肥胖研究模型

肥胖的人群快速增长，我们迫切的需要更加安全有效的治疗方法。合适的动物模型不但可以缩短基础研究的时间，也可以加速减肥药物从实验室研究到临床应用的步伐。当使用动物模型进行肥胖研究时，存在各种干扰因素，如遗传背景、饮食、性别等，我们需要根据自己的实验设计选择合适的模型。

不知道大家有没有发现，大多数传统节日，都绕不开吃，更别提长达7天的春节！每到春节，大家每天不是正在吃，就是在去吃的路上，小编是被安排得明明白白，虽然都说"每逢佳节胖三斤"，但这话要是放到春节“还有只胖三斤这种好事？”而过了春节，如何减去一身肥膘都能迅速蹿升为热门话题。今天，小编就和大家聊聊肥胖。

肥胖简介

肥胖在中国已成为重大公共卫生问题。中国超重与肥胖的发病率和增长速度均居世界首位，现已成为世界上超重和肥胖人数最多的国家。根据《中国居民营养与慢性病状况报告（2020年）》最新数据，目前中国的成人中已经有超过1/2的人超重或肥胖，成年居民（≥18岁）超重率为34.3%、肥胖率为16.4%。这是首次中国成人超重和肥胖患病率>50%，预计到2030年，中国成人超重及肥胖患病率将达到61%[1]。

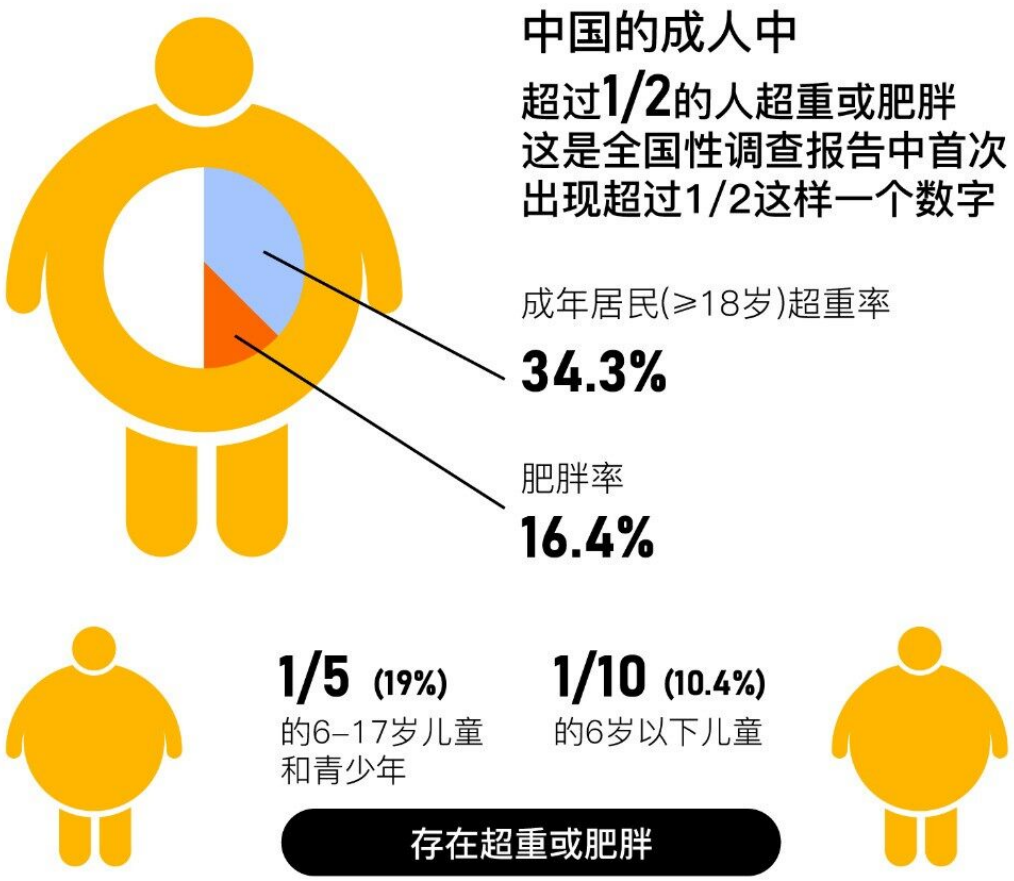


图1.中国肥胖人群概况

超重和肥胖的定义是可损害健康的异常或过量脂肪累积。临床上，常用身体质量指数（BMI，Body Mass Index ）来评估肥胖与否。BMI（kg/m2）=体重（kg）/身高（m2），目前对于肥胖的诊断标准因地区、种族、不同学会等标准仍不统一。WHO诊断标准：BMI 18.5~25.0 kg/m2为正常体质量，25.0~29.9 kg/m2为超重，≥30 kg/m2为肥胖。中国肥胖工作组和中国糖尿病学会将BMI<18.5 kg/m2定义为体质量过低，BMI 18.5~23.9 kg/m2定义为正常体质量，BMI 24.0~27.9 kg/m2定义为超重，BMI>28.0 kg/m2定义为肥胖[2]。

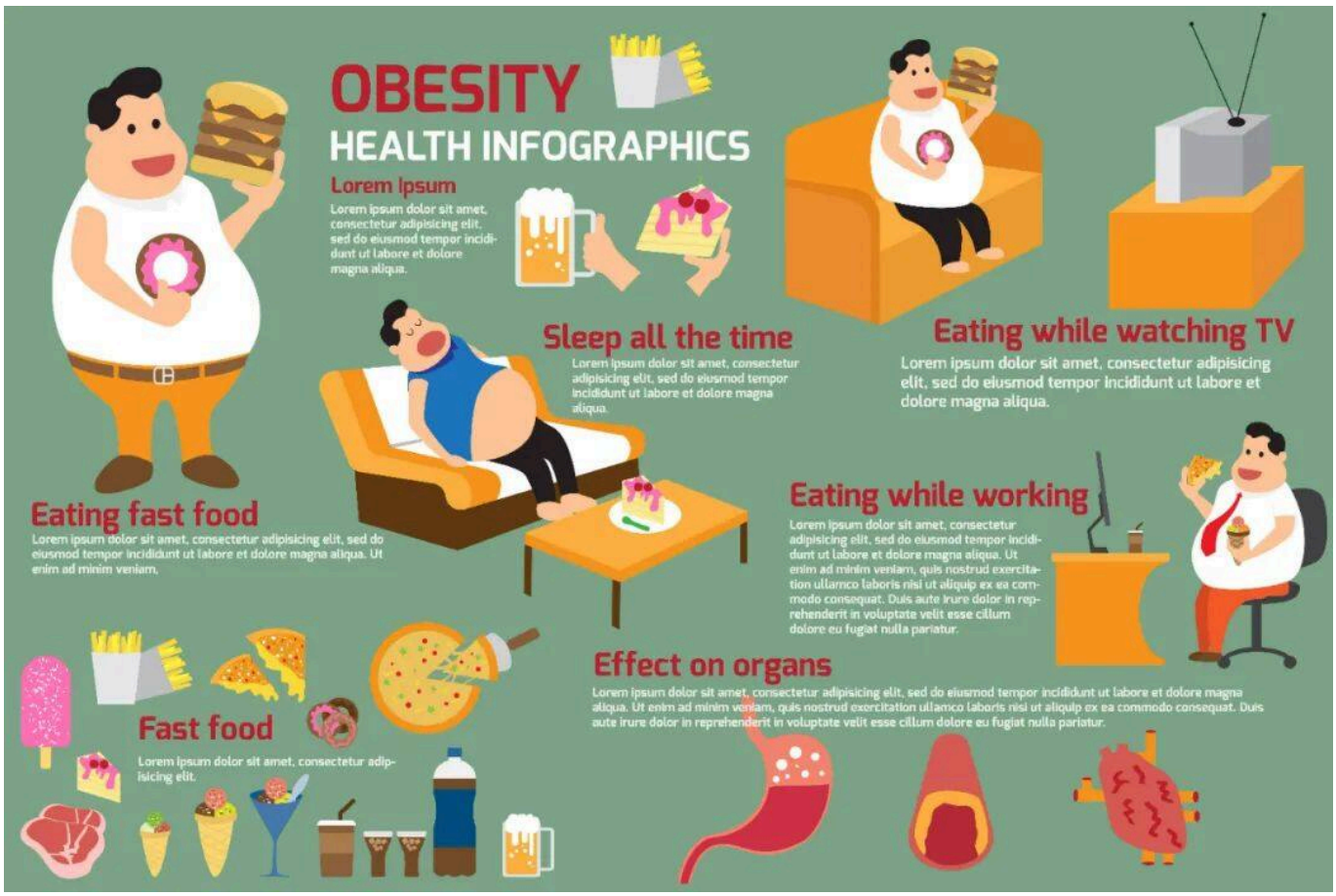


图2.肥胖的常见原因(图片来自网络)

肥胖和超重的根本原因是摄入卡路里与消耗卡路里之间的不平衡。随着生活条件的进步和城市化的发展，一方面人们越来越容易接触到各类美食，另一方面体力劳动和运动的比例却在飞速降低，这些都导致国人越来越胖。如果肥胖仅仅只是多长几斤肥膘那并没什么好担心的，但是研究表明肥胖与众多疾病密切相关，如：心血管疾病（主要是心脏病和中风），糖尿病，肌肉骨骼疾病（特别是骨关节炎——关节的一种高度致残退行性疾病），某些癌症（子宫内膜癌、乳腺癌、卵巢癌、肝癌、结直肠癌等），除此之外，肥胖还可能带来一系列严重的心理问题[2]。

肥胖的研究进展

庞大的肥胖人群叠加人们对美无止境的追求，让肥胖成了一个经久不衰的研究热点。前文讲过肥胖与体内脂肪堆积过多或分布异常相关，而异常分布的脂肪组织会分泌不同的脂肪因子，包括瘦素、抵抗素、脂联素和IL-6等[5,6]。根据生理环境，脂肪组织释放脂肪因子选择性地影响组织器官的功能及全身代谢，如调节食欲、激素和酶活性等。例如，随着肥胖的发展，脂肪细胞体积不断变大，并出现代谢异常，分泌的脂肪因子由抗炎因子转变为大量促炎因子。脂肪因子很可能成为减重和代谢治疗的新靶点。

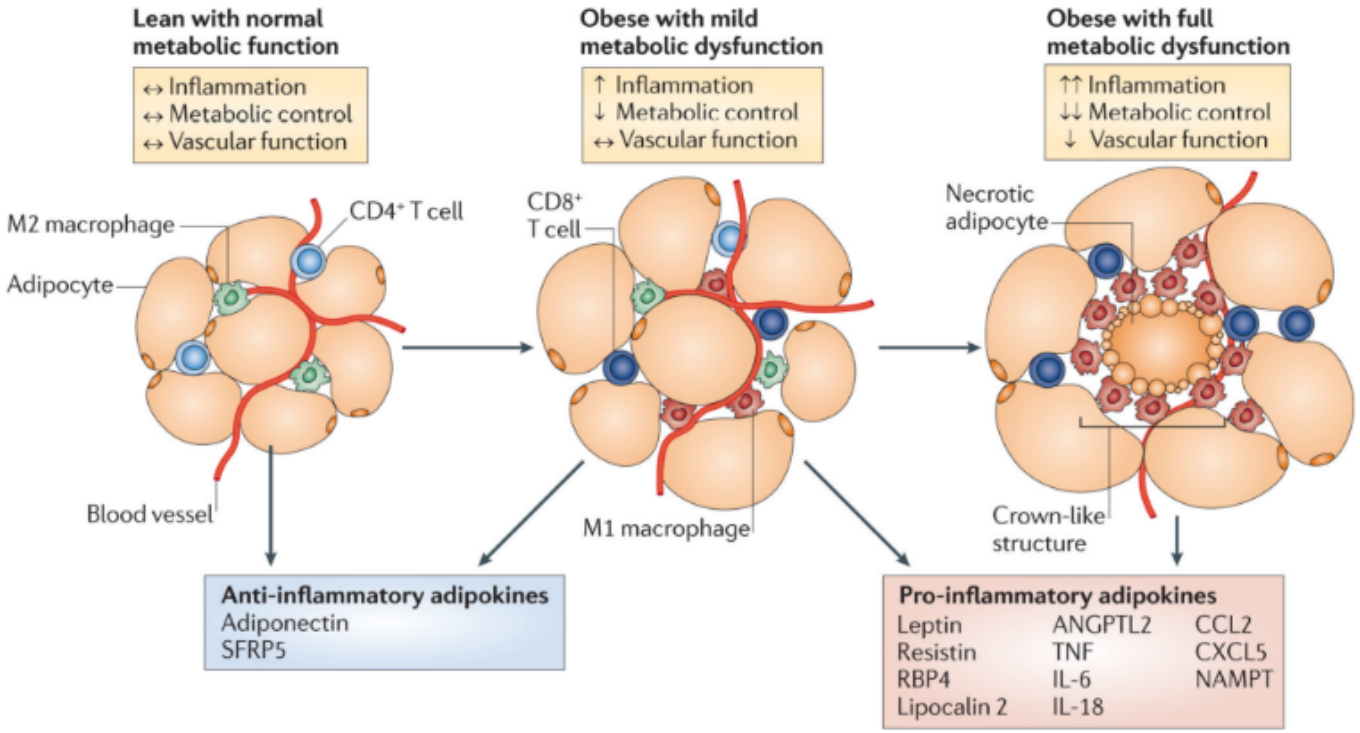


图3.脂肪组织代谢异常

脂肪组织可以按照结构和功能分为白色脂肪（WAT）、典型的棕色脂肪（BAT）和介于二者中间的米色脂肪（Beige/Brite）。白色脂肪主要以三酰甘油的形式储存过剩的能量，与胰岛素抵抗、代谢综合征以及T2DM等代谢疾病相关；而典型棕色脂肪则主司产热和葡萄糖代谢；米色脂肪细胞则是二者的中间转换型，既可像棕色脂肪消耗能量，亦可嵌入白色脂肪组织。现有研究显示，棕色脂肪可通过肠-BAT-脑轴产生饮食诱导的产热效应并抑制高热量进食行为，此外，低温刺激可促进棕色脂肪的葡萄糖摄取率。基于此，棕色脂肪被学界认为是未来减重疗法的切入点[7]。

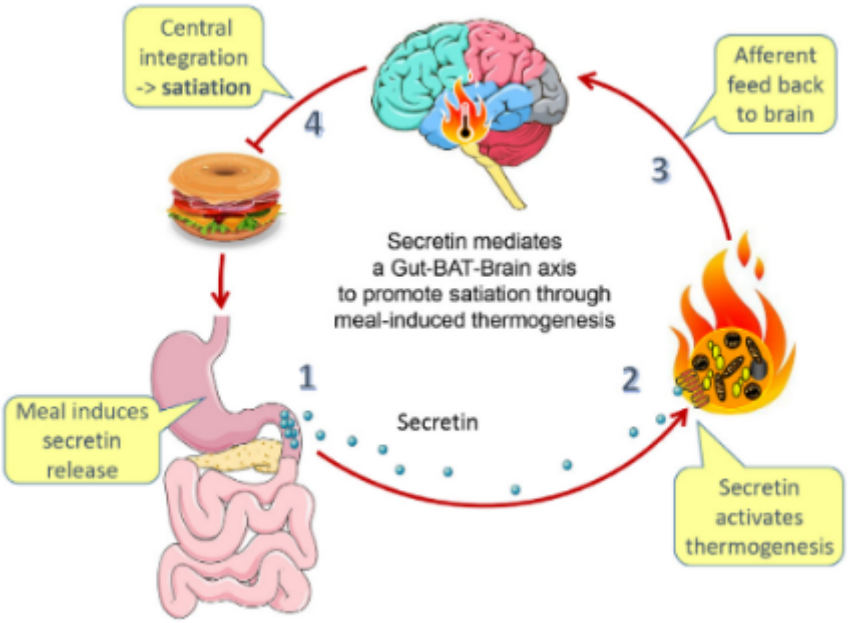


图4.棕色脂肪诱导的产热并抑制进食

为了助力脂肪组织相关的基础研究，南模生物在小鼠脂肪组织特定marker基因中敲入Cre重组酶元件，构建了多种Cre工具鼠。具体模型信息见下表：

南模编号	品系简称	表达位置	品系状态
NM-KI-190105	Ucp1-Cre	棕色脂肪细胞	活体
NM-KI-190102	Ucp1-CreERT2	棕色脂肪细胞	胚胎冻存
NM-KI-200060	Fabp4-2A-DreERT2	脂肪细胞	活体
NM-KI-190034	Plin1-2A-DreERT2	棕色脂肪细胞	胚胎冻存
NM-KI-200026	Gja1-2A-DreERT2	脂肪细胞	活体

肥胖动物模型概述

肥胖的人群快速增长，我们迫切的需要更加安全有效的治疗方法。合适的动物模型不但可以缩短基础研究的时间，也可以加速减肥药物从实验室研究到临床应用的步伐。当使用动物模型进行肥胖研究时，存在各种干扰因素，如遗传背景、饮食、性别等，我们需要根据自己的实验设计选择合适的模型。下面小编将对肥胖研究中常用的小鼠、大鼠模型进行详细介绍[4]。

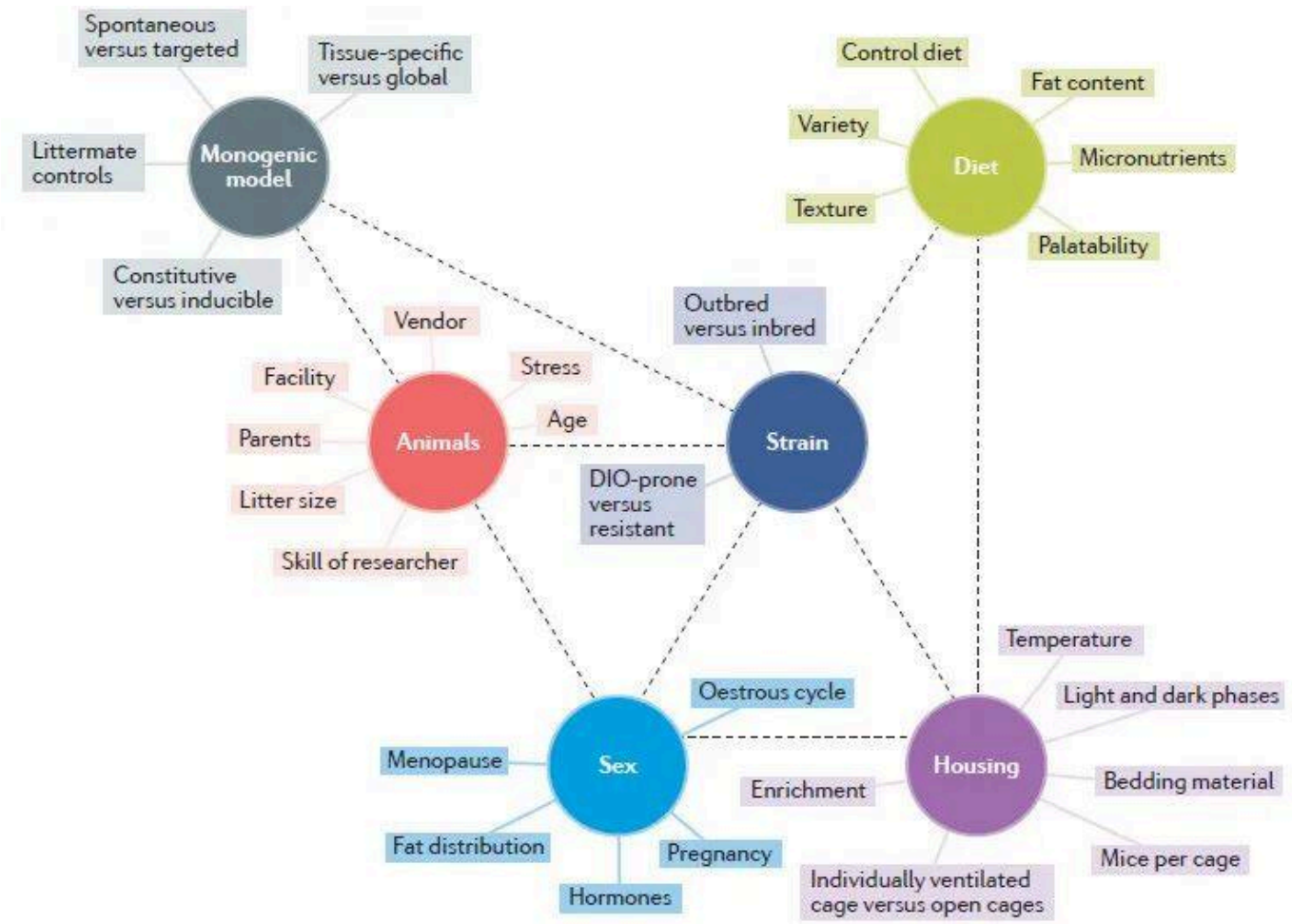


图5.模型影响因素

1.食物诱导模型

饮食诱导的动物肥胖模型与人类肥胖相似，而且能较好反映人体肥胖的发病机制，比如体重的缓慢增加和继发的胰岛素抵抗。但是模型建立耗时较长，成本较高，实验结果受品系、性别、年龄、饮食、表观遗传等因素影响较大。

品系：近交系的遗传差异影响其对饮食诱导的肥胖和糖尿病的易感性。C57BL/6J常用于饮食诱导肥胖（diet-induced obesity，DIO）模型，因为它易于发展为严重肥胖、脂肪积累、葡萄糖耐受不良和中度胰岛素抵抗。而其他近交系如SWR/J和 A/J小鼠对于DIO及相关并发症敏感性低，使其成为研究人类肥胖抵抗的理想模型。但对于药物抗糖尿病药效研究，DIO C57BL/6J小鼠模型并不是理想的选择，因为该品系很少发展成高血糖症或胰岛萎缩，而C57BL/6N品系小鼠经过3周高脂饮食即可出现肝脂肪变性、高血糖症和高胰岛素血症。DIO的大鼠品系之间也存在差异，常用大鼠为远交品系，如Sprague Dawley、Wistar、LongEvans等。

图6.C57BL/6J小鼠

性别：雄性小鼠更容易发生DIO，并且比雌性小鼠进展更快且程度更大。饮食诱导的胰岛素抵抗性别差异显著，比如肥胖程度相近，4个月雄性Zucker Diabetic Fatty (ZDF)大鼠会出现严重的高血糖症和低胰岛素血症，而雌性ZDF大鼠则终其一生保持正常的血糖水平和胰岛素水平。目前，临床前研究普遍使用雄性大小鼠，雌性啮齿动物备受冷落，因为雌性发情会引起无法预料的实验变化。此外，雄性常具有更明显的疾病表型。显然，这导致了很多前期结果在临床上缺乏转化价值，尤其是在女性肥胖治疗上。

年龄：年龄是影响肥胖研究的另一个重要因素。常用于代谢研究的C57BL/6J小鼠体重随着年龄增长而增加，在9个月时达到高峰，老年C57BL/6J小鼠（22月龄）与3月龄小鼠相比肌肉体重减少而脂肪重增加。另一个重要因素是饮食干预开始时鼠的年龄，若小鼠年龄较小（<8周，经验值）时开始喂养HFD，则随后的肥胖和肥胖症表型并不会特别明显。

饮食：轻微的饮食差异就可以极大地影响代谢参数和实验结果。例如，大鼠膳食中动物源脂肪（如猪油）对肥胖和胰岛素抵抗的影响比植物脂肪更为显著。即使细微差异，如不饱和脂肪酸与饱和脂肪酸的比例以及饮食形态（液体与固体）的改变，都会导致不同的DIO结果。此外，必须考虑食物颗粒的质地和硬度，研究表明以粉状低脂饮食喂养的小鼠会自发产生多余脂肪；同时，也需要保证营养成分在每个生产批次中可重复性。

如果研究目标是评估特定饮食成分的影响，研究人员还必须注意选择适当的对照饮食。

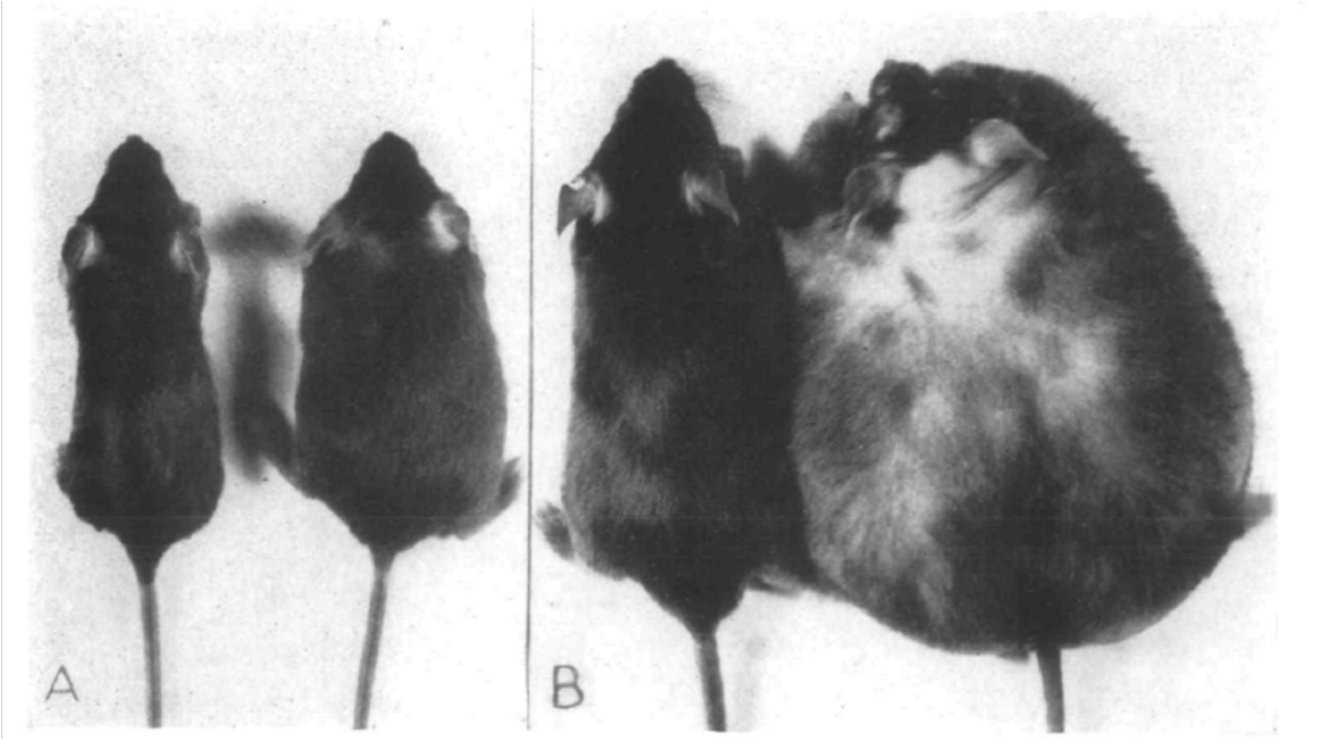
图7.常见高脂饲料

当前，人类每天从脂肪中摄取的热量约占30%，远低于诸多DIO研究中啮齿动物摄入量（40%-60%卡路里来自脂肪），而特殊HFD（近80%的卡路里来自脂肪）研究结果的实际价值就更值得怀疑。此外，大多数实验性肥胖诱导饮食缺乏人类饮食的复杂性和多样性，这也导致DIO的实验结果缺乏可信度，有一种更好地模拟临床肥胖人群表现出的享乐性过度食欲替代方法，即在自由饮食中，啮齿类动物可以自由地吃到几种不同的可口高能量“垃圾”食物（除了普通的食物和水）。因此，和高脂饮食组相比，自由饮食组有助于出现更

显著的体重增加和更严重的糖尿病症状。

2. 单基因突变模型

单基因模型适用于新治疗靶点的后续验证，广为熟知的如ob/ob和db/db小鼠、ZDF大鼠等，这里以ob/ob和db/db小鼠为例简单介绍其特点。这两种小鼠由美国缅因州巴港杰克森实验室的DouglasColeman发现，前者表现为严重肥胖（obesity，简写为ob），后者表现为严重糖尿病（diabetes，简写为db），其命名由此得来。



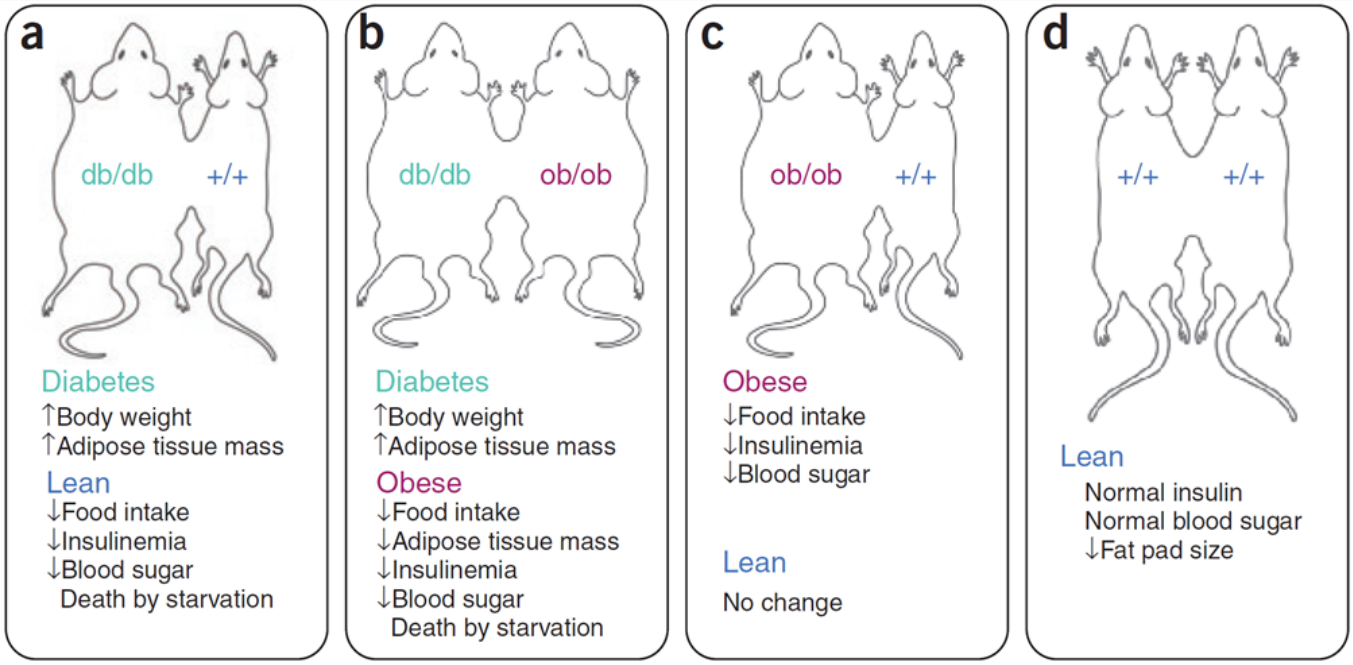


图8. ob/ob小鼠与联体共生实验

Coleman利用ob/ob小鼠、db/db小鼠和正常小鼠完成了一系列联体共生实验。根据实验结果，Coleman认为正常小鼠的脂肪组织可产生一种活性因子，与受体结合后抑制小鼠进食，减少脂肪储积。db/db小鼠产生过量活性因子但是缺乏相应受体，ob/ob小鼠无法产生活性因子但是相应受体正常。这个猜想完美解释了实验结果，但Coleman一直未能找到这个因子。直到1994年，Jeffrey Friedman利用定位克隆技术才发现了小鼠肥胖基因以及人类同源基因，后通过免疫学方法确定了肥胖基因的产物并将其命名为瘦素（leptin），关于ob/ob小鼠和db/db小鼠的争论至此方尘埃落定。

3.单基因编辑模型

通过靶向基因突变/敲除可研究目标基因的生理功能，但是这种方式存在一定局限性。主要原因在于生物体在发育过程中存在代偿机制，突变或者被敲除基因的功能可由其他基因代偿。比如GLP-1R胚系基因敲除小鼠给予高脂饮食后并未表现为肥胖，而且糖耐量仅轻度受损。如果单纯看这个结果，GLP-1RA类药物基本上不会带来代谢获益，但实际上GLP-1RA是当前治疗肥胖和T2DM的同类最佳药物。

目前研究者们已经从449个突变系27000只小鼠系统表型筛选中发现了50多个与葡萄糖稳态、代谢或肥胖表型参数相关的基因，如Leptin、ApoE、ApoB、Ucp1等，这些基因的敲除小鼠在研究肥胖上发挥着越来越重要的作用，我们可以预期未来用于肥胖症和糖尿病的单基因动物模型数量将急剧增加，南模生物自主构建了多种肥胖相关的基因修饰大小鼠模型，助力肥胖相关研究，模型信息详见下表：

基因	货号	品系简称	状态
Acot7	NM-CKO-00045	Acot7-Flox	胚胎冻存
Adipor1	NM-KO-190666	Adipor1-KO	胚胎冻存
Adipor2	NM-KO-190667	Adipor2-KO	活体
Adrb1	NM-CKO-2102631	Adrb1-Flox	活体
Adrb2	NM-KO-190738	Adrb2-KO	活体
Adrb3	NM-KO-190739	Adrb3-KO	胚胎冻存
Agrp	NM-KO-190636	Agrp-KO	胚胎冻存
Apob	NM-KI-00056	Apob-Q1388H	胚胎冻存
Apoe	NR-HU-215005	hAPOE(SD)	活体
	NM-KO-190565	Apoe-KO(2)	胚胎冻存
	NM-HU-190013	hAPOE2	活体
	NM-HU-190003	hAPOE3	活体
	NM-HU-190002	hAPOE4	活体
Ar	NM-CKO-00110	Ar-Flox	胚胎冻存
Atxn2	NM-KO-190920	Atxn2-KO	胚胎冻存
Cartpt	NM-KO-190647	Cartpt-KO	胚胎冻存
Ctf1	NM-KO-190546	Ctf1-KO	胚胎冻存
Fto	NM-CKO-190005	Fto-Flox	活体
	NM-KI-190055	R26-CAG-LSL-Fto-IRES-EGFP	胚胎冻存
Gpr12	NM-KO-200978	Gpr12-KO	胚胎冻存
Kdm3a	NM-CKO-190026	Kdm3a-Flox	胚胎冻存
Lepr	NM-KO-190663	Lepr-KO	胚胎冻存
	NM-KI-00001	Lepr-g.G109052T	胚胎冻存
	NM-CKO-200116	Lepr-Flox	胚胎冻存
Leptin	NR-KO-200001	Lep-KO(SD)	活体
	NM-KO-00034	Lep-KO	胚胎冻存
Mc3r	NM-KO-190652	Mc3r-KO	胚胎冻存
Mc4r	NM-KO-200357	Mc4r-KO	胚胎冻存
	NM-KO-205021	Mc4r-KO(2)	胚胎冻存
	NM-CKO-200195	Mc4r-Flox	胚胎冻存
Mkks	NM-KO-201304	Mkks-KO	胚胎冻存
Nmb	NM-KO-190653	Nmb-KO	胚胎冻存
Nmbr	NM-KO-190654	Nmbr-KO	活体
Npy1r	NM-KO-190999	Npy1r-KO	胚胎冻存
Pde3b	NM-KO-191008	Pde3b-KO	胚胎冻存
Pmch	NM-KI-190117	Pmch-IRES-Pmch	胚胎冻存
Pnliprp1	NM-KO-00005	Pnliprp1-KO	胚胎冻存
Pparg	NM-CKO-190071	Pparg-Flox	活体
Prkag2	NM-KO-191111	Prkag2-KO	胚胎冻存
Prlh	NM-KO-201040	Prlh-KO	活体
Ptpn1	NM-KO-190867	Ptpn1-KO	胚胎冻存
Snap25	NM-CKO-00091	Snap25-Flox	活体
Tyk2	NM-KO-201976	Tyk2-KO	活体
Ucp1	NM-KO-190668	Ucp1-KO	胚胎冻存
Vegfb	NM-KO-191119	Vegfb-KO	胚胎冻存

4.多基因模型

相较于单基因模型，多基因模型能够更好地模拟人类肥胖/糖尿病的发病机制，适用于治疗有效性和安全性的综合评价，比如C57BL6/J小鼠、Sprague-Dawley大鼠。即使在相同的遗传背景下，多基因模型个体异质性仍比较明显。比如在高脂饮食条件下，只有60%的C57BL6/J小鼠和50%的Sprague-Dawley大鼠表现为肥胖，其余的小鼠/大鼠表型与对照组相似。这种个体异质性与人类不同个体对肥胖不同程度的易感性遥相呼应，考虑可能与表观遗传相关。

Table 1 | List of selected rodent models potentially useful in obesity, insulin resistance and type 2 diabetes mellitus research

Strain or method	Species	Diet	Obesity	Hyperglycaemia	IR	T2DM	Dyslipidaemia	Pathologic islet changes
Polygenic								
C57BL/6J	Ms	HFD	+	–	+	–	+	–
SWR/J	Ms	HFD	–	–	–	–	+	–
A/J	Ms	HFD	+	–	–	–	+	–
C3H/HeJ	Ms	HFD	+	–	+	+	+	–
DBA/2J	Ms	HFD	+	–	+	–	–	–
NZO	Ms	CHO	++	+	++	+	+	+
TALLYHO/Jng	Ms	SD, HFD	+	+	++	+	++	+
DIO-sensitive Sprague Dawley	Rat	HFD	+	–	+	–	+	–
DR Sprague Dawley	Rat	HFD	–	–	–	–	–	–
UCD-T2DM	Rat	SD, HFD	+	+	++	++	+	+
Sand rat	Gerbil	SD, HFD	+	–	+	+	+	+
Goto–Kakizaki	Rat	SD, HFD	–	+	+	+	+	+
Monogenic								
C57BL/6J–ob/ob	Ms	SD, HFD	++	–	++	–	+	–
C57BLKS/J–db/db	Ms	SD, HFD	++	+	++	+	++	+
Otsuka Long–Evans Tokushima Fatty	Rat	SD, HFD	+	+	+	+	+	+
fa/fa	Rat	SD, HFD	++	+	++	–	+	–
Zucker Diabetic Fatty	Rat	SD, HFD	++	++	++	+	++	++
Koletsky	Rat	SD, HFD	++	–	+	–	+	–
Experimental								
Low-dose streptozotocin	Ms, Rat	HFD	+	+	+	+	+	+
VMH lesion	Ms, Rat	SD, HFD	++	–	+	–	+	–

–, absent; +, mild; ++, severe; CHO, carbohydrate enriched diet; DIO, diet-induced obesity; DR, diet resistant; HFD, high-fat diet; IR, insulin resistance; Ms, Mouse; SD, standard diet; T2DM, type 2 diabetes mellitus; VMH, ventromedial hypothalamus.

图9. 常用肥胖研究模型分类

5.机械诱发模型

机械性损毁下丘脑腹内侧可导致过度饮食、体重增加和脂肪储积等复杂表型，但毕竟方法略显原始。这种机械性手段不仅破坏了神经元，也破坏了不同脑区之间的神经连接。目前，研究人员更偏爱采用针对特定脑区、

甚至某一脑区特定细胞的靶向基因编辑技术。

结语

当今世界，不管是发达国家还是发展中国家，肥胖的患病率都在快速增长。我们已经身处“肥胖大流行（obesity epidemic）”时代，肥胖研究正当时。无论您需要饮食诱导的肥胖大小鼠，还是需要基因修饰的肥胖模型，都可以随时联系我们！

参考文献：

[1] 中华医学会内分泌学分会，中华中医药学会糖尿病分会，中国医师协会外科医师分会肥胖和糖尿病外科医师委员会，等 ．基于临床的肥胖症多学科诊疗共识（2021 年版)[J]．中华消化外科杂志,2021，20(11)：1137-1152．DOI：10.3760/cma.j.cn115610-20210829-00422.

[2] https://www.who.int/zh/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight

[3] Nat Rev Dis Primers . 2017 Jun 15;3:17034. doi: 10.1038/nrdp.2017.34. Obesity

[4]Kleinert M, Clemmensen C, Hofmann S M, et al. Animal models of obesity and diabetes mellitus. Nature Reviews Endocrinology, 2018, 14(3).

[5]LanN, LuY, ZhangY, et al. FTO - A Common Genetic Basis for Obesity and Cancer[J]. Front Genet, 2020, 11: 559138. DOI: 10.3389/fgene.2020.559138.

[6]ZhangY, ProencaR, MaffeiM, et al. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue[J]. Nature, 1994, 372(6505): 425-432. DOI: 10.1038/372425a0.

[7]Endpts.com/kallyope-lands-112-million-series-c-to-ride-the-gut-brain-axis-for-another-3-years/.