



李建民博士, 南京医科大学生殖医学与子代健康全国重点实验室教授, 科技部重大研发项目的首席科学家。运用基因编辑技术构建了近百个心血管代谢、生殖医学、传染病、免疫学等领域的小鼠、金黄仓鼠临床动物模型, 首次证实piRNA在哺乳类雌鼠中具有不可或缺的功能, 相关论文发表在*Nature Cell Biol*、*Nat Commun*等杂志上。

金黄仓鼠在临床医学中的研究进展

邱晨^{1,2} 李建民^{1,2,3,4*}

(¹南京医科大学生殖医学与子代健康全国重点实验室, 南京 211166; ²江苏省医药动物实验基地, 南京医科大学医药实验动物中心, 江苏省实验动物中心, 南京医科大学, 南京 211166; ³南京医科大学基础医学院细胞生物学系, 南京 211166; ⁴江苏省心血管病转化医学协同创新中心, 南京医科大学, 南京 211166)

摘要 动物模型是临床医学和新药研究的重要支撑条件。尽管小鼠模型应用广泛, 但近年来的研究显示, 小鼠并不能完全模拟人类疾病, 亟需新的动物模型弥补小鼠在各类研究中的不足。相比于小鼠, 金黄仓鼠(golden hamster, Syrian hamster), 在生殖、肿瘤、病毒学、脂代谢及心血管疾病等研究领域均显示, 其基因表达与人具有较高的相似性。随着基因编辑技术的进步, 金黄仓鼠在临床研究中的应用得以进一步拓展。该综述重点探讨基因编辑金黄仓鼠在生殖医学、脂代谢及心血管疾病、传染病、肿瘤等研究领域的最新进展, 阐明基因编辑金黄仓鼠模型在医学研究的应用, 以助于更好地理解基因在人类健康和疾病中的作用。

关键词 金黄仓鼠; 基因编辑; 不孕不育; 脂代谢; 新冠; 肿瘤

The Recent Progress of Golden Hamsters in Clinical Medicine

QIU Chen^{1,2}, LI Jianmin^{1,2,3,4*}

(¹State Key Laboratory of Reproductive Medicine and Offspring Health, Nanjing Medical University, Nanjing 211166, China; ²Jiangsu Laboratory Animal Center, Jiangsu Animal Experimental Center of Medicine and Pharmacy, Animal Core facility, Key Laboratory of Model Animal, Nanjing Medical University, Nanjing 211166, China; ³Department of Cell Biology, School of Basic Medical Sciences, Nanjing Medical University, Nanjing 211166, China; ⁴Collaborative Innovation Center for Cardiovascular Disease Translational Medicine, Nanjing Medical University, Nanjing 211166, China)

Abstract Animal models are essential for clinical medical research and new drug discovery. While the mouse model remains a primary animal model, recent evidence has highlighted its limitations in accurately reflect-

收稿日期: 2024-01-10

接受日期: 2024-03-15

国家重点研发计划(批准号: 2021YFF0702500)资助的课题

*通信作者。Tel: 025-86867146, E-mail: jianminli@njmu.edu.cn

Received: January 10, 2024 Accepted: March 15, 2024

This work was supported by the National Key Research and Development Program of China (Grant No.2021YFF0702500)

*Corresponding author. Tel: +86-25-86867146, E-mail: jianminli@njmu.edu.cn

ing human diseases. The development of alternative animal models is critical to overcome these obstacles in a variety of fields. Golden hamsters (Syrian hamsters) emerge as superior models for human disease studies in areas like reproduction, oncology, virology, lipid metabolism and cardiovascular diseases, due to their closer alignment with human gene expression patterns compared to mice. The advancement of gene editing techniques has further expanded the utility of golden hamsters as models for a range of human diseases. This review focuses on reproductive medicine, lipid metabolism and cardiovascular diseases, infectious diseases, and oncology, with an emphasis on the use of gene-edited golden hamsters in medical research to enhance the understanding of the role of genes in human health and diseases.

Keywords golden hamster; gene editing; infertility; lipid metabolism; COVID-19; tumors

人类疾病动物模型是基础研究向临床应用和
新药研究转化的重要桥梁,与人类疾病的相似性是
确保动物模型具有实用价值的基础^[1]。常用的实验
动物主要分为无脊椎动物和脊椎动物,无脊椎动物
主要为线虫和果蝇,脊椎动物主要为斑马鱼、小鼠、
大鼠、仓鼠、豚鼠、兔、犬、猪、猴等。在哺乳动
物中,兔、犬、猪、猴等大动物模型虽然在很多方
面接近人类,但实际应用中成本高、实验操作不便、
研发周期长和基因工程操作成功率低等问题限制了
其大规模的应用。小鼠因其体型小、易饲养和基因
修饰操作的标准化程度高,是目前应用最广泛的人
类疾病模式动物。

近年来,越来越多的研究显示,小鼠并不能完
全模拟人类临床疾病:小鼠缺少人类基因组中1 200
个基因;此外,还有大量的人类基因与小鼠同源性存
在较大差异或表达不同(www.ncbi.nlm.nih.gov/Gene,
www.ncbi.nlm.nih.gov/GEO)。如小鼠缺乏肝脏中表达的
胆固醇酯转运蛋白(cholesterol ester transfer protein,
CETP),导致小鼠脂代谢与人存在显著差异^[2];血管紧
张素转化酶2(angiotensin converting enzyme 2, ACE2)
是严重急性呼吸系统综合征冠状病毒2(SARS-CoV-2)
的宿主受体,然而,小鼠的Ace2蛋白与人类的ACE2蛋
白在与新冠病毒 SARS-CoV-2的刺突蛋白(SPIKE)结
合部位的序列同源性较低,这种同源性的差异导致小
鼠无法直接被SARS-CoV-2病毒感染^[3];人精子顶体酶
(ACROSIN)活性较高,其缺失可致精子穿卵失败,男
性不育^[4],但小鼠Acrosin活性较低,敲除后,雄鼠生育
率正常^[5]。这些研究结果表明,小鼠的表型与人类疾
病的相似度存在显著差距,并非完美的疾病模型。因
此,寻找新的哺乳类模式动物对于验证小鼠实验结果
和弥补基因功能研究的不足至关重要。

金黄仓鼠(golden hamster, Syrian hamster),也叫

叙利亚仓鼠,是一种广泛使用于生殖、肿瘤、病毒学、
糖尿病及心血管疾病等研究领域的啮齿类动物。与
大小鼠相比,金黄仓鼠具有独特的脂代谢和生殖周
期变化,代谢和心血管系统与人类更加接近,既具有
大动物模型的优点,又具有小动物模型易操作、易
繁殖、成本低等优点。同时,越来越多的研究显示,
金黄仓鼠比其他啮齿类动物模型在脂代谢、新血管
疾病、生殖医学、传染病学等领域具有更多的模拟
临床疾病的优势。

金黄仓鼠Ace2与人ACE2新冠结合靶点序列高
度同源,使其可以直接被新冠病毒感染,并成为联合
国世界卫生组织指定的新冠五大哺乳动物模型之
一^[3];此外,金黄仓鼠具有与人相似的肝脏特异表达
的胆固醇酯转运蛋白(cholesterol ester transfer protein,
CETP)^[2];金黄仓鼠的Acrosin与人高度同源并具有相
似的表达活性,Acrosin缺失的金黄仓鼠,表现出与人
ACROSIN突变相同的表型,金黄仓鼠与人Acrosin缺
失均导致雄性不育,这与小鼠模型中的观察结果截然
不同。因此,金黄仓鼠是比较医学研究领域的理想动
物模型。

1 金黄仓鼠在生殖医学研究中的应用

1.1 金黄仓鼠的生殖生理学特点

大小鼠为多发情周期动物,雌鼠性周期为4~5
天。金黄仓鼠虽与小鼠同为全年多发情动物,但其
稳定的4天发情周期和排卵特点,使其在生殖生理学
研究中独具优势(表1)。与大小鼠雄性生殖系统有凝
固腺不同,金黄仓鼠雄性生殖系统没有凝固腺,交配
后不会在雌鼠阴道内形成阴道栓。因此,判断交配
成功与否需通过阴道分泌物涂片,显微镜镜检是否
有精子来判断。

金黄仓鼠雌鼠在出生后28天达到性成熟,最佳

表1 金黄仓鼠与小鼠生殖生理特点比较

Table 1 Comparison of reproductive physiological characteristics between golden hamsters and mice

特征 Characteristics	金黄仓鼠 Golden hamster	小鼠 Mice
Sexual maturity	6 to 8 weeks	6 to 8 weeks
Mating age		
Female	7 to 8 weeks	8 weeks
Male	9 to 10 weeks	10 weeks
Estrous cycle	4 days (stable)	4 to 5 days
Duration of pregnancy	15 to 17 days	19 to 21 days
Weaning age	18 to 21 days	19 to 21 days
Litters per female	5 to 8 litters	2 to 8 litters
Estrous after parturition	Yes, 6 to 8 hours	Yes, 6 to 8 hours
Little size	6 to 15	5 to 10
Reproductive period		
Female	8 to 10 months	8 to 10 months
Male	12 to 14 months	12 to 14 months
Body weight	160 to 220 g	30 to 40 g
Life span	2.5 to 3 year	1.5 to 2.5 years
Light-dark cycles	14 h:10 h	12 h:12 h
Chromosome number	22	20
Superovulation of oocytes per female	50-60 oocytes	20-30 oocytes
Mating method (female:male)	1:1	1:2 or 1:1
Mating time	The male hamster must be removed after mating in five days, otherwise the female is likely to injure the male	Mating for a long period
Coagulating gland	No	Yes
Vaginal plug after mating	No	Yes
Detection after mating	Check sperms with microscope	Check the vaginal plug
The effect of light on embryonic development	Developmental arrest due to white light, need red light for culture	No effect
Microinjection environment	Red light	White light

配对繁育的年龄: 雄鼠9~10周, 雌鼠7~8周; 通常为雌雄1:1配对繁育。通常配对繁育后, 5天内需取出雄鼠, 以避免雌鼠追咬雄鼠, 金黄仓鼠的妊娠期是已知哺乳动物中最短的, 仅16天。交配通常在雌鼠发情第4天的晚上, 受精发生在第二个发情周期的第1天的2:00~13:00, 每胎产仔数为9~16只。金黄仓鼠的哺乳期与大小鼠相似, 为19~21天。金黄仓鼠的繁育还有另一个特点, 雄鼠需连续与雌鼠交配7次以上, 才有可能使雌鼠受孕。

金黄仓鼠的大小介于小鼠和大鼠之间, 成年金黄仓鼠体质量为180~220克, 在实验室中易于饲养。此外, 长光照时间有利于金黄仓鼠的繁育, 通常的光照比为明:暗=14 h:10 h。

1.2 金黄仓鼠在生殖生理学中的研究历史

金黄仓鼠用于配子和早期胚胎发育始于1963年, 日本的YANAGIMACHI等^[6]报道了金黄仓鼠的体外

受精(*in vitro* fertilization, IVF), 这是人类生殖研究中, 首次成功证实哺乳类精子在体外成功受精。这一发现为后续人类辅助生殖技术在临床上的应用发展奠定了坚实的基础。随后, HANADA等^[7]的研究进一步揭示了哺乳动物精子与卵细胞融合反应的基本生理学机制, 为深入理解受精过程提供了有力支持。此外, 金黄仓鼠稳定的生理周期(4天)特点, 也促进了人类生殖周期中子宫和胎盘血管动力学研究。

作为最早用于精子注射的实验动物, 金黄仓鼠在精子注射研究中也发挥了重要作用。1976年, 日本的UEHARA等^[8]首次报道, 通过注射来自附睾头部的精子, 可以激活金黄仓鼠卵细胞形成正常的雄原核和雌原核。这一发现为卵胞质内单精子注射(*intracyto-plasmic sperm injection*, ICSI)在其他哺乳动物模型中的推广应用提供了有力依据。基于此, ICSI技术已成为男性不育症患者常规的辅助受精手段。

尽管金黄仓鼠在生殖医学研究中具有显著优势,但其遗传修饰技术的发展仍面临挑战。与小鼠不同,金黄仓鼠的卵、受精卵和胚胎对温度、pH、光照等因素非常敏感,体外培养和显微操作易导致胚胎二细胞发育阻滞,这制约了金黄仓鼠显微注射技术的发展。小鼠基因修饰模型的快速发展得益于小鼠胚胎干细胞的发展和干细胞靶向技术的应用。迄今为止,尚未有关于金黄仓鼠胚胎干细胞的报道,缺乏金黄仓鼠胚胎干细胞同样限制了大规模遗传工程金黄仓鼠模型的研发与应用。

CRISPR/CAS9基因编辑技术的发展,为遗传工程金黄仓鼠模型的研发迎来了曙光,这一革命性的技术已成功应用于小鼠、大鼠、猪、灵长类等多种模式动物。2014年,美国犹他州立大学FAN等^[9]利用CRISPR/CAS9原核显微注射技术,成功构建了金黄仓鼠 *STAT2*、*KCNQ1*和*PPP1R12C*基因的全身敲除模型,为原核显微注射技术的标准化流程建立奠定了基础。2017年,日本HIROSE研究组^[10]利用CAS9注射结合输卵管电转技术,成功构建了酪氨酸酶基因敲除的金黄仓鼠,其呈现出白化毛色。尽管取得了一定成果,但金黄仓鼠基因编辑的效率仍不够理想,体外操作的成功率有待提高。

由于仓鼠假孕鼠无精栓检测困难、受精卵体外培养过程中的“二细胞发育阻滞”以及胚胎冷冻保存技术的瓶颈,基因工程技术在金黄仓鼠中的应用仍面临挑战。目前,金黄仓鼠的基因组编辑效率尚不能与小鼠、大鼠、家兔和小型猪等其他动物相媲美。

为了突破这些瓶颈,我们实验室优化CRISPR/CAS9金黄仓鼠基因编辑方法,建立了CRISPR/CAS9基因编辑胚胎二细胞显微注射技术^[11](表2)。利用该技术,成功构建转基因、基因敲入、基因敲除和条件型基因敲除金黄仓鼠等多种遗传工程金黄仓鼠模型,为遗传工程金黄仓鼠的大规模应用奠定了坚实基础。

1.3 金黄仓鼠模型在不孕不育症中的应用

不孕不育症严重威胁着人民的生命健康和社会稳定。表观遗传变异是导致配子发生和早期胚胎发育异常的关键因素之一,而非编码RNA通过表观遗传调控配子发生和胚胎发育成为当前生殖医学领域关注的焦点^[12-15]。其中,18~32 nt的与PIWI相互作用小分子RNA(PIWI-interacting RNA, piRNA)在配子发生和早期胚胎发育中具有重要的调节功能^[11,16-20]。

piRNA是一种长度为18~32 nt的RNA,在配子发生和早期胚胎发育中发挥着关键的调节作用。作为重要的表观遗传调控因子,piRNA能够沉默基因组转座因子(transposable element, TE),对维持生殖细胞基因组的稳定性和完整性发挥调控作用^[12,16,21]。目前已知超过20种进化上保守的蛋白质参与了piRNA的生成和调节^[16,22]。大多数哺乳动物(包括金黄仓鼠、农场动物、猴子、人类,以及非鼠类啮齿动物)基因组,均包含4种PIWI基因(*PIWIL1~PIWIL4*),而小鼠和大鼠缺少*PIWIL3*^[11](表3)。*Piwil3*在雌性生殖细胞中特异性表达,人和其他哺乳类具有特有的18~21 nt的*PIWIL3*-piRNA^[18,23]。piRNA调控通路对动物生殖发育是必需的,其

表2 金黄仓鼠辅助生殖及基因编辑技术的发展^[10]

Table 2 Development of assisted reproduction and gene editing technologies in golden hamster ^[10]	
年份 Year	技术 Techonology
1963	IVF using <i>in vitro</i> capacitated spermatozoa
1972	Interspecific IVF using zona-free oocytes (hamster test)
1976	ICSI using epididymal spermatozoa
1988	Development of hamster embryo culture medium lacking glucose and phosphate
1992	Birth of live pups following IVF
1993	Fertilization of oocytes with round spermatids
1999	Vitrification of embryos
2002	Birth of pups following ICSI
2004	Birth of pups following ROSI
2014	Gene targeting by pronucleus microinjection with CRISPR/CAS9
2017	Genome editing via oviductal nucleic acid delivery, i-GONAD
2021	Gene targeting by two-cell embryo microinjection with CRISPR/CAS9

表3 哺乳动物中的*PIWI*基因Table 3 *PIWI* gene in mammals

基因 Gene	人 Human	金黄仓鼠 Golden hamster	大、小鼠 Rat, mice	猪、猴、犬 Pig, monkey, dog	鲸类 Whales
<i>PIWIL1</i>	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
<i>PIWIL2</i>	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
<i>PIWIL3</i>	Yes	Yes	No	Yes	Yes
<i>PIWIL4</i>	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes

中,斑马鱼、果蝇及仓鼠的雌、雄性生殖发育均依赖于该通路^[12],人piRNA相关蛋白PNLDC1、MOV10L1、PIWIL1的突变可引起少精、无精,从而导致男性不育^[16]。然而,小鼠各种piRNA-PIWI通路相关基因的突变仅引起雄性不育^[24-29],甚至同时敲除3个*PIWI*基因的雌性小鼠也能生育^[30]。越来越多的研究显示,小鼠卵细胞中无论是*Piwi*基因还是piRNA的组成类型和表达特征在哺乳动物中均不具有代表性,这些结果说明了小鼠模型在piRNA-PIWI研究中的局限性。为了更全面地理解piRNA在哺乳动物雌性生殖中的作用,需要进一步研究其他哺乳动物模型,如金黄仓鼠等,以提供更为准确的代表性数据。

2021年,国外两个课题组与我们实验室同时报道了金黄仓鼠piRNA缺失在雌鼠中具有不可或缺的功能,*Piwil1*与*Mov10L1*突变都会导致雄性精子发生停滞和不育,并引起雌鼠二细胞胚胎阻滞^[11,19](图1)。金黄仓鼠*Piwil3*敲除,仅引起雌性生育力下降^[17,20]。在金黄仓鼠模型中,其piRNA表达情况与人类相似,我们研究发现,当piRNA通路中的关键基因被敲除时,雄性和雌性的生殖都受到了严重的影响,这一结果与非哺乳动物的相关表型一致。同时,这为深入研究piRNA通路在高等动物卵细胞发生和早期胚胎发育中的功能和机制提供了新的切入点,也为开发新的治疗方法提供了重要的动物模型。

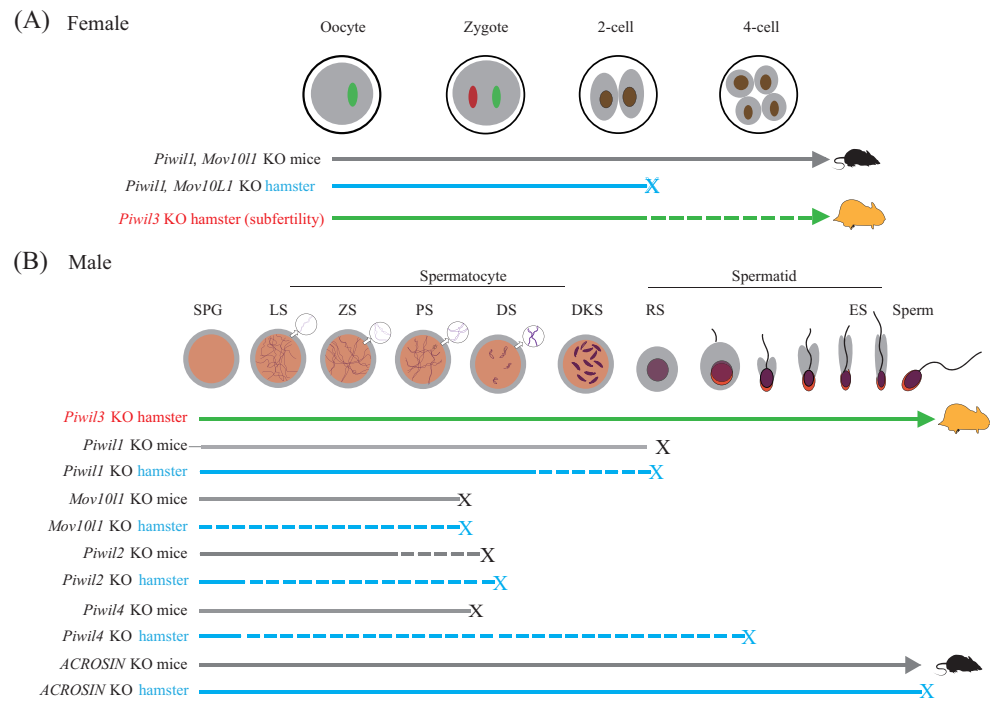
piRNA-PIWI轴在不同哺乳类动物中的功能存在显著差异,金黄仓鼠卵母细胞和胚胎中的piRNA簇群(19、23和29 nt)呈现动态表达。这些piRNA分别对应PIWIL1结合的23 nt/29 nt piRNA和PIWIL3结合的19 nt piRNA^[17,20]。研究显示,分别破坏PIWIL1和*Mov10L1*会使仓鼠卵母细胞中的所有3个piRNA簇群缺失,并导致LINE1和LTR反转录转座子过表达^[11]。HASUWA等^[17]的研究发现,尽管野生型卵母细胞中存在PIWIL3结合的TE piRNA(与TE相关的piRNA),

但PIWIL3缺乏并不会过度抑制反转录转座子。这表明PIWIL1和PIWIL3在卵母细胞的转座子调节中具有不同的功能^[11,17,20],至少一些TE piRNA在金黄仓鼠卵母细胞的转座子沉默中发挥着积极作用。

piRNA-PIWI轴相关基因在早期胚胎发育中参与了合子激活。早期胚胎发育过程中,合子激活是一个关键事件,受到卵母细胞中母源性基因mRNA的程序性降解及胚胎中新mRNA生成的调控转换的控制,这一过程被称为“合子基因组激活”^[31-32]。通过转录组分析,我们发现金黄仓鼠PIWIL1缺陷胚胎中伴随母体mRNA降解的减少,大量合子基因未能被激活^[11]。

2023年,我们与中国科学院吴立刚研究员合作系统分析了*Piwil1~4*在金黄仓鼠中的功能,分别敲除金黄仓鼠*Piwil2*和*Piwil4*,发现与小鼠相似,PIWIL2、PIWIL4的缺失导致雄鼠不育,但并不影响金黄仓鼠雌鼠的生育力^[20],*Piwil2*突变和*Piwil4*突变雌性仓鼠的产仔数目与野生型相比没有显著差别。然而,与小鼠相比,PIWIL1、PIWIL2、PIWIL4缺失金黄仓鼠的精子阻滞时相存在物种差异:*Piwil1*敲除仓鼠,精子发生阻滞起于粗线期或双线期精母细胞。*Piwil2*、*Piwil4*敲除仓鼠精子发生阻滞始于精原细胞,90%以上阻滞在偶线期,仅2%~5%的精母细胞可发育到粗线期和双线期;在*Piwil4*敲除的仓鼠中,可观察到极少的圆形精子。而在小鼠中的研究显示,PIWIL1缺失导致精子发生阻滞在圆形精子阶段;PIWIL2缺失精子发生被阻滞在偶线期至粗线期;PIWIL4缺失则被阻滞在细线期到偶线期(图1)。

受精过程中,精子穿透透明带伴随着大量的水解酶作用,其中精子顶体蛋白酶ACROSIN被认为是一个重要的哺乳动物顶体中的丝氨酸蛋白酶。ACROSIN活性的下降,临床上被认为是生育力下降的指标之一。然而,大小鼠*Acrosin*敲除后精子穿透透明带的能力并未受到影响,且雄性生育力正常。因此,顶体酶活性的异常或缺失已作为临床上的诊断指标,



A: 敲除*Piwill1*、*Mov10l1*、*Piwill3*基因的雌性小鼠和金黄仓鼠胚胎发育表型比较; B: 敲除PIWI-piRNA通路相关基因在雄性小鼠和金黄仓鼠精子发生中的表型比较。2-cell: 2细胞胚胎; 4-cell: 4细胞胚胎; SPG: 精原细胞; LS: 细线期精母细胞; ZS: 偶线期精母细胞; PS: 粗线期精母细胞; DS: 双线期精母细胞; DKS: 终变期精母细胞; RS: 圆形精子细胞; ES: 长型精子细胞。

A: comparison of the embryonic development phenotype of *Piwill1*-deficient, *Piwill3*-deficient and *Mov10l1*-deficient female between golden hamsters and mice; B: comparison of the phenotype of PIWI-piRNA pathway related genes knockout male between golden hamsters and mice during gametogenesis. 2-cell: two-cell embryo; 4-cell: four-cell embryo; SPG: spermatogonium; LS: leptotene spermatocyte; ZS: zygotene spermatocyte; PS: pachytene spermatocyte; DS: diplotene spermatocyte; DKS: diakinesis spermatocyte; RS: round spermatid; ES: elongating spermatid.

图1 金黄仓鼠和小鼠生殖表型比较

Fig.1 Comparison of reproductive phenotypes between golden hamster and mouse

但因缺乏动物模型,其是否会导致受精失败,科研人员仍存有不同的看法。2020年,HIROSE等^[33]研究发现,敲除金黄仓鼠*Acrosin*基因后,其精子数量、活力和前向运动能力均与野生型没有明显区别,但突变的精子无法穿透透明带;去除卵透明带,缺失ACROSIN的仓鼠精子,可以正常受精,揭示ACROSIN是精子穿透透明带不可缺少的顶体酶,这与人类ACROSIN突变表型相同^[4,33]。

在此之前,小鼠通常被用作生殖医学的模式生物,但对于某些基因功能,小鼠的表型并不完全与人类相对应,这种不匹配限制了我们对于人类生殖生物学研究。在*Acrosin*和piRNA研究中发现的新机制,促使我们重新审视曾经为生殖医学带来巨大突破的金黄仓鼠这一模式生物。金黄仓鼠在某些关键生殖基因表型上与人类相似的特征,有助于更深入研究这些基因在人类生殖中的功能和分子作用机制,这有望为生殖障碍的治疗提供新方法,从而对人类生殖健康产生深远影响。

2 金黄仓鼠在脂质代谢和心血管疾病模型研究中的应用

在代谢和心血管系统方面,金黄仓鼠与人类的相似度高于小鼠。在脂代谢方面,金黄仓鼠与人类有相似的特点(表4):肝脏特异性表达CETP;只有小肠才具有载脂蛋白B48(apolipoprotein B48, ApoB48)酶活性^[34];高脂饲料诱导2个月即可产生复合型高血脂,形成主动脉脂纹,最终可形成复杂的晚期斑块,具有类似于人类病灶的特征,包括平滑肌细胞构成的纤维帽、结缔组织基质,以及内含脂质沉积的坏死斑块^[35-36]。人类的心血管疾病多为常染色体显性遗传病,在纯合子和杂合子个体之间,疾病的临床症状轻重程度存在着显著差异。然而,这种基因型异质性在目前的大小鼠动物模型中很难得到忠实的再现^[37-38]。例如,小鼠*Ldlr*敲除为隐性遗传,而人类*Ldlr*突变为显性遗传。仓鼠*Ldlr*突变表现为常染色体显性遗传,显示出与人相似的遗传性状^[39]。

家族性高胆固醇血症(familial hypercholester-

表4 部分哺乳类动物脂代谢疾病模型的特点
Table 4 Characteristics of mammalian models of lipid metabolism diseases

特征 Characteristics	仓鼠 Golden hamster	人 Human	小鼠/大鼠 Mice/rat
CETP gene	Yes	Yes	No
Dominant plasmid	LDL high	LDL high	HDL high
APOB expression	Intestine	Intestine	Intestine/liver
APOB100	VLDL/LDL	VLDL/LDL	CM/VLDL/LDL
APOB48	CM (chylomicron)	CM	CM/VLDL
Hepatic LDL receptor abundance	Low	Low	High
LDLR knockout phenotype	Dominant inheritance	Dominant inheritance	Recessive inheritance
LDL clearance	70% via hepatocyte LDL receptor	70% via hepatocyte LDL receptor	Lower via hepatocyte LDL receptor
Extrahepatic cholesterol synthesis	85%	90%	50%
Susceptibility to atherosclerotic plaques	Susceptibility	Susceptibility	Resistance
Locations of atherosclerotic plaques	Unknown	Common outside the aorta	Rare outside the aorta
Instability of atherosclerotic plaques	Possibility Instability	Instability	Stability

olemia, FH)是一种由低密度脂蛋白受体(LDL receptor, *LDLR*)^[40]、载脂蛋白B(apolipoprotein B, *ApoB*)和前蛋白转化酶枯草溶菌素9(proprotein convertase subtilisin/Kexin type 9, *PCSK9*)基因突变引起的常染色体显性遗传疾病。其中, 85%~90%的病变由 *Ldlr* 突变引起^[41]。临床研究数据显示, 杂合子患者具有较高的低密度脂蛋白胆固醇 (low-density lipoprotein cholesterol, LDL-C)水平, 常伴有早发心血管疾病。纯合突变患者在新生儿期即存在非常高的胆固醇水平, 并在儿童或青少年时期出现心血管疾病。在小鼠模型中的研究显示, *Ldlr* 缺失的杂合子无论是否给予高脂诱导, 均无任何明显的血脂、血管病变和FH特征。然而, 在金黄仓鼠模型中, *Ldlr* 敲除的杂合子表现出明显的高胆固醇血症, 伴有主动脉和冠状动脉病变。纯合子 *Ldlr* 敲除金黄仓鼠在标准饮食下即可发生高胆固醇血症和自发性动脉粥样硬化, 而高脂诱导则可加速动脉粥样硬化的病变并导致死亡。这一模型准确再现了临床FH的特征, 表明了金黄仓鼠 *Ldlr* 敲除模型在研究人动脉粥样硬化方面优于小鼠模型^[39]。

载脂蛋白C2(apolipoprotein C2, *ApoC2*)是低密度脂蛋白的组成成分, 介导水解富含甘油三酯的血浆脂蛋白, 为细胞提供游离脂肪酸。*ApoC2* 缺陷的患者表现出严重的高甘油三酯血症(hypertriglyceridemia, HTG)和复发性急性胰腺炎, 同时, 他们所面

临的动脉粥样硬化风险也相应增加^[42-43]。由于小鼠 *ApoC2* 缺失导致胚胎致死, 限制了临床上 *ApoC2* 功能的研究。敲除金黄仓鼠 *ApoC2* 基因后发现, 尽管 *ApoC2* 纯合敲除的幼崽在出生时即面临死亡的风险, 但通过连续静脉注射正常仓鼠血清或在出生时进行单次静脉注射 AAV-*hApoC2*, 可以挽救这些新生鼠的生命^[44]。成年的 *ApoC2* 纯合敲除金黄仓鼠表现出独特的HTG表型, 并伴有低血糖、低胰岛素血症和自发性动脉粥样硬化。该表型与人类临床中 *ApoC2* 突变的表现高度相似^[44-45], 因此可作为研究 *ApoC2* 缺陷患者的诊断治疗方法及开发新药的有效动物模型。

通过基因编辑技术获得基因编辑金黄仓鼠, 为脂代谢等相关基因的功能研究提供了新的视角, 这些模型揭示了新的表型特征与生物学机制, 并提示了仓鼠可能比小鼠更适用于构建脂代谢及其他代谢性疾病模型。金黄仓鼠模型可用于动脉粥样硬化、脂肪肝和糖尿病等疾病的发生机制研究和新药的研发。

3 金黄仓鼠是新冠等传染病研究理想的动物模型

传染性疾病仍然是人类健康面临的最大挑战之一。为了更好地了解传染病的发病机制, 研发有效的诊断工具、药物和预防性疫苗, 需要构建合适的传染病动物模型。金黄仓鼠对传染性病原体的免疫反应与人类相似, 已被用作 SARS 冠状病毒、

流感病毒和腺病毒等多种呼吸道病毒感染的动物模型^[3,46-50]。现有研究表明, 金黄仓鼠模型对于探究感染的发病机制、评估药物及疫苗的有效性, 以及研究疫苗与病原体之间的相互作用具有重要价值。

2019冠状病毒病(COVID-19)是由SARS-CoV-2病毒引起的呼吸道感染疾病。截至2023年12月20日, 全球COVID-19感染人口高达8亿, 已报道的死亡人数超过700万。2020年2月, 世界卫生组织组建的COVID-19动物模型专家联盟, 基于不同物种新冠靶点ACE2与人的同源性和实际感染效果, 确定了蝙蝠、雪貂、猴子、仓鼠和转基因ACE2小鼠为五大新冠哺乳动物模型^[3]。

SARS-CoV-2利用病毒刺突蛋白SPIKE2与肺细胞膜受体ACE2结合, 经跨膜丝氨酸蛋白酶2(transmembrane protease serine subtype 2, TM-PRSS2)协同并进入细胞。小鼠中已有研究显示, 小鼠ACE2与人ACE2的靶点序列同源性低, 无法有效结合病毒刺突蛋白, 导致小鼠不能被SARS-CoV-2感染^[51]。为了解决这一问题, 有研究者研发了多种人源化ACE2转基因小鼠模型用于新冠感染的研究。如人K18(human keratin 18)启动子操控的人源化小鼠(K18-*hACE2*)、SV40-*hACE2*小鼠和内源性*Ace2*原位插入的人源化*hACE2*小鼠[*mACE2^{tm(hACE2)}*]等转基因小鼠均可被SARS-CoV-2感染, 但这些小鼠感染模型与人类ACE2临床表达模式仍存在显著差异^[52-53]。例如, SARS-CoV-2感染K18-*hACE2*小鼠可部分导致高致死性肺炎^[52,54-55]。基因编辑动物模型的ACE2表达模式不同, 导致感染致病范围变化较大, 这与临床病症不相符。尽管感染的人源化小鼠模型可用于发病机制研究, 并为疫苗及治疗方法的效果提供有价值的实验数据, 但其病理性死亡机制与人不同, 因此这些模型仍具有一定的局限性, 不能完全替代具有基础性重症疾病的新冠病毒感染患者的动物模型。

越来越多的研究显示, 金黄仓鼠ACE2与新冠病毒SPIKE2蛋白亲和度高, 并且金黄仓鼠和人一样可直接被新冠病毒感染^[56]。金黄仓鼠鼻内感染新冠病毒后, 表现出轻度到中度感染症状; 感染后1~2天, 即出现进行性体重减轻, 呼吸困难。其发病的症状还包括嗜睡、驼背姿势。感染2周后, 仓鼠通常会痊愈^[57-58]。但少数金黄仓鼠感染后, 即使病毒被清除,

其临床症状仍可以延续到7周以上, 存在明显的肺部病理损伤, 类似人类的长新冠。因此, 金黄仓鼠可以用于长新冠病理机制的研究。

与人类中COVID-19的流行病学统计结果相似, 不同年龄和性别的仓鼠, SARS-CoV-2感染症状的发生和发展存在差异。研究报告显示, 与年轻仓鼠和雌性仓鼠相比, 老年仓鼠和雄性仓鼠感染新冠病毒后, 更易出现严重的感染症状^[59-60], 类似于人类患者中男性重症患者是女性的2倍。研究表明, SARS-CoV-2可通过密切接触和非接触途径在金黄仓鼠之间传播^[56,60], 这种通过气溶胶将SARS-CoV-2有效传播的模式, 有助于利用仓鼠研究新型冠状病毒的传播动力学机制。金黄仓鼠模型也可直接用于新冠治疗药物的筛选: 高剂量的法匹拉韦可轻度降低仓鼠肺部的感染性病毒滴度, 而药物羟氯喹(hydroxy-chloroquine)(含或不含阿奇霉素)则无任何作用^[56]。此外, 研究显示金黄仓鼠可用于SARS-CoV-2候选疫苗和中和抗体的筛选^[61-62]。

新冠病毒的快速变异给动物模型带来挑战。迄今为止, 所有的变异病毒(如SARS-CoV-Delta、Omicron BA.4和BA.5)仍可有效感染金黄仓鼠^[63-64]。2022年, *Nature*期刊报道了两篇关于随机整合的人源化转基因K18-*ACE2*金黄仓鼠用于新冠变异的研究。与人源化ACE2转基因小鼠感染致死性不同, Omicron BA.4和BA.5并没有导致K18-*hACE2*转基因仓鼠的死亡^[63-64]。然而, 我们实验室构建的H11-K18-*hACE2*人源化金黄仓鼠感染SARS-CoV-2-Delta、Omicron BA.5后, 均在5~6天死亡(未发表数据)。这一结果提示, 不同的人源化ACE2动物模型可能由于ACE2表达水平不同, 而导致感染表型的差异。因此, 未来对不同来源的人源化ACE2模型, 亟需建立基因表达水平统一的检测标准。

综上, 金黄仓鼠模型在模拟人类轻、中度COVID-19方面展现了出色的临床、病毒学、组织病理学和免疫学特征。此外, 转基因金黄仓鼠可有效弥补金黄仓鼠缺乏重症模型的不足。由于可直接感染、易繁殖、体型小等诸多优点, 仓鼠模型已成为研究SARS-CoV-2的发病机制、传播、治疗和疫苗接种的重要平台。

4 金黄仓鼠在肿瘤研究中的应用

目前, 小鼠是使用最多的啮齿动物肿瘤模型,

小鼠模型为理解人类肿瘤的病理机制和治疗做出了巨大贡献,但也存在显著的局限性。小鼠肿瘤自然发生率较低,其恶性转移的癌症发展进程缓慢,表现出一定的天然抗癌能力。与此同时,金黄仓鼠是一种有效的啮齿类肿瘤动物模型,早先用于模拟口腔癌的发生和研究,通过局部使用致癌化学物质,如7,12-二甲苯并蒽(7,12-dimethylbenz[a]anthracene, DMBA)而引起口腔癌^[65-66]。

口腔癌是一种广泛流行的癌症类型,约90%的病例是鳞状细胞癌,已成为第六大恶性肿瘤^[65]。尽管口腔癌治疗取得了进展,但口腔恶性肿瘤的发病率和死亡率仍然很高。口腔癌的发生是一个多阶段过程,它是由癌基因和抑癌基因连续性的基因变化引发的,这些变化导致口腔黏膜逐步经历增生、不典型增生(临床上表现为白斑或红斑,即癌前病变)、原位癌,最终发展为浸润性癌症^[65]。利用金黄仓鼠颊囊的免疫豁免特性,YAPIJAKIS等^[65-66]构建了口腔序贯癌变(sequential oral carcinogenesis)金黄仓鼠模型。YAPIJAKIS使用“擦拭”方法,将致癌物DMBA涂抹在每只仓鼠的左侧颊囊,并在随后的第10、14和19周取出处理过的左侧颊囊,右侧作为阴性对照。经DMBA处理的左侧颊囊模拟了与人类口腔癌相似的发生和发展过程:正常、角化过度、增生、不典型增生、早期浸润、中分化癌、高分化癌。分子机制研究揭示,金黄仓鼠口腔癌病理发生过程中,癌基因*Egfr*、*ErbB2*、*ErbB3*、*Myc*、*Nras*、*Hras*,抑癌基因*p53*和*p16*以及细胞增殖标志物Ki-67的表达特点与人一致^[67-69]。DMBA诱导的金黄仓鼠鳞状细胞癌与人类口腔鳞状细胞癌具有相似的形态学、组织学和遗传特征,推动了金黄仓鼠口腔癌模型在新的治疗药物和方法研究中的应用。如利用金黄仓鼠模型建立的硼中子捕获疗法(boron neutron capture therapy, BNCT)、光动力疗法(photodynamic therapy)^[70]、化学预防疗法、植物药(如芹菜素、鼠尾草酸)防治疗法^[71]等,均取得了不错的临床疗效。

金黄仓鼠也常用于制备肺癌模型,通过气道灌注多环碳氢化合物、石棉、粉尘等,可以诱发肺癌,其病理和组织学特征与人肺癌相似。此外,金黄仓鼠还可用于构建胰腺癌模型。胰腺癌是一种极其致命的疾病,2022年全球肿瘤报告显示有近50万人死亡,5年生存率很低^[72]。*N*-亚硝基二(2-氧代丙基)胺[*N*-nitrosobis(2-oxopropyl)amine, BOP]诱导的仓鼠胰

腺导管腺癌模型,类似于人类胰腺癌症,并且有相似的基因[如*K-ras*(Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog)、*CDKN2A*(cyclin dependent kinase inhibitor 2A)和*SMAD4*(SMAD family member 4)]突变^[73-74]。利用该模型,发现了4-甲硫基-3-丁烯基异硫氰酸酯、异硫氰酸苄酯、萝卜硫素、绿茶多酚和β-胡萝卜素等具有一定的抗胰腺癌作用^[75-76]。

在很长一段时间内,由于金黄仓鼠缺少像小鼠一样的基因修饰模型,限制了其在肿瘤研究领域的发展。最近,金黄仓鼠基因编辑技术的发展,突破了金黄仓鼠化学诱导癌症模型的限制。李-佛美尼综合征(Li-Fraumeni syndrome, LFS)是一种常染色体显性遗传病,在胚胎发育时,*TP53*(tumor protein p53)突变致使患者具有较高的多种原发性恶性肿瘤(如乳腺癌、脑癌、肺癌和肾上腺癌等多种组织肿瘤)发生风险^[77]。人类*TP53*缺陷的急性粒细胞白血病(acute myeloid leukemia, AML)是最致命的AML类型之一,预后不良,中位生存期约为6个月,而*TP53*缺陷的人类AML是目前所有的AML中最难治疗的白血病。*TP53*纯合突变小鼠不能完全表现人类癌症的所有的表型,而且通常不会发展出AML或其他髓系疾病。但是,*TP53*缺陷金黄仓鼠可以发展出AML,这为测试在小鼠模型中可能失败或不可行的新疗法提供了新的有价值的动物模型^[78-79]。

白介素2受体γ链(interleukin 2 receptor subunit gamma chain, IL2Rg)是一种位于淋巴细胞表面的糖蛋白分子,*Il2rg*缺失可致T细胞和NK细胞缺失,B细胞功能缺陷。*Il2rg*敲除小鼠已被广泛用于人源化异种肿瘤移植模型(patient-derived tumor xenograft, PDX)的研发^[80]。但由于小鼠与人的生长因子和细胞因子并不完全兼容,所以*Il2rg*敲除小鼠异种移植的成功率会受到影响。尽管人源生长因子和细胞因子转基因重度免疫缺陷小鼠(*Prkdc*与*Il2rg*双敲除小鼠)增加了人源化移植的成功率,但小鼠抗原特异的适应性免疫反应并不能完全适用于所有的PDX模型。在小鼠模型中,一些人类细胞因子如粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, GM-CSF)^[81]和IL-12(interleukin 12)^[82-83]不起作用,但是GM-CSF和IL-12却可与金黄仓鼠细胞发生交叉反应^[81-83]。MIAO等^[84]将人胰腺肿瘤MIA-PaCa-2细胞系分别采用皮下移植方式接种到免疫缺陷B-NDG小鼠(在NOD-*Prkdc* scid基础

上敲除 *Il2rg* 基因的小鼠)和 *Il2rg* 敲除金黄仓鼠中,移植的人类胰腺癌细胞在这两种模型中均能生长发育,其在金黄仓鼠中能转移到肺、肾和肾上腺,然而,在B-NDG小鼠中未观察到其转移现象。

这些研究展现了金黄仓鼠特有的癌症表型与人类癌症的相似性,预示着金黄仓鼠有望成为人类癌症研究动物模型的重要补充。

5 展望

随着大规模基因组计划的完成,人类已进入了功能基因组时代。大规模的小鼠基因敲除和表型分析显示,那些可能在人类或其他物种中具有重要的生物学功能的基因,在小鼠模型中仅表现出“缺乏功能”或者“功能冗余”。例如,肾素系统ACE在人类临床上的缺失或突变会导致新生儿死亡,但在小鼠模型上并未显示出明显的表型。此外,我们对人、仓鼠、小鼠进行比较基因组分析发现,人的基因组中至少有1 000个编码基因与仓鼠基因高度同源,但小鼠基因组中并不存在这些基因,如 *Piwi3*(Piwi like RNA-mediated gene silencing 3)、*Cetp*、*TDRD15*(tudor domain containing 15)等编码基因。金黄仓鼠为这些基因的功能研究提供了重要的动物模型。

基因编辑金黄仓鼠在生殖医学、脂代谢及心血管疾病、传染病(如新冠)和肿瘤等领域均展现出了与人相似的表型,为探索在小鼠模型中无显著表型的人类基因功能提供了可能性和新的工具。在金黄仓鼠模型中,“缺乏功能”或者“功能冗余”的基因有可能展现全新的分子作用机制,从而有助于获得更全面的基因功能信息,深揭基因网络在生物体内的复杂性。利用金黄仓鼠,将有助于更好地研究这些基因在不同生物背景下的表型变化和功能,有望阐明这些基因在人类健康和疾病中的深层次作用,为发现新的药物靶点和开发精准有效的治疗策略提供切实的途径。

参考文献 (References)

- [1] PASTERKAMP G, VAN DER LAAN S W, HAITJEMA S, et al. Human validation of genes associated with a murine atherosclerotic phenotype [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2016, 36(6): 1240-6.
- [2] DONG Z, SHI H, ZHAO M, et al. Loss of LCAT activity in the golden Syrian hamster elicits pro-atherogenic dyslipidemia and enhanced atherosclerosis [J]. *Metabolism*, 2018, 83: 245-55.
- [3] MUNOZ-FONTELA C, DOWLING W E, FUNNELL S G P, et al. Animal models for COVID-19 [J]. *Nature*, 2020, 586(7830): 509-15.
- [4] HUA R, XUE R, LIU Y, et al. ACROSIN deficiency causes total fertilization failure in humans by preventing the sperm from penetrating the zona pellucida [J]. *Hum Reprod*, 2023, 38(6): 1213-23.
- [5] BABA T, AZUMA S, KASHIWABARA S, et al. Sperm from mice carrying a targeted mutation of the acrosin gene can penetrate the oocyte zona pellucida and effect fertilization [J]. *J Biol Chem*, 1994, 269(50): 31845-9.
- [6] YANAGIMACHI R, CHANG M C. Fertilization of Hamster Eggs in Vitro [J]. *Nature*, 1963, 200: 281-2.
- [7] HANADA A, CHANG M C. Penetration of zone-free eggs by spermatozoa of different species [J]. *Biol Reprod*, 1972, 6(2): 300-9.
- [8] UEHARA T, YANAGIMACHI R. Microsurgical injection of spermatozoa into hamster eggs with subsequent transformation of sperm nuclei into male pronuclei [J]. *Biol Reprod*, 1976, 15(4): 467-70.
- [9] FAN Z, LI W, LEE S R, et al. Efficient gene targeting in golden Syrian hamsters by the CRISPR/Cas9 system [J]. *PLoS One*, 2014, 9(10): e109755.
- [10] HIROSE M, OGURA A. The golden (Syrian) hamster as a model for the study of reproductive biology: Past, present, and future [J]. *Reprod Med Biol*, 2019, 18(1): 34-9.
- [11] ZHANG H, ZHANG F, CHEN Q, et al. The piRNA pathway is essential for generating functional oocytes in golden hamsters [J]. *Nat Cell Biol*, 2021, 23(9): 1013-22.
- [12] OZATA D M, GAINETDINOV I, ZOCH A, et al. PIWI-interacting RNAs: small RNAs with big functions [J]. *Nat Rev Genet*, 2019, 20(2): 89-108.
- [13] TAYLOR D H, CHU E T, SPEKTOR R, et al. Long non-coding RNA regulation of reproduction and development [J]. *Mol Reprod Dev*, 2015, 82(12): 932-56.
- [14] ROBLES V, VALCARCE D G, RIESCO M F. Non-coding RNA regulation in reproduction: their potential use as biomarkers [J]. *Noncoding RNA Res*, 2019, 4(2): 54-62.
- [15] CHU C, ZHANG Y L, YU L, et al. Epididymal small non-coding RNA studies: progress over the past decade [J]. *Andrology*, 2019, 7(5): 681-9.
- [16] WANG X, RAMAT A, SIMONELIG M, et al. Emerging roles and functional mechanisms of PIWI-interacting RNAs [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2023, 24(2): 123-41.
- [17] HASUWA H, IWASAKI Y W, AU YEUNG W K, et al. Production of functional oocytes requires maternally expressed PIWI genes and piRNAs in golden hamsters [J]. *Nat Cell Biol*, 2021, 23(9): 1002-12.
- [18] ISHINO K, HASUWA H, YOSHIMURA J, et al. Hamster PIWI proteins bind to piRNAs with stage-specific size variations during oocyte maturation [J]. *Nucleic Acids Res*, 2021, 49(5): 2700-20.
- [19] LOUBALOVA Z, FULKA H, HORVAT F, et al. Formation of spermatogonia and fertile oocytes in golden hamsters requires piRNAs [J]. *Nat Cell Biol*, 2021, 23(9): 992-1001.
- [20] LÜ X, XIAO W, LAI Y, et al. The non-redundant functions of PIWI family proteins in gametogenesis in golden hamsters [J]. *Nat Commun*, 2023, 14(1): 5267.

- [21] DAI P, WANG X, GOU L T, et al. A translation-activating function of MIWI/piRNA during mouse spermiogenesis [J]. *Cell*, 2019, 179(7): 1566-81.e16.
- [22] DAI P, WANG X, LIU M F. A dual role of the PIWI/piRNA machinery in regulating mRNAs during mouse spermiogenesis [J]. *Sci China Life Sci*, 2020, 63(3): 447-9.
- [23] YANG Q, LI R, LYU Q, et al. Single-cell CAS-seq reveals a class of short PIWI-interacting RNAs in human oocytes [J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 3389.
- [24] GOU L T, KANG J Y, DAI P, et al. Ubiquitination-deficient mutations in human Piwi cause male infertility by impairing histone-to-protamine exchange during spermiogenesis [J]. *Cell*, 2017, 169(6): 1090-104.e13.
- [25] CARMELL M A, GIRARD A, VAN DE KANT H J, et al. MIWI2 is essential for spermatogenesis and repression of transposons in the mouse male germline [J]. *Dev Cell*, 2007, 12(4): 503-14.
- [26] KURAMOCHI-MIYAGAWA S, KIMURA T, IJIRI T W, et al. Mili, a mammalian member of piwi family gene, is essential for spermatogenesis [J]. *Development*, 2004, 131(4): 839-49.
- [27] DENG W, LIN H. miwi, a murine homolog of piwi, encodes a cytoplasmic protein essential for spermatogenesis [J]. *Dev Cell*, 2002, 2(6): 819-30.
- [28] WATANABE T, CHUMA S, YAMAMOTO Y, et al. MITOPLD is a mitochondrial protein essential for nuage formation and piRNA biogenesis in the mouse germline [J]. *Dev Cell*, 2011, 20(3): 364-75.
- [29] ZHENG K, XIOL J, REUTER M, et al. Mouse MOV10L1 associates with Piwi proteins and is an essential component of the Piwi-interacting RNA (piRNA) pathway [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107(26): 11841-6.
- [30] CHENG E C, KANG D, WANG Z, et al. PIWI proteins are dispensable for mouse somatic development and reprogramming of fibroblasts into pluripotent stem cells [J]. *PLoS One*, 2014, 9(9): e97821.
- [31] JIANG Z Y, FAN H Y. Five questions toward mRNA degradation in oocytes and preimplantation embryos: when, who, to whom, how, and why [J]? *Biol Reprod*, 2022, 107(1): 62-75.
- [32] SCHULZ K N, HARRISON M M. Mechanisms regulating zygotic genome activation [J]. *Nat Rev Genet*, 2019, 20(4): 221-34.
- [33] HIROSE M, HONDA A, FULKA H, et al. Acrosin is essential for sperm penetration through the zona pellucida in hamsters [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2020, 117(5): 2513-8.
- [34] REAVES S K, WU J Y, WU Y, et al. Regulation of intestinal apolipoprotein B mRNA editing levels by a zinc-deficient diet and cDNA cloning of editing protein in hamsters [J]. *J Nutr*, 2000, 130(9): 2166-73.
- [35] KRIS-ETHERTON P M, DIETSCHY J. Design criteria for studies examining individual fatty acid effects on cardiovascular disease risk factors: human and animal studies [J]. *Am J Clin Nutr*, 1997, 65(5 Suppl): 1590S-6S.
- [36] UEHARA Y, URATA H, IDEISHI M, et al. Chymase inhibition suppresses high-cholesterol diet-induced lipid accumulation in the hamster aorta [J]. *Cardiovasc Res*, 2002, 55(4): 870-6.
- [37] JAWIEN J. The role of an experimental model of atherosclerosis: apoE-knockout mice in developing new drugs against atherogenesis [J]. *Curr Pharm Biotechnol*, 2012, 13(13): 2435-9.
- [38] ZHAO Y, YANG Y, XING R, et al. Hyperlipidemia induces typical atherosclerosis development in Ldlr and Apoe deficient rats [J]. *Atherosclerosis*, 2018, 271: 26-35.
- [39] GUO X, GAO M, WANG Y, et al. LDL receptor gene-ablated hamsters: a rodent model of familial hypercholesterolemia with dominant inheritance and diet-induced coronary atherosclerosis [J]. *EBioMedicine*, 2018, 27: 214-24.
- [40] GOLDSTEIN J L, BROWN M S. The LDL receptor locus and the genetics of familial hypercholesterolemia [J]. *Annu Rev Genet*, 1979, 13: 259-89.
- [41] KHERA A V, WON H H, PELOSO G M, et al. Diagnostic yield and clinical utility of sequencing familial hypercholesterolemia genes in patients with severe hypercholesterolemia [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2016, 67(22): 2578-89.
- [42] ABEDI A H, YILDIRIM SIMSIR I, BAYRAM F, et al. Genetic variants associated with severe hypertriglyceridemia: LPL, APOC2, APOA5, GPIHBP1, LMF1, and APOE [J]. *Turk Kardiyol Dern Ars*, 2023, 51(1): 10-21.
- [43] UEDA M, DUNBAR R L, WOLSKA A, et al. A novel APOC2 missense mutation causing apolipoprotein C-II deficiency with severe triglyceridemia and pancreatitis [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2017, 102(5): 1454-7.
- [44] YANG C, TIAN W, MA S, et al. AAV-mediated ApoC2 gene therapy: reversal of severe hypertriglyceridemia and rescue of neonatal death in ApoC2-deficient hamsters [J]. *Mol Ther Methods Clin Dev*, 2020, 18: 692-701.
- [45] GAO M, YANG C, WANG X, et al. ApoC2 deficiency elicits severe hypertriglyceridemia and spontaneous atherosclerosis: a rodent model rescued from neonatal death [J]. *Metabolism*, 2020, 109: 154296.
- [46] MIAO J, CHARD L S, WANG Z, et al. Syrian hamster as an animal model for the study on infectious diseases [J]. *Front Immunol*, 2019, 10: 2329.
- [47] ROBERTS A, VOGEL L, GUARNER J, et al. Severe acute respiratory syndrome coronavirus infection of golden Syrian hamsters [J]. *J Virol*, 2005, 79(1): 503-11.
- [48] WOLD W S, TOTH K. Chapter three: Syrian hamster as an animal model to study oncolytic adenoviruses and to evaluate the efficacy of antiviral compounds [J]. *Adv Cancer Res*, 2012, 115: 69-92.
- [49] MIFSUD E J, TAI C M, HURT A C. Animal models used to assess influenza antivirals [J]. *Expert Opin Drug Discov*, 2018, 13(12): 1131-9.
- [50] IWATSUKI-HORIMOTO K, NAKAJIMA N, ICHIKO Y, et al. Syrian hamster as an animal model for the study of human influenza virus infection [J]. *J Virol*, 2018, 92(4): e01693-17.
- [51] WAN Y, SHANG J, GRAHAM R, et al. Receptor recognition by the novel coronavirus from Wuhan: an analysis based on decade-long structural studies of SARS coronavirus [J]. *J Virol*, 2020, 94(7): e00127-20.
- [52] BAO L, DENG W, HUANG B, et al. The pathogenicity of SARS-CoV-2 in hACE2 transgenic mice [J]. *Nature*, 2020, 583(7818): 830-3.
- [53] ZHENG J, WONG L R, LI K, et al. COVID-19 treatments and pathogenesis including anosmia in K18-hACE2 mice [J]. *Nature*, 2021, 589(7843): 603-7.
- [54] WINKLER E S, BAILEY A L, KAFANI N M, et al. SARS-CoV-2

- infection of human ACE2-transgenic mice causes severe lung inflammation and impaired function [J]. *Nat Immunol*, 2020, 21(11): 1327-35.
- [55] YU P, DENG W, BAO L, et al. Comparative pathology of the nasal epithelium in K18-hACE2 Tg mice, hACE2 Tg mice, and hamsters infected with SARS-CoV-2 [J]. *Vet Pathol*, 2022, 59(4): 602-12.
- [56] SIA S F, YAN L M, CHIN A W H, et al. Pathogenesis and transmission of SARS-CoV-2 in golden hamsters [J]. *Nature*, 2020, 583(7818): 834-8.
- [57] CHAN J F, ZHANG A J, YUAN S, et al. Simulation of the clinical and pathological manifestations of coronavirus disease 2019 (COVID-19) in a golden Syrian hamster model: implications for disease pathogenesis and transmissibility [J]. *Clin Infect Dis*, 2020, 71(9): 2428-46.
- [58] BROCATO R L, PRINCIPE L M, KIM R K, et al. Disruption of adaptive immunity enhances disease in SARS-CoV-2-infected Syrian hamsters [J]. *J Virol*, 2020, 94(22): e01683-20.
- [59] OSTERRIEDER N, BERTZBACH L D, DIETERT K, et al. Age-dependent progression of SARS-CoV-2 infection in Syrian hamsters [J]. *Viruses*, 2020, 12(7): 779.
- [60] IMAI M, IWATSUKI-HORIMOTO K, HATTA M, et al. Syrian hamsters as a small animal model for SARS-CoV-2 infection and countermeasure development [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2020, 117(28): 16587-95.
- [61] SANCHEZ-FELIPE L, VERCRUYSE T, SHARMA S, et al. A single-dose live-attenuated YF17D-vectored SARS-CoV-2 vaccine candidate [J]. *Nature*, 2021, 590(7845): 320-5.
- [62] ROGERS T F, ZHAO F, HUANG D, et al. Isolation of potent SARS-CoV-2 neutralizing antibodies and protection from disease in a small animal model [J]. *Science*, 2020, 369(6506): 956-63.
- [63] URAKI R, HALFMANN P J, IIDA S, et al. Characterization of SARS-CoV-2 Omicron BA.4 and BA.5 isolates in rodents [J]. *Nature*, 2022, 612(7940): 540-5.
- [64] ULRICH L, HALWE N J, TADDEO A, et al. Enhanced fitness of SARS-CoV-2 variant of concern Alpha but not Beta [J]. *Nature*, 2022, 602(7896): 307-13.
- [65] VAIRAKTARIS E, SPYRIDONIDOU S, PAPAKOSTA V, et al. The hamster model of sequential oral oncogenesis [J]. *Oral Oncol*, 2008, 44(4): 315-24.
- [66] YAPIJAKIS C, KALOGERA S, PAPAKOSTA V, et al. The hamster model of sequential oral carcinogenesis: an update [J]. *In Vivo*, 2019, 33(6): 1751-5.
- [67] VAIRAKTARIS E, MOULAVASSILI P, LOUKERI S, et al. Abundance and localization of skeletal muscle-related erbB2 may stimulate tumour growth during initial stages of oral oncogenesis [J]. *J Musculoskelet Neuronal Interact*, 2007, 7(2): 185-90.
- [68] VAIRAKTARIS E, RAGOS V, YAPIJAKIS C, et al. FGFR-2 and -3 play an important role in initial stages of oral oncogenesis [J]. *Anticancer Res*, 2006, 26(6B): 4217-21.
- [69] PAPAKOSTA V, VAIRAKTARIS E, VYLLIOTIS A, et al. The co-expression of c-myc and p53 increases and reaches a plateau early in oral oncogenesis [J]. *Anticancer Res*, 2006, 26(4B): 2957-62.
- [70] PARIHAR A, DUBE A, GUPTA P K. Photodynamic treatment of oral squamous cell carcinoma in hamster cheek pouch model using chlorin p6-histamine conjugate [J]. *Photodiagnosis Photodyn Ther*, 2013, 10(1): 79-86.
- [71] GOMEZ-GARCIA F J, LOPEZ-JORNET M P, ALVAREZ-SANCHEZ N, et al. Effect of the phenolic compounds apigenin and carnosic acid on oral carcinogenesis in hamster induced by DMBA [J]. *Oral Dis*, 2013, 19(3): 279-86.
- [72] SIEGEL R L, MILLER K D, FUCHS H E, et al. Cancer statistics, 2022 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2022, 72(1): 7-33.
- [73] TERASAKI M, NISHIZAKA Y, MURASE W, et al. Effect of fucoxanthinol on pancreatic ductal adenocarcinoma cells from an *N*-nitrosobis(2-oxopropyl)amine-initiated Syrian golden hamster pancreatic carcinogenesis model [J]. *Cancer Genomics Proteomics*, 2021, 18(3 Suppl): 407-23.
- [74] TAKAHASHI M, HORI M, MUTOH M, et al. Experimental animal models of pancreatic carcinogenesis for prevention studies and their relevance to human disease [J]. *Cancers*, 2011, 3(1): 582-602.
- [75] MAJIMA T, TSUTSUMI M, NISHINO H, et al. Inhibitory effects of beta-carotene, palm carotene, and green tea polyphenols on pancreatic carcinogenesis initiated by *N*-nitrosobis(2-oxopropyl)amine in Syrian golden hamsters [J]. *Pancreas*, 1998, 16(1): 13-8.
- [76] KUROIWA Y, NISHIKAWA A, KITAMURA Y, et al. Protective effects of benzyl isothiocyanate and sulforaphane but not resveratrol against initiation of pancreatic carcinogenesis in hamsters [J]. *Cancer Lett*, 2006, 241(2): 275-80.
- [77] ROCCA V, BLANDINO G, D'ANTONA L, et al. Li-Fraumeni syndrome: mutation of TP53 is a biomarker of hereditary predisposition to tumor: new insights and advances in the treatment [J]. *Cancers*, 2022, 14(15): 3664.
- [78] MIAO J, LI R, WETTERE A J V, et al. Cancer spectrum in TP53-deficient golden Syrian hamsters: a new model for Li-Fraumeni syndrome [J]. *J Carcinog*, 2021, 20: 18.
- [79] WANG Z, CORMIER R T. Golden Syrian hamster models for cancer research [J]. *Cells*, 2022, 11(15): 2395.
- [80] ZHOU Y, XIA J, XU S, et al. Experimental mouse models for translational human cancer research [J]. *Front Immunol*, 2023, 14: 1095388.
- [81] CHO S A, PARK J H, SEOK S H, et al. Effect of granulocyte macrophage-colony stimulating factor (GM-CSF) on 5-FU-induced ulcerative mucositis in hamster buccal pouches [J]. *Exp Toxicol Pathol*, 2006, 57(4): 321-8.
- [82] ZHOU W, MIAO J, CHENG Z, et al. Hypoxia-regulated secretion of IL-12 enhances antitumor activity and safety of CD19 CAR-T cells in the treatment of DLBCL [J]. *Mol Ther Oncolytics*, 2023, 30: 216-26.
- [83] LI S, GUO Y, NING W, et al. Oncolytic virus Ad-TD-nsIL-12 inhibits glioma growth and reprograms the tumor immune microenvironment [J]. *Life Sci*, 2024, 336: 122254.
- [84] MIAO J X, WANG J Y, LI H Z, et al. Promising xenograft animal model recapitulating the features of human pancreatic cancer [J]. *World J Gastroenterol*, 2020, 26(32): 4802-16.