

糖尿病鼠模型研究新进展

陈郊丽 综述, 杨莹 审校

(云南省第二人民医院, 昆明医学院第四附属医院内分泌与代谢病科, 云南昆明 650021)

[摘要] 建立理想的动物模型是对糖尿病病因、发病机理及其药物治疗进行研究的重要途径。糖尿病鼠模型的制备方法可以分为自发性、实验性诱发模型、转基因模型等, 各有其特点。对 1、2 型糖尿病鼠模型研究新进展做一综述。

[关键词] 糖尿病; 动物模型; 鼠

[中图分类号] R587.1 [文献标识码] A [文章编号] 1003 - 4706 (2012) 02 - 0144 - 03

Progress in Diabetic Rat Model

CHEN Jiao - li, YANG Ying

(Dept. Endocrinology and Metabolism, The 2nd Hospital of Yunnan Province, The 4th Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming Yunnan 650021, China)

[Abstract] For an in-depth discussion on etiology, pathogenesis and drug treatment of diabetes, the establishment of the ideal diabetic animal model is an important way to undertake a study on diabetes mellitus. Preparation method can be divided into spontaneous diabetes mellitus rat model, induced by experimental models, transgenic and gene knockout models, each with its characteristic. This review will be an update to rat models of type 1 and type 2 diabetes mellitus in these years.

[Key words] Diabetes; Animal mode; Rat

随着人们生活水平的提高和人口老龄化的加速, 糖尿病患病率逐年上升, 为深入探讨糖尿病病因、发病机理及其药物治疗, 建立理想的动物模型是对糖尿病进行研究的重要途径。由于大鼠便于饲养, 具有成本较低的显著特点, 被大量用于糖尿病动物模型的建立。

1 自发性糖尿病鼠模型

自发性糖尿病动物模型 (spontaneous diabetes animal model) 是动物自然发生的糖尿病, 与人类糖尿病有相似之处, 或通过遗传育种培养而保留下来的糖尿病。该模型绝大多数采用自发糖尿病倾向的近交系纯种动物。

1.1 1 型糖尿病动物模型

1.1.1 糖尿病大鼠 (The biobreeding diabetes-prone rat, BBDP) 在 70 年代末和 80 年代初建立了这

种 1 型糖尿病鼠动物模型。早期研究发现自身反应性 T 淋巴细胞诱导的自身免疫破坏胰腺 β 细胞引发胰腺炎及胰岛素缺乏是发生 1 型糖尿病的主要原因, 揭示了 BBDP 和 NOD 是多基因遗传性的 1 型糖尿病动物模型。已经确定的基因有 RT1u 等位基因 (Iddm1) 和 Gimap5 (Iddm2)^[1]。大鼠的糖尿病发作是突然的, 早期干预如抗 CD25 何麦考酚酸酯 (MMF) 可以预防糖尿病的发生^[2]。

1.1.2 NOD 小鼠 (no obesity diabetes, NOD)

是 JCI ~ ICR 品系小鼠衍生的 CTS (白内障易感亚系) 糖尿病小鼠近亲杂交而来, 其发病是由 T 细胞 (包括 CD4 和 CD8 细胞) 介导的 β 细胞损伤引起全胰岛炎症。长久以来发现 1 型糖尿病 NOD 小鼠胰岛素反应的 CD4+ T 细胞是胰岛素 B 链的一个肽段的靶细胞, 该肽段可与 NOD 小鼠的 II 型组织相容性抗原、(MHCII), IA (g7) 相结合。根据是否引起将该肽链的第 6 位的甘氨酸取

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(30960148);云南省中青年学术技术带头人后备人才基金资助项目 (2011CI045)
[作者简介] 陈郊丽 (1984 ~), 女, 云南会泽县人, 医学学士, 住院医师, 主要从事内分泌临床、研究工作。
[通讯作者] 杨莹. E-mail:yangying2072@sohu.com

代为 B:21 谷氨基酸, 这些 T 细胞又分为 2 类, Crawford F 等^[3]应用荧光胰岛素 -IA (g7) 四聚体进行细胞克隆实验, 发现在糖尿病前期的 NOD 小鼠中胰岛中有较高的 CD4 (+) T 细胞, 提示胰岛素的产生过程中是否存在 B:21 谷氨基酸, 是 NOD 小鼠发生 1 型糖尿病的关键。

1.1.3 LEW.1ARI/ztm-iddm 大鼠 是 Lewis 大鼠 MHC 单倍型自发突变株的自发性自身免疫 1 型糖尿病动物模型^[4]。胰岛的急性损伤主要是 ED1 阳性的巨噬细胞和 T 淋巴细胞, 包含了大量的 CD8 (+) 和少量 CD4 (+) 淋巴细胞, 其他的内外分泌腺 (如肾上腺、甲状腺、唾液腺和颌下腺) 及消化道器官不受急性免疫损伤的影响。糖尿病显现 6 个月后与之相伴的糖尿病肾病出现了, 这个病理过程包括了肾小球和近端小管的损伤。

1.2 2 型糖尿病 (T2DM) 动物模型

1.2.1 KK 小鼠 KK 小鼠是 1941 年 Kondo K 用日本商人的 Kasukabe 小鼠原种群培育而成, 属先天遗传缺陷性小鼠, 具有和成人肥胖性糖尿病相似的性质, 表现为先天性胰岛素抵抗, 体型肥胖, 随着鼠龄增长、饮食行为改变, 转变为高血糖和糖尿病的显性糖尿病。该小鼠的腺垂体, 肝脏, 肾上腺和甲旁腺亦有相应的增生改变。目前广泛用于糖尿病肾病的研究^[5]。

1.2.2 ob/ob 小鼠 (obese mice, ob)、db/db 小鼠 (diabetes mice, db) 均属遗传性肥胖 T2DM 动物模型, ob、db 基因是常染色体隐性基因, 其发病均与瘦素 (leptin) 基因有关。小鼠表现为严重的肥胖、多食、多尿, 继而出现糖尿、高血糖和高胰岛素血症^[6], 是研究 2 型糖尿病的良好模型。

1.2.3 OLETF 大鼠 (otsuka long-evans tokushima fatty, OLETF) OLETF 大鼠是一个新的自发性 T2DM 大鼠品系, 研究发现其糖尿病的发生与 odb-1 及 odb-2 基因有关, 胆囊收缩素受体 mRNA 表达完全缺失, 睾酮也是引起其发病的重要因素。该大鼠的胰岛素抵抗和腹部脂肪沉积密切相关。早期胰岛内及其周围轻中度淋巴细胞浸润; 随后出现胰岛内或周围增生和纤维化; 晚期胰岛极端萎缩, 功能明显减退, 合并糖尿病肾病改变, 与人类 T2DM 表现相似^[7]。

1.2.4 GK 大鼠 (Goto-Kakizaki Rat, GK) GK 大鼠是一个日本的大鼠品系, 是自发性非肥胖 2 型糖尿病鼠种。该鼠种有几个表现糖尿病性状的易感基因定位 (不同基因编码引起 B 细胞代谢异常, 但没有大规模损害 B 细胞; 妊娠期代谢障碍诱导后代胰腺 B 细胞减少, 来传代 2 型糖尿病;

B 细胞受损导致慢性高血糖症/高血脂症、胰岛炎症、胰岛氧化应激、胰岛纤维化, 主要表现为葡萄糖刺激的胰岛素分泌受损, 长期患病后, 出现各种并发症和神经系统疾病^[8]。

1.2.5 Zucker 大鼠 Zucker 糖尿病肥胖大鼠系 (zucker diabetic fatty, ZDF) 是从出现糖尿病表型的 Zucker (fa/fa) 大鼠中选出来的。ZDF 大鼠表现为典型的肥胖、高胰岛素血症、高血糖、高血脂、外周胰岛素抵抗另外还伴发高血压, 是研究糖尿病伴发高血压的理想动物模型, 在 Zucker 大鼠的视网膜中可观察到由这些代谢综合征所致的微观改变^[9]。

2 实验性糖尿病动物模型

实验性糖尿病动物模型是指用各种物理或学方法损伤胰腺或胰岛 β 细胞导致胰岛素缺乏, 可引起实验性糖尿病或实验性高血糖, 如外科手术、免疫性、病毒性、激素性和化学药物性糖尿等, 是应用于药理学研究的经典方法。

2.1 实验性 1 型糖尿病动物模型

2.1.1 四氧嘧啶 (ALX) 及链脲佐菌素 (STZ) 诱发的 1 型糖尿病动物模型 ALX 和 STZ 是传统的 1 型糖尿病化学造模方法, 造模成功率较高, 对各种类型的实验动物都有效。在体外细胞实验对两者的研究发现^[10], 小鼠离体胰岛细胞在 STZ 或 ALX 孵育 30 min, 导致浓度依赖性逐渐 β 细胞功能丧失。随着 ALX 浓度的增加, β 细胞 GLUT2 (葡萄糖转运子 2) 和 GK (葡萄糖激酶) 的 mRNA 表达下降, 而 STZ 不影响两者的表达。随着 STZ 浓度的增加损失, β 细胞 GLUT2 蛋白表达减少。STZ 和 ALX 都能影响前胰岛素 mRNA 表达。ALX 和 STZ 不是直接引起 β 细胞凋亡, 因为这两种药物刺激后, 在对照组和不通浓度刺激组之间, 总的蛋白质和 RNA 含量没有差别。该课题组进一步用 D-葡萄糖和 5-T-G (化学结构与 D-葡萄糖类似的 5-硫-D-葡萄糖) 先孵育后, 再重复该试验得到了相同的结论: 在糖尿病造模过程中 GLUT2 和 GK 的 mRNA 是 ALX 的靶分子物质, 而 GLUT2 蛋白是 STZ 的靶分子物质。

2.1.2 病毒诱导方法 许多病毒对 β 细胞都存在潜在的损伤, 它们的分子机制差异很大, 有速发的或慢性的自身免疫破坏, 如柯萨奇病毒、风疹病毒、流行性腮腺炎病毒、巨细胞病毒、逆转录病毒等。Londono^[11]等用 Kilham 大鼠病毒造模时, 同时用小剂量地塞米松, 有效的阻止了 β 细胞的自身免疫破坏的, 提出 1 型糖尿病预防的新思路。

2.2 实验性 2 型糖尿病动物模型

2.2.1 四氧嘧啶 (ALX) 及链脲佐菌素 (STZ) 诱发的 2 型糖尿病动物模型

穆松牛等^[12]选择 SD 大鼠, 饲喂高糖高脂饲料, 3 周后, 给大鼠 1 次性腹腔注射 STZ 25 mg/kg; 成功制备 T2DM 动物模型. 张松筠等^[13]选择健康 7 周龄雄性 SD 大鼠, 予高脂饮食 8 周后, 腹腔注射链脲佐菌素 (0.5% 链脲佐菌素, 30 mg/kg, 0.1 mmol/L 柠檬酸缓冲液, pH 4.4). 10 d 后, 成功制备 2 型糖尿病大鼠.

2.2.2 手术切除胰腺诱发 2 型糖尿病动物模型

有学者研究发现切除大鼠 50% 胰腺, 联合使用 NAD (尼克酰胺) 350 mg/kg 及 STZ 200 mg/kg, 能造成稳定的 2 型糖尿病模型^[14].

3 转基因 2 型糖尿病动物模型

因动物 (transgenic animal) 技术是通过遗传工程的手段对动物基因组的结构或组成进行人为的修饰或改造, 并通过相应的动物育种技术使得这些经修饰改造后的基因组在世代间得以传递和表现.

3.1 MKR 转基因小鼠

骨骼肌胰岛素样生长因子-1 受体的功能缺失的 MKR 小鼠由美国国立卫生研究院 (NIH) Dr. LeRoith 等于 2001 年建立, 此鼠不仅有 IGF-1 受体的功能缺失, 而且由于杂交型受体的形成, 表现为胰岛素受体的功能缺失. MKR 小鼠在出生 3 周开始, 出现显著血糖升高, 5 周后即表现出显著的胰岛素抵抗、高血糖、胰岛 B 细胞功能紊乱及脂代谢紊乱等. 模型发病快、应用简单、存活率高, 是一种研究 2 型糖尿病的极好动物模型.

3.2 Glis3 基因缺陷小鼠

Glis3 基因是 Glis 家族的成员, 它是一个含有 5 个 C2H2, 一个锌指结构的转录因子. Glis3 突变可导致新生儿糖尿病和甲状腺功能减退, 并伴有其他器官疾病如遗传性多囊肾 (PKD) 和肝纤维化等. Glis3/Glis3^{-/-} 小鼠出生后即表现高血糖, 使胰腺中的胰岛素 mRNA 水平降低, 从而抑制胰岛生长, 使胰岛素生成细胞减少.

近年来糖尿病鼠模型得到了充分的发展, 这些模型的造模机理也有了充分的阐述, 让我们在实际应用这些动物模型时更有选择性. 这些模型可以简单的分为两大类: 基因诱导的自发性糖尿病模型和实验诱导的非自发性糖尿病模型. 在实验中, 非自发性糖尿病鼠模型比自发性的糖尿病鼠模型应用得更多, 因为非自发性的糖尿病鼠模型价格便宜、方便诱导成糖尿病状态、高血糖状态容易维持, 所以应用广泛. 新的糖尿病鼠模型还会源

源不断的研发.

[参考文献]

- [1] WALLIS R H, WANG K, MARANDI L, et al. Type 1 diabetes in the BB rat: a polygenic disease [J]. *Diabetes*, 2009, 58: 1 007.
- [2] UGRASBUL F, MOORE W V, TONG P Y, et al. Prevention of diabetes: effect of mycophenolate mofetil and anti-CD25 on onset of diabetes in the DRBB rat [J]. *Pediatr Diabetes*, 2008, 9: 596 - 601.
- [3] CRAWFORD F, STADINSKI B, JIN N, et al. Specificity and detection of insulin-reactive CD4⁺ T cells in type 1 diabetes in the nonobese diabetic (NOD) mouse [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2011, 108(40): 16 729 - 16 734.
- [4] JORNS A, KUBAT B, TIEDGE M, et al. Pathology of the pancreas and other organs in the diabetic LEW.1AR1/Ztm-iddm rat, a new model of spontaneous insulin-dependent diabetes mellitus [J]. *Virchows Arch*, 2004, 444: 183 - 189.
- [5] OHARA I, TANIMOTO M, GOHDA T, et al. Effect of combination therapy with angiotensin receptor blocker and 1,25-dihydroxyvitamin D (3) in type 2 diabetic nephropathy in KK-A (y)/Ta mice [J]. *Nephron Exp Nephrol*, 2011, 117: 124 - 132.
- [6] SRINIVASAN K, RAMARAO P. Animal models in type 2 diabetes research: an overview [J]. *Indian J Med Res*, 2007, 125: 451 - 472.
- [7] ISHIDA K, MIZUNO A, MIN Z, SANO T, et al. Which is the primary etiologic event in Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty rats, a model of spontaneous non-insulin-dependent diabetes mellitus, insulin resistance, or impaired insulin secretion [J]. *Metabolism*, 1995, 44: 940 - 945.
- [8] PORTHA B, LACRAZ G, CHAVEY A, et al. Islet structure and function in the GK rat [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2010, 654: 479 - 500.
- [9] YANG Y, HAYDEN M R, SOWERS S, et al. Retinal red-ox stress and remodeling in cardiometabolic syndrome and diabetes [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2010, 3: 392 - 403.
- [10] GAI W, SCHOTT-OHLY P, SCHULTE IM WALDE S, et al. Differential target molecules for toxicity induced by streptozotocin and alloxan in pancreatic islets of mice in vitro. *Exp Clin Endocrinol* [J]. *Diabetes*, 2004, 112: 29 - 37.
- [11] LONDONO P, KOMURA A, HARA N, et al. Brief dexamethasone treatment during acute infection prevents virus-induced autoimmune diabetes [J]. *Clin Immunol*, 2010, 135: 401 - 411.
- [12] 穆松牛 康, 谢彦海. 大鼠 2 型糖尿病动物模型的建立 [J]. *江西医学院学报*, 2009, 49(8): 16 - 19.
- [13] 郝咏梅, 张杨. 食源性肥胖 2 型糖尿病模型建立 [J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2010, 14(28): 5 212 - 5 214.
- [14] KURUP S, BHONDE R R. Combined effect of nicotinamide and streptozotocin on diabetic status in partially pancreatectomized adult BALB/c mice [J]. *Horm Metab Res*, 2000, 32: 330 - 334.

(2012-01-07 收稿)