

实验动物树鼩和人类疾病的树鼩模型研究概述

徐林^{1,2,4}, 张云¹, 梁斌¹, 吕龙宝^{2,3,4}, 陈策实¹, 陈勇彬¹, 周巨民¹, 姚永刚^{1,2,4,*}

1. 中国科学院昆明动物研究所 中国科学院和云南省动物模型与人类疾病机理重点实验室, 云南 昆明 650223;
2. 中国科学院昆明动物研究所 中国科学院灵长类研究中心, 云南 昆明 650223;
3. 中国科学院昆明动物研究所 实验动物中心, 云南 昆明 650223;
4. 中国科学院昆明动物研究所 中国科学院树鼩繁殖基地, 云南 昆明 650223

摘要: 动物模型在生物医学领域(如回答人体各种重大生物学问题、解析人类疾病机理和新药研发等方面)已经做出了不可替代的巨大贡献。转化医学存在的问题使得树鼩(*Tupaia belangeri chinensis*)实验动物重新得到重视;人类疾病的树鼩模型也再次受到越来越多的关注。该文综述了国内外特别是近年来我国树鼩研究进展,包括树鼩基础生物学及动物模型方面取得的成绩,并分析了该领域目前存在的困难和问题,探讨了未来的一些研究方向。

关键词: 树鼩; 实验动物; 基础生物学; 人类疾病动物模型

中图分类号: Q4; Q95-331 **文献标志码:** A **文章编号:** 0254-5853-(2013)02-0059-11

Tree shrews under the spot light: emerging model of human diseases

Lin XU^{1,2,4}, Yun ZHANG¹, Bin LIANG¹, Long-Bao LÜ^{2,3}, Ce-Shi CHEN¹, Yong-Bin CHEN¹, Ju-Min ZHOU¹, Yong-Gang YAO^{1,2,4,*}

1. Key Laboratory of Animal Models and Human Disease Mechanisms of the Chinese Academy of Sciences & Yunnan Province, Kunming Institute of Zoology, Kunming 650223, China;
2. Kunming Primate Research Center, Kunming Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650223, China;
3. Experimental Animal Core Facility & Kunming Primate Research Center, Kunming Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650223, China;
4. Tree Shrew Inbreeding Center, Kunming Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650223, China

Abstract: Animal models are indispensable in biomedical research and have made tremendous contributions to answer fundamental questions on human biology, disease mechanisms, and to the development of new drugs and diagnostic tools. Due to the limitations of rodent models in translational medicine, tree shrews (*Tupaia belangeri chinensis*), the closest relative of primates, have attracted increasing attention in modeling human diseases and therapeutic responses. Here we discuss the recent progress in tree shrew biology and the development of tree shrews as human disease models including infectious diseases, metabolic diseases, neurological and psychiatric diseases, and cancers. Meanwhile, the current problems and future perspectives of the tree shrew model are explored.

Keywords: Tree shrew; Experimental animals; Fundamental biology; Animal models of human diseases

1 前言

1.1 动物模型和模式动物的概念

人体是一个极其复杂的系统。科学家利用简单的原生动植物到复杂的非人灵长类动物,为解析人体各种复杂的生物学问题和疾病机理进行了长期不懈的努力。动物模型的概念即为利用动物创建模型去模拟人体各种复杂的生物学问题以及疾病特征

和过程,进而研究其基本规律和分子细胞机理。在动物模型的概念基础上,逐渐形成了模式动物的概念。为了使动物模型实验具有重复性、稳定性、可比性,以及符合动物伦理等要求,建立遗传背景清楚、稳定,饲养繁殖环境条件符合法规的动物品系就成为必要条件,这就是模式动物的概念。利用模式动物创建的动物模型,能更好地研究人体各种复杂的生物学问题、疾病机理及治疗手段(Xu, 2011)。

收稿日期: 2012-12-15; 接受日期: 2012-12-30

基金项目: 中国科学院基础前沿研究专项项目(KSCX2-EW-J-23); 863 课题(2012AA021801); 中国科学院知识创新工程重要方向项目(KSCX2-EW-R-11, KSCX2-EW-R-12)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: yaoyg@mail.kiz.ac.cn

1.2 动物模型的重要性

尽管早期没有成熟的模式动物, 纵观 100 多年的诺贝尔生理学或医学奖, 仍可清晰地看到动物模型在生物医学领域中的重要地位。1901—2012 年, 共有 201 位科学家获得诺贝尔生理学或医学奖 (http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/index.html), 其中 166 位的科研成果来自于动物模型实验, 占诺贝尔生理学或医学奖的 83%。特别是在过去的 40 年间 (1973—2012 年), 94 位获得诺贝尔生理学或医学奖的科学家中, 仅 Barbara McClintock 博士因植物遗传学(转座子理论)获奖 (1983 年), 其他 93 位 (99%) 科学家的获奖均得益于动物模型实验。这些重大生物医学成果涉及的动物种类包括原生动物、线虫、软体动物、甲壳动物、果蝇、鱼类、鸟类、两栖类、爬行类、啮齿类 (大、小鼠)、兔、猪、牛、羊、马、以及非人灵长类等(图 1)。许多诺贝尔生理学或医学奖获得者使用多种动物, 因为每种动物具有各自的优缺点, 对解决特定问题具有特殊的优势。由于伦理及其他问题, 如可控性和方便操作等, 许多基于人类疾病机理解析和药物研发的实验只能依赖于动物模型的建立和研究 (Xu, 2011)。

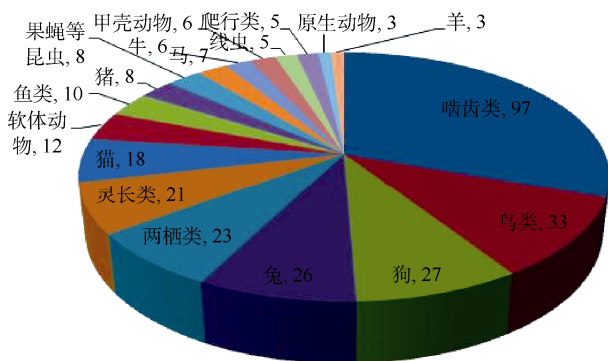


图 1 使用不同种类动物的诺贝尔生理学 and 医学奖获奖人数
Figure 1 Number of Noble laureates and animal models used

1.3 动物模型的最佳策略

随着基因组学、表观基因组学、转录组学、蛋白质组学和代谢组学等研究的迅猛发展, 各种动物在生物医学研究领域中的地位正经历着剧变, 研究者已经逐渐清楚认识利用不同动物模型回答人体各种重大生物问题和疾病机理的优缺点。总的来说, 低等动物的优点是实验周期短、成本低及基因操作方便等; 缺点是与人类的差异性较大。相反, 高等动物如非人灵长类与人类的差异性小, 研究结

果很容易直接转化为临床应用; 缺点是实验周期长, 成本高且基因操作困难等。

任何一种有机体即使是简单的原生动物的也是一个极其复杂的生命系统, 而人类的生命系统尤其是大脑已经演化成自然界最复杂的系统。然而, 生命现象在分子细胞层次上却仍然遵循着相似或相同的最基本规律。因此, 如果想回答人体各种重大的生物学问题和疾病的分子细胞机理, 使用低等动物显然具有独特优势; 相反, 如果想回答各种分子细胞机理是否在整体水平上表现类似于人类的生物学问题以及疾病特征和过程, 则必须依赖高等动物。

值得特别关注的是, 其他动物 (如广泛使用的啮齿类) 在分子细胞层次上能提供极大帮助, 但研究人类特有的疾病以及智力和创造力, 则使用非人灵长类动物在整体水平上具有不可替代的优势。因而, 理解人体各种重大生物问题和疾病机理的最佳策略有两个选择: 1) 低等动物的分子细胞机理研究和高等非人灵长类动物的整体系统水平研究相结合; 2) 寻找新型动物模型, 兼顾成本低、试验周期短、分子和细胞操作方便并与人类进化地位接近等各种生物学特性。前者已被许多诺贝尔生理学或医学奖获得者采用, 而后者正在被科学家和生物医药领域采用, 如树鼩 (*Tupaia belangeri chinensis*) 即为后者最典型的动物。

树鼩被认为是灵长类最亲密的近亲, 已有证据表明树鼩非常适合用于研究人体的近视、心理应激和肝炎等问题 (Cao et al, 2003; Wang et al, 2012)。作为实验动物, 树鼩在生命医学领域已被使用 30 多年。本文重点归纳了国内外, 特别是近年来我国在树鼩基础生物学及疾病动物模型研制方面取得的进展, 分析和讨论了该领域存在的困难和未来的研究方向。

2 树鼩基础生物学

2.1 树鼩简介

树鼩属攀鼩目 (Scandentia) 树鼩科 (Tupaiaidae)。我国现生树鼩被认为有 1 属 1 种 6 个亚种, 即中缅甸树鼩 (*Tupaia belangeri*) 1 个种, 6 个亚种 (Peng et al, 1991; Wang, 1987)。云南是野生树鼩分布的主要区域之一, 拥有 3 个亚种 (Wang, 1987)。树鼩体型小, 与小鼠类似, 在人工繁殖条件下无明显繁殖季节, 孕期短, 生殖与发育周期短, 出生后 4~6

个月就达到成年期, 每胎 2~6 只。

中国科学院昆明动物研究所是国内最早开展树鼩研究的单位, 早在 1991 年就出版了国内第一本也是目前仅有的一本《树鼩生物学》。专著系统总结了树鼩生物学特性, 包括树鼩分类与生态学、饲养与繁殖、寄生虫学与病理学、解剖学、神经生物学、遗传学、生物化学和免疫学等 (Peng et al, 1991)。该专著出版后, 陆续也有学者发表了一些树鼩生物学基础数据, 如近期 Ma et al (2011) 研究比较了野生和人工繁育树鼩的部分生理指标, 发现在两组动物中肌酸激酶、肌钙蛋白 I、总胆汁酸、果糖胺及低密度脂蛋白胆固醇等生理生化指标在性别间无显著差异, 而在野生和人工繁育个体中存在差异, 且野生个体间差异较大。Wang et al (2013) 研究了树鼩体重、体温、进食量、尿量, 以及血液中各种激素含量。Wu et al (2013) 研究了 992 只树鼩体重、空腹血糖、性别和年龄之间的关系, 发现其空腹血糖随体重增加而上升, 且该相关性仅见于雄性个体。雌性树鼩的体重、空腹血糖、腰围随年龄而增加。树鼩体重、空腹血糖、性别和年龄之间的关系与其他非人灵长类和人类非常相似。这些基础数据的获得, 进一步丰富了我们对于树鼩的认识。

最近, 昆明动物研究所组织了中缅树鼩全基因组测定和解析工作, 得到了高覆盖度(79X)的基因组序列。通过基因组分析, 发现树鼩在神经及免疫系统等方面与人类具有较高度的同源性, 在很多方面具有可用来替代猕猴等大型灵长类实验动物的遗传基础, 可能还适合于更多的免疫学、神经生物学及代谢等生物学问题和疾病机理研究(Fan et al, 2012)。同时, 比较基因组分析发现, 树鼩药物代谢酶与人体接近, 而猕猴则缺失一大家族的药物代谢酶。Li RX et al (2012) 的研究表明, 树鼩的肝脏和肌肉组织蛋白组表达谱较啮齿类动物大鼠和小鼠更接近于人类。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。

2.2 树鼩是灵长类近亲

长期以来, 树鼩与灵长类的亲缘关系一直存在争论。尽管目前树鼩的具体系统发育分类地位仍有争议, 但多数研究显示其与灵长类具有最接近的亲缘关系(Xu et al, 2013)。基于不同类型的遗传学数据, 得到的树鼩与灵长类关系也不尽相同 (Xu et al, 2013)。Adkins & Honeycutt (1991)通过线粒体细

胞色素氧化酶 II (COX II)将树鼩与其他 7 个哺乳动物线粒体 COX II 序列进行系统发育划分, 证实树鼩是与灵长目动物最近缘的动物。Xu et al (2012)及 Schmitz et al (2000)在构建线粒体 12 个蛋白编码基因的系统发育树时, 发现树鼩与兔形目动物之间的关系更加密切, 而皮翼目动物和灵长类动物组成姐妹群。在利用多个核基因序列构树时依然出现了这样不一致的结果 (Xu et al, 2013)。Janečka et al (2007) 根据 21 个灵长总目动物的基因组中罕见的外显子插入缺失和长度约为 14 kb 的 19 个核基因拼接片段构建的系统树显示树鼩与灵长类的亲缘关系更近。Lindblad-Toh et al (2011)利用美国 Broad 研究所公布的 2X 的树鼩基因组数据重构 29 个哺乳动物的系统发育关系, 树鼩是其中最接近灵长类的动物。然而 Hallström & Janke (2010)利用 3000 基因重构系统发育树却显示树鼩与啮齿总目的亲缘关系更近。基于染色体图染数据分析的结果显示树鼩目与皮翼目形成姐妹群 (Nie et al, 2008)。昆明动物所近期基于高质量的中缅树鼩的全基因组中 2117 个单拷贝基因重构了树鼩与 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。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 (Fan et al, 2012)。

2.3 树鼩实验动物化和品系的创制

由于受到资源的限制, 国际上饲养、繁殖树鼩的中心不多, 仅有德国灵长类中心(Gottingen)、美国伯明翰阿拉巴马大学、美国圣地亚哥野生动物园、墨西哥沃尔夫繁殖中心和欧洲灵长类中心(荷兰)等, 远少于灵长类饲养繁殖中心。国际大多数文献中使用的树鼩来自德国灵长类中心。国内大多数文献和国际部分文献中使用的树鼩来自中国科学院昆明动物所实验动物中心。

我国从上世纪 70—80 年代开展树鼩人工驯养繁殖及相关研究, 研究力量主要集中在昆明, 如中国科学院昆明动物研究所、中国医学科学院医学生物学研究所、昆明医科大学及云南省地方病防治研究所等科研院校 (Shen et al, 2011)。昆明动物研究所是我国开展树鼩人工驯养繁殖最早的单位, 通过

对树鼩饲养环境及设施、微生物、寄生虫和配合饲料等的不断探索改进,已形成规范的饲养管理体系,繁育技术成熟,实现了树鼩的标准化人工驯养繁育,并于2012年10月通过树鼩生产和使用许可证认证,成为全国首家获得树鼩生产许可证的单位,意味着树鼩将更容易被推广至全国乃至世界。目前昆明动物研究所稳定的树鼩饲养繁殖种群~3000头,每年为国内外几十家单位提供实验树鼩~1000头;人工饲养的封闭群树鼩已经达到子6代;“十二五”末预期繁殖饲养规模达到4000~5000头,并育成近交系第5代。昆明医科大学、广西医科大学、中国医学科学院医学生物学研究所等多家单位也开展了树鼩的驯养繁殖工作(Shen et al, 2011),并取得了不少成功经验。2010年,由昆明医学院调研和编制,云南省质量技术监督局颁布《实验树鼩云南省地方标准》——《实验树鼩(DB53/T 328.1-328.5—2010)》,形成了实验动物树鼩的云南省地方标准。

然而,目前研究中使用的树鼩大多来自野外或驯化后代,它们的年龄和遗传背景很不清楚,且个体差异较大,这使得利用树鼩进行疾病机理研究和新药创制困难重重。因此,创建遗传背景清晰、稳定的树鼩品系尤为重要。建立树鼩近交系是一项长期且艰巨的任务,目前国内外还未能培育出树鼩的近交系。昆明动物研究所目前已就这一难题组织了专门的团队进行攻关,已经建立了200多个家系的近交繁殖群体,获得了兄弟姐妹近交F2代树鼩。同时,为了更好地评估树鼩资源,我们在前期还对来自昆明郊区的树鼩群体进行了mtDNA遗传多样性评估,发现该树鼩群体具有较高的遗传多样性(Chen et al, 2011)。为配合树鼩近交系建立和评估工作,我们设计了一套可用于树鼩个体识别和亲缘鉴定分析的微卫星标记。采用该标记,可达到>99.99999998%的个体区分识别能力。通过分析117只采自于云南省昆明周边的树鼩群体这套12个微卫星座位的多态性,显示了较高的期望杂合度(0.616),进一步支持我们mtDNA分析揭示的树鼩群体高度多态性(Liu & Yao, 2013)。

3 树鼩动物模型研究现状

树鼩作为灵长类动物的近亲,在生理解剖、神

经发育、病毒感染特性及心理应激模式等方面与灵长类甚至人类之间存在高度的相似性。在神经系统方面,树鼩的四爪对趾使其能够单爪抓握东西,说明其神经系统发育良好;人类前额叶高度发育,树鼩与灵长类的大脑前额叶已经发育,而大、小鼠等的大脑前额叶几乎没有发育;树鼩的大脑/体重比甚至高于人类(Peng et al, 1991)。树鼩神经系统的这些发育特点,无疑为采用树鼩作为人类神经系统疾病的动物模型提供了坚实基础。同时,树鼩体表面积与人体60 kg的换算比例为5.1,大鼠为7,而小鼠则高达14¹,提示相对于大鼠、小鼠,树鼩可更好地应用于药物研究。另外,树鼩的许多病毒感染特性与人类相似,报道显示树鼩能感染人类甲肝、乙肝、丙肝、轮状、疱疹、腺、棒状及副粘等病毒(Han et al, 2011; Li et al, 2011; Peng et al, 1991; Wang et al, 2011)。

3.1 感染性疾病树鼩模型

3.1.1 病毒性肝炎模型

除人类之外,目前能自然感染人乙型、丙型肝炎病毒的只有黑猩猩。但是因其资源匮乏、再加上经济和道德伦理上的问题阻碍了黑猩猩模型的发展。将肝炎病毒基因导入小鼠内的转基因模型不能模拟病毒感染的过程。而人肝细胞嵌合小鼠(human hepatocyte chimeric mice)虽经证实能感染人乙型、丙型肝炎病毒,但无法用于研究肝炎病毒感染的炎症和免疫反应以及感染后期症状(如肝炎病毒感染引起的肝癌)(Chayama et al, 2011)。

甲型肝炎(hepatitis A virus, HAV)模型 Zhan et al (1981)首次报道了利用树鼩作为动物模型,用甲肝病毒阳性病人的新鲜大便滤液感染动物,证明人的甲型肝炎病毒可以在树鼩体内繁殖,但是否引起树鼩肝病尚尚无明确研究。

乙型肝炎(hepatitis B virus, HBV)模型 乙肝病毒是一种DNA病毒,属嗜肝DNA病毒科(hepadnaviridae)。Pang et al (1981)报道了“乙型肝炎病毒感染树鼩的实验研究”。随后,广西肿瘤防治研究所 Su et al (1986)用分子杂交、电镜、血清免疫学和免疫组化等技术,证实树鼩能够感染人的HBV病毒。后来广西医科大学肿瘤防治研究所 Yan et al (1984)用人血来源的HBV感染树鼩,确定10只动物中有7只感染。这些工作表明除人类、黑猩猩以

¹引自王庆国,屈会化,赵琰,吴婷婷,李翼飞,戴进,胡丽娜. 2012. 树鼩模型在中医药研究中的应用. 第一届灵长类动物模型学术论坛会议摘要集,云南,昆明: p49.

外, 树鼩能感染人 HBV, 且具有成本低、实验操作方便、不受动物伦理严格限制等独特优点。Walter et al (1996)通过体内外实验, 进一步证实树鼩可以作为人 HBV 感染的研究模型。值得注意的是, Walter et al (1996)报道的树鼩新生期接种人 HBV, 结果类似于人的急性自限性肝炎, 而树鼩成年期接种则表现为一过性感染。Liang et al (2006)用幼年和围生期的树鼩感染人 HBV, 揭示可以提高感染效率。

虽然国内外研究树鼩 HBV 感染已经有 20 多年, 但树鼩体内感染能否长期持续仍存争议(Li et al, 2011)。Yang et al (2009)用新生树鼩感染人 HBV, 证实病毒能在动物体内长期存在并稳定复制。瑞士的 Walter et al (1996)报道的树鼩体外感染人 HBV 的研究, 促进了 HBV 感染机理的研究。德国的 Glebe et al (2003)发现人 HBV 的 Pre-S1 抗原在感染树鼩肝细胞中起重要作用。最近, 北京生命科学研究所 Yan et al (2012)根据已经报道的 HBV 结合受体的肽段 Pre-S1 设计探针, 借鉴 Walter et al (1996)报道的树鼩肝细胞体外培养方法, 以树鼩原代肝细胞(primary *Tupaia* hepatocytes, PTH)为材料, 找到了乙肝病毒和丁肝病毒的共用受体——钠离子-牛磺胆酸共转运多肽。这一发现将有力推动有效治疗乙肝药物的研究和解析乙肝病毒感染机理。

丙型肝炎(hepatitis C virus, HCV)模型 丙型肝炎的动物模型主要有黑猩猩、猴类、人工改造的小鼠和树鼩(Li et al, 2011)。Wang et al (1997)和 Liu et al (1998)用 HCV 阳性血清感染树鼩, 结果动物出现不同程度的肝炎症状。Xie et al (1998)用 HCV 感染射线处理后的树鼩, 发现辐射后的树鼩对 HCV 更易感。Amako et al (2010)进行了长达 3 年的 HCV 感染树鼩研究, 进一步证实了树鼩可以作为 HCV 感染的动物模型。虽然已经证明树鼩对 HCV 易感, 但目前缺乏树鼩试验动物的标准品系, 对实验数据的可重复性及可信度提出了挑战, 因此, 大部分科学家仍然倾向于使用改造过的传统实验动物(如小鼠)。正如美国学者 Robert Lanford 所表示, “如果研发花费数百万美元的药物进入临床前的最后试验阶段, 我们需要寻找一个可以重复的模型”(Dolgin, 2011)。

丁型肝炎(hepatitis D virus, HDV)模型 丁肝病毒的复制必需依靠乙肝病毒的辅助, 因此丁肝病

毒感染模型必须以乙肝病毒感染为基础(Chen et al, 2008)。Li et al (1995)建立了树鼩丁型肝炎/乙型肝炎感染模型, 并证实树鼩的病理变化与黑猩猩的感染类似, 提示树鼩可以建立 HDV 感染的动物模型。

就目前的研究资料看, 除人和黑猩猩外, 树鼩是经证实能感染人乙、丙型肝炎病毒的小型哺乳类动物, 其他动物模型, 如啮齿类动物和禽类动物病毒性肝炎模型的不足都可以通过树鼩模型来解决。因此, 树鼩作为肝炎病毒感染的动物模型具有独特的优势和不可替代的价值。

3.1.2 耐药细菌感染和败血症模型

自抗生素发明以来, 大量耐药菌株的出现使人类又面临新的挑战。感染是目前医院住院病人死亡的主要原因之一。美国败血症感染~75 万/年, 死亡 22.5 万(Hotchkiss & Karl, 2003)。良好的细菌感染模型能够提供有效的研究途径。目前人们主要用啮齿类动物, 如大鼠、小鼠建立细菌感染的动物模型, 但由于种属差异, 在细菌感染发病进程、机制及药物药效学和毒理学方面与人临床存在较大差异。如人败血症是由感染引起的全身性炎症反应(Goldstein et al, 2005), 而传统的败血症动物模型(如啮齿类)则表现在对内毒素反应的敏感程度和细胞因子的动态水平等方面(Dyson & Singer, 2009)。Li SA et al (2012)报道了树鼩金黄色葡萄球菌皮肤烫伤感染模型和绿脓杆菌涤纶补片包埋感染模型, 表明树鼩能够构建细菌感染模型和评价抗菌药物。而他们用细菌脂多糖(LPS)建立的树鼩败血症模型表明, 树鼩对 LPS 的反应跟小鼠有较大差异, 而与人更为接近, 提示树鼩有望成为更好的败血症模型²。作为低等灵长类, 树鼩有望替代啮齿类更好地模拟人败血症的发生和病理进程以及药物药效和毒理反应等, 值得进一步深入研究。

3.2 精神和神经疾病模型

3.2.1 心理应激和抑郁症动物模型

有机体对伤害性事件的适应性反应称为应激。应激是临床医学中涉及的一个普遍生物学问题, 可导致或恶化一系列人类重大疾病。研究显示, 树鼩是对心理应激最敏感的动物。束缚应激导致树鼩皮质醇增高, 是非人灵长类和人类的独有特点, 而啮齿类动物的应激反应则为皮质酮增高(Collins et al,

²引自 Li SA, Liu J, Zhang Y. 2012. Tree shrew, a potential experimental animal for sepsis model. 第一届灵长类动物模型学术论坛会议摘要集. 云南, 昆明: p30.

1984)。Fuchs et al (1990)报道社会竞争失败导致树鼩尿液的褪黑素大幅度增高,可能与海马糖皮质激素受体减少有关,导致应激反应长时间持续(Jöhren et al, 1994)。慢性社会竞争失败的树鼩由于皮质醇持续增高,导致海马 CA3 区神经细胞出现萎缩现象,这与人类抑郁症患者的海马萎缩现象高度一致(Magariños et al, 1996)。成年神经细胞新生是 20 世纪末最重要的神经科学进展之一, Gould et al (1997) 利用树鼩证明了心理应激能通过 NMDA 受体影响成年海马神经细胞新生。

由于心理应激是抑郁症的主要诱因之一,利用树鼩创建应激病因学的抑郁症模型就有可能模拟人类抑郁症的一些重要特征,而在其他动物(如啮齿类)中却难以做到,因为树鼩、猴子和人类应激系统的最基本激素均为皮质醇,而啮齿类则为皮质酮。Wang et al (2012)详细分析了树鼩作为抑郁症动物模型的潜在优势,即除了脑生理结构和竞争失败后的反应与人相似外,其昼行习性可以弥补啮齿类动物夜行习性的不足。利用树鼩进行打斗,建立社会竞争失败的抑郁症模型,打斗失败树鼩表现出和人相似的抑郁症状(Wang et al, 2011)。Meng et al³以糖水偏爱和糖水操作式条件反射方法,建立了反应快感缺失和动机缺乏的抑郁症树鼩模型。德国 Fuchs & Flugge (2002)详细研究了打斗挫败树鼩的生理、脑功能和行为表现,证明挫败树鼩的行为和内分泌症状与抑郁症患者相似,并且可以通过药物治疗进行改善,认为树鼩是研究抑郁的适合模型(Lucassen et al, 2004)。值得注意的是,应激导致的树鼩神经肽 Y 的改变与灵长类相似,与啮齿类则完全相反(Zambello et al, 2010)。因此,应激病因学的抑郁症树鼩模型,可能是模拟人类抑郁症的理想模型之一,已经得到了领域同行的认可(Fuchs, 2005; Vollmayr et al, 2007)。

3.2.2 树鼩近视模型

目前近视研究主要是利用鸡、猴子和树鼩建立动物模型。鸡的近视模型最大问题是其亲缘关系和人相对较远,眼睛生理结构与和人有很多不同。虽然猴子与人在眼睛大小和结构上最接近,但是它们的实验成本高、周期长,而且很难区分长时间形觉剥夺(visual form deprivation)造成的实验性近视眼是干预的结果,还是由于从视网膜传递信号到巩膜

引起的。树鼩实验成本低、周期短,且其眼睛发育过程与人相似。在形觉剥夺实验中能精确地控制视觉环境,得到稳定的结果。可以通过化学物质(如 β -APN 或者 DPA)诱导(Norton, 1999),或形觉剥夺来建立树鼩近视模型(McBrien & Norton, 1994; Norton, 1999)。动物模型能够方便我们研究近视产生的机理、探索预防和治疗措施。McBrien et al (2012)的研究表明,短时间戴凸镜或许可以在一定程度上矫正近视。通过对转录水平和翻译水平的研究(Frost & Norton, 2012; Siegwart & Norton, 2002),可更深入地了解近视的机制。由此可见,树鼩在近视模型中占有重要地位,已成为国际公认的近视动物模型。

3.2.3 树鼩老年痴呆模型

Pawlik et al (1999)就报道了老年树鼩存在类似于人类老年痴呆症病理样的老年斑,最近 Yamashita (2012) 的报道支持了猕猴和树鼩均有这种人类老年痴呆症病理样的老年斑。另外,通过对树鼩基因组的分析,发现人类与老年痴呆症有关的基因和树鼩中的直系基因具有较高的同源度(Fan et al, 2012)。显然,树鼩有可能是创建人类老年痴呆症模型的另一理想动物。

3.3 代谢性疾病模型

Schwaier (1979)报道了高胆固醇饮食可诱发树鼩生成胆结石,是胆结石研究合适、方便的模型。

链脲佐菌素(streptozotocin, STZ)是链球菌产生的天然化合物,对哺乳动物的胰岛 B 细胞有特异毒性,被广泛用于诱导 1 型和 2 型糖尿病。Ishiko et al (1997)和 Xian et al (2000)初步报道利用不同浓度的 STZ 可以诱导树鼩患糖尿病。人类 2 型糖尿病患者和非人灵长类 2 型糖尿病动物的胰腺具有胰岛细胞淀粉样沉积, Wagner et al (2001)证实 STZ 诱导的糖尿病食蟹猴并没有淀粉样沉积症状,但 Xian et al (2000)用 STZ 诱导的糖尿病树鼩淀粉染色呈阳性,是否是胰岛细胞淀粉样沉积需要进一步证实。

Wu et al (2012)开展了树鼩糖尿病的动物模型研究,多次小剂量 STZ (60~80 mg/kg) 能够导致树鼩糖尿病。注射 STZ 后,成模树鼩出现明显的多饮、多食和多尿症状;持续高血糖、尿糖;糖耐受明显受损,且出现明显糖脂代谢紊乱;肾功能显著受损;未出现糖尿病乳酸中毒和高血糖高渗等并发症。

³引自孟肖路,朱宁,隋南,祁可可. 2012. 新型树鼩社会挫败模型的建立. 第一届灵长类动物模型学术论坛会议摘要集,云南,昆明: p38.

Zhang et al⁴开展了树鼩非酒精性脂肪肝模型的研究, 高脂、高糖、高胆固醇食物能够诱导树鼩脂肪肝, 病症与人非酒精性脂肪肝类似, 具有成模率高、可模拟人疾病进程的特点, 值得进一步深入研究。

Li & Zhang (1999)用树鼩开展脑缺血疾病研究, 已成功建立了光诱导树鼩脑缺血模型。由于树鼩颅骨很薄, 可通过光照射进行诱导, 使大脑血管形成血栓, 造成大脑缺血; 加上其大脑发达, 与灵长类接近, 且经济、容易饲养, 被认为是研究脑血管疾病机制的理想动物。

3.4 癌症模型

树鼩是比较理想的肿瘤模型。首先, 多个报道显示树鼩自发各种肿瘤。Elliot et al (1966)报道了第一例树鼩自发乳腺癌模型, 随后几种其他自发肿瘤如肝癌(Hofmann et al, 1981)、淋巴瘤 (Brack, 1998)和肺癌(Brack et al, 1996)等也被报道。Xia et al (2012)鉴定了一例自发性乳腺肿瘤, 该肿瘤与人导管乳头状瘤很接近, 提示树鼩可以用于建立乳腺肿瘤模型。其次, 树鼩可以诱发各种癌症。Reddy et al (1976)用黄曲霉毒素诱导树鼩肝癌获得成功。Yan et al (1996)组合乙肝病毒感染和黄曲霉毒素在 52.9% 的树鼩中成功诱发肝癌, 在树鼩肝癌中检测到 *p53* 抑癌基因突变(Park et al, 2000)以及癌基因 *Ras* 表达上调 (Su et al, 2004)。蛋白质谱分析发现了大量表达畸变的蛋白(Li et al, 2008)。该团队的研究发现 Oltipraz 可以减少黄曲霉毒素诱发树鼩产生肝癌 (Li et al, 2000)。此外, 树鼩还可以诱导肺癌和乳腺癌。Rao & Reddy (1980)报道用致癌剂 DHPN 可以诱导树鼩在 65~102 周生成肺癌。中科院昆明动物所陈策实在 2012 年云南昆明第一届灵长类动物模型学术论坛上, 介绍了用致癌剂 DMBA 组合孕激素以及慢病毒导入癌基因的方法可以建立树鼩乳腺肿瘤。

因为肿瘤发生和生理生化有关, 树鼩癌症模型相对小鼠模型具有诸多优势。例如小鼠诱导的乳腺癌模型一般为雌激素受体 ER 阴性, 而 60%~70% 的人乳腺癌患者为 ER 阳性, 同时, 小鼠乳腺癌和人病理组织形态差异较大。另外, 小鼠的乳腺癌转移多为肺部转移, 而在乳腺癌患者中肿瘤细胞常经

局部淋巴管转移至淋巴结然后多发生骨、脑等部位转移, 这可能是由于小鼠和人的归巢机制有较大差异。此外, 已知端粒在癌症发生发展过程中扮演着很重要的角色。小鼠细胞染色体端粒较长(40~60 kb), 而人染色体端粒较短(10 kb), 因此, 小鼠细胞易于永生化和转化。由于和人更加类似的进化地位, 树鼩乳腺癌模型较小鼠模型在生理和病理方面更加接近人乳腺癌。

肿瘤发生发展与个体精神状态有关, 不同的精神压力会调控肿瘤生长。树鼩在神经系统方面具有啮齿类无法比拟的优势, 较啮齿类更适用于研究精神压力与肿瘤的关系。

此外, 免疫系统在肿瘤发生中发挥着重要作用, 免疫细胞一方面清除肿瘤细胞, 另一方面被肿瘤细胞利用促进生长和转移。多种肿瘤, 如肝癌、宫颈癌、鼻咽癌等均与病毒和细菌感染相关。而免疫系统在不同物种间的差异很大, 树鼩的免疫系统与人更加接近 (Fan et al, 2012), 在评价涉及免疫系统的抗肿瘤药物如单克隆抗体、疫苗和促进机体免疫力的治疗方法等研究领域更具优势。

虽然树鼩在创制癌症模型方面相对小鼠更具优势, 但是目前还需要完善树鼩相关的基础研究, 全面了解树鼩与人和鼠的各种组织尤其是神经和免疫系统的异同, 为创建与人发病机理更加类似的树鼩癌症模型奠定基础。

4 现存问题和未来展望

迄今为止, 还没有一种国际上广泛使用的动物模型由我国科学家创建。近年来, 树鼩作为一种新型实验动物, 正日益受到国内外的关注。中国科学院昆明动物研究所于 2012 年 12 月在昆明主办了“第一届灵长类动物模型学术论坛”研讨会, 会议摘要的一半是关于树鼩研究的。用树鼩原代肝细胞找到乙肝和丁肝病毒受体的科学突破(Yan et al, 2012), 也极大地激励着我们去探索树鼩模型的物种优势。

通过昆明动物所近期对树鼩全基因组、转录组 (Fan et al, 2012)及蛋白组(Li RX et al, 2012)的解析, 我们了解到树鼩与灵长类的遗传特征接近, 这为我们了解树鼩生物学特性, 发掘其用于疾病模型创

⁴引自: Zhang L, Wu X, Chang Q, Li Y, Liao S, Liang B. 2012. The establishment of tree shrew model of non-alcoholic fatty liver disease. 第一届灵长类动物模型学术论坛会议摘要集. 云南, 昆明: p65.

制、疾病机理解析和新药创制, 以及回答一些重大科学问题提供了扎实的科学数据。现有文献报道了相当多的树鼩基础生物学数据, 但是一些关键数据, 如树鼩脑组织精细解剖图谱分析等依然缺乏。而且, 相对于其他成熟的实验动物, 现有的树鼩基础生物学数据和专有检测试剂远远不够, 而传统的实验动物如小鼠则存在有大量共享的网上生物信

息资源及商业化的蛋白抗体等。这种信息匮乏的情况制约着今后在分子水平上研发人类疾病的树鼩动物模型, 国内外对于树鼩研究的重视程度和产出有待大幅提高(图 2)。我们需要系统地了解树鼩基因组、转录组、蛋白质组、神经系统(脑功能)重、代谢系统和免疫系统分子基础、基因和蛋白质结构和功能信息及生物学行为等信息。

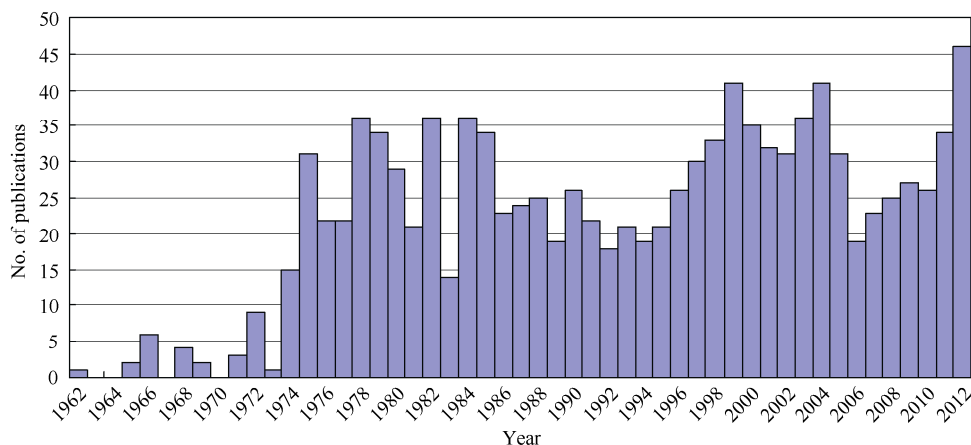


图 2 采用“tree shrews”在 PubMed 数据库中检索的文献数

Figure 2 Number of publications retrieved by key word “tree shrews” through PubMed on Nov. 25, 2012 (1112 publications)

实验动物饲养和繁殖条件的标准化、质量的标准化、以及检测方法与技术标准化和规范化都是规模化应用实验动物进行人类疾病研究和新药研发的基本必要条件。虽然树鼩已被较多地应用于医学生物学基础研究中, 也有一些积累和发现, 但迄今为止, 我们仍然缺乏遗传背景清晰、遗传成分稳定的种群或品系, 这使得现有研究工作在深度及广度方面均存在缺陷, 有待进一步提升。建立树鼩纯品系和相关封闭繁殖群, 尽早完成其实验动物的模式化和标准化, 并在全国乃至全世界予以推广, 是目前我们迫切需要解决的一个重大问题。与此同时, 需要深入阐述树鼩模型在哪些重大生物学问题和人类疾病研究中具有不可替代的优势, 最终实现

“中国制造”的树鼩品系和模型。这些工作的开展和最终完成, 将彻底解决树鼩在疾病机理研究和新药研发中广泛应用的瓶颈。毫无疑问, 这是一个需要长时间积累、延续和不断大量投入的系统工作。

致谢: 非常感谢中国科学院昆明动物研究所王霜女士在文稿的整理中给予的巨大帮助! 同时感谢郑永唐研究员、赖仞研究员、赵旭东研究员和张华堂研究员对本文的支持和关注。由于篇幅和写作时间的局限, 我们对于树鼩研究工作的介绍不能作到面面俱到, 对于文中未能引用的文献, 在此向原作者致歉。

参考文献:

Adkins RM, Honeycutt RL. 1991. Molecular phylogeny of the superorder archonta. *Proc Natl Acad Sci USA*, **88**(22): 10317-10321.

Amako Y, Tsukiyama-Kohara K, Katsume A, Hirata Y, Sekiguchi S, Tobita Y, Hayashi Y, Hishima T, Funata N, Yonekawa H, Kohara M. 2010. Pathogenesis of hepatitis C virus infection in *Tupaia belangeri*. *J Virol*, **84**(1): 303-311.

Brack M. 1998. Spontaneous tumours in tree shrews (*Tupaia belangeri*): population studies. *J Comp Pathol*, **118**(4): 301-316.

Brack M, Schwartz P, Heinrichs T, Schultz M, Fuchs E. 1996. Tumors of the respiratory tract observed at the German Primate Center, 1978-1994. *J Med Primatol*, **25**(6): 424-434.

Cao J, Yang EB, Su JJ, Li Y, Chow P. 2003. The tree shrews: adjuncts and alternatives to primates as models for biomedical research. *J Med Primatol*,

32(3): 123-130.

Chayama K, Hayes CN, Hiraga N, Abe H, Tsuge M, Imamura M. 2011. Animal model for study of human hepatitis viruses. *J Gastroenterol Hepatol*, **26**(1): 13-18.

Chen J, Dai JJ, Sun XM. 2008. Advances in the use of tree shrews as animal models for hepatitis research. *Chn J Com Med*, **18**(2): 59-62. [陈瑾, 代解杰, 孙晓梅. 2008. 树鼩肝炎动物模型的研究进展. 中国比较医学杂志, **18**(2): 59-62.]

Chen SY, Xu L, Lü LB, Yao YG. 2011. Genetic diversity and matrilineal structure in Chinese tree shrews inhabiting Kunming, China. *Zool Res*, **32**(1): 17-23. [陈仕毅, 许凌, 吕龙宝, 姚永刚. 2011. 昆明城郊中国树鼩群体线粒体 DNA 遗传多样性. 动物学研究, **32**(1): 17-23.]

Collins PM, Tsang WN, Metzger JM. 1984. Influence of stress on adrenocortical function in the male tree shrew (*Tupaia belangeri*). *Gen Comp Endocrinol*, **55**(3): 450-457.

Dolgin E. 2011. The murine candidate. *Nature*, **474**(7350): S14-S15.

Dyson A, Singer M. 2009. Animal models of sepsis: why does preclinical efficacy fail to translate to the clinical setting?. *Crit Care Med*, **37**(1): S30-S37.

Elliot OS, Elliot MW, Lisco H. 1966. Breast cancer in a tree shrew (*Tupaia glis*). *Nature*, **211**(5053): 1105.

Fan Y, Huang ZY, Cao CC, Chen CS, Chen YX, Fan DD, He J, Hou HL, Hu L, Hu XT, Jiang XT, Lai R, Lang YS, Liang B, Liao SG, Mu D, Ma YY, Niu YY, Sun XQ, Xia JQ, Xiao J, Xiong ZQ, Xu L, Yang L, Zhang Y, Zhao W, Zhao XD, Zheng YT, Zhou JM, Zhu YB, Zhang GJ, Wang J, Yao YG. 2013. Genome of the Chinese tree shrew. *Nat Commun*, **4**:1426 (DOI: 10.1038/ncomms2416).

Frost MR, Norton TT. 2012. Alterations in protein expression in tree shrew sclera during development of lens-induced myopia and recovery. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, **53**(1): 322-336.

Fuchs E. 2005. Social stress in tree shrews as an animal model of depression: an example of a behavioral model of a CNS disorder. *CNS Spectr*, **10**(3): 182-190.

Fuchs E, Schumacher M. 1990. Psychosocial stress affects pineal function in the tree shrew (*Tupaia belangeri*). *Physiol Behav*, **47**(4): 713-717.

Fuchs E, Flugge G. 2002. Social stress in tree shrews: effects on physiology, brain function, and behavior of subordinate individuals. *Pharmacol Biochem Behav*, **73**(1): 247-258.

Glebe D, Aliakbari M, Krass P, Knoop EV, Valerius KP, Gerlich WH. 2003. Pre-S1 antigen-dependent infection of *Tupaia* hepatocyte cultures with human hepatitis B virus. *J Virol*, **77**(17): 9511-9521.

Goldstein B, Giroir B, Randolph A. 2005. International pediatric sepsis consensus conference: definitions for sepsis and organ dysfunction in pediatrics. *Pediatr Crit Care Med*, **6**(1): 2-8.

Gould E, McEwen BS, Tanapat P, Galea LAM, Fuchs E. 1997. Neurogenesis in the dentate gyrus of the adult tree shrew is regulated by psychosocial stress and NMDA receptor activation. *J Neurosci*, **17**(7): 2492-2498.

Hallstrom BM, Janke A. 2010. Mammalian evolution may not be strictly

bifurcating. *Mol Biol Evol*, **27**(12): 2804-2816.

Han JB, Zhang GH, Duan Y, Ma JP, Zhang XH, Luo RH, Lü LB, Zheng YT. 2011. Sero-epidemiology of six viruses natural infection in *Tupaia belangeri chinensis*. *Zool Res*, **32**(1): 11-16. [韩建保, 张高红, 段勇, 马建平, 张喜鹤, 罗荣华, 吕龙宝, 郑永唐. 2011. 中缅树鼩自然感染六种病毒的血清流行病学. 动物学研究, **32**(1): 11-16.]

Hofmann W, Möller P, Schwaier A, Flügel RM, Zöller L, Darai G. 1981. Malignant tumours in *Tupaia* (tree shrew). *J Med Primatol*, **10**(2-3): 155-163.

Hotchkiss RS, Karl IE. 2003. Medical progress: the pathophysiology and treatment of sepsis. *New Engl J Med*, **348**(2): 138-150.

Ishiko S, Yoshida A, Mori F, Abiko T, Kitaya N, Kojima M, Saito K. 1997. Early ocular changes in a tree shrew model of diabetes. *J Jpn Ophthalmol Soc*, **101**: 19-23.

Janečka JE, Miller W, Pringle TH, Wiens F, Zitzmann A, Helgen KM, Springer MS, Murphy WJ. 2007. Molecular and genomic data identify the closest living relative of primates. *Science*, **318**(5851): 792-794.

Jöhren O, Flügge G, Fuchs E. 1994. Hippocampal glucocorticoid receptor expression in the tree shrew: regulation by psychosocial conflict. *Cell Mol Neurobiol*, **14**(3): 281-296.

Li QF, Ding MQ, Wang H, Mao Q, Wu CQ, Zheng H, Gu CH, Wang YM. 1995. The infection of hepatitis D virus in adult *Tupaia*. *Nat Med J Chn*, **75**(10): 611-613. [李奇芬, 丁明权, 王洪, 毛青, 吴纯清, 郑红, 顾长海, 王宇明. 1995. 树鼩感染丁型肝炎病毒的实验研究. 中华医学杂志, **75**(10): 611-613.]

Li RX, Xu W, Wang Z, Liang B, Wu JR, Zeng R. 2012. Proteomic characteristics of the liver and skeletal muscle in the Chinese tree shrew (*Tupaia belangeri chinensis*). *Protein Cell*, **3**(9): 691-700.

Li SA, Lee WH, Zhang Y. 2012. Two bacterial infection models in tree shrew for evaluating the efficacy of antimicrobial agents. *Zool Res*, **33**(1): 1-6.

Li SQ, Meng Q, Zhang L. 1999. Experimental therapy of a platelet-activating factor antagonist (ginkgolide B) on photochemically induced thrombotic cerebral ischaemia in tree shrews. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, **26**(10): 824-825.

Li Y, Su JJ, Yang C, Cao J, Ou C, Liang L, Yang F, Wang Q. 2011. Progress on establishment of tree shrew (*Tupaia*) chronic infection with HBV in vivo. *Zool Res*, **32**(1): 104-108. [李瑗, 苏建家, 杨春, 曹骥, 欧超, 梁亮, 杨芳, 王琦. 2011. 乙型肝炎病毒树鼩体内慢性感染模型的研究历程和展望. 动物学研究, **32**(1): 104-108.]

Li Y, Su JJ, Qin LL, Egnér PA, Wang JS, Groopman JD, Kensler TW, Roebuck BD. 2000. Reduction of aflatoxin B₁ adduct biomarkers by oltipraz in the tree shrew (*Tupaia belangeri chinensis*). *Cancer Lett*, **154**(1): 79-83.

Li Y, Qin X, Cui JF, Dai Z, Kang XN, Yue HY, Zhang Y, Su JJ, Cao J, Ou C, Yang C, Duan XX, Yue HF, Liu YK. 2008. Proteome analysis of aflatoxin B₁-induced hepatocarcinogenesis in tree shrew (*Tupaia belangeri chinensis*) and functional identification of candidate protein peroxiredoxin II. *Proteomics*, **8**(7): 1490-1501.

Liang L, Li Y, Yang C, Cao J, Su JJ, Chen MW, Ban KC, Ou C, Duan XX, Yue HF. 2006. Perinatal and young tree shrews infected with human hepatitis B virus. *Chn J Zoon*, **22**(8): 792-795. [梁亮, 李瑗, 杨春, 曹骥,

- 苏建家, 陈茂伟, 班克臣, 欧超, 段小娟, 岳惠芬. 2006. 用人工繁育的围生期和幼年树鼩感染人乙型肝炎病毒的初步研究. 中国人兽共患病学报, **22**(8): 792-795.]
- Lindblad-Toh K, Garber M, Zuk O, Lin MF, Parker BJ, Washietl S, Kheradpour P, Ernst J, Jordan G, Mauceli E, Ward LD, Lowe CB, Holloway AK, Clamp M, Gnerre S, Alfoldi J, Beal K, Chang J, Clawson H, Cuff J, Di Palma F, Fitzgerald S, Flicek P, Guttman M, Hubisz MJ, Jaffe DB, Jungreis I, Kent WJ, Kostka D, Lara M, Martins AL, Massingham T, Moltke I, Raney BJ, Rasmussen MD, Robinson J, Stark A, Vilella AJ, Wen JY, Xie XH, Zody MC, Worley KC, Kovar CL, Muzny DM, Gibbs RA, Warren WC, Mardis ER, Weinstock GM, Wilson RK, Birney E, Margulies EH, Herrero J, Green ED, Haussler D, Siepel A, Goldman N, Pollard KS, Pedersen JS, Lander ES, Kellis M, Inst B, Med BC, Univ W. 2011. A high-resolution map of human evolutionary constraint using 29 mammals. *Nature*, **478**(7370): 476-482.
- Liu XH, Yao YG. 2013. Characterization of 12 polymorphic microsatellite markers in the Chinese tree shrew (*Tupaia belangeri chinensis*). *Zool Res*, **34** (E2): E63-E69.
- Liu Z, Mao Q, Wang YM, Li QF. 1998. An experimental study on infection of hepatitis C virus in adult Tupaia. *J Third Mili Med Univ*, **12**(6): 472-475. [刘志, 毛青, 王宇明, 李奇芬. 1998. 丙型肝炎病毒感染成年树鼩的实验研究. 第三军医大学学报, **12**(6): 472-475.]
- Lucassen PJ, Fuchs E, Czeh B. 2004. Antidepressant treatment with tianeptine reduces apoptosis in the hippocampal dentate gyrus and temporal cortex. *Biol Psychiatry*, **55**(8): 789-796.
- Ma XT, Li FL, Jiang HJ, Lee WH, Zhang Y, Du TY. 2011. Detection and comparison of physiological indexes in the wild and laboratory tree shrew. *Zool Res*, **32**(1): 4-10. [马旭通, 李福林, 蒋宏君, 李文辉, 张云, 杜廷义. 2011. 野生和人工繁育树鼩部分生理指标检测与比较. 动物学研究, **32**(1): 4-10.]
- Magariños AM, McEwen BS, Flugge G, Fuchs E. 1996. Chronic psychosocial stress causes apical dendritic atrophy of hippocampal CA3 pyramidal neurons in subordinate tree shrews. *J Neurosci*, **16**(10): 3534-3540.
- McBrien NA, Norton TT. 1994. Prevention of collagen crosslinking increases form-deprivation myopia in tree shrew. *Exp Eye Res*, **59**(4): 475-486.
- McBrien NA, Arumugam B, Metlapally S. 2012. The effect of daily transient +4 D positive lens wear on the inhibition of myopia in the tree shrew. *Invest Ophth Vis Sci*, **53**(3): 1593-1601.
- Nie WH, Fu BY, O'Brien PC, Wang JH, Su WT, Tanomtong A, Volobouev V, Ferguson-Smith MA, Yang FT. 2008. Flying lemurs-the 'flying tree shrews'? Molecular cytogenetic evidence for a scandentia-dermoptera sister clade. *BMC Biol*, **6**: 18.
- Norton TT. 1999. Animal models of myopia: learning how vision controls the size of the eye. *ILAR J*, **40**(2): 59-77.
- Pang QF, Wan XB, Xu AY, Wang ZM, Wang GX, Zhu BY, Zhang XS. 1981. Hepatitis B virus (HBV) infection in the experimental tree shrews (Abstract). *J Med Res*, (9): 11-12. [庞其方, 万新邦, 胥爱源, 王祖铭, 王桂香, 朱宝友, 张新生. 1981. 乙型肝炎病毒(HBV)感染树鼩的实验研究(摘要). 医学研究通讯, (9): 11-12.]
- Park US, Su JJ, Ban KC, Qin LL, Lee EH, Lee YI. 2000. Mutations in the p53 tumor suppressor gene in tree shrew hepatocellular carcinoma associated with hepatitis B virus infection and intake of aflatoxin B1. *Gene*, **251**(1): 73-80.
- Pawlik M, Fuchs E, Walker LC, Levy E. 1999. Primate-like amyloid-beta sequence but no cerebral amyloidosis in aged tree shrews. *Neurobiol Aging*, **20**(1): 47-51.
- Peng YZ, Ye ZZ, Zou RJ, Wang YX, Tian BP, Ma YY, Shi LM. 1991. Biology of Chinese Tree Shrews [M]. Kunming: Yunnan Science and Technology Press. [彭燕章, 叶智彰, 邹如金, 王应祥, 田保平, 马原野, 施立明. 1991. 树鼩生物学. 昆明: 云南科技出版社.]
- Rao MS, Reddy JK. 1980. Carcinogenicity of 2, 2'-dihydroxy-di-npropylnitrosamine in the tree shrew (*Tupaia glis*): light and electron microscopic features of pulmonary adenomas. *J Natl Cancer Inst*, **65**(4): 835-840.
- Reddy JK, Svoboda DJ, Rao MS. 1976. Induction of liver tumors by aflatoxin B1 in the tree shrew (*Tupaia glis*), a nonhuman primate. *Cancer Res*, **36**(1): 151-160.
- Schmitz J, Ohme M, Zischler H. 2000. The complete mitochondrial genome of *Tupaia belangeri* and the phylogenetic affiliation of scandentia to other eutherian orders. *Mol Biol Evol*, **17**(9): 1334-1343.
- Schwaier A. 1979. Tupaia (tree shrews)-a new animal model for gallstone research. *Res Exp Med (Berl)*, **176**(1): 15-24.
- Shen PQ, Zheng H, Liu RW, Chen LL, Li B, He BL, Li JT, Ben KL, Cao YM, Jiao JL. 2011. Progress and prospect in research on laboratory tree shrew in China. *Zool Res*, **32** (1): 109-114. [沈培清, 郑红, 刘汝文, 陈丽玲, 李波, 何保丽, 李进涛, 贲昆龙, 曹筱梅, 角建林. 2011. 中国树鼩实验动物化研究进展和展望. 动物学研究, **32**(1): 109-114.]
- Siegrwart JT, Norton TT. 2002. The time course of changes in mRNA levels in tree shrew sclera during induced myopia and recovery. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, **43**(7): 2067-2075.
- Su JJ, Yan RQ, Gan YQ, Zhou DN, Huang DR, Huang GH. 1986. A Study of experimental infection by human hepatitis B virus (HBV) in adult tree shrew. *Shanghai Lab Anim Sci*, **6**(4): 193-198. [苏建家, 严瑞琪, 甘友全, 周德南, 黄定瑞, 黄国华. 1986. 人乙型肝炎病毒实验感染成年树鼩的研究. 上海实验动物科学, **6**(4): 193-198.]
- Su JJ, Ban KC, Li Y, Qin LL, Wang HY, Yang C, Ou C, Duan XX, Lee YL, Yang RQ. 2004. Alteration of p53 and p21 during hepatocarcinogenesis in tree shrews. *World J Gastroenterol*, **10**(24): 3559-3563.
- Vollmayr B, Mahlstedt MM, Henn FA. 2007. Neurogenesis and depression: what animal models tell us about the link. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*, **257**: 300-303.
- Wagner JD, Cline JM, Shadoan MK, Bullock BC, Rankin SE, Cefalu WT. 2001. Naturally occurring and experimental diabetes in cynomolgus monkeys: a comparison of carbohydrate and lipid metabolism and islet pathology. *Toxicol Pathol*, **29**: 142-148.
- Walter E, Keist R, Niederost B, Pult I, Blum HE. 1996. Hepatitis B virus infection of tupaia hepatocytes in vitro and in vivo. *Hepatology*, **24**(1): 1-5.
- Wang HP, Zhou YX, Yao ZQ, Hong S, Li GY. 1997. Preliminary study of HCV infected Adult tree shrews. *J Fourth Mili Med Univ*, **18**(4): 375-376. [王海平, 周永兴, 姚志强, 洪沙, 李光玉. 1997. 成年树鼩实验感染丙型肝炎病毒的初步研究. 第四军医大学学报, **18**(4): 375-376.]

- Wang J, Zhou QX, Tian M, Yang YX, Xu L. 2011. Tree shrew models: a chronic social defeat model of depression and a one-trial captive conditioning model of learning and memory. *Zool Res*, **32**(1): 24-30.
- Wang J, Xu XL, Ding ZY, Mao RR, Zhou QX, Lü LB, Wang LP, Zhang C, Xu L, Yang YX. 2013. Basal physiological indexes in domesticated tree shrews. *Zool Res*, 34 (in press)
- Wang J, Zhou QX, Lü LB, Xu L, Yang YX. 2012. A depression model of social defeat etiology using tree shrews. *Zool Res*, **33**(1): 92-98. [王静, 周启心, 吕龙宝, 徐林, 杨跃雄. 2012. 社会竞争失败病因学的抑郁症树鼩模型. *动物学研究*, **33**(1): 92-98.]
- Wang XX, Li JX, Wang WG, Sun XM, He CY, Dai JJ. 2011. Preliminary investigation of viruses to the wild tree shrews (*Tupaia belangeri chinensis*). *Zool Res*, **32**(1): 66-69. [王新兴, 李婧潇, 王文广, 孙晓梅, 何春艳, 代解杰. 2011. 野生中缅甸病毒携带情况的初步调查. *动物学研究*, **32**(1): 66-69.]
- Wang YX. 1987. Taxonomic research on Burma-Chinese tree shrew, *Tupaia belangeri* (Wagner), from Southern China. *Zool Res*, **8**(3): 213-230. [王应祥. 1987. 中国树鼩的分类研究. *动物学研究*, **8**(3): 213-230.]
- Wu X, Chang Q, Zhang Y, Zou X, Chen L, Zhang L, Liang B. 2013. Relationships between body weight, fasting blood glucose, sex, and age in tree shrews (*Tupaia belangeri chinensis*). *J Anim Physiol Anim Nutr*, in press.
- Xia H, Wang C, Zhang H, He B, Jiao J, Chen C. 2012. Characterization of spontaneous breast tumor in tree shrews (*Tupaia belangeri chinensis*). *Zool Res*, **33**(1): 55-59.
- Xian S, Huang S, Su JJ, Qin YF, Ou C, Luo ZJ, Wei MY. 2000. A study on experimental diabetes animal models in tree shrews induced by streptozotocin. *J Guangxi Med Univ*, **17**(6): 945-948. [洗苏, 黄松, 苏建家, 秦映芬, 欧超, 罗佐杰, 韦敏怡. 2000. 链脲佐菌素诱导树鼩糖尿病动物模型研究. *广西医科大学学报*, **17**(6): 945-948.]
- Xie ZC, Riezu-Boj JI, Lasarte JJ, Guillen J, Su JH, Civeira MP, Prieto J. 1998. Transmission of hepatitis C virus infection to tree shrews. *Virology*, **244**(2): 513-520.
- Xu L. 2011. Animal models of human diseases. *Zool Res*, **32**(1): 1-3. [徐林. 2011. 人类疾病的动物模型. *动物学研究*, **32**(1): 1-3.]
- Xu L, Fan Y, Jiang XL, Yao YG. 2013. Molecular evidence on the phylogenetic position of tree shrew (*Tupaia belangeri*). *Zool Res*, **34**(2):70-76. [许凌, 范宇, 蒋学龙, 姚永刚. 2013. 树鼩进化分类地位的分
子证据. *动物学研究*, **34**(2):70-76.]
- Xu L, Chen SY, Nie WH, Jiang XL, Yao YG. 2012. Evaluating the phylogenetic position of Chinese Tree Shrew (*Tupaia belangeri chinensis*) based on complete mitochondrial genome: implication for using tree shrew as an alternative experimental animal to primates in biomedical research. *J Genet Genomics*, **39**(3): 131-137.
- Yamashita A, Fuchs E, Taira M, Yamamoto K, Hayashi M. 2012. Somatostatin-immunoreactive senile plaque-like structures in the frontal cortex and nucleus accumbens of aged tree shrews and Japanese macaques. *J Med Primat*, **41**(3): 147-157.
- Yan H, Zhong GC, Xu GW, He WH, Jing ZY, Gao ZC, Huang Y, Qi YH, Peng B, Wang HM, Fu L, Song M, Chen P, Gao WQ, Ren BJ, Sun YY, Cai T, Feng XF, Sui JH, Li WH. 2012. Sodium taurocholate cotransporting polypeptide is a functional receptor for human hepatitis B and D virus. *Elife*, **1**: e00049.
- Yan RQ, Su JJ, Chen ZY, Liu YG, Gan YQ, Zhou DN. 1984. A preliminary study on experimental infection of human hepatitis B virus in adult tree shrews. *J Guangxi Med Univ*, **1**(1): 10-15. [严瑞琪, 苏建家, 陈志英, 刘由庚, 甘友全, 周德南. 1984. 人乙型肝炎病毒实验感染成年树鼩的初步研究. *广西医学院学报*, **1**(1): 10-15.]
- Yan RQ, Su JJ, Huang DR, Gan YC, Yang C, Huang GH. 1996. Human hepatitis B virus and hepatocellular carcinoma. II. Experimental induction of hepatocellular carcinoma in tree shrews exposed to hepatitis B virus and aflatoxin B1. *J Cancer Res Clin Oncol*, **122**(5): 289-295.
- Yang F, Cao J, Zhang JJ, Wang Q, Su JJ, Yang C, Ou C, Shi JL, Wang DP, Li Y. 2009. Long-term observation of hepatitis B virus (HBV) replication in new-born tree shrews inoculated with HBV. *Chin J Hepatol*, **17**(8): 580-584. [杨芳, 曹骥, 张晶晶, 王琦, 苏建家, 杨春, 欧超, 史俊林, 汪多平, 李瑗. 2009. 新生儿树鼩接种人乙型肝炎病毒的长期实验观察. *中华肝脏病杂志*, **17**(8): 580-584.]
- Zambello E, Fuchs E, Abumaria N, Rygula R, Domenici E, Caberlotto L. 2010. Chronic psychosocial stress alters NPY system: different effects in rat and tree shrew. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, **34**(1): 122-130.
- Zhan MY, Liu CX, Li CM, Zhang WY, Zhu C, Pang QF, Zhao TX, Wang CA, Wang JL, Yu CY, Li SF, Tong ZG, Lin ZH, Niu JQ. 1981. A preliminary study of hepatitis A virus in Chinese Tupaia. *Acta Acad Med Sin*, **3**(3): 148-152. [詹美云, 刘崇相, 李成明, 张文英, 朱纯, 庞其方, 赵同兴, 王长安, 王金利, 余昌晏, 李寿复, 佟智功, 林尊慧, 牛京勤. 1981. 甲型肝炎病毒感染树鼩的初步研究. *中国医学科学院学报*, **3**(3): 148-152.]