明显与人类成熟斑块特点相似的凸起斑块, 具有脂质坏死核心、大量泡沫细胞及炎性细胞等。

(2) 在内分泌系统疾病中的研究

采用高脂高糖饲料诱导法^[46-47] 或 STZ 连续诱导法^[48] 可成功建立贵州小型猪 T2DM 模型, 模型猪血糖升高, 可用于 T2DM 的研究。另外, 陈华等^[49] 研究发现与巴马小型猪和五指山小型猪相比, 中国实验用小型猪对高脂饲料诱发 T2DM 相对不敏感, 建模需要较长时间诱导, 可作为糖尿病抗性品系。

(3) 在消化系统疾病中的研究

Wang 等^[50] 采用肝动脉灌注 80% 乙醇方法建立了贵州小型猪肝硬化和门脉高压模型。模型猪的疾病病理生理发展过程与人类相似, 出现肝细胞变性坏死, 肝发生明显的纤维化, 可用于研究肝硬化的诊断及治疗方法。

采用外科手术方法可建立人工不完全性腭裂动物模型^[51] 以及牙槽嵴裂动物模型^[52], 这类唇腭裂模型效果稳定, 对临床唇腭裂治疗研究具有重要意义。

(4) 在运动系统疾病中的研究

猪膝关节解剖结构与人类相似, 并且猪在运动过程中膝关节也存在大量屈曲动作。贵州小型猪还被用于建立双膝关节软骨缺损模型, 研究人员分别采取移植骨髓有核细胞 (bone marrow nucleated cells, BNCs)^[53] 或自体骨髓间充质干细胞^[54] 治疗软骨缺损, 并发现两种方法对软骨缺损修复效果均良好, 但 BNCs 的移植较为经济方便。

(5) 在其他疾病中的研究

多囊蛋白 1 (polycystin-1, PDK1) 和多囊蛋白 2 (polycystin-2, PDK2) 基因突变可能导致常染色体显性遗传性多囊肾病。2013 年, He 等^[55] 建立了 PDK2 过表达转基因多囊肾病模型, 但肾功能无明显变化。2015 年, 该团队利用锌指核酸酶 (zinc finger nuclease, ZFN) 技术敲除 PDK1 基因, 建立了

多囊性肾病中国实验用小型猪模型。模型猪发生肝、肾囊肿,可用于研究多囊性肾病的发病机制^[56]。

2.2 五指山猪(Wuzhishan pig)

五指山猪原产于海南中部黎族、苗族聚居的五指山地区,因体型矮小又得名“老鼠猪”。该猪被毛多为黑色或棕色,腹部和四肢内侧为白色,成年体重为 30 ~ 35 kg,公猪 5 ~ 6 月龄,母猪 6 ~ 7 月龄初配,母猪初产(4.37 ± 0.22)头,经产(6.58 ± 0.31)头。1998 年,海南省农业科学院畜牧兽医研究所对五指山猪进行了保种工作,并成立了五指山猪原猪场^[11]。

五指山小型猪近交系是 1989 年中国农业科学院北京畜牧研究所冯书堂教授等以同窝的 1 公 1 母五指山猪通过“母配子”、“全同胞”的近交繁育方式培育而成的高度近交小型猪品系。该品系小型猪基因纯合度较高,毛色为上黑下白,成年猪体重为 35 kg 左右^[57-58]。

实验用五指山小型猪封闭群是 2007 年由广东省实验动物检测所王希龙等从五指山地区引种 108 头五指山猪建立而成,该品系小型猪可分为花色系和白色系,12 月龄体重为(27.72 ± 6.56) kg^[4]。

2.2.1 在心血管系统疾病中的研究

全基因组测序结果显示五指山小型猪与人类在冠心病相关基因上存在很多相似之处,在已检测的 247 个冠心病相关基因中仅缺失年龄相关性黄斑变性易感基因 2 (age-related maculopathy susceptibility 2, ARMS2) 基因和胆固醇酯转移蛋白(cholesteryl ester transfer protein, CETP) 基因,并且五指山小型猪有 1618 个药物靶点与人类同源^[59]。

采用微球分次灌注法或球囊封堵联合微球栓塞法可建立五指山小型猪心力衰竭模型,两种造模方法均具有闭胸、高成功率和重复性好等优点^[60-61]。

采用高脂饮食诱导法可建立五指山小型猪高脂血症模型,连续诱导 3 ~ 4 月后小型猪血清中 TC、HDL 水平显著提高。该模型模拟了人类高脂血症发病过程,可用于研究血脂异常诱发心血管疾病的机制及预防治疗办法^[62-63]。

延长高脂饮食诱导时间可建立五指山小型猪 AS 模型^[64-65]。研究发现模型猪血浆和 AS 斑块中脂蛋白相关磷脂酶 A2 (lipoprotein-associated phospholipase A2, Lp-PLA2) 的表达明显升高,并且 Lp-PLA2 在血管炎症发生和 AS 斑块形成中发挥了

关键作用^[65]。

2.2.2 在内分泌系统疾病中的研究

Kong 等^[66]建立了肝特异性表达 11 β -羟类固醇脱氢酶 1 (11 β -hydroxysteroid dehydrogenase 1, 11 β -HSD1) 基因,胰岛 β 细胞特异性表达人胰岛淀粉多肽(human islet amyloid polypeptide, hIAPP) 基因和 DNA 损伤诱导转录物 3 (C/EBP homologous protein, CHOP) 基因的三基因共转五指山小型猪。转基因猪肝脏脂肪含量增加以及 β 细胞的凋亡,血糖并未升高。研究人员认为该模型具有 T2DM 发展潜力,可用于开发治疗糖尿病的新型药物。Li 等^[67]建立了过表达显性负性突变生长激素受体 (growth hormone receptor, GHR) 的转基因猪模型,转基因猪身材矮小,体重显著降低,血糖轻度升高,胰岛素/胰岛素样生长因子 1 通路紊乱。该模型可用于研究生长激素与癌症、糖尿病和寿命的关系方面。

2.2.3 在消化系统疾病中的研究

2008 年,丁鳌等^[68]通过牙周翻瓣、丝线结扎和接种牙龈卟啉单胞菌造成小型猪牙周感染,再结合高脂诱导,建立了五指山小型猪牙周感染与 AS 复合模型。模型猪牙周袋加深,牙龈出血指数增加,并且主动脉出现早期 AS 病变,可用于研究牙周炎与冠心病的关系。

2.2.4 在免疫系统疾病中的研究

潘登科团队先后采用免疫磁珠吸附^[69]和 TALEN 技术^[70]敲除 α -1,3-半乳糖基转移酶(α -1,3-galactosyltransferase, GGTA1) 基因,成功制备了 GGTA1 基因缺失的五指山小型猪。GGTA1 基因敲除后可降低免疫排斥反应,为异种器官移植研究的可靠供体。随后该团队建立了遗传稳定的胰岛特异表达 LEA29Y 转基因五指山小型猪模型。LEA29Y 是一种能够高效抑制 T 细胞活性的新型人工融合蛋白。该转基因猪用于胰岛移植可以阻断 T 细胞激活的共刺激通路,降低胰岛移植术后人体内 T 细胞介导的免疫排斥反应,是胰岛异种移植的可靠供体^[71]。戴一凡团队采用 CRISPR 技术分别建立了 GGTA1/CMAH 双基因敲除^[72]、GGTA1/ β 4GalNT2 双基因敲除^[73]以及 GGTA1/ β 4GalNT2/CMAH 三基因敲除^[74]五指山小型猪,模型猪表现较低的免疫原性。这些模型为异种器官移植的研究与利用提供了良好的研究材料。

2.2.5 在运动系统疾病中的研究

杨程等^[75]通过外科手术方法建立了五指山

小型猪膝关节软骨缺损模型,并发现骨髓间充质干细胞 (bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs) 和肋软骨细胞 (costal chondrocytes, CCs) 共培养构建组织工程软骨及共培养细胞修复五指山小型猪膝关节软骨缺损均具有较好的修复作用,为临床修复关节软骨缺损提供了理论依据和实验基础。

2.3 滇南小耳猪 (Diannan small-ear pig)

滇南小耳猪主要分布于云南省,中心产区为西双版纳州一市两县境内,由长期近亲繁殖、选育形成。该猪被毛黑色,少数有六白特征,成年母猪体重为 (49.69 ± 0.27) kg,公猪 (48.81 ± 0.61) kg,母猪 4 月龄、公猪 3 月龄即可配种,初产母猪产仔数为 8 头,经产为 9 头左右。西双版纳州种猪场承担滇南小耳猪的保种工作^[11]。

版纳微型猪属于滇南小耳猪。因其生长缓慢体型矮小等独特形状,1987 年经盛志廉教授定名为版纳微型猪。该品系成年母猪体重为 (43.3 ± 1.0) kg,公猪 (36.1 ± 1.1) kg^[76-77]。

版纳微型猪近交系是 1980 年由云南农业大学曾养志教授等以云南版纳拉祜族寨子中的滇南小耳猪为基础群,通过全同胞或亲子交两种高度近交方法培育而成。该品系近交程度高,成年猪体重平均为 36 kg^[78-80]。

2.3.1 在代谢系统疾病中的研究

肖国华等^[81]采用高脂高糖联合低剂量 STZ 诱导法建立了版纳微型猪 T2DM 模型。喂养 12 个月后,实验组小型猪空腹血糖值明显升高。随后实验发现,模型猪骨骼肌纤维普遍萎缩、肌纤维排列紊乱、糖原合成减少,肌肉素 (Musclin) 蛋白表达水平升高,因此推测肌肉素可能在 T2DM 的发生发展过程中发挥重要作用^[82]。

2.3.2 在免疫系统疾病中的研究

2013 年, Xin 等^[83]选用版纳微型猪近交系小型猪,采用 TALEN 技术成功敲除小型猪 GGTA1 基因。该模型猪可用于异种器官移植研究。

2.3.3 在其他疾病中的研究

Zhou 等^[28]采用 CRISPR 技术成功敲除版纳微型猪的酪氨酸酶 (tyrosinase, TRY) 双等位基因,建立了白化病版纳微型猪模型。该猪皮肤、毛发以及眼睛中的黑色素全部消失,表现出典型的白化病特性,是研究人类白化病的发病机制以及治疗办法的良好模型。

2.4 西藏藏猪 (Xizang Tibetan pig)

西藏藏猪主要分布于西藏的农区和半农牧区,是典型的高原猪种。全身被毛为黑灰色或淡黑色,少数为棕色,12 月龄母猪体重为 (22.98 ± 0.65) kg,成年公猪 (24.52 ± 0.92) kg,4 ~ 6 月龄性成熟,经产母猪产仔数为 5.75 头。西藏农牧学院目前建立了藏猪保种厂^[4,11]。

西藏小型猪是 2004 年由南方医科大学顾为望教授等从西藏自治区林芝市工布江达县引进的 42 头藏猪为基础,进行封闭群管理建立而成,目前已完成风土驯化以及实验动物化研究。西藏小型猪全身黑色,体型矮小,是目前我国已知小型猪品系中体重最轻的品种。成年母猪体重为 (28.06 ± 3.92) kg,公猪 (33.31 ± 4.40) kg^[84-85]。

2.4.1 在心血管系统疾病中的研究

与其他常见小型猪相比,西藏小型猪冠状动脉分支较少,是建立心梗模型的理想实验动物^[86]。采用开胸结扎法^[86]及球囊封堵法^[87]均可建立西藏小型猪心肌梗死模型,病理切片结果显示梗死区域心肌结构失去完整性并且形成大量瘢痕组织。

陈民利团队采用高脂诱导和高脂高胆固醇诱导方法建立了藏猪胰岛素抵抗 AS 模型,模型猪主动脉脂质沉积和粥样硬化程度明显,并伴有胰岛素抵抗,可用于研究人类胰岛素抵抗和心血管疾病的疾病发生发展机制^[88-90]。与五指山小型猪相比,在高脂环境下西藏小型猪的炎症反应程度较高而血脂较低,易形成向心性肥胖,脂肪多沉积在心脏、肾脏组织。研究人员认为西藏小型猪可能适合于研究中心肥胖型胰岛素抵抗的心血管疾病^[91-92]。

赖良学团队先后利用 ZFN 技术和转基因克隆技术成功建立糖尿病和心血管病相关的重要靶点基因 PPAR γ 基因敲除的杂合西藏小型猪模型^[93],以及 PPAR γ 过表达转基因西藏小型猪模型^[94],该类模型可用于研究 PPAR γ 基因在心血管系统中的功能及其对糖尿病和心血管病的影响,以及开发靶向 PPAR γ 的新型胰岛素激动剂药物。

2.4.2 在神经系统疾病中的研究

赖良学团队利用转基因克隆技术成功培育出世界上首个转 htt^{N208-105Q} 的亨廷顿舞蹈症 (Huntington's disease, HD) 西藏小型猪模型,模型猪脑神经元发生凋亡,出现运动障碍及舞蹈样运动^[95]。随后该团队利用相同方法建立了铜/锌超氧化物歧化酶 (copper/zinc superoxide dismutase 1,

SOD1) 基因突变^[96]以及反式激活反应-DNA 结合蛋白 (TAR DNA-binding protein 43, TDP-43) 基因突变的西藏小型猪, 模型猪表现出人肌萎缩侧索硬化症 (amyotrophic lateral sclerosis, ALS) 类似症状, 如运动神经受损和肌肉萎缩等。

2.4.3 在运动系统疾病中的研究

手术切除西藏小型猪的左膝关节外侧半月板并离断其前交叉韧带可建立早期膝骨性关节炎 (knee osteoarthritis, KOA) 动物模型。模型猪术后四

周的组织学检查结果最符合 KOA 软骨变化, 可用于 KOA 早期 MRI 诊断以及早期治疗研究^[97]。

2.4.4 在其他疾病中的研究

2017 年, 顾为望团队采用体细胞核移植技术成功建立了 DKK1 转基因西藏小型猪, pDKK1 转基因在皮肤特异性表达, 但并未出现无毛表型^[98]。研究人员认为结果可能与转基因表达量不足以诱导无毛表型或 DKK1 在猪和小鼠中发挥不同作用有关 (见表 1)。

表 1 中国小型猪在多种疾病研究中的应用

Table 1 Application of Chinese miniature pigs in various diseases

品系 Strain	来源 Source	疾病模型 Disease model
巴马香猪 Bama xiang pig	广西 Guangxi	心血管疾病 ^[15-20] 、糖尿病 ^[21-24] 、肝病 ^[26-27] 、PD ^[28-30] 、 Cardiovascular disease ^[15-20] , diabetes ^[21-24] , liver disease ^[26-27] , PD ^[28-30] , 异种移植 ^[31-35] 、SCID ^[37] 、甲减 ^[38] 、酪氨酸血症 ^[39] Xenotransplantation ^[31-35] , SCID ^[37] , hypothyroidism ^[38] , tyrosinemia ^[39]
从江香猪 Congjiang xiang pig	贵州及广西 Guizhou and Guangxi	心血管疾病 ^[42-45] 、糖尿病 ^[46-49] 、肝病 ^[50] 、 Cardiovascular disease ^[42-45] , diabetes ^[46-49] , liver disease ^[50] , 口腔/骨骼疾病 ^[51-54] 、多囊肾病 ^[55-56] Oral/skeletal diseases ^[51-54] , polycystic kidney disease ^[55-56]
五指山猪 Wuzhishan pig	海南 Hainan	心血管疾病 ^[59-65] 、糖尿病 ^[49, 66-67] 、 Cardiovascular disease ^[59-65] , diabetes ^[49, 66-67] , 异种移植 ^[69-74] 、口腔/骨骼疾病 ^[68, 75] Xenotransplantation ^[69-74] , oral/skeletal diseases ^[68, 75]
滇南小耳猪 Diannan small-ear pig	云南 Yunnan	糖尿病 ^[81-82] 、异种移植 ^[83] 、白化病 ^[28] Diabetes ^[81-82] , xenotransplantation ^[83] , albinism ^[28]
西藏藏猪 Xizang Tibetan pig	西藏 Xizang	心血管疾病 ^[86-94] 、HD ^[95-96] 、ALS ^[97] 、无毛症 ^[98] Cardiovascular disease ^[86-94] , HD ^[95-96] , ALS ^[97] , ahairy ^[98]

3 展望

中国小型猪资源丰富, 不同种群各具特色, 可被广泛应用于人类疾病的研究中。目前已建立了涉及心血管疾病、糖尿病、肝病、神经退行性疾病、异种移植及免疫缺陷、口腔及骨骼疾病等多个系统的疾病模型, 其中心血管疾病及糖尿病模型占较大比例。在已有的中国小型猪品系中, 巴马小型猪的应用最为广泛。但中国小型猪的开发与实验动物化及其推广仍处于初级阶段, 存在育成品系较少、保护力度不足和发展阻力较大等问题。并且由于用小型猪建立疾病模型的时间较短, 一些模型虽具有表面效度及结构效度但缺乏预测效度, 限制了小型猪疾病模型的推广应用及成果转化。

为进一步推动我国在以猪为模式动物的表型和遗传领域的研究, 推动研究成果的转化应用, 《国家重大科技基础设施建设中长期规划 (2012-2030)》中明确指出“模式动物表型与遗传研究国家重大科技基础设施”为“十二五”期间优先安排

内容。据报道, 中国农业大学负责猪表型与遗传研究设施建设。该项目总投资 7.5914 亿元, 于 2019 年动工, 预计将在 2023 实现开放共享。该设施计划对猪的培育、表型和遗传分析进行一体化研究, 建成世界上首个以猪为模式动物的大型综合研究设施, 确立我国以猪为模式动物开展生命研究的国际领先地位。由中国农业大学主导的国际模式猪计划 (Pig Model Project, PMP) 是该项目的重要内容, 计划对猪所有基因进行敲除, 建立完整的基因敲除猪表型品系, 促进国内外合作, 实现猪的模式动物化。

总之, 通过加大科技投资力度, 建立多种技术平台, 利用基因编辑、体细胞核移植等新兴技术并结合我国小型猪品系的特点和优势, 建立更多符合生物医药研究要求的小型猪新品系及疾病模型, 促进资源开放共享与交流合作, 将有助于提高小型猪资源的利用价值, 为基因功能、人类疾病、异种器官移植研究以及动物遗传育种提供良好的实验材料。

参 考 文 献(References)

- [1] 施新猷, 顾为望. 人类疾病动物模型 [M]. 北京: 人民卫生出版社; 2008.
Shi XY, Gu WW. Animal models of human diseases [M]. Beijing: People's Medical Publishing House; 2008.
- [2] 袁进, 顾为望. 小型猪作为人类疾病动物模型在生物医学研究中的应用 [J]. 动物医学进展, 2011, 32(2): 108-111.
Yuan J, Gu WW. Application of miniature pig as animal model of human disease in biomedical research [J]. Prog Vet Med, 2011, 32(2): 108-111.
- [3] 王桂花, 尹晓敏, 孙霞, 等. 国内外小型猪资源概况 [J]. 中国比较医学杂志, 2009, 19(2): 71-73.
Wang GH, Yin XM, Sun X, et al. General situation of miniature pig resources at home and abroad [J]. Chin J Comp Med, 2009, 19(2): 71-73.
- [4] 陈华. 小型猪医学研究模型的建立与应用 [M]. 北京: 人民卫生出版社; 2015.
Chen H. The establishment and application of miniature pig medical research model [M]. Beijing: People's Medical Publishing House; 2015.
- [5] Kumar S, Stecher G, Li M, et al. MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms [J]. Mol Biol Evol, 2018, 35(6): 1547-1549.
- [6] Tamura K, Nei M, Kumar S. Prospects for inferring very large phylogenies by using the neighbor-joining method [J]. P Natl Acad Sci U S A, 2004, 101(30): 11030-11035.
- [7] Nei M, Kumar S. Molecular evolution and phylogenetics [M]. New York: Oxford University Press; 2000.
- [8] Kumar S. A stepwise algorithm for finding minimum evolution trees [J]. Mol Biol Evol, 1996, 13(4): 584-593.
- [9] Saitou N, Nei M. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees [J]. Mol Biol Evol, 1987, 4(4): 406-425.
- [10] Felsenstein J. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap [J]. Evolution, 1985, 39(4): 783-791.
- [11] 国家畜禽遗传资源委员会组编. 中国畜禽资源志(猪志) [M]. 北京: 中国农业出版社; 2011.
China National Commission of Animal Genetic Resource. Animal genetic resources in China (pigs) [M]. Beijing: China Agricultural Press; 2011.
- [12] 邹迪莎, 于健. 巴马小型猪动物模型在医学领域的研究进展 [J]. 中国畜牧兽医, 2017, 44(4): 1128-1134.
Zhou DS, Yu J. Research progress on animal models of Bama miniature pigs in the field of medicine [J]. Chin Anim Husbandry Vet Med, 2017, 44(4): 1128-1134.
- [13] 王爱德. 广西巴马小型猪的选育研究 [J]. 中国比较医学杂志, 2004, 14(3): 160.
Wang AD. Breeding of Guangzhou Ba-Ma mini-pig [J]. Chin J Comp Med, 2004, 14(3): 160.
- [14] 王爱德, 郭亚芬, 李柏, 等. 巴马小型猪血液生化指标 [J]. 上海实验动物科学, 2001, 21(1): 8-12.
Wang AD, Guo YF, Li B. Determination of some haemal biochemical parameters in Ba-Ma mini-pig [J]. Shanghai Lab Anim Sci, 2001, 21(1): 8-12.
- [15] 尹巧香, 赵玉生, 王娟, 等. 延迟增强核磁共振评估经皮球囊封堵冠状动脉法制备的小型猪心肌梗死模型 [J]. 南方医科大学学报, 2013, 33(1): 34-39.
Yin QX, Zhao YS, Wang D, et al. Delayed-enhanced magnetic resonance imaging for assessing a minipig myocardial infarction model established by percutaneous balloon occlusion [J]. J Southern Med Univ, 2013, 33(1): 34-39.
- [16] 侯洁, 肖俊睿, 孙玉, 等. 次全结扎冠状动脉法构建巴马小型猪心肌缺血模型 [J]. 中国介入影像与治疗学, 2018, 15(9): 561-565.
Hou J, Xiao JR, Sun Y, et al. Establishment of myocardial ischemia model in Bama mini-pig by partial ligation of coronary artery [J]. Chin J Interv Imaging Ther, 2018, 15(9): 561-565.
- [17] 李艳君, 宋少锐, 郭亚芬, 等. 广西巴马小型猪动脉粥样硬化模型的制作 [J]. 中国畜牧兽医, 2015, 42(7): 1770-1776.
Li YJ, Song SR, Guo YF, et al. Preparation of atherosclerosis model using Guangxi Bama mini-pig [J]. Chin Anim Husbandry Vet Med, 2015, 42(7): 1770-1776.
- [18] Fang B, Ren X, Wang Y, et al. Apolipoprotein E deficiency accelerates atherosclerosis development in miniature pigs [J]. Dis Model Mech, 2018, 11(10): dmm036632.
- [19] 戎亦骊, 潘永明, 黄俊杰, 等. 高脂高盐饮食诱导巴马小型猪高血压模型的建立及其机制探讨 [J]. 中国实验动物学报, 2018, 26(4): 474-479.
Rong YD, Pan YM, Huang JJ, et al. Establishment of a Bama minipig model of hypertension induced by high fat and high salt diet and its mechanism [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2018, 26(4): 474-479.
- [20] 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.
- [21] Li L, Zhao Z, Xia J, et al. A long-term high-fat/high-sucrose diet promotes kidney lipid deposition and causes apoptosis and glomerular hypertrophy in Bama minipigs [J]. PLoS One, 2015, 10(11): e142884.
- [22] 相磊, 陈华, 赵德明. 高糖高脂饲料诱导的小型猪肥胖模型 [J]. 实验动物科学, 2019, 36(4): 1-5, 9.
Xiang L, Chen H, Zhao DM. High fat and high sugar diet induced the fat model of Bama miniature pigs [J]. Lab Anim Sci, 2019, 36(4): 1-5, 9.
- [23] 于健, 邹迪莎, 叶瑶, 等. 磷脂酰肌醇 3 激酶及葡萄糖转运蛋白 4 在巴马小型猪 2 型糖尿病模型中的表达 [J]. 中国中西医结合急救杂志, 2016, 23(4): 421-424.
Yu J, Zou DS, Ye Y, et al. Expressions of phosphatidylinositol 3-kinase and glucose transporter 4 in a Bama miniature pig model with type 2 diabetes mellitus [J]. Chin J TCM WM Crit Care, 2016, 23(4): 421-424.

- [24] 吴延军, 夏攀洁, 严雪瑜, 等. 高脂高糖饲料联合低剂量链脲佐菌素(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.
- Wu YJ, Xia PJ, Yan XY, et al. Combination of high fat/high carbohydrates diet and low-dose Streptozotocin(STZ) induced a model for type 2 diabetes in Guangxi Bama mini-pig [J]. Genom Appl Biol, 2017, 36(6): 2393-2398.
- [25] Chen JY, Luo YK, Cai SW, et al. Ultrasound-guided radiofrequency ablation of the segmental Glissonian pedicle: A new technique for anatomic liver resection [J]. Surgery, 2016, 159(3): 802-809.
- [26] 周忠信, 王捷, 罗葆明. 小型猪肝硬化模型建立过程中肝脏功能及组织病理学的改变[J]. 上海实验动物科学, 2002, 22(2): 102-105.
- Zhou ZX, Wang J, Luo BM. Functional and histopathological changes of liver in cirrhosis model of mini-pigs [J]. Shanghai Lab Anim Sci, 2002, 22(2): 102-105.
- [27] 廖锦元, 黄仲奎, 黎宁钦, 等. 小型猪肝硬化模型肝脏病理及生化指标的变化[J]. 中国比较医学杂志, 2013, 23(2): 8-11.
- Liao JY, Huang ZK, Li NQ, et al. Pathological and biochemical changes of the liver in mini-pig models of hepatic cirrhosis [J]. Chin J Comp Med, 2013, 23(2): 8-11.
- [28] 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.
- [29] 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: 20620.
- [30] Zhu XX, Zhong YZ, Ge YW, et al. CRISPR/Cas9-mediated generation of Guangxi Bama minipigs harboring three mutations in α -synuclein causing Parkinson's disease [J]. Sci Rep, 2018, 8(1): 12420.
- [31] 唐雨婷, 高景波, 龙川, 等. CRISPR/Cas9 介导的 β 4GalNT2 基因敲除猪制备[J]. 农业生物技术学报, 2017, 25(10): 1697-1705.
- Tang YT, Gao JB, Long C, et al. Generation of β 4GalNT2 gene knockout pigs (*Sus scrofa*) via CRISPR/Cas9 [J]. J Agr Biotechnol, 2017, 25(10): 1697-1705.
- [32] 黄林华, 李西睿, 龙川, 等. CRISPR/Cas9 介导 CMAH 基因敲除猪创制及繁育分析[J]. 农业生物技术学报, 2018, 26(6): 1064-1073.
- Huang LH, Li XR, Long C, et al. CRISPR/Cas9 mediated CMAH gene knockout and breeding analysis of pigs (*Sus scrofa*) [J]. J Agr Biotechnol, 2018, 26(6): 1064-1073.
- [33] 曾国敏, 蒋应弟, 冯冲, 等. 表达人 CD47 基因的巴马小型猪创建及其表达分析[J]. 农业生物技术学报, 2016, 24(8): 1251-1258.
- Zeng GM, Jiang YD, Feng C, et al. Generation and expression analysis of human (*Homo sapiens*) CD47 transgenic Bama miniature pig (*Sus scrofa*) [J]. J Agr Biotechnol, 2016, 24(8): 1251-1258.
- [34] Niu D, Wei H, Lin L, et al. Inactivation of porcine endogenous retrovirus in pigs using CRISPR-Cas9 [J]. Science, 2017, 357(6357): 1303-1307.
- [35] Yue Y, Xu W, Kan Y, et al. Extensive germline genome engineering in pigs [J]. Nat Biomed Eng, 2021, 5(2): 134-143.
- [36] 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.
- [37] Huang J, Guo X, Fan N, et al. RAG1/2 knockout pigs with severe combined immunodeficiency [J]. J Immunol, 2014, 193(3): 1496.
- [38] Zhang Y, Xue Y, Cao C, et al. Thyroid hormone regulates hematopoiesis via the TR-KLF9 axis [J]. Blood, 2017, 130(20): 2015-2017.
- [39] 顾鹏, 陈傍柱, 徐涛, 等. Hpd 基因修饰制备高酪氨酸血症 III 型巴马小型猪模型[J]. 中国比较医学杂志, 2019, 29(5): 11-16.
- Gu P, Chen BZ, Xu T, et al. Generation of a Bama minipig model of hereditary tyrosinemia type III by modifying the Hpd gene [J]. Chin J Comp Med, 2019, 29(5): 11-16.
- [40] 杨述林, 任红艳, 王恒, 等. 中国实验用小型猪种群血液生理指标分析[J]. 中国畜牧兽医, 2007, 34(2): 38-41.
- Yang SL, Ren HY, Wang H. Investigation on the hematology parameters of Chinese laboratory miniature pig breeds [J]. Chin Anim Husbandry Vet Med, 2007, 34(2): 38-41.
- [41] 詹纯列, 徐本法, 白朝晖. 小型猪及医学实验应用概述[J]. 华南国防医学杂志, 2001, 15(2): 24-28.
- Zhan CL, Xu BF, Bai ZH. Overview of miniature pigs and medical experiment application [J]. Mil Med J S Chin, 2001, 15(2): 24-28.
- [42] 谢忠忱, 尹明, 荀鹏, 等. 开胸与微创方法制备小型猪急性心肌梗死模型的对比研究[J]. 中国比较医学杂志, 2008, 18(7): 46-49.
- Xie ZC, Yin M, Gou P, et al. Method comparison of model establishment of acute myocardium infarction induced by open-chest and by minimally invasive in minipigs [J]. Chin J Comp Med, 2008, 18(7): 46-49.
- [43] 王静, 周玉杰, 葛海龙, 等. 冠状动脉结扎与微创方法制备小型猪急性心肌梗死模型的对比研究[J]. 辽宁医学院学报, 2010, 31(5): 397-399.
- Wang J, Zhou YJ, Ge HL, et al. Comparative study of minipigs' acute myocardium infarction model induced by open-chest and minimally invasive methods [J]. J Liaoning Univ, 2010, 31(5): 397-399.
- [44] 刘兴华, 董国礼, 张小明, 等. 介入栓塞法小型猪急性心肌梗死模型的建立[J]. 川北医学院学报, 2015, 30(1): 51-55.
- Liu XH, Dong GL, Zhang XM, et al. Establishment of acute

- myocardial infarction model by interventional em-bolization in mini-pigs [J]. J North Sichuan Med Coll, 2015, 30(1): 51-55.
- [45] 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.
- Liu LS, Yang YZ, Feng DM. Study on the stability model of atherosclerotic plaque in miniature pigs [J]. Prog Biochem Biophys, 2006, 33(2): 196-200.
- [46] 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.
- [47] 姚峰, 王宗保, 谭翔文, 等. 贵州小型猪 2 型糖尿病动物模型的建立 [J]. 南华大学学报 (医学版), 2004, 32(3): 294-297.
- Yao F, Wang ZB, Tan XW, et al. Establishment of model of type 2 diabetes in miniature pigs [J]. J Nanhua Univ Med Edit, 2004, 32(3): 294-297.
- [48] Lu L, Zhang Q, Pu L. Elevation of tumor necrosis factor- α , interleukin-1 β and interleukin-6 levels in aortic intima of Chinese Guizhou minipigs with streptozotocin-induced diabetes [J]. Chin Med J (Engl), 2007, 120(6): 479-484.
- [49] 陈华, 刘亚千, 李春海, 等. 三个品系小型猪 II 型糖尿病模型的比较研究 [J]. 实验动物科学, 2007, 24(6): 49-55.
- Chen H, Liu YQ, Li CH. Comparison of three strains of minipigs with induced type II diabetes mellitus [J]. Lab Anim Sci, 2007, 24(6): 49-55.
- [50] Wang L, He FL, Liu FQ, et al. Establishment of a hepatic cirrhosis and portal hypertension model by hepatic arterial perfusion with 80% alcohol [J]. World J Gastroentero, 2015, 21(32): 9544-9553.
- [51] 余小明, 田锬, 钱宁, 等. 贵州小型猪腭裂动物实验模型的建立 [J]. 遵义医学院学报, 2007, 30(1): 23-24.
- She XM, Tian K, Qian N, et al. To set up animal model of Guizhou mini-pig cleft palate [J]. J Zunyi Med Univ, 2007, 30(1): 23-24.
- [52] 田锬, 余小明, 钱宁, 等. 贵州小型猪牙槽嵴裂动物模型的建立 [J]. 实验动物科学, 2007, 24(6): 84-85.
- Tian K, She XM, Qian N, et al. Established alveolar cleft model on Guizhou miniature pigs [J]. Lab Anim Sci, 2007, 24(6): 84-85.
- [53] Zhang Y, Wang F, Chen J, et al. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells versus bone marrow nucleated cells in the treatment of chondral defects [J]. Int Orthop, 2012, 36(5): 1079-1086.
- [54] Zhang Y, Tan H, Chen G, et al. One-step strategy for chondral defect repair [J]. Front Biosci, 2019, 24: 628-647.
- [55] He J, Ye J, Li Q, et al. Construction of a transgenic pig model overexpressing polycystic kidney disease 2 (PKD2) gene [J]. Transgenic Res, 2013, 22(4): 861-867.
- [56] He J, Li Q, Fang S, et al. PKD1 mono-allelic knockout is sufficient to trigger renal cystogenesis in a mini-pig model [J]. Int J Biol Sci, 2015, 11(4): 361-369.
- [57] 冯书堂, 李奎, 刘岚, 等. 小型猪近交系新品种的培育与开发利用 [J]. 农业生物技术学报, 2015, 23(2): 274-280.
- Feng ST, Li K, Liu L, et al. Cultivation and application of miniature pig (*Sus scrofa*) inbred [J]. J Agri Biotechnol, 2015, 23(2): 274-280.
- [58] 张青峰, 冯书堂. 小型猪品系五指山猪 (WZSP) 的研究进展 [J]. 安徽农学通报, 2007, 13(14): 161-162.
- Zhang QF, Feng ST. Research progress of Wuzhishan pig (WZSP) [J]. Anhui Agric Sci Bull, 2007, 13(14): 161-162.
- [59] Fang X, Mou Y, Huang Z, et al. The sequence and analysis of a Chinese pig genome [J]. GigaScience, 2012, 1(1): 16.
- [60] 傅向华, 刘晓坤, 谷新顺, 等. 经导管法冠脉内微球灌注建立小型猪慢性缺血性心力衰竭模型研究 [J]. 中华医学杂志, 2006, 86(16): 1129-1132.
- Fu XH, Liu XK, Gu XS, et al. Experimental research on establishing chronic ischemic heart failure model of minipig with intracoronary perfusion of plastic microspheres by catheterization [J]. Nat Med J Chin, 2006, 86(16): 1129-1132.
- [61] 张晶, 傅向华, 贾辛未, 等. 小型猪急性心肌梗死后心力衰竭模型的构建 [J]. 中国实验动物学报, 2010, 18(1): 33-36.
- Zhang J, Fu XH, Jia XW, et al. Establishment of a minipig model of ischemic heart failure with acute myocardial infarction by coronary balloon occlusion and injection of intermixture of microthrombi and plastic microspheres [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2010, 18(1): 33-36.
- [62] 谢忠忱, 黄广勇, 陈华, 等. 五指山小型猪高脂血症模型的建立 [J]. 中国比较医学杂志, 2006, 16(9): 537-540.
- Xie ZC, Huang GY, Chen H. Establishment of hyperlipidemia animal model in Wuzhishan mini-pigs [J]. Chin J Comp Med, 2006, 16(9): 537-540.
- [63] 陈亮, 潘永明, 徐孝平, 等. 五指山小型猪高脂血症模型的心脏自主神经功能变化 [J]. 中国实验动物学报, 2012, 20(5): 35-40.
- Chen L, Pan YM, Xu XP. Changes of the autonomic nervous function in Wuzhishan minipig models of hyperlipidemia [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2012, 20(5): 35-40.
- [64] 陈华, 谢忠忱, 黄广勇, 等. 五指山小型猪动脉粥样硬化模型的建立 [J]. 实验动物科学, 2007, 24(6): 39-43, 80.
- Chen H, Xie ZC, Huang GY, et al. The diet-induced atherosclerosis in Wuzhishan minipigs [J]. Lab Anim Sci, 2007, 24(6): 39-43, 80.
- [65] 汪晶, 潘永明, 徐孝平, 等. 高脂诱导五指山小型猪动脉粥样硬化模型的建立及 Lp-PLA2 的表达调控 [J]. 中国实验动物学报, 2017, 25(2): 194-200.
- Wang J, Pan YM, Xu XP, et al. Establishment of a Wuzhishan minipig model of atherosclerosis induced by high fat/cholesterol diet and regulation of Lp-PLA2 expression [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2017, 25(2): 194-200.
- [66] Kong S, Ruan J, Xin L, et al. Multi-transgenic minipig models exhibiting potential for hepatic insulin resistance and pancreatic

- apoptosis [J]. *Mol Med Rep*, 2016, 13(1): 669–680.
- [67] Li F, Li Y, Liu H, et al. Transgenic Wuzhishan minipigs designed to express a dominant-negative porcine growth hormone receptor display small stature and a perturbed insulin/IGF-1 pathway [J]. *Transgenic Res*, 2015, 24(6): 1029–1042.
- [68] 丁鳌, 王晓燕, 唐昊喆, 等. 小型猪牙周感染与动脉粥样硬化复合模型的建立 [J]. *牙体牙髓牙周病学杂志*, 2008, 18(4): 190–194.
- Ding A, Wang XY, Tang HZ. Establishment of periodontal infection and atherosclerosis compound model in minipig [J]. *Chin J Conserv Dent*, 2008, 18(4): 190–194.
- [69] 王飞, 冯冲, 龙川, 等. 利用体细胞 LOH 突变制备 $\alpha 1, 3$ -半乳糖基转移酶基因 (GGTA1) 缺失的五指山小型猪 [J]. *畜牧兽医学报*, 2013, 44(4): 522–527.
- Wang F, Feng C, Long C. Production of $\alpha 1, 3$ -galactosyltransferase gene-deficient Wuzhishan miniature pigs by fibroblasts bearing loss of heterozygosity mutations [J]. *Acta Vet Zootechnica Sci*, 2013, 44(4): 522–527.
- [70] 龙川, 高景波, 唐雨婷, 等. 敲除 $\alpha 1, 3$ -半乳糖基转移酶基因五指山小型猪的繁育和鉴定 [J]. *器官移植*, 2017, 8(2): 121–126.
- Long C, Gao JB, Tang YT. Breeding and identification of Wuzhishan miniature pigs with $\alpha 1, 3$ -galactosyltransferase gene-knockout [J]. *Organ Transplant*, 2017, 8(2): 121–126.
- [71] 邢向阳, 于淑珍, 朱辉斌, 等. 胰岛特异表达 LEA29Y 转基因猪继代遗传分析 [J]. *农业生物技术学报*, 2018, 26(6): 1084–1092.
- Xing XY, Yu SZ, Zhu HB, et al. Subgenetic analysis of islet specific LEA29Y in transgenic pigs (*Sus scrofa*) [J]. *J Agric Biotechnol*, 2018, 26(6): 1084–1092.
- [72] Gao H, Zhao C, Xiang X, et al. Production of $\alpha 1, 3$ -galactosyltransferase and cytidine monophosphate-N-acetylneuraminic acid hydroxylase gene double-deficient pigs by CRISPR/Cas9 and handmade cloning [J]. *J Repro Develop*, 2017, 63(1): 17–26.
- [73] 李楚, 任雪洋, 李琳, 等. GGTA1/ $\beta 4$ GalNT2 双基因敲除近交系五指山小型猪的建立 [J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2019, 39(6): 835–840.
- Li C, Ren XY, Li L, et al. Generation of inbred Wuzhishan miniature pigs with GGTA1/ $\beta 4$ GalNT2 double gene knockout [J]. *J Nanjing Med Univ*, 2019, 39(6): 835–840.
- [74] Zhang R, Wang Y, Chen L, et al. Reducing immunoreactivity of porcine bioprosthetic heart valves by genetically-deleting three major glycan antigens, GGTA1/ $\beta 4$ GalNT2/CMAH [J]. *Acta Biomater*, 2018, 72: 196–205.
- [75] 杨程, 倪江东, 张寿, 等. 自体骨髓间充质干细胞和同种异体肋软骨细胞共培养修复五指山小型猪膝关节软骨缺损的实验研究 [J]. *中南大学学报(医学版)*, 2017, 42(8): 919–926.
- Yang C, Ni JD, Zhang S, et al. Repair of articular cartilage defects by autologous bone mesenchymal stem cells and allogeneic costal chondrocytes in the knee of Wuzhishan miniature pigs [J]. *J Central South Univ (Med Ed)*, 2017, 42(8): 919–926.
- [76] 连林生, 王鹤云, 徐家珍, 等. 版纳微型猪的生物学特性 [J]. *上海实验动物科学*, 1993, 13(4): 185–191.
- Lian LS, Wang HY, Xu JZ. Biological characteristics of Banna mini pig [J]. *Shanghai Lab Anim Sci*, 1993, 13(4): 185–191.
- [77] 冯书堂. 我国小型猪资源实验化培育及开发利用 [J]. *实验动物科学*, 2007, 24(6): 111–118.
- Feng ST. Experimental cultivation and development and utilization of miniature pig resources in China [J]. *Lab Anim Sci*, 2007, 24(6): 111–118.
- [78] 曾嵘, 苗永旺, 霍金龙, 等. 版纳微型猪近交系 133 家系 SLA-DQ cDNA 的克隆和序列分析 [J]. *中国实验动物学报*, 2005, 13(4): 215–221.
- Zeng R, Miao YW, Huo JL. Molecular cloning and characterization of SLA-DQ cDNA of the Banna mini-pig inbred line family 133 [J]. *Acta Lab Anim Sci Sin*, 2005, 13(4): 215–221.
- [79] 霍金龙, 成文敏, 魏红江, 等. 版纳微型猪近交系 SRY 基因编码区序列克隆及生物信息学分析 [J]. *中国实验动物学报*, 2011, 19(4): 324–330.
- Huo JL, Cheng WM, Wei HJ. Cloning and bioinformatics analysis of coding region of the SRY gene in Banna mini-pig inbred line (BMI) [J]. *Acta Lab Anim Sci Sin*, 2011, 19(4): 324–330.
- [80] 邓景致. 版纳微型猪近交系生长相关基因遗传背景分析 [D]. 长春: 吉林大学; 2012.
- Deng JZ. Analysis of genetic background of the growth related genes in Banna miniature inbreeding pig [D]. Changchun: Jilin University; 2012.
- [81] 肖国华, 张素君, 余坚, 等. 高糖高脂联合低剂量 STZ 诱导版纳微型猪 2 型糖尿病动物模型的建立 [J]. *中南医学科学杂志*, 2012, 40(4): 351–356.
- Xiao GH, Zhang SJ, Yu J, et al. Establishment of model of type 2 diabetes in Chinese Banna miniature pigs induced by high sucrose/high fat diet and STZ [J]. *J Univ South China (Med Ed)*, 2012, 40(4): 351–356.
- [82] 肖国华, 张亚丽, 王月婷, 等. 高糖高脂联合低剂量链脲佐菌素对版纳微型猪骨骼肌糖原合成及肌肉素表达的影响 [J]. *中国糖尿病杂志*, 2017, 25(12): 1135–1140.
- Xiao GH, Zhang YL, Wang YT. Effect of high sucrose/high fat diet and Streptozotocin on amylon composition and musclin expression of skeletal muscles in Chinese Banna mini pigs [J]. *Chin J Diabetes*, 2017, 25(12): 1135–1140.
- [83] Xin J, Yang H, Fan N, et al. Highly efficient generation of GGTA1 biallelic knockout inbred mini-pigs with TALENs [J]. *PLoS One*, 2013, 8(12): e84250.
- [84] 龚宝勇, 刘运忠, 曾昭智, 等. 广州地区西藏小型猪的繁殖行为学表现 [J]. *中国实验动物学报*, 2006, 14(4): 315–317.
- Gong BY, Liu YZ, Zeng ZZ. Breeding performance and reproductive behavior of Tibet mini-pigs raised in Guangzhou area [J]. *Acta Lab Anim Sci Sin*, 2006, 14(4): 315–317.

- [85] 岳敏, 范沛, 唐华, 等. 西藏小型猪与高原藏猪的血液生理生化值的比较 [J]. 中国实验动物学报, 2011, 19(5): 431-432.
- Yue M, Fan P, Tang H. Comparison of blood physiological and biochemical parameters between Tibetan pigs and Tibet mini-pigs [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2011, 19(5): 431-432.
- [86] 叶永才, 谭伟江, 李想, 等. 西藏小型猪心肌梗死模型的制备及超声动态心功能进展评价 [J]. 广东畜牧兽医科技, 2019, 44(1): 43-46, 50, 52.
- Ye YC, Tan WJ, Li X, et al. Preparation of Tibet mini pig for myocardial infarction model, and review on the research of ultrasound dynamic heart function [J]. Guangdong J Anim Vet Sci, 2019, 44(1): 43-46, 50, 52.
- [87] 彭朝权, 王景峰, 杨珂, 等. 经皮球囊封堵冠状动脉法制备小型猪心肌梗死模型及评价 [J]. 中国病理生理杂志, 2010, 26(9): 1867-1872.
- Peng CQ, Wang JF, Yang K, et al. Establishment of miniature swine myocardial infarction model by percutaneous balloon occlusion method [J]. Chin J Pathophys, 2010, 26(9): 1867-1872.
- [88] 马毅超, 潘永明, 陈亮, 等. 胰岛素抵抗动脉粥样硬化小型猪模型的研究 [J]. 中国比较医学杂志, 2014, 24(1): 12-17.
- Ma YC, Pan YM, Chen L, et al. The research of the insulin resistance atherosclerosis model of mini-swine [J]. Chin J Comp Med, 2014, 24(1): 12-17.
- [89] Pan YM, Cai ZW, Ma YC, et al. Involvement of peroxisome proliferator-activated receptors in cardiac and vascular remodeling in a novel minipig model of insulin resistance and atherosclerosis induced by consumption of a high-fat/cholesterol diet [J]. Cardiovasc diabetol, 2015, 14: 6.
- [90] Pan Y, Rong Y, Huang J, et al. Lower cardiovagal tone and baroreflex sensitivity associated with hepatic insulin resistance and promote cardiovascular disorders in Tibetan minipigs induced by a high fat and high cholesterol diet [J]. J Diabetes Complications, 2019, 33(4): 278-288.
- [91] 陈民利. 西藏小型猪和五指山小型猪的生理特点及其动脉粥样硬化的发病特征比较研究 [J]. 实验动物与比较医学, 2018, 38(5): 325-328.
- Chen ML. A comparative study on the physiological characteristics of Tibet mini-pigs and Wuzhishan mini-pigs and the characteristics of atherosclerosis [J]. Lab Anim Comp Med, 2018, 38(5): 325-328.
- [92] 郁晨, 刘志华, 潘永明, 等. 高脂环境下五指山小型猪和西藏小型猪冠心病相关血脂和炎症易感基因的表达 [J]. 中国比较医学杂志, 2019, 29(5): 1-10.
- Yu C, Liu ZH, Pan YM, et al. Expression of coronary artery disease-related blood lipid and inflammatory susceptibility genes in Wuzhishan minipigs and Tibetan minipigs under a high-fat diet environment [J]. Chin J Comp Med, 2019, 29(5): 1-10.
- [93] Yang D, Yang H, Li W, et al. Generation of PPAR γ mono-allelic knockout pigs via zinc-finger nucleases and nuclear transfer cloning [J]. Cell Res, 2011, 21(6): 979-982.
- [94] 吴彩霞, 刘朝明, 颜泉梅, 等. 糖尿病和心血管病相关的重要靶点基因 PPAR γ 过表达转基因克隆猪模型的建立 [J]. 中国兽医学报, 2020, 40(7): 1366-1371.
- Wu CX, Liu CM, Yan QM, et al. Establishment of transgenic pig model of PPAR γ overexpression, an important target gene related to diabetes mellitus and cardiovascular disease [J]. Chin J Vet Sci, 2020, 40(7): 1366-1371.
- [95] Yang D, Wang C, 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.
- [96] Yang H, Wang G, Sun H, et al. Species-dependent neuropathology in transgenic SOD1 pigs [J]. Cell Res, 2014, 24(4): 464-481.
- [97] 吴清洪, 杨朝湘, 邹华章, 等. 猪膝关节早期骨性关节炎模型的建立 [J]. 动物医学进展, 2018, 39(6): 33-37.
- Wu QH, Yang CX, Zou HZ, et al. Establishment of porcine models of early knee osteoarthritis [J]. Prog Vet Med, 2018, 39(6): 33-37.
- [98] Liu W, Wu LH, Yue M, et al. Generation of DKK1 transgenic Tibet minipigs by somatic cell nuclear transfer (SCNT) [J]. Oncotarget, 2017, 8(43): 74331-74339.

[收稿日期] 2021-01-25