

疾病小鼠模型系列之I型糖尿病篇（上）

I型糖尿病（Type1 diabetes, T1D），也叫胰岛素依赖型糖尿病（Insulin dependent diabetes mellitus, IDDM）或青少年糖尿病，是一种自身免疫性疾病，多发生在儿童和青少年，也可发生于各种年龄。其根本机制是负责产生胰岛素的胰脏β细胞被自体免疫系统错误地破坏，导致内源性胰岛素缺乏并引起高血糖症。

糖尿病是一组以高血糖为特征的代谢性疾病，典型病例可出现多尿、多饮、多食、消瘦等表现，即“三多一少”症状，糖尿病(血糖)一旦控制不好会引发并发症，导致肾、眼、足等部位的衰竭病变。

糖尿病分为I型、II型、妊娠糖尿病及其他特殊类型的糖尿病，下面我们介绍一下I型糖尿病模型。

I型糖尿病概述

I型糖尿病（Type1 diabetes, T1D），也叫胰岛素依赖型糖尿病（Insulin dependent diabetes mellitus, IDDM）或青少年糖尿病，是一种自身免疫性疾病，多发生在儿童和青少年，也可发生于各种年龄。其根本机制是负责产生胰岛素的胰脏β细胞被自体免疫系统错误地破坏，导致内源性胰岛素缺乏并引起高血糖症。

典型的I型糖尿病症状包括：尿频、口渴、口干、皮肤发痒或干燥、食欲增加、体重减轻等。尽早并终身使用胰岛素是所有I型糖尿病患者的治疗原则。

根据2018年发表的研究数据，2010-2013年间我国I型糖尿病发病率大致如下：全年龄段发病率为0.93/10万人年，15岁以下儿童发病率为1.90/10万人年，15-29岁人群发病率为1.02/10万人年，30岁及以上人群发病率为0.51/10万人年。虽然I型糖尿病的发病高峰在10-14岁，但成年患者比例很高。中国估计每年新增超过13000例I型糖尿病患者，其中超过9000例为15岁以上的成年人[1]。

研究I型糖尿病的常用大小鼠模型

目前研究I型糖尿病最常见的几类大小鼠模型有：

1. 自发性自身免疫模型
2. 化学药物诱导模型
3. 遗传诱导模型

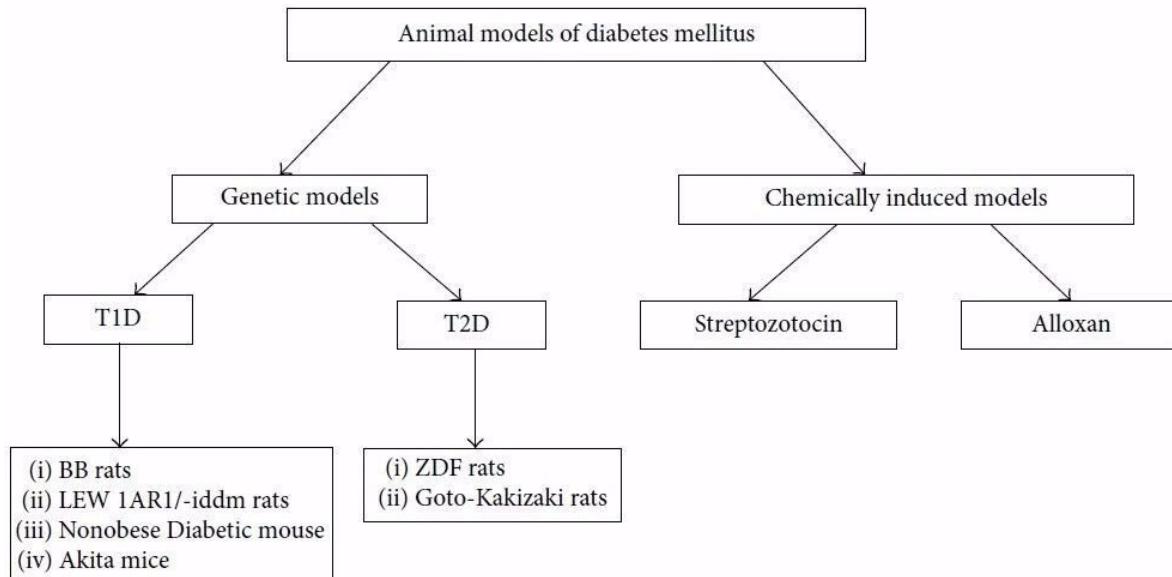


Figure 1. Summary of animal models of diabetes mellitus.

自发性自身免疫模型

例如：NOD小鼠模型，BB大鼠模型等。这些自发性自身免疫性糖尿病模型尽管与人体状况有一些差异，但是由于人体胰腺样本难以获得，因此它们在了解疾病的某些关键方面（例如胰岛素抵抗的发病机理）方面非常有用。

Features	Human	NOD mouse	BB rat	KDP rat	LEW-IDDM
Age of disease presentation	Adolescence	24-30 weeks	8-16 weeks	3-4 months	2-3 months
Disease incidence (%)	-	Females: 90, males: 50-60	50-80	70-80	70
Auto-antibodies	Insulin, GAD, ICA, ICSA, BSA, CPH, EC, IA-2, IAA	Insulin, GAD	ICA	Unknown	ICA
Insulin is required	Yes	No	Yes	Yes	No
MHC associated genes	HLA-DQ and DR	Unique I-Ag7	At least RT1 B/Du haplotype	At least RT1 B/Du haplotype	At least RT1 B/Du haplotype
Environmental factors	Probable	Yes	Yes	Unknown	Unknown

NOD: Nonobese diabetic, BB: Bio-breeding, KDP: Komeda diabetes-prone, IDDM: Insulin dependent diabetes mellitus, LEW: Lewis, HLA: Human leukocyte antigen, ICA: Islet cell antibodies, GAD: Glutamic acid decarboxylase, ICSA: Islet cell surface antibody, BSA: Bovine serum albumin, CPH: Carboxypeptidase H, EC: Epicutaneous, IA-2: Islet antigen-2, IAA: Insulin autoantibodies

Table 1. Comparative features of spontaneous autoimmunediabetes with human and different animal models.

NOD小鼠

三十多年来，NOD(non-obese diabetic)小鼠一直是研究自身免疫性糖尿病的主要动物模型。典型的临床症状如尿频、多饮、高血糖、尿糖和高胆固醇血症。NOD小鼠对酮症酸中毒具有抗性，在无胰岛素注射的情况下，糖尿病建立后仍可存活约2-4周。

与人类疾病相似，NOD小鼠 β 细胞功能逐步丧失，NOD小鼠会发展自身抗体，并在I型糖尿病发病前表现出外周血自身反应性T细胞的增加，靶向 β 细胞抗原也相似。

NOD小鼠发病年龄和发病率有着较为明显的性别差异，雌鼠发病年龄早且发病率高。NOD小鼠3-5周龄时开始出现胰岛T细胞浸润，到12周龄时整个胰腺中均存在胰岛炎。

NOD雌性和雄性小鼠的高血糖分别于大约12周和15周龄开始[2-3]。在20周鼠龄时，90%的同龄雌鼠会得糖尿病，而只有50%的NOD雄鼠患有糖尿病。

BB大鼠

BB (Bio-breeding) 大鼠来自远交系Wistar大鼠，诞生了两个亚系，近交系 BBDP/Wor和远交系 BBdp。BB大鼠作为T细胞依赖性自身免疫性糖尿病模型，其特征包括胰岛自身抗体和谷氨酸脱羧酶抗体，是研究胰岛移植耐受性诱导的首选模型。

BB大鼠在青春期开始出现体重减轻、多尿、高血糖和胰岛素减少症，而且淋巴细胞明显减少[2,4]。与NOD小鼠不同，BB大鼠酮症酸中毒非常严重，像在人类中一样，必须使用胰岛素治疗。BB大鼠在8-16周龄发生高血糖症，其中3月龄前90%会发展成为糖尿病，且性别间无差异[4]。在糖尿病建立之前的2-3周内发生胰岛炎。

KDP大鼠

KDP (Komeda diabetes-prone) 大鼠是LETL (long-evans tokushima lean) 大鼠的一个亚系，其胰腺β细胞被自身免疫破坏，快速发展为糖尿病，发病无性别差异，没有明显的T细胞减少。大多数动物表现出中度至重度的淋巴细胞浸入胰岛（胰岛炎），其中约80%的动物在220日龄内患上糖尿病。KDP大鼠也是其它自身免疫性疾病，尤其是自身免疫性甲状腺疾病的模型[5]。

Lewis-IDDM大鼠

Lewis-IDDM大鼠由LEW大鼠MHC单倍型自发突变而来，具有MHC单倍型LEW.1AR1。

Lewis-IDDM大鼠胰岛内有炎症细胞浸润，发生胰腺炎的部位β细胞快速凋亡。明显的糖尿病征出现在8-9周龄，以高血糖和糖尿、酮尿、多尿为特征。最初，糖尿病的发病率约为20%，之后进一步近亲繁殖，雌雄发病率均增至60%左右[5]。

与NOD小鼠和BB-rat相反，LEW-IDDM大鼠没有其他自身免疫性疾病，糖尿病发作后也能很好地存活，因此可用于研究糖尿病并发症[3-4]。

化学药物诱导模型

已发现多种化合物可在动物模型诱发糖尿病。研究最多且常规使用的两种化合物分别是链脲佐菌素 (Streptozotocin, STZ) 和四氧嘧啶 (Alloxan, ALX)，其中又以STZ诱导最常用。STZ和ALX都是葡萄糖类似物，都通过β细胞中的葡萄糖转运蛋白GLUT2起作用，最终导致胰岛中β细胞几乎完全被破坏，致使小鼠严重缺乏胰岛素生成，表现出高血糖症和体重减轻，从而重现I型糖尿病的主要症状。

与自发性自身免疫性糖尿病动物模型相比，化学药物诱导模型的症状发作是可预测的，而且成本相对较低，是研究和评价不依赖β细胞降血糖疗法的重要模型，比如新型胰岛素疗法或胰岛移植疗效等。

链脲佐菌素(Streptozotocin,STZ)诱导模型

通过腹腔注射 (ip) 或静脉注射 (iv) 给药后, 通过GLUT2进入胰腺 β 细胞, 导致DNA的烷基化。随后激活PARP导致NAD⁺消耗增加, 细胞ATP减少, 最终使胰岛素产生受到抑制[2]。

STZ诱导模型非常类似于人类I型糖尿病, 伴有慢性胰岛炎、胰岛炎和胰岛素缺乏症。可在各种不同的大小鼠品系中可预测地快速诱导糖尿病, 从而进行同基因、同种异体或异种移植。

不过STZ具有一定的致癌性, 在慢性实验中可能会导致肾脏和肝脏肿瘤的发生。

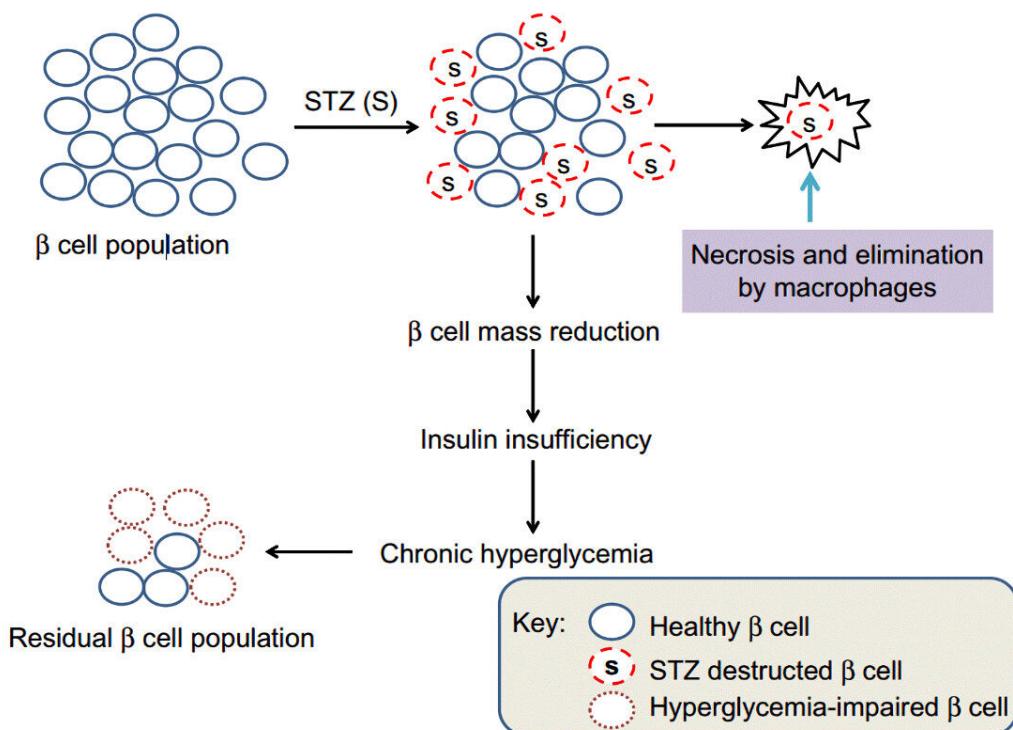


Figure 2. Partial destruction of β cell population by STZ and reduction in β cell mass that induces insulin insufficiency and chronic hyperglycemia.[6]

四氧嘧啶(Alloxan,ALX)诱导模型

ALX诱导糖尿病模型的机制主要是胰岛 β 细胞的快速摄取四氧嘧啶抑制葡萄糖激酶, 以及自由基的过量形成, 导致 β 细胞DNA断裂, 最终使 β 细胞凋亡。ALX在2分钟内就开始发挥作用, 根据给药剂量和动物品系的不同可在啮齿动物中诱导慢性高血糖症。

不过ALX的致糖尿病剂量窗口很窄, 甚至较少的剂量给药就可引起很大的毒性, 特别是肾脏毒性[5]。

Chemicals	Species	Dose(s) (in mg/kg)
STZ	Rat	35-65 (i.v. or i.p.)
	Mice	100-200 (i.v. or i.p.)
	Hamster	50 (i.p.)
	Dog	20-30 (i.v.)
	Pig	100-150 (i.v.)
	Primates	50-150 (i.v.)
ALX	Rat	40-200 (i.v. or i.p.)
	Mice	50-200 (i.v. or i.p.)
	Rabbit	100-150 (i.v.)
	Dog	50-75 (i.v.)

ALX: Alloxan, STZ: Streptozotocin, ip: Intraperitoneal, iv: intravenous

Table 2. The animal species, dose and route of administration required for chemically inducing diabetes.

遗传诱导模型

遗传因素被认为是糖尿病发生与发展的重要因素之一。某些基因的改变会直接诱导糖尿病的发生。

Akita小鼠

小鼠与人类不同，小鼠具有两个胰岛素基因：Ins1和Ins2。Akita小鼠也叫Ins2鼠或MODY4鼠，其位于7号染色体的Ins2基因发生显性错义突变。在突变等位基因中，核苷酸1907位的G突变为A，破坏了外显子3中的Fnu4HI位点。该突变将成熟胰岛素A链中的第七个氨基酸Cys96 (TGC) 变为Tyr (TAC)，导致Ins2的A链和B链之间的一个关键二硫键无法形成，从而导致proinsulin-2蛋白的错误折叠。错误折叠蛋白在内质网 (ER) 中聚集。由于内质网的降解能力有限，这些蛋白的积累最终会导致内质网应激和β细胞凋亡。

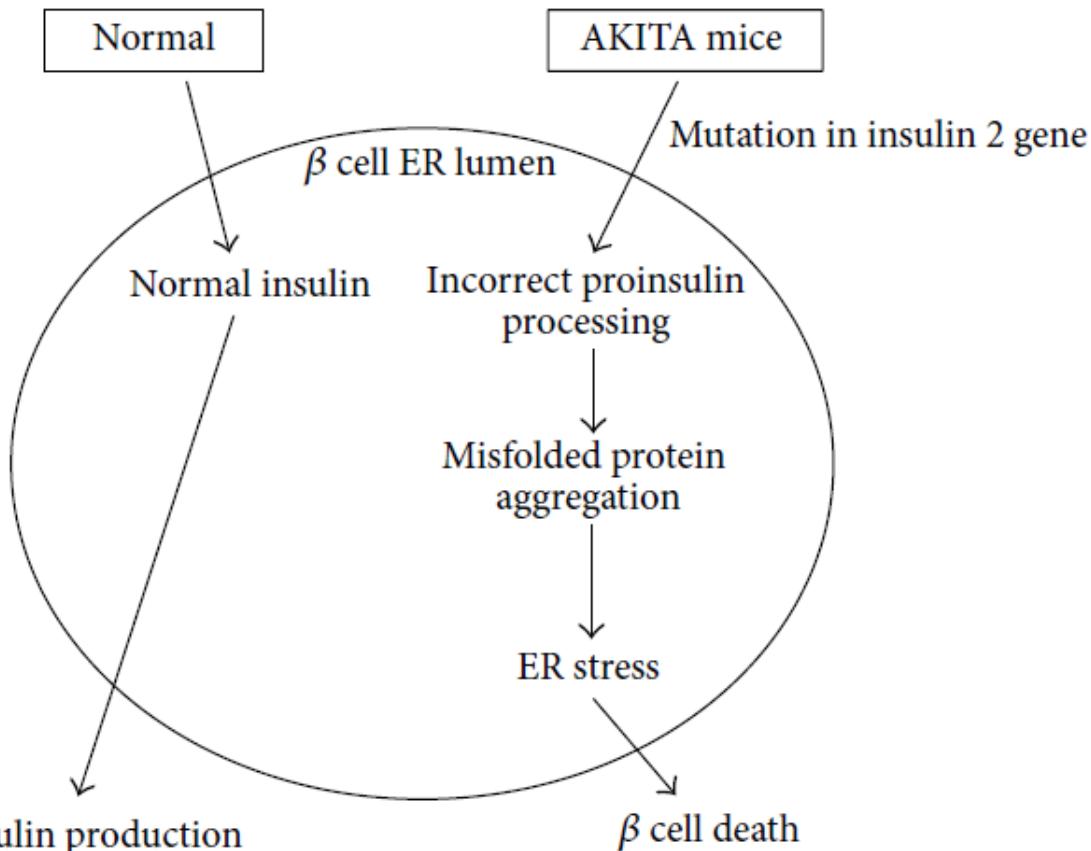


Figure 3. Akita小鼠发病基本原理

Akita杂合子小鼠患有严重的胰岛素依赖型糖尿病（从3-4周龄开始），以高血糖、低胰岛素血症、多尿和多饮症为特征。Akita小鼠是I型糖尿病的重要模型，不出现肥胖。雄性小鼠出现严重的高血糖症，而雌性小鼠血糖升高则不如雄性小鼠那么明显，这可能是由于雌激素的保护作用[7]。Akita纯合子小鼠若不予以胰岛素治疗，很少存活超过12周。

Akita杂合子小鼠不需要外源诱导即可快速发生糖尿病，是化学药物诱导模型的理想替代小鼠，也非常适合应用到同种异体或异种胰岛移植相关研究中。Akita小鼠也是II型糖尿病的模型之一，特别是用于研究β细胞内质网应激在糖尿病发病机制中的作用。

下表总结了I型糖尿病常用大小鼠模型的基本特征：

I型糖尿病模型	T1D发作	发病年龄	免疫细胞参与	发病机制研究	预防糖尿病研究
NOD小鼠	自发	12-30周龄	是	可以	可以
BB大鼠	自发	8-16周龄	是	可以	可以
KDP大鼠	自发	约8周龄	是	可以	可以
LEW-IDDM大鼠	自发	约8周龄	是	可以	可以
低剂量STZ诱导	诱发	给药后几天	是	视情况	视情况
高剂量STZ诱导	诱发	给药后几天	否	否	否
ALX诱导	诱发	给药后几天	否	否	否
Akita小鼠	自发	约4周龄	否	视情况	否

关于I型糖尿病模型的介绍暂时就到这里，下期我们将重点介绍关于Akita小鼠的具体应用，以及南模生物自

自主研发的Ins2-(C96Y)小鼠模型（与Akita小鼠基因型一致），不要错过哟！

References

- [1] Weng J, Zhou Z, Guo L, et al. Incidence of type 1 diabetes in China, 2010-13: population based study. *BMJ*. 2018 Jan 3;360:j5295.
- [2] Kachapati K, Adams D, Bednar K, et al. The non-obese diabetic (NOD) mouse as a model of human type 1 diabetes. *Methods Mol Biol*. 2012;933:3-16.
- [3] Mathews CE. Utility of murine models for the study of spontaneous autoimmune type 1 diabetes. *Pediatr Diabetes*. 2005 Sep; 6(3):165-77.
- [4] Al-Awar A, Kupai K, Veszelka M, et al. Experimental Diabetes Mellitus in Different Animal Models. *J Diabetes Res*. 2016;2016:9051426.
- [5] Dhuria RS, Singh G, Kaur A, et al. Current status and patent prospective of animal models in diabetic research. *Adv Biomed Res*. 2015 May 29;4:117.
- [6] Wu J, Yan LJ. Streptozotocin-induced type 1 diabetes in rodents as a model for studying mitochondrial mechanisms of diabetic β cell glucotoxicity. *Diabetes Metab Syndr Obes*. 2015 Apr 2;8:181-8.
- [7] Le May C, Chu K, Hu M, et al. Estrogens protect pancreatic beta-cells from apoptosis and prevent insulin-deficient diabetes mellitus in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006 Jun 13;103(24):9232-7.