



人类疾病猫模型的制作与应用

王亮^{1#}, 付君言^{2#}, 周子娟¹, 董建一¹, 李昶仪¹, 陈军¹, 詹红微¹, 李慧玲¹,
陈大朋^{1*}, 王靖宇^{1*}

(1. 大连医科大学实验动物中心, 大连 116044; 2. 大连医科大学, 大连 116044)

【摘要】 猫作为实验动物在医学研究中占有越来越重要的地位, 尤其是对于神经学、生理学和毒理学的研究。与啮齿类动物相比, 猫的生理学特性、解剖学特点、病理及生化反应, 更接近于人类; 与灵长类动物相比, 具有经济、资源丰富等优点。因此, 猫在人类疾病动物模型方面有广泛的应用前景。本文主要回顾和总结了近年来猫在眼科、神经系统、肿瘤等领域作为人类疾病动物模型的制作方法与研究概况。

【关键词】 猫; 人类疾病; 动物模型; 应用

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2018) 02-0248-05

Doi: 10.3969/j.issn.1005-4847.2018.02.019

Establishment and application of cat models of human diseases

WANG Liang^{1#}, FU Junyan^{2#}, ZHOU Zijuan¹, DONG Jianyi¹, LI Changyi¹, CHEN Jun¹, ZHAN Hongwei¹,
LI Huiling, CHEN Dapeng^{1*}, WANG Jingyu^{1*}

(1. Laboratory Animal Center of Dalian Medical University, Dalian 116044, China. 2. Dalian Medical University, Dalian 116044)

Corresponding author: CHEN Da-peng. E-mail: cdp.9527@163.com; WANG Jingyu. E-mail: wangjingyus@163.com

【Abstract】 At present, the cats play a more and more important role in medical experiments as an experimental animal, especially for the studies of neurology, physiology and toxicology. Compared with rodent animals, the physiological characteristics, anatomical features, pathological and biochemical reactions of cats are closer to human beings, and compared with the primate animals, they have advantages of economy, abundant resources and so on. Therefore, cat has an extensive application prospect in animal models of human diseases. This article mainly reviews and summarizes the establishing method and research status of cats as an animal model of human diseases in ophthalmology, nervous system, tumor and other fields in recent years.

【Key words】 cat; human diseases; animal models; application

Conflict of interest statement: We declare that we have no conflict of interest statement.

19世纪末,猫开始用于各种医学实验,尤其是神经学、生理学和毒理学研究,在降压实验、中枢神经系统等研究中有不可替代的作用。近年来,随着实验猫标准化以及其自身越来越多功能的发展

与研究,一些如生性孤僻、难以成群饲养等问题正逐步得到解决。作为非啮齿类实验动物,猫由于体型大、便于观察,以及易于繁殖、来源方便等优点,在实验研究中占有越来越重要的地位。猫在一

【基金项目】 国家自然科学基金资助项目(No. 81600440, No. 31272392)。

Funded by National Natural Science Foundation of China(No. 81600440, No. 31272392).

【作者简介】 王亮(1980—),男,讲师,硕士,研究方向:比较医学。E-mail: wangliang_dl@163.com;

付君言(1996—),女,本科,专业:医学影像学。E-mail: 1443936751@qq.com #共同第一作者

【通信作者】 陈大朋(1987—),男,讲师,博士,研究方向:胃肠病药理学。E-mail: cdp.9527@163.com;

王靖宇(1964—),男,教授,博士,研究方向:实验动物与动物行为学。Email: wangjingyus@163.com * 共同通讯作者

定程度上具有耐受持久麻醉和脑的部分破坏的能力,其生理、生化、解剖、病理学特点和啮齿类动物相比,更接近于人类,使猫成为人类许多疾病的理想模型。

1 猫在眼科疾病中的应用

猫眼球大小、解剖和眼科疾病特点接近人类,适用于供人类使用的眼科仪器和治疗手段,在眼科疾病研究中应用广泛。

1.1 青光眼

青光眼是一种以视野缺损进行性加重和视神经乳头大小形态改变为特征的不可逆性致盲性疾病,发病机制复杂,在全球范围内,其发病率占眼科疾病第一位。持续性病理性高眼压是造成其视神经损害的重要因素之一。因此,无论体内或体外实验,高眼压模式成为青光眼模型建立的主要方法和标准。刘文舟等^[1]采用前房穿刺注入甲基纤维素复制出高眼压模型,模型制作成功的标准为:①眼压升高 > 2.93 kPa (22 mmHg);②连续持续 1 周以上。除此之外,多焦视网膜电图 (mfERG) 发生明显变化,反映出高眼压对于视神经的损害。一次注药模型成功率约为 60%,重复注射后模型成功率可达 90%。该方法具有简便、外眼及前房反应非常小、无明显的前房渗出、可以明显减少与青光眼不相关的干扰因素(如严重的炎症反应)的优点^[2]。

1.2 弱视与外伤性视神经损伤

弱视是影响儿童视觉发育的常见病,临床上以斜视性弱视和形觉剥夺性弱视最常见。由于猫的眼球大,便于观察和手术,已广泛用于弱视模型的制作。王晗敏等^[3]分别用单眼睑缝合法和外直肌离断法制造形觉剥夺性弱视和内斜视性弱视,12 周后行图形视觉诱发电位 (P-VEP) 检测,以潜伏期 ≥ 55.50 ms,振幅 ≤ 30.91 μ V 为造模成功标准^[4]。且两组均可见 P1 波潜伏期延长,振幅下降,说明弱视模型制造成功。李俊义^[5]利用视神经夹对家猫视神经钳夹 30 s 进行部分视神经损伤实验,在实验眼损伤后 1 h、3 d、1 周、2 周、4 周时分别进行实验眼和对照眼的闪光视觉诱发电位检查,成功制作出视神经损伤家猫动物模型,表现为各时间点的闪光视觉诱发电位主波 P100 的峰潜时延长及波幅降低。

1.3 遗传性视网膜疾病

遗传性视网膜疾病是由多种基因突变引起的一类病,CRX 基因突变是其中之一,可引起 Leber 先

天性黑朦(LCA)、色素性视网膜炎(RP)、杆锥细胞退化等疾病^[6]。猫可自发性产生遗传性视网膜疾病^[7]。Laurence 等^[6]发现猫有类似人眼黄斑结构,感光体密度较高的视网膜中央区域,而小鼠缺乏这种区域。CRX 基因突变引起杆锥细胞发育不良(Crx^{Rdy}),猫能够模拟人类在视网膜中央区域发生的早期变化,从而成为 CRX-LCA 的良好模型。Aplin 等^[8]向玻璃体内注射三磷酸腺苷(ATP),成功造出光感受器变性的盲猫模型。ATP 注射后 12 周内,视杆细胞功能快速丧失,视锥细胞功能逐渐丧失。外部视网膜在 12 周评估期内厚度逐渐减小,内部视网膜则保持不变。单侧玻璃体内 ATP 注射可快速、安全、有效的制作出猫的光感受器变性模型。

2 猫在中枢神经系统疾病中的应用

猫的大脑小脑较为发达,与猪、兔、大鼠相比较更接近人脑结构。猫有极其敏感的神系统、头盖骨和脑的形状固定,对去脑实验和其他外科手术抵抗力强,平衡感觉和反射功能发达,特别适用于脑神经生理和病理的研究。

2.1 癫痫

猫与鼠、兔等动物相比,其运动皮层像人类一样拥有典型的六层结构。曾有报导猫中出现家族性自发性癫痫^[9]。脑部发达,便于观察,脑电活动可用脑电图进行记录,具有非常典型的磁共振成像特征,并且经常伴有口面明显反应^[10]。此外,猫生命力顽强,反复癫痫发作不易致其死亡,便于长期自身对照观察。因此,猫是理想的癫痫模型。根据发作时长和特性,癫痫猫可分为急性模型和慢性模型,根据制作方式可分为化学刺激模型、电刺激模型和点燃模型(kindling)。目前主要应用点燃法制作癫痫模型。陈晓刚等^[11]在猫的左侧大脑乙状前回内注入氢氧化铝乳剂复制出运动区慢性癫痫模型,术后 11 ~ 14 周时发现临床癫痫发作,实验组于 8 周时检测到皮层棘波放电,12 周时放电次数最明显,持续到 20 周仍有棘波放电,且趋于稳定。病理改变和人类癫痫灶情况相似,但 EEG 癫痫波出现时间较晚,发作级别不等,尚有部分动物未检测到癫痫发作。董长征等^[12]向猫右额叶皮质多次注射青霉素制作慢性癫痫模型,模型组均有痫性发作,为间断性,发作级别达 IV ~ VI 级,全身强直阵挛发作多见,每次发作持续 3 ~ 5 min。青霉素作为经典致痫剂,其急性致痫模型被公认,常用作如 MRI 显像

研究。而慢性模型更能模拟人类癫痫,但多次注射使造模时间长,动物受到一定损害^[13]。

2.2 阿尔兹海默病(AD)与 α -甘露糖苷贮积症(AMD)

阿尔兹海默病是一种以老年斑(SP)、神经纤维纠缠节(NFT)、神经缺失为特征的老年退行性病变,病情复杂。目前 AD 的动物模型虽然多,但均有其局限性,还没有一种动物模型能够完全模拟 AD 的特征。James 等^[14]指出大多数动物模型只能模拟出含有 A β 蛋白的 SP,而无 NFT 和继发的神经退变。家猫(平均约 20 岁)脑中可出现上述三种特征性变化,准确模拟 AD 的病理变化,且 A β 和 tau 蛋白的出现比 NFT 早,为人类 AD 的模型制作和疾病治疗带来机遇。但是自然衰老模型耗资巨大,饲养时间长,饲养过程中不可控因素多等问题也给临床应用带来困难。

α -甘露糖苷贮积症(α -mannosidosis, AMD)是由溶酶体 α -甘露糖苷酶缺乏活性引起的溶酶体贮积障碍,其特征是在受影响个体中含甘露糖的寡糖的大量积累。Manoj 等^[15]发现在患 AMD 的人和 AMD 猫模型中观察到中枢神经系统(CNS)异常,包括寡糖在细胞内的积累导致的神经元和神经胶质肿胀,免疫缺陷和进行性精神和神经系统表现,特别是共济失调和智力迟钝。AMD 猫模型表现出与 AMD 儿童具有相似的临床、生化和神经病理学特点,敲除 α -甘露糖苷酶的猫现已用于评估包括骨髓移植和基因治疗在内的实验疗法。

2.3 Sandhoff 病、帕金森症以及成瘾戒断症

Sandhoff 病(SD)是一种 *HEXB* 基因突变引起的不可治愈的溶酶体储存障碍疾病,导致神经节苷脂 GM2 的异常积累,从而导致进行性神经变性。由于猫脑的复杂性与人脑相似,有研究表明,猫中天然存在 SD 模型,猫脑中的病理变化比鼠更明显,发病时间也和人类相仿(性成熟之前发病),可以作为鼠与人之间的中间模型^[16]。实验中常用 *HEXB* 基因变异的猫作为此病模型,用以探究有效的治疗方法。

猫腹腔注射 1-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氢吡啶(MPTP)是建立帕金森病(PD)模型的经典方法,MPTP 能够通过线粒体途径选择性的损伤黑质致密区多巴胺神经元,出现帕金森症状^[17],建立的 PD 模型近似度优于小鼠 PD 模型。

此外,按剂量逐日递增原则对猫行盐酸吗啡背部皮下注射,连续给药 5 d 后用纳洛酮诱发戒断症

状,通过评定依赖症状和戒断症状,建立急性吗啡成瘾猫模型的方法已被广泛应用^[18]。

3 猫在肿瘤疾病中的应用

Robert^[19]研究结果表明,内脏淋巴肉瘤是美国家猫的常见疾病,它与非洲和其他地区报告的儿童淋巴肉瘤呈现出惊人的相似之处。文献报导的 15 个内脏淋巴肉瘤案例全部都表现出儿童疾病中的内脏受累的特征,部分(6 个案例)存在特有的“星空征”。另外,急性临床病程和不伴发白血病也是两种疾病共同的特征,患淋巴瘤的猫可以作为实验模型,用于探索人类伯基特淋巴瘤病因和致病因素。

头颈鳞状细胞癌(HNSCC)是一种常见的预后不良、临床研究进展缓慢的癌症。猫口腔鳞状细胞癌(FOSCC)是一种潜在的新型自发性肿瘤模型。FOSCC 和 HNSCC 具有相似的发病机理(烟草和乳头瘤病毒暴露)和分子标志物(EGFR, VEGF 和 P53)。人类和猫科动物鳞状细胞癌(SCCs)都具有相似的肿瘤生物学特征、临床特点、治疗和预后。使用 FOSCC 作为未来临床试验的肿瘤模型可用于人类癌症患者的临床前期癌症的研究^[20]。

此外,猫乳腺癌(FMC)的研究已有多年的历史,FMC 多为恶性肿瘤,且明显受激素调节影响。研究发现,FMC 疾病进展与组织病理学与人类乳腺癌相似,与原发肿瘤组织一样表达 FGFR、HER2、HER3,因此,猫可能成为人类乳腺癌的有效模型^[21]。

4 猫在其他疾病中的应用

除上述几方面之外,猫在其他系统疾病研究中也有相关报导。

苏文成等^[22]发现猫与人的泪道解剖结构相似,光镜下显示与人类似的柱状黏膜上皮,且富含微绒毛。以往的泪道阻塞疾病研究几乎均以兔作为模型,主要因为其泪道黏膜组织学结构与人类十分相似,但兔泪道不具有类似人泪泵、泪小管虹吸等功能,因此,不适用于泪道引流功能及泪液流体动力学研究,而猫的微绒毛可能参与引流,可选作泪道阻塞动物模型。胸腺瘤相关重症肌无力(TAMG)研究中也有关于猫的应用报导,Alexander 等^[23]报导猫中胸腺瘤发生率(0.1%)、TAMG 发病状况(以肌无力、易疲劳、呼吸困难、呼吸急促急性起病)、治疗手段(吡斯地明、皮质类固醇、硫唑嘌呤、手术切除胸腺瘤)均与人类相似,可用作 TAMG 研究。Lisa

等^[24]认为宠物猫中自发性的肥大性心肌病(HCM)在病理表现、诊断、治疗方面均与人类 HCM 相似,发病率高(10%~15%),病情进展迅速,使其成为基因型和表型与人 HCM 相似的极好的天然模型。此外,研究发现猫免疫缺陷病毒(FIV)是猫科动物中可自然发生的慢病毒,家猫感染后导致免疫功能障碍,最终发展成 AIDS,其发生机制、病理过程、遗传特性均与人类免疫缺陷病毒(HIV)类似^[25]。国外已广泛利用感染 FIV 的猫作为人类 AIDS 的模型,用于探究 HIV 感染的病理机制,疫苗制备,抗病毒药物的疗效评估等难题。

5 结语

综上所述,猫作为中型实验动物,近年来使用量逐渐增加,尤其在眼科、神经系统、肿瘤中的应用。由于其自发性或诱导性疾病的病理生理、组织化学等方面均与人类疾病相似,已成为人类许多疾病例如的良好模型。

猫可作为乳腺癌、重症肌无力、肥大性心肌病等疾病的自然模型,猫与人类生活环境类似,发病机制上可以更接近于人类疾病,但存在发病率低、耗资巨大和饲养过程中不可控因素多等问题。实验诱导的疾病模型,虽然一般比自然模型更易获得,但大多不能完全模拟人类疾病的临床过程且对动物有更多的创伤。每种造模方法均有各自的优点和局限性,实际应用中,应根据实验目的和要求选择相应的、适宜的造模方法和模型。随着对猫更多功能领域的探索,以及实验技术的进步,实验用猫品质标准化和使用中的伦理问题逐步得到解决,猫将广泛应用于各个系统疾病的研究。

参 考 文 献(References)

[1] 刘文舟, 罗向霞, 段俊国, 等. 中药川芎提取物对急性高眼压家猫多焦视网膜电图(mfERG)的影响 [J]. 中医眼耳鼻喉杂志, 2015, 5(2): 92-96.
Liu WZ, Luo XX, Duan JG, et al. Effect of Ligusticum wallichii extraction on multifocal ERG of cat with acute high intraocular pressure [J]. J Chin Ophthalmol Otorhinolaryngol, 2015, 5(2): 92-96.

[2] 刘文舟, 罗向霞, 段俊国, 等. 家猫高眼压模型的建立及特征分析 [J]. 国际眼科杂志, 2009, 9(10): 1881-1884.
Liu WZ, Luo XX, Duan JG, et al. Intraocular hypertension in cat model: building and analysis [J]. Int J Ophthalmol, 2009, 9(10): 1881-1884.

[3] 王哈敏, 荣翱, 莫利娟, 等. 两种病因弱视幼猫视网膜中 NOS 和 GABA 的表达 [J]. 国际眼科杂志, 2016, 16(11):

2006-2009.
Wang HM, Rong A, Mo LJ, et al. Expression of nitric oxide and γ -aminobutyric acid in the retina of two kinds of amblyopia cats [J]. Int J Ophthalmol, 2016, 16(11): 2006-2009.

[4] 王高峰, 陈美荣, 徐琨, 等. 视明宝颗粒对形觉剥夺性弱视猫视皮层谷氨酸受体(NMDAR1)表达的影响 [J]. 中国中医眼科杂志, 2016, 26(4): 221-225.
Wang GF, Chen MR, Xu K, et al. Effects of Shimingbao granule on expression of NMDAR1 in visual cortex of cats with form deprivation amblyopia [J]. Chin J Chinese Ophthalmol, 2016, 26(4): 221-225.

[5] 李俊义, 骨髓间充质干细胞移植对视神经损伤家猫视网膜神经节细胞及脑源性神经营养因子表达影响的研究 [D]. 青岛: 青岛大学, 2015.
Li JY. Study of bone marrow-derived mesenchymal stem cells transplantation on retinal ganglion cells and the expression of brain-derived neurotrophic factor in domesticated cats with optic nerve injury [D]. Qingdao: Qingdao University, 2015.

[6] Occelli LM, Tran NM, Narfström K, et al. CrxRdy cat; a large animal model for CRX-associated Leber congenital amaurosis [J]. Invest Ophthalmol Visual Sci, 2016, 57(8): 3780-3792.

[7] Narfstrom K, Deckman KH, Menotti-Raymond M. The domestic cat as a large animal model for characterization of disease and therapeutic intervention in hereditary retinal blindness [J]. J Ophthalmol, 2011, 2011(906943).

[8] Aplin F, Chi L, Shepherd R, et al. Blind feline model for retinal prosthesis [J]. Clin Exp Ophthalmol, 2015, 40: 104-105.

[9] Kuwabara T, Hasegawa D, Ogawa F, et al. A familial spontaneous epileptic feline strain; a novel model of idiopathic/genetic epilepsy [J]. Epilepsy Res, 2010, 92(1): 85.

[10] Matiaszek K, Rosati M. Feline temporal lobe epilepsy - what can we learn from cats? [J]. Zeitschrift Für Epileptologie, 2017, 30(3): 213-217.

[11] 陈晓刚, 康进生, 武江. 猫运动区癫痫模型建立及病理与超微结构研究 [J]. 立体定向和功能性神经外科杂志, 2017, 30(2): 72-75.
Chen XG, Kang JS, Wu J. Establishment of epileptic model in cat's motor cortex and study its pathology and ultrastructure [J]. Chin J Stereot Funct Neurosurg, 2017, 30(2): 72-75.

[12] 董长征, 孔艳丽, 靳洪波, 等. 伽玛刀照射对青霉素致癫痫猫脑组织中 MDA 水平、SOD 活力的影响 [J]. 山东医药, 2015, 55(33): 25-27.
Dong CZ, Kong YL, Jin HB, et al. The effect of gamma knife irradiation on penicillin induced epilepsy MDA level, the activity of SOD of cat brain tissue [J]. Shandong Med J, 2015, 55(33): 25-27.

[13] 董长征, 李文玲, 董秀芳, 等. 适合伽玛刀照射的猫功能区慢性点燃癫痫模型制作及其致病机制 [J]. 中国老年学, 2013, 33(20): 5063-5065.
Dong CZ, Li WL, Dong XF, et al. Establishment and

- epileptogenic mechanism of chronic kindling epilepsy model in cats functional area suitable for gamma knife irradiation [J]. Chin J Gerontol, 2013, 33(20): 5063-5065
- [14] J. K. Chambers, T. Tokuda, K. Uchida, et al. The domestic cat as a natural animal model of Alzheimer's disease [J]. Acta Neuropathol Commun, 2015, 3: 78.
- [15] Kumar M, Duda JT, Yoon SY, et al. Diffusion tensor imaging for assessing brain gray and white matter abnormalities in a feline model of α -mannosidosis [J]. J Neuropathol Exp Neurol, 2015, 75(1): 1-9.
- [16] Baek RC, Martin DR, Cox NR, et al. Comparative analysis of brain lipids in mice, cats, and humans with Sandhoff disease [J]. Mol Genet Metab, 2009, 44(3): 197-205.
- [17] 吕莉. Cdk5 介导的自噬参与 MPTP 的神经毒性作用 [D]. 北京:中国科学院大学, 2015.
Lu L. The neurotoxic effects of Cdk5 mediated autophagy in MPTP [D]. Beijing: Univ Chin Acad Sci, 2015.
- [18] 封小强, 梁传栋, 郭非, 等. 吗啡暴露对猫神经元线粒体超微结构的影响 [J]. 河北医药, 2015, 37(10): 1526-1529.
Feng XQ, Liang CD, Guo F, et al. Effect of morphine exposure on the mitochondrial ultrastructure of cat neurons [J]. Hebei Med J, 2015, 37(10): 1526-1529.
- [19] Squire RA. Feline lymphoma. A comparison with the Burkitt tumor of children [J]. Cancer, 2015, 19(3): 447-453.
- [20] Wypij JM. A naturally occurring feline model of head and neck squamous cell carcinoma [J]. Pathol Res Int, 2013, 2013(3): 502197.
- [21] Wei WZ, Jones RF, Juhasz C, et al. Evolution of animal models in cancer vaccine development [J]. Vaccine, 2015, 33(51): 7401-7407.
- [22] 苏文成, 樊莲莲, 黄亚, 等. 泪道引流功能的动物模型 [J]. 成都医学院学报, 2016, 11(4): 417-419.
Su WC, Fan LL, Huang Y, et al. Animal models for the drainage function of lacrimal system [J]. J Chengdu Med Coll, 2016, 11(4): 417-419.
- [23] Marx A, Porubsky S, Belharazem D, et al. Thymoma related myasthenia gravis in humans and potential animal models [J]. Exp Neurol, 2015, 270: 55-65.
- [24] Freeman LM, Rush JE, Stern JA, et al. Feline hypertrophic cardiomyopathy: a spontaneous large animal model of human HCM [J]. Cardiol Res, 2017, 8(4): 139-142.
- [25] Meeker R, Hudson L. Feline immunodeficiency virus neuropathogenesis: a model for HIV-induced CNS inflammation and neurodegeneration [J]. Vet Sci, 2017, 4(1): E14.

[收稿日期] 2017-10-24

《中国实验动物学报》 撰写研究性论文要求 4 - 英文摘要

用符合英文语法的文字语言,以提供文献内容梗概为目的,简明、确切地论述文献重要内容。按“拥有与论文同等量的主要信息”的原则,内容须尽可能详细,字数在 500 字左右为宜。

1. 要素

通常由开头(主题句)、展开(展开句)和结尾(结果和结论)三部分组成,包括目的(objective)、方法(methods)、结果(results)和结论(conclusion)四要素。

目的 研究、研制、调查等的前提、目的和任务,及所涉及的主题范围(常用一般现在时,也可用一般过去时);方法 所用的原理、理论、条件、对象、材料、工艺、结构、手段、装备、程序等(常用过去时);结果 实验、研究的结果、数据、被确定的关系、观察结果、得到的效果性能等(常用过去时);结论 结果的分析、研究、比较、评价、应用,提出的问题,今后的课题、假设、启发、建议、预测等(常用现在时/情态助动词)。

2. 要求

用第三人称写作,不用“I”,“we”作摘要陈述的主语,常用 it 引出句子,或使用被动态;第一句话不应与文题重复;以重要的事实开头而不是辅助从句开头;避免使用缩略语,特别是非通用的、生僻的缩略语,不使用图表、公式及读者难以理解的简称、代号。如确有必要,必须在首次出现时加以说明;不使用疑问句和感叹句,语气平铺直述;不加任何评论和补充解释。