

解决稀缺困境 | 罕见病小鼠模型来啦!

罕见病，是指发病率很低、很少见的疾病，一般为慢性、严重的疾病，常常危及生命。罕见病并非特指某种疾病，而是对一大类散落在各个疾病系统的罕见疾病的统称。



罕见病，是指发病率很低、很少见的疾病，一般为慢性、严重的疾病，常常危及生命。罕见病并非特指某种疾病，而是对一大类散落在各个疾病系统的罕见疾病的统称。

根据美国食品与药物管理局（FDA）的统计，全球已知的罕见病约有7,000多种，占人类疾病数量的10%。全球罕见病患者已超过2.5亿，患者中近50%为儿童。已知的7,000多种罕见病中，仅有不到10%的疾病有已批准的治疗药物或方案。但大部分罕见病由于与其他疾病药物相比，研发过程更为艰辛，患者人数少，临床试验难度更高，因此至今仍直接威胁患者生命或严重影响生存质量。

面对罕见病患者数量少，研究样本稀缺，临床试验难度高的困境，合适的动物模型就显得尤为重要了。稳定可靠的罕见病动物模型的建立与供应，对于罕见病的发病机制研究、药物靶点研究以及治疗效果评价等方面都具有不可估计的潜力。

01 罕见病小鼠模型助力发病机制研究

示例：Fgf23-R176Q基因突变小鼠

常染色体显性遗传性低磷佝偻病（ADHR）是由成纤维细胞生长因子23（FGF23）第176或179位氨基酸的杂合点突变引起的，使得体内FGF23水平持续增高，尿磷排泄增加，血磷下降。ADHR的临床表现为，儿童期发病者多表现为下肢畸形、身材矮小，成人或青少年期发病者多表现为骨痛、乏力、骨质软化。

将Fgf23-R176Q基因突变小鼠（ADHR）与野生型WT小鼠置于对照或低铁饮食中，发现接受低铁饮食的WT和ADHR小鼠的骨Fgf23 mRNA均显著升高，相比之下，低铁饮食的ADHR小鼠伴有低磷酸盐血症性骨软化症

(Fig.1)。这些发现表明ADHR可能是一种通过基因与环境相互作用产生的疾病，Fgf23突变和铁缺乏的共同存在可导致ADHR[1]。

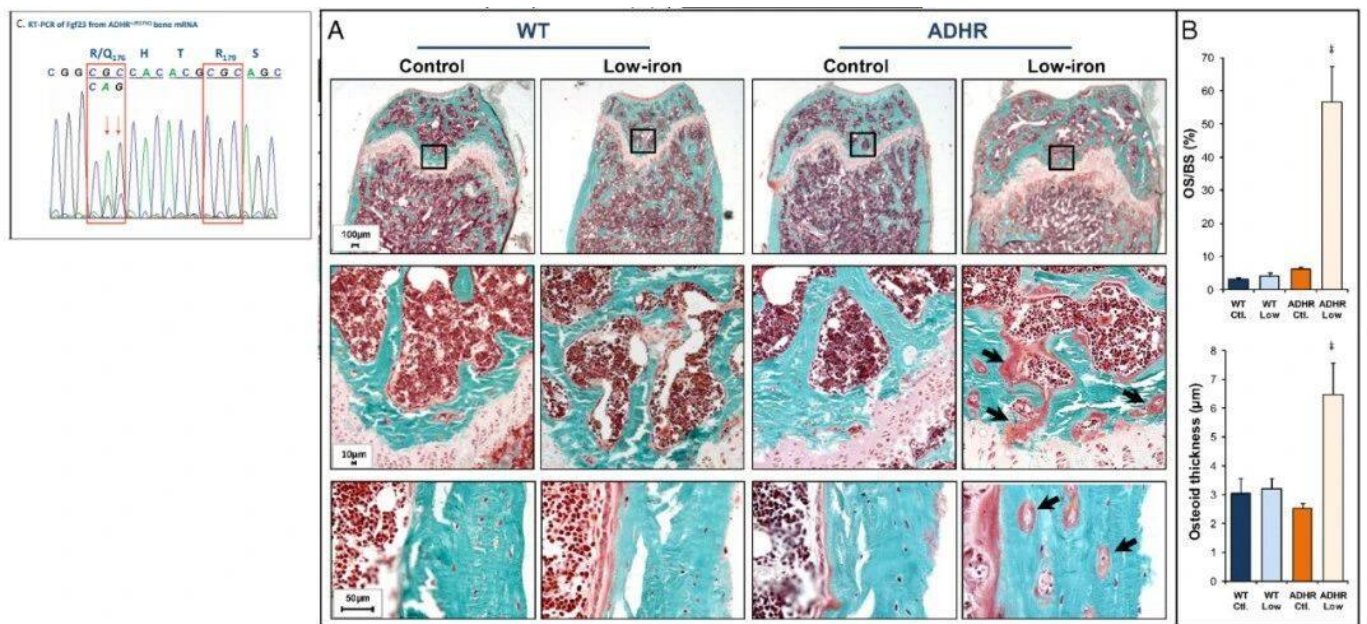


Fig.1 铁离子缺失导致Fgf23突变小鼠出现ADHR症状

基于以上研究，因此在2019年的一项临床研究中，对ADHR患者进行了为期12个月的口服铁替代治疗的前瞻性试验性临床试验。在铁治疗期间，基线低磷血症的三名受试者的血清磷均正常化，症状明显改善，并且可以停用骨化三醇和磷酸盐[2]。

02罕见病小鼠模型为疾病诊疗提供理想模型

示例：G6pc-CKO小鼠

糖原累积病（包括 I 型、II 型）均是常染色体隐性遗传病。其中，糖原贮积病Ia型（GSD-Ia）是由葡萄糖6磷酸酶催化亚基基因（G6PC）功能缺失突变引起的。典型表现为婴幼儿期起病的肝脏肿大、生长发育落后、空腹低血糖、高脂血症、高尿酸血症和高乳酸血症等。GSD-Ia并发症包括具有肝细胞癌（HCC）形成风险的肝细胞腺瘤（HCA）。

1996年，首次创建了G6pc敲除小鼠模拟人类GSD-Ia型患者的病理生理。这些小鼠表现出非常严重的葡萄糖稳态平衡表型，断奶后难以存活[3]。2006年，研究人员对2周龄的G6pc敲除小鼠给予编码G6Pase的腺相关病毒（AAV）载体。结果发现，与未经治疗的G6pc敲除小鼠仅存活2周相比，载体给药后生存期延长至7个月[4]。

但是G6pc敲除鼠的生存期较短，在药物治疗研究中窗口期较短，因此为药物研发过程带来一定难度。目前已经有研究者建立了肝脏特异性G6pc敲除小鼠模型（G6pc-flox与Alb-Cre交配），LS-G6pc-/-小鼠，作为研究肝脏的长期病理生理学和潜在治疗策略（例如细胞疗法）的替代动物模型（Fig.2）[5,6]。最近的一项

研究已经利用LS-G6pc^{-/-}小鼠探索了使用外泌体microRNA (Exo-miRs) 作为疾病标志物的可能性[7]。

A CONDITIONAL ALLELE

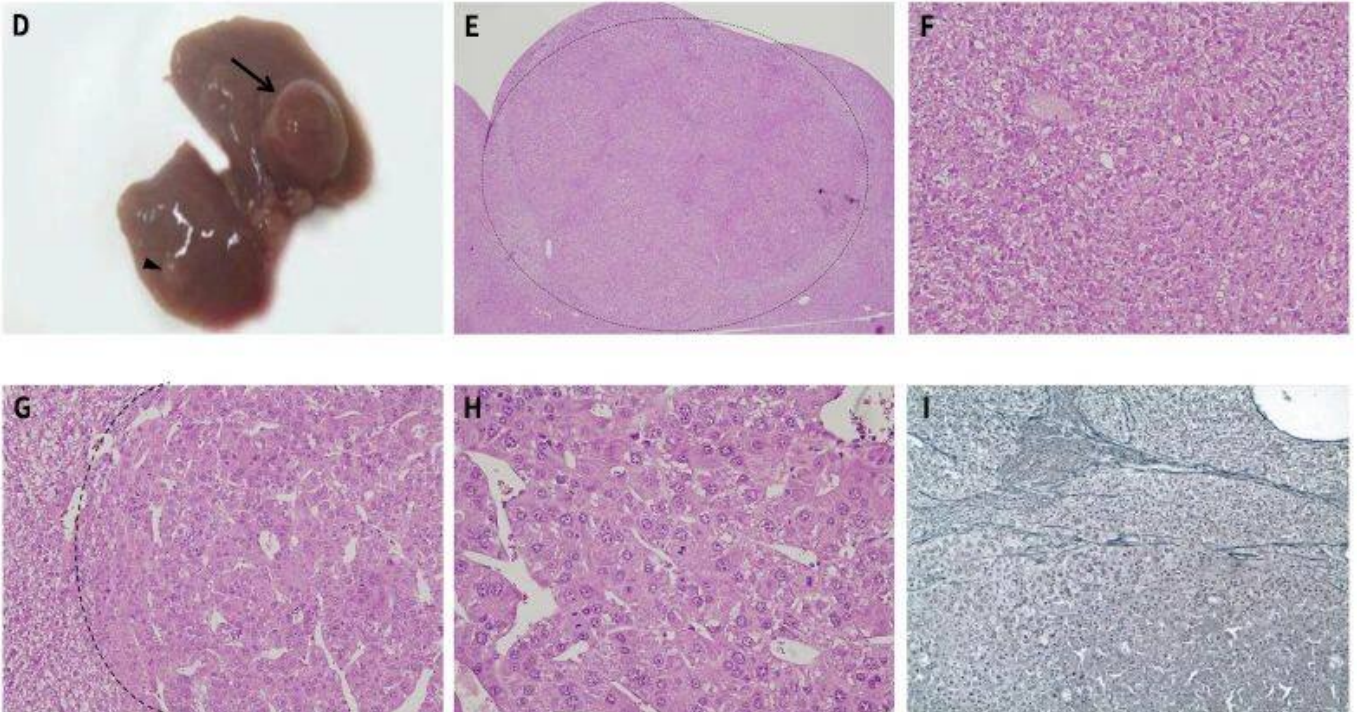
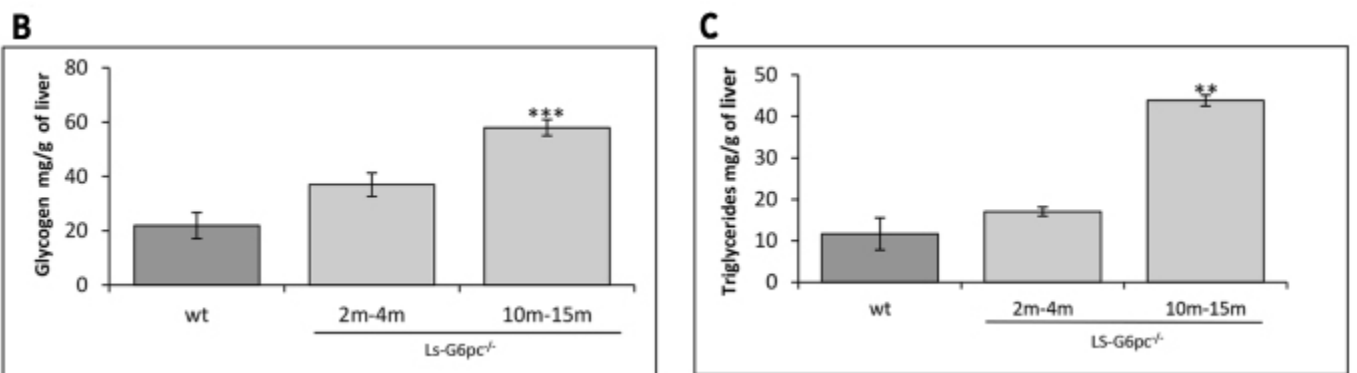
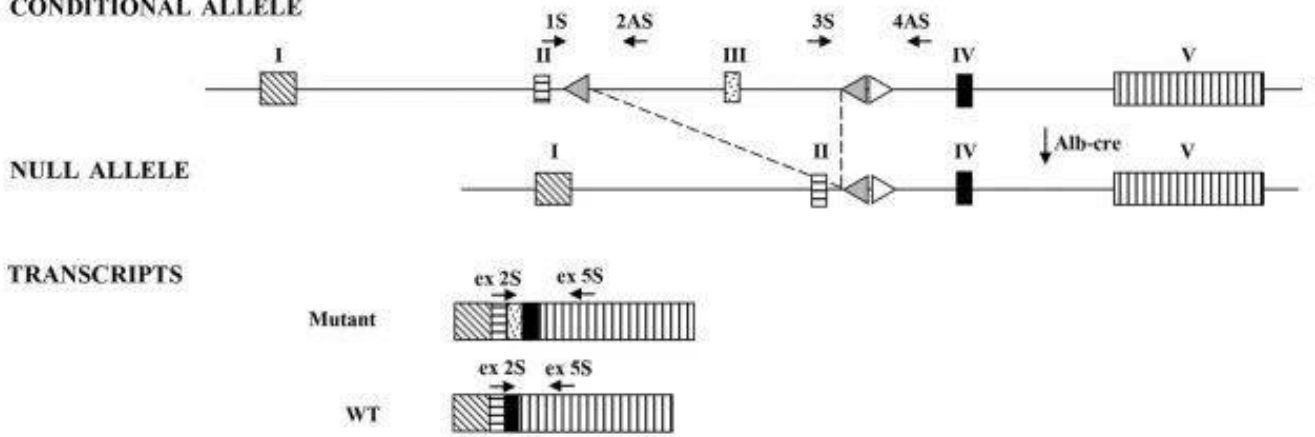


Table. HCA onset in LS-G6pc^{-/-} mice

Number of mice	Age (months)	Mice with HCA
4	2-4	0/4
2	5-7	0/2
3	8-10	1/3
7	11-13	1/7
3	14-16	1/3
6	17-20	2*/6

Mice were sacrificed at different months of age and HCA onset was evaluated. Knockout mice start to develop hepatic tumor at 10 months of age. Wild-type mice do not show nodules up to 20 months of age (data not shown).

*One mouse developed HCC.

Fig.2 肝特异性G6pc缺陷小鼠发生肝细胞腺瘤和癌

03罕见病小鼠系列模型来啦

2018年5月，国家五部委联合发布了《第一批罕见病目录》，包含121个病种，这是中国罕见病事业发展史上的里程碑事件，标志着国家解决罕见病患者用药可及问题的决心[8]。

南模生物为助力罕见病研究，自主研发了一系列罕见病小鼠模型，以下是品系列表：



疾病	基因	类型	品系编号
低磷性佝偻病	Dmp1-KO	全身敲除	NM-KO-200634
	Fgf23-R176Q	点突变	NM-KI-200248
	Slc34a1-KO	全身敲除	NM-KO-200642
血友病	F8-KO	全身敲除	NM-KO-00012
	F9-KO	全身敲除	NM-KO-18046
糖原累积病 I 型 (GSD-Ia)	G6pc-CKO	条件敲除	NM-CKO-200053
先天性纯红细胞再生障碍性贫血	Flvcr1-CKO	条件敲除	NM-CKO-200054
戈谢病	Gba-CKO	条件敲除	NM-CKO-200051
IgG4 相关性疾病	Lat-Y136F	点突变	NM-KI-200249
遗传性痉挛性截瘫	Plp1-CKO	条件敲除	NM-CKO-200072
成骨不全症 (脆骨病)	Bmp1-CKO	条件敲除	NM-CKO-200065
遗传性低镁血症	Cldn16-KO	全身敲除	NM-KO-200632
遗传性多发脑梗死性痴呆	Notch3-R170C	点突变	NM-KI-200254
腓骨肌萎缩症	Nefl-N98S	点突变	NM-KI-200251
特发性心肌病	Tnnt2-K210del	点突变	NM-KI-200253
枫糖尿病	Dbt-KO	全身敲除	NM-KO-200633
卡尔曼综合征	Sox10-KO	全身敲除	NM-KO-200645
Alport 综合征小鼠模型	Col4a5-R471X	点突变	NM-KI-200183
热纳综合征 (窒息性胸腔失养症)	Smarcad1-KO	全身敲除	NM-KO-200643
Noonan 综合征	Raf1-D486N	点突变	NM-KI-200252
肌强直性营养不良	Dmpk-KO	全身敲除	NM-KO-200635
早衰样核纤层蛋白病	Zmpste24-KO	全身敲除	NM-KO-18011
杜兴肌营养不良症	Dmd-(c.C2983T)	点突变	NM-KI-18026

部分模型验证数据

模型1：早衰样核纤层蛋白病小鼠模型

2020年5月，首款用于治疗早衰症和早衰样核纤层蛋白病的药物Zokinvy提交申请，获得FDA优先审查，该药物将死亡风险降低88%！在全球范围内，早衰样核纤层蛋白病的发病率可能高于早衰症。早衰样核纤层蛋白病（progeroid laminopathies）是由核纤层蛋白A（lamin A）和/或Zmpste24基因的一系列突变引起的加速衰老的遗传，这些基因突变会导致与早衰症有重叠的疾病表现。

南模生物构建Zmpste24敲除小鼠，发现该小鼠成长迟缓，有明显的运动障碍，并且寿命缩短，是一个理想的早衰样核纤层蛋白病小鼠模型（Fig.3）。

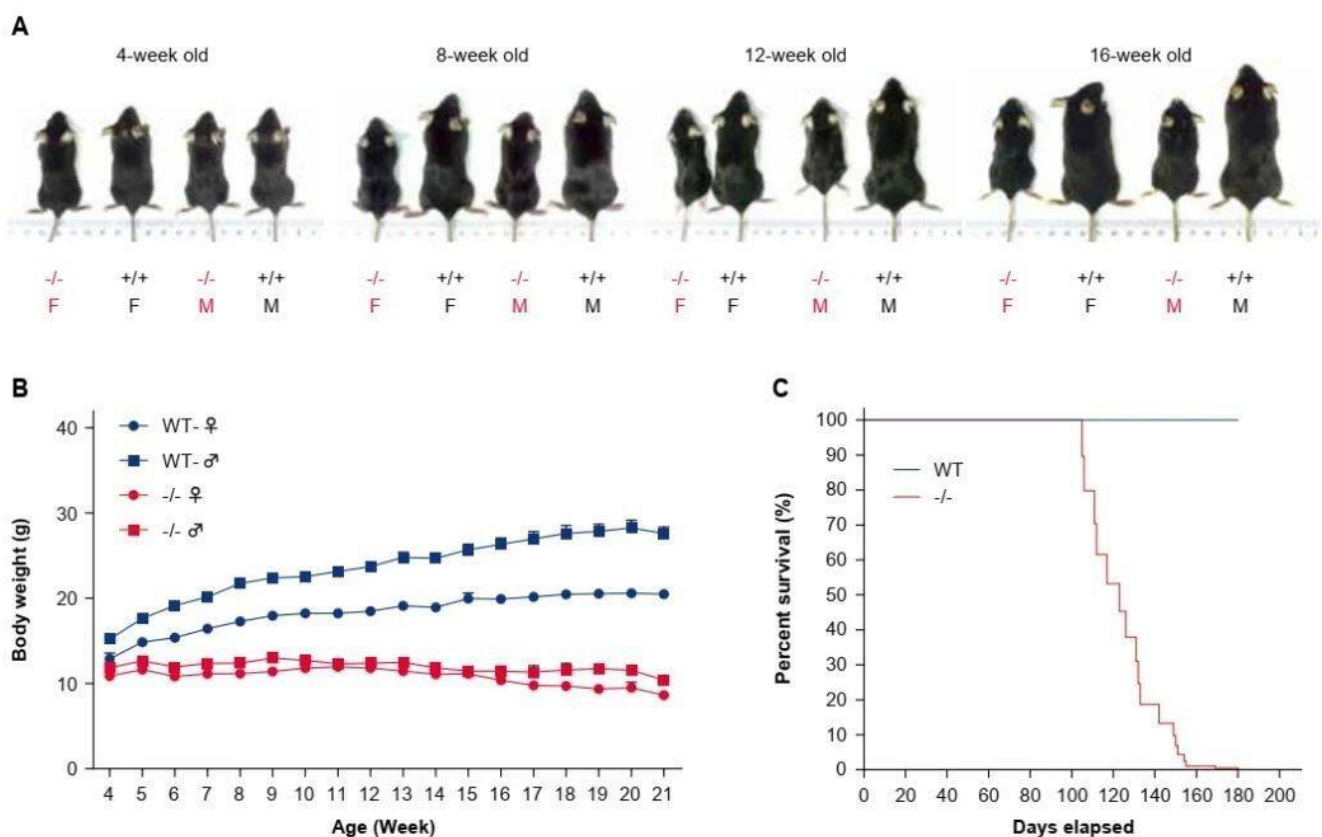


Fig.3 Zmpste24敲除鼠的部分表型

模型2：血友病小鼠模型

血友病为一组遗传性凝血功能障碍的出血性疾病，其共同的特征是活性凝血活酶生成障碍，凝血时间延长，终身具有轻微创伤后出血倾向，重症患者没有明显外伤也可发生“自发性”出血。根据凝血因子差异可分为由FVIII（F8）凝血因子功能异常导致的血友病A与FIX（F9）凝血因子异常所致的血友病B。

为了满足血友病治疗研究，南模生物自主研发了F8与F9基因敲除小鼠模型！

F8基因敲除小鼠有明确的血友病A症状，是在整体动物水平研究血友病A发病机制和药物筛选的理想动物模型。

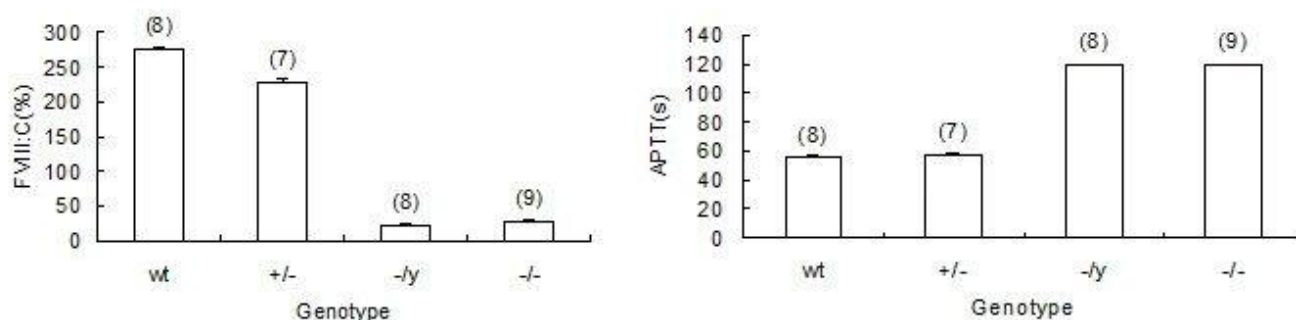


Fig.4 F8敲除鼠的F8活性以及APTT（凝血活酶时间）检测

F9基因敲除小鼠是血友病B治疗药物的筛选和评价及血友病B基因治疗的理想动物模型。

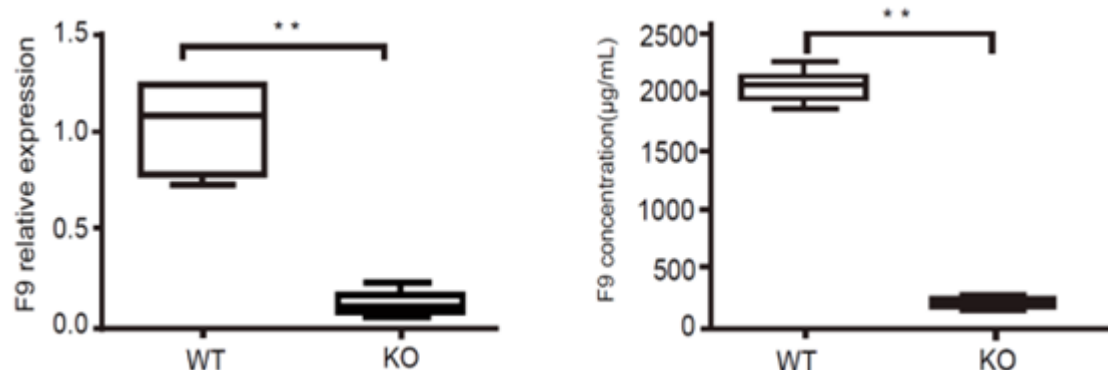


Fig.5 F9敲除鼠肝组织中F9基因的表达以及血浆中F9蛋白的浓度

模型3：杜兴肌营养不良症模型

杜兴肌营养不良症模型是一种性联隐性遗传病，又称为假性肥大型肌肉萎缩症，为症状最严重的肌肉萎缩症。由于基因突变缺陷导致肌肉细胞不能正常产生一种称为Dystrophin的蛋白质，会使钙离子渗入细胞，引发瀑布反应，导致患者全身肌肉无力，又因肌肉细胞内缺少Dystrophin，导致细胞组织肌肉纤维变得无力且脆弱，经长期的伸展后该缺失肌肉细胞组织将产生机械性伤害等等因素而破坏，最终导致肌肉细胞死亡。

南模生物构建了Dmd基因突变小鼠模型Dmd-(c.C2983T)，发现该小鼠抓力显著降低，并且骨骼肌肌间隙变宽，肌纤维大小不一，细胞核聚集，炎性细胞浸润（Fig.6-7），提示该模型可作为研究杜兴肌营养不良症的小鼠模型。

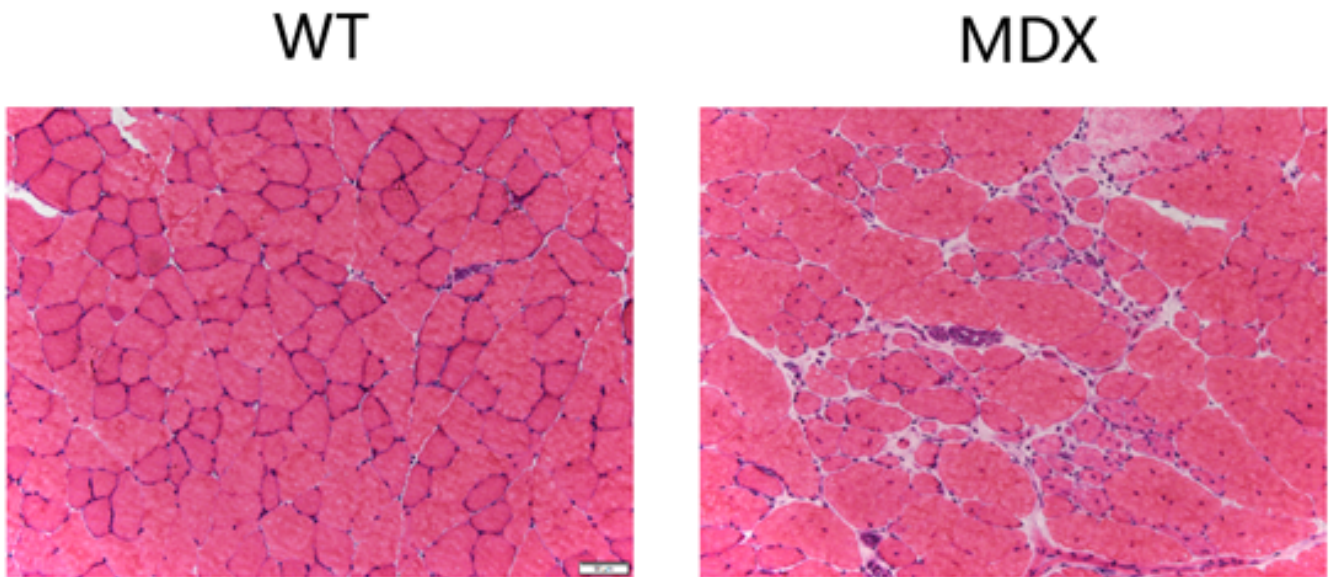


Fig.6 Dmd-(c.C2983T) 突变鼠的HE染色

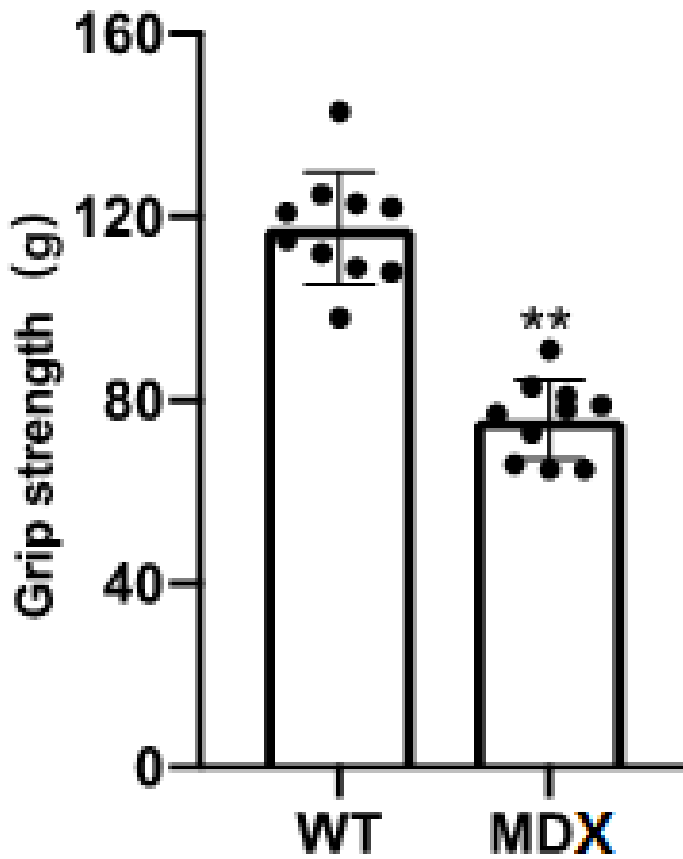


Fig.7 Dmd-(c.C2983T) 突变鼠的肢体抓力测试

目前罕见病小鼠模型大多是活体供应的状态，欢迎咨询及订购：

[血友病A型小鼠模型](#)

[血友病B型小鼠模型](#)

[杜兴肌营养不良症模型](#)

[早衰样核纤层蛋白病小鼠模型](#)

References

1. Farrow EG, Yu X, Summers LJ. et al. Iron deficiency drives an autosomal dominant hypophosphatemic rickets (ADHR) phenotype in fibroblast growth factor-23 (Fgf23) knock-in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011 Nov15;108(46):E1146-55.
2. Imel EA, Liu Z, Coffman M. et al. Oral Iron Replacement Normalizes Fibroblast Growth Factor 23 in Iron-Deficient Patients With Autosomal Dominant Hypophosphatemic Rickets. *J Bone Miner Res*. 2020 Feb;35(2):231-238.
3. Lei KJ, Chen H, Pan CJ, et al. Glucose-6-phosphatase dependent substrate transport in the glycogen storage disease type-1a mouse. *Nat Genet*. 1996 Jun;13(2):203-9.
4. Koeberl DD, Sun BD, Damodaran TV, et al. Early, sustained efficacy of adeno-associated virus vector-mediated gene therapy in glycogen storage disease type Ia. *Gene Ther*. 2006 Sep;13(17):1281-9.
5. Resaz R, Vanni C, Segalerba D, et al. Development of hepatocellular adenomas and carcinomas in mice with liver-specific G6Pase- α deficiency. *Dis Model Mech*. 2014 Sep;7(9):1083-91.
6. Saeed A, Hoogerland JA, Wessel H, et al. Glycogen storage disease type 1a is associated with disturbed vitamin A metabolism and elevated serum retinol levels. *Hum Mol Genet*. 2020 Jan 15;29(2):264-273.
7. Resaz R, Cangelosi D, Morini M, et al. Circulating exosomal microRNAs as potential biomarkers of hepatic injury and inflammation in a murine model of glycogen storage disease type 1a. *Dis Model Mech*. 2020 Sep 18;13(9):dmm043364.
8. 中国罕见病药物可及性报告（2019）