

疾病小鼠模型系列之I型糖尿病篇（下）

上期为大家介绍了关于I型糖尿病模型，本期我们将重点介绍其中的Akita小鼠，以及南模生物自主研发的与Akita小鼠类似的Ins2-(C96Y)小鼠模型。

Akita小鼠模型应用实例

替代STZ诱导模型应用于移植研究中

如上期提到的，STZ这些化学物质会产生有害的毒副作用，使得我们在阐述机体损伤到底是由高血糖引起，还是由化学诱导物引起时往往变得更加困难和复杂。

而Akita小鼠由于其自身发生胰岛素敏感性糖尿病，同时无 β 细胞自身免疫，因此成为STZ诱导的绝佳替代模型，可用于胰岛移植、 β 细胞替换研究中(Fig.1)[1]。

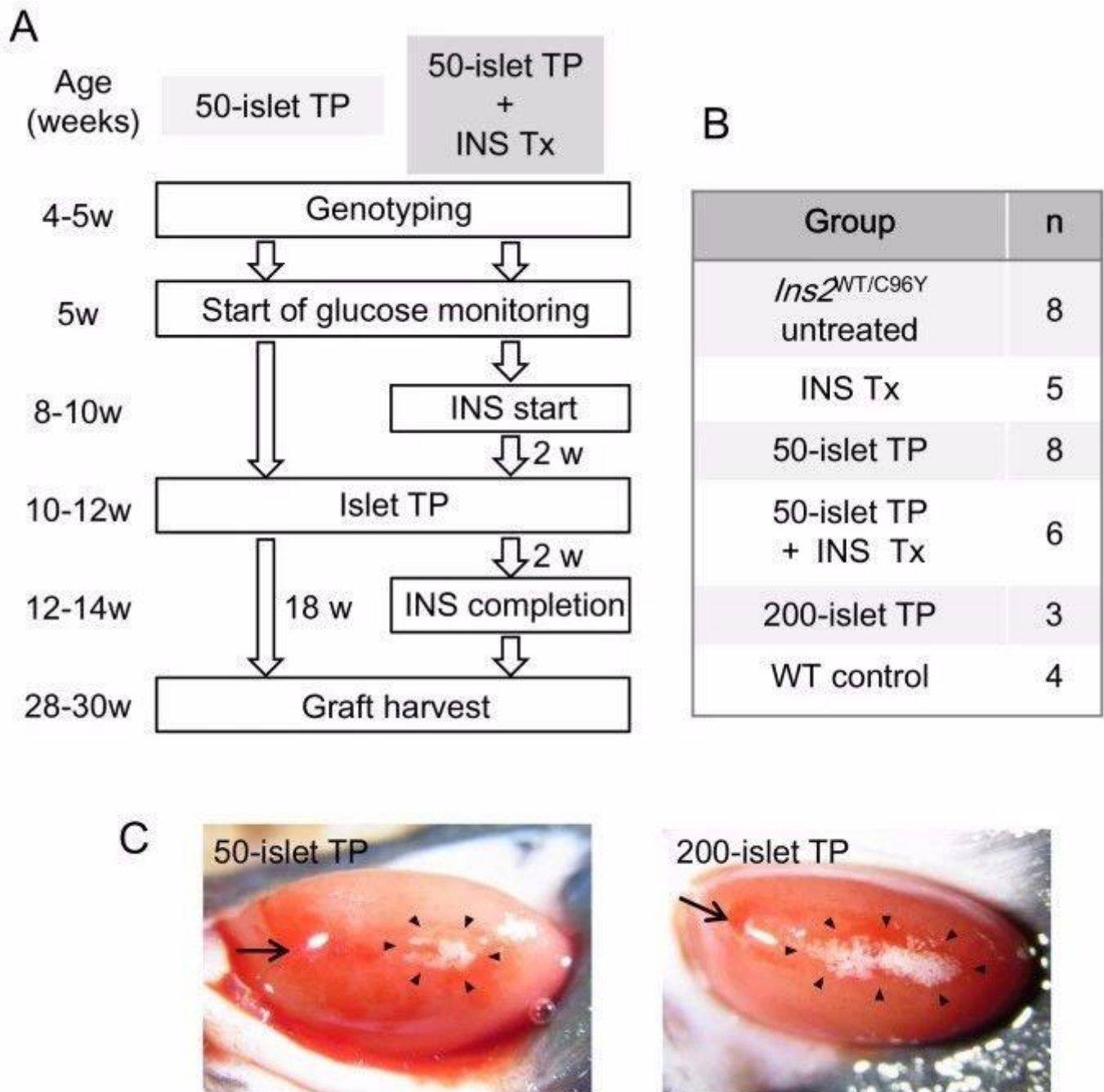


Fig.1 Akita小鼠用于在胰岛移植中替代STZ处理

用于糖尿病相关疾病的研究

糖尿病性肾病

糖尿病肾病是终末期肾脏疾病的最常见原因。Akita小鼠表现出与糖尿病相关的肾小球病变，包括肾小球膜硬化症，可能还有IgA肾病。Akita小鼠出现中等水平的蛋白尿和适度的结构变化，包括肾小球系膜基质增加，肾小球基底膜增厚和足细胞耗竭。

遗传背景与糖尿病性肾病的易感性相关。不过无论何种品系，Akita小鼠均未表现出在晚期人类糖尿病性肾病中观察到的任何结构改变，例如血管溶栓、广泛的明显或结节性肾小球膜硬化和肾小管间质纤维化。

因此，Akita小鼠可能是糖尿病肾病早期至中度晚期肾脏形态变化的有用模型[2-3]。

糖尿病性神经病

研究表明，Akita小鼠是糖尿病交感自主神经病的有效模型，与其他啮齿动物模型和人类的特征性病理密切相关[4]。患有糖尿病的Akita小鼠在椎前上肠系膜（SMG）和腹腔神经节（CG）中逐渐出现明显的轴突和树突肿胀（“神经营养不良”）。

Akita小鼠无需处理即可维持糖尿病状态长达11个月时间，相较NOD小鼠或其它模型，更有利于长期观察和评估糖尿病性神经病的治疗和纠正情况，有助于对自主神经病变逆转的新型治疗药物进行评估与分析。

例如：小促红细胞生成素肽ARA290能够将Akita小鼠中的神经营养不良症减少55-74%(Fig.2)，提示神经保护性EPO样肽的开发可能为这种使人衰弱的糖尿病并发症提供可能的未来治疗方法[5]。

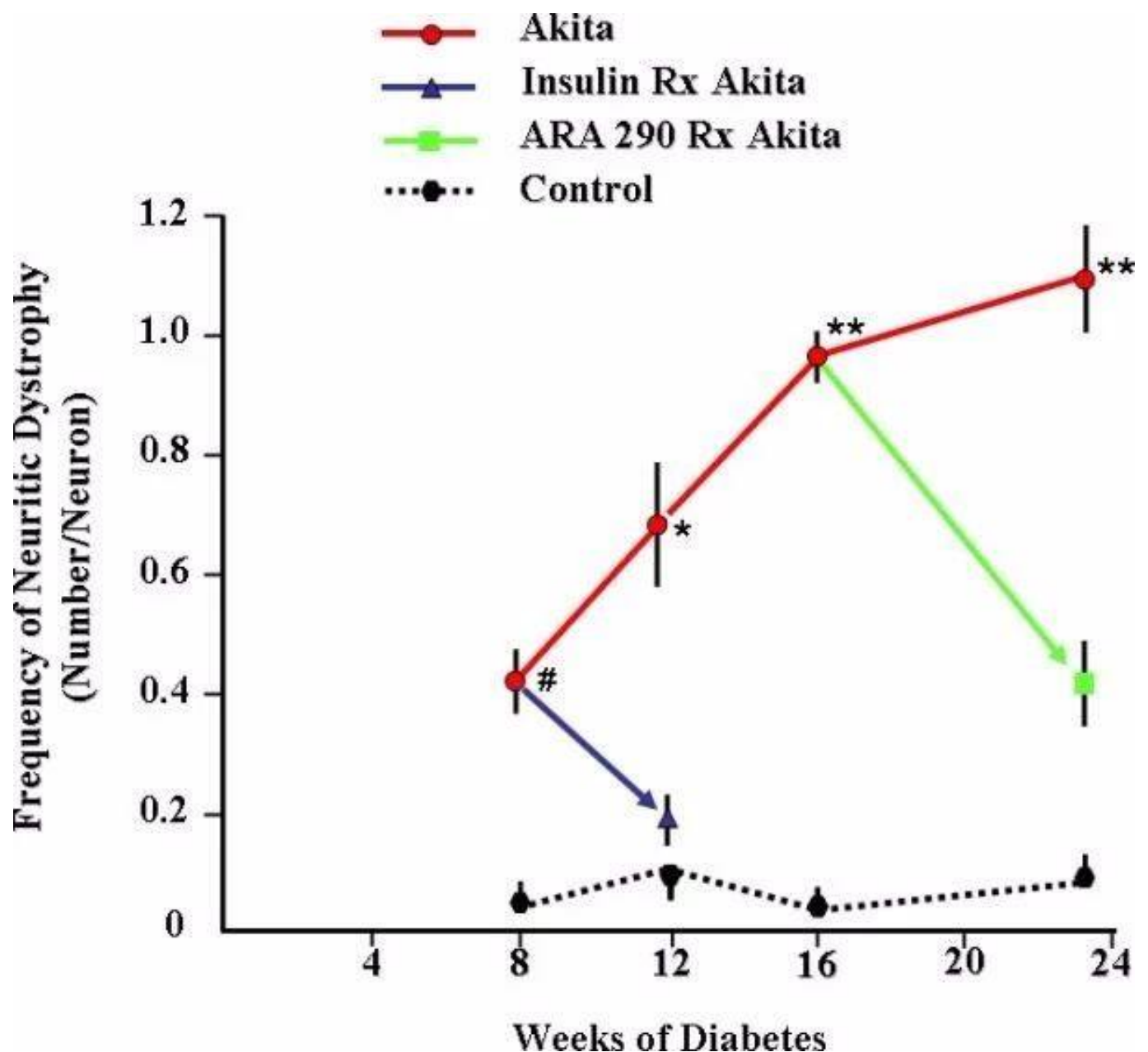


Fig.2 Effect of Insulin and ARA290 on the Frequency of Established Neuritic Dystrophy in Akita Diabetic and Control Celiac Ganglia.

Akita小鼠患上糖尿病后，还伴随着机械和热伤害感受受损，以及表皮内神经纤维的大量损失。

与同窝野生型对照相比，Akita小鼠机械伤害感受细胞中动作电位放电速率降低，而低阈值A纤维的功能基本保持完整。分离的感觉神经元的研究表明Akita小鼠背根神经节（DRG）神经元的热响应能力显著降低，但对冷敏感神经元的功能几乎没有改变。

通过胰岛移植恢复正常的血糖控制可使伤害感受迅速恢复。胰岛移植还可以将Akita小鼠表皮内神经纤维密度恢复到与野生型小鼠相同的水平，这表明恢复的胰岛素产生可以逆转小鼠糖尿病性神经病的异常[6]。

糖尿病性心肌病（DMCM）

糖尿病（DM）会引起心肌病并加重心力衰竭，但对于糖尿病性心肌病/心力衰竭的潜在分子机制了解甚少。Akita小鼠表现出一定的心脏功能障碍(Fig.3)。

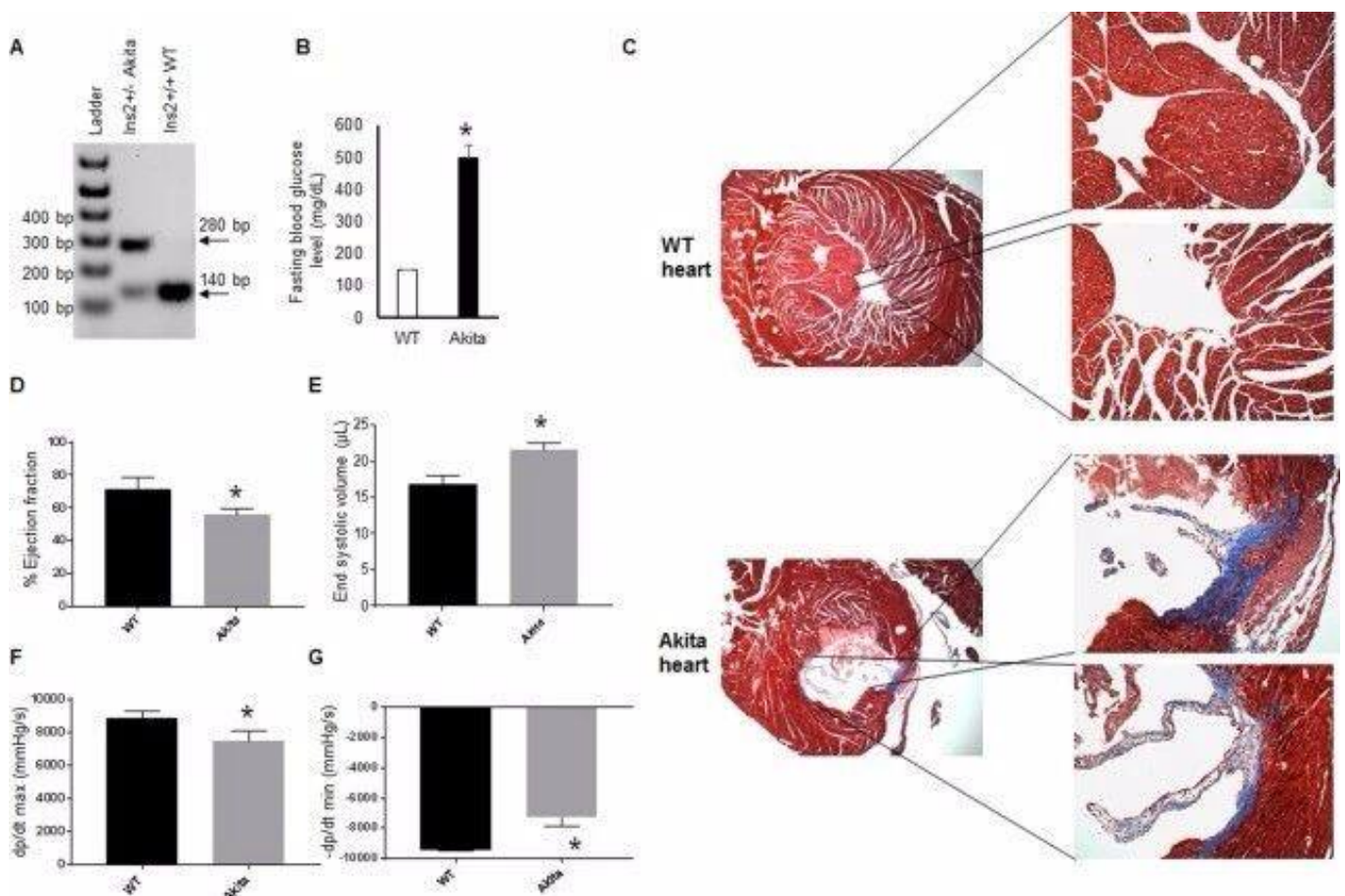


Fig.3 Genotyping and validation of hyperglycemia in Akita mice.

通过NGS测序和微阵列分析，对比患糖尿病的Akita小鼠与对照小鼠的心脏转录本，揭示了差异表达基因在糖尿病性心肌病关键信号通路中的作用，也为这些潜在靶点基因或lncRNA的后续研究提供了支持(Fig.4)[7]。

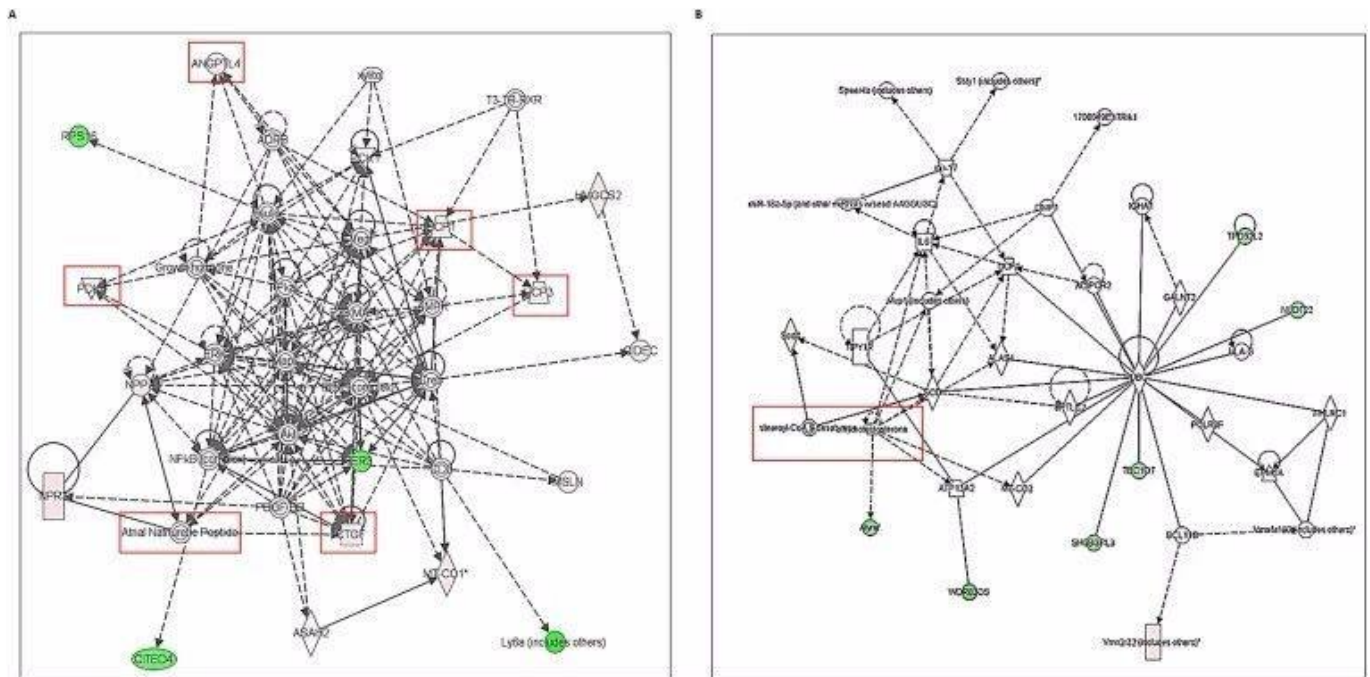


Fig.4 Ingenuity Pathway Analyses(IPA) for key signaling network associated with cardiomyopathy/diabetic heartfailure in Akita heart using differentially expressed genes from microarrayanalyses.

2018年的一项研究利用斑点跟踪的影像学手段监测了糖尿病Akita小鼠心脏的早期变化[8]。2019年4月的研究表明，降低的心脏miR-133a（一种心脏保护性miRNA）与糖尿病性心肌病相关。

通过将雄性Akita小鼠与雌性心脏特异性miR-133a转基因小鼠杂交，获得Akita/ miR-133aTg小鼠，其中miR-133a在心脏中过表达。结果表明，糖尿病小鼠心脏中miR-133a的水平升高不会改变血糖水平，但会减少心脏中的脂质蓄积，提示心脏代谢重构受到抑制[9]。

糖尿病性视网膜病变

Akita小鼠的进行性视网膜异常最早可在高血糖发作后12周开始。因此Akita小鼠可以被用于糖尿病与视网膜神经变性相关的研究中。

例如，将Akita小鼠与Srr突变（SR缺乏）小鼠杂交获得Akita-Srr的双突变小鼠品系。与非糖尿病对照小鼠相比，Akita在视网膜中保留的视网膜神经节细胞（RGCs）较少。但Akita-Srr小鼠与Akita小鼠相比在视网膜的中部和外围（而不是在后部）保留了更多的RGC，含有更少的D-丝氨酸。

研究结果提示SR缺乏可阻止糖尿病小鼠中RGC的损失。D-丝氨酸是糖尿病性视网膜病变中RGC变性的关键因素(Fig.5)。靶向SR表达或活性可能是减轻糖尿病性视网膜病变中RGC损失的策略[10]。

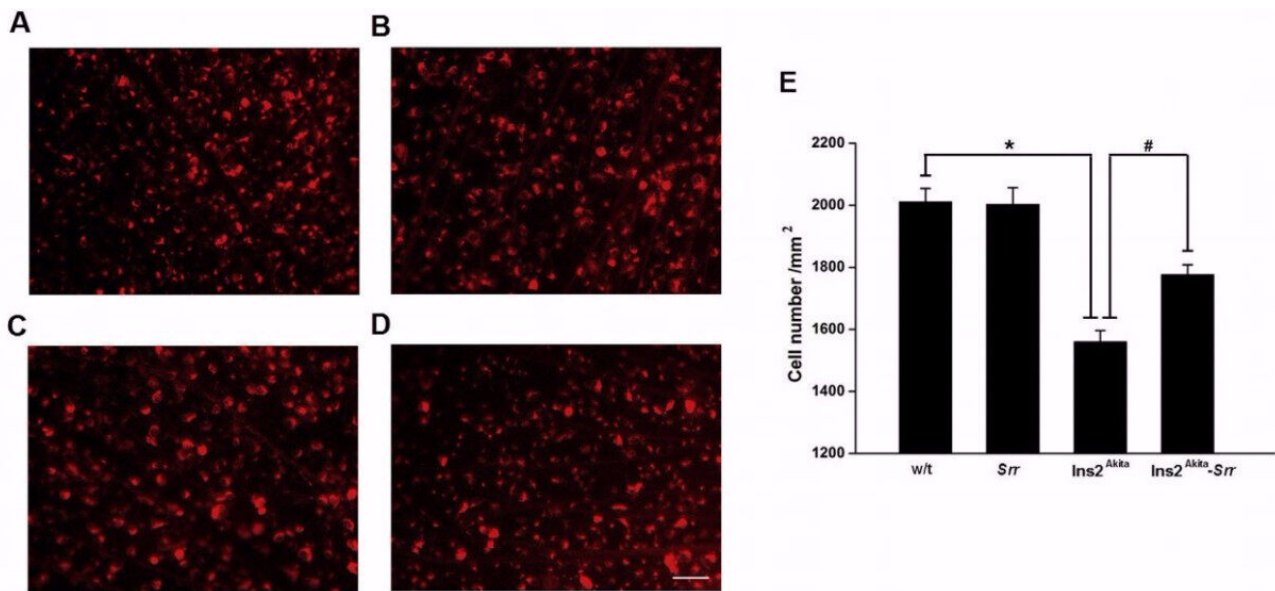


Fig.5 Retinal ganglion cells (RGC) counts in peripheral retinas from Ins2 Akita -Srr are more than those from Ins2 Akita, but less than Srr or w/t.

II型糖尿病、内质网应激研究

锌转运蛋白与糖尿病

锌离子在胰岛β细胞的生物功能中发挥着非常重要的作用。锌转运体8 (Zinc transporter 8, ZnT8) 是由SLC30A8 基因编码的锌离子转运蛋白，负责把锌离子转运和集聚在胰岛素分泌颗粒中。

研究表明，在糖尿病小鼠模型（例如db / db和Akita小鼠）的胰岛中，ZnT8的表达降低(Fig.6)[11]。

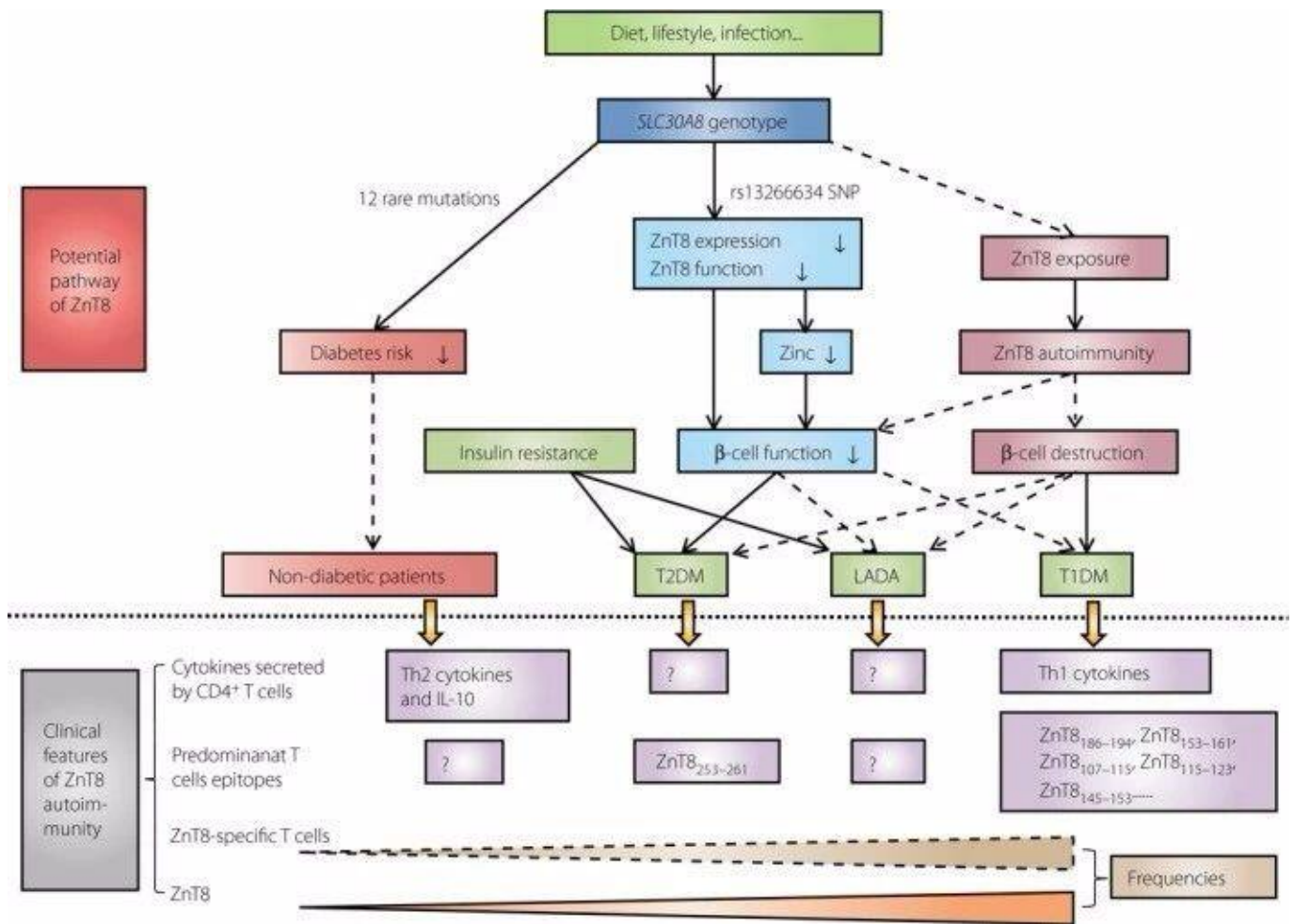


Fig.6 The clinical features (below the dotted line) and potential pathway (above the dotted line) of zinc transporter 8 (ZnT8) in diabetes. The initial phase of diabetes might be the interaction between genetic and environmental factors.

内质网应激与糖尿病

内质网 (ER) 应激是2型糖尿病发展的重要因素之一。胰腺中转录因子CHOP和内质网中的分子伴侣GRP78在胰腺中的表达。CHOP表达增强，进而引起β细胞凋亡和糖尿病的发生，而CHOP敲除可以减少ERs诱导的Akita鼠β细胞凋亡，从而延迟糖尿病的发生[12]。

将Akita小鼠与150kDa氧调节蛋白 (ORP150) 转基因小鼠进行交配后，发现Akita小鼠中ORP150的广泛系统性表达可改善胰岛素耐受性，提示了ORP150在胰岛素敏感性中的重要作用[13]。

在Akita小鼠中腹腔注射胰高血糖素样肽1受体 (GLP-1R) 激动剂exendin-4 (Ex-4)，检测β细胞凋亡情况，从而研究GLP-1R信号转导对细胞的保护作用。

结果发现Ex-4显著降低了Akita小鼠的血糖水平并增加了胰岛素阳性面积和胰岛数目，还导致CHOP阳性β细胞和TUNEL阳性β细胞的数量显著减少，以及β细胞中CHOP mRNA的水平明显降低，说明Ex-4治疗通过抑制凋亡β细胞的死亡起到减轻ER应激介导的β细胞损伤的作用(Fig.7)[14]。

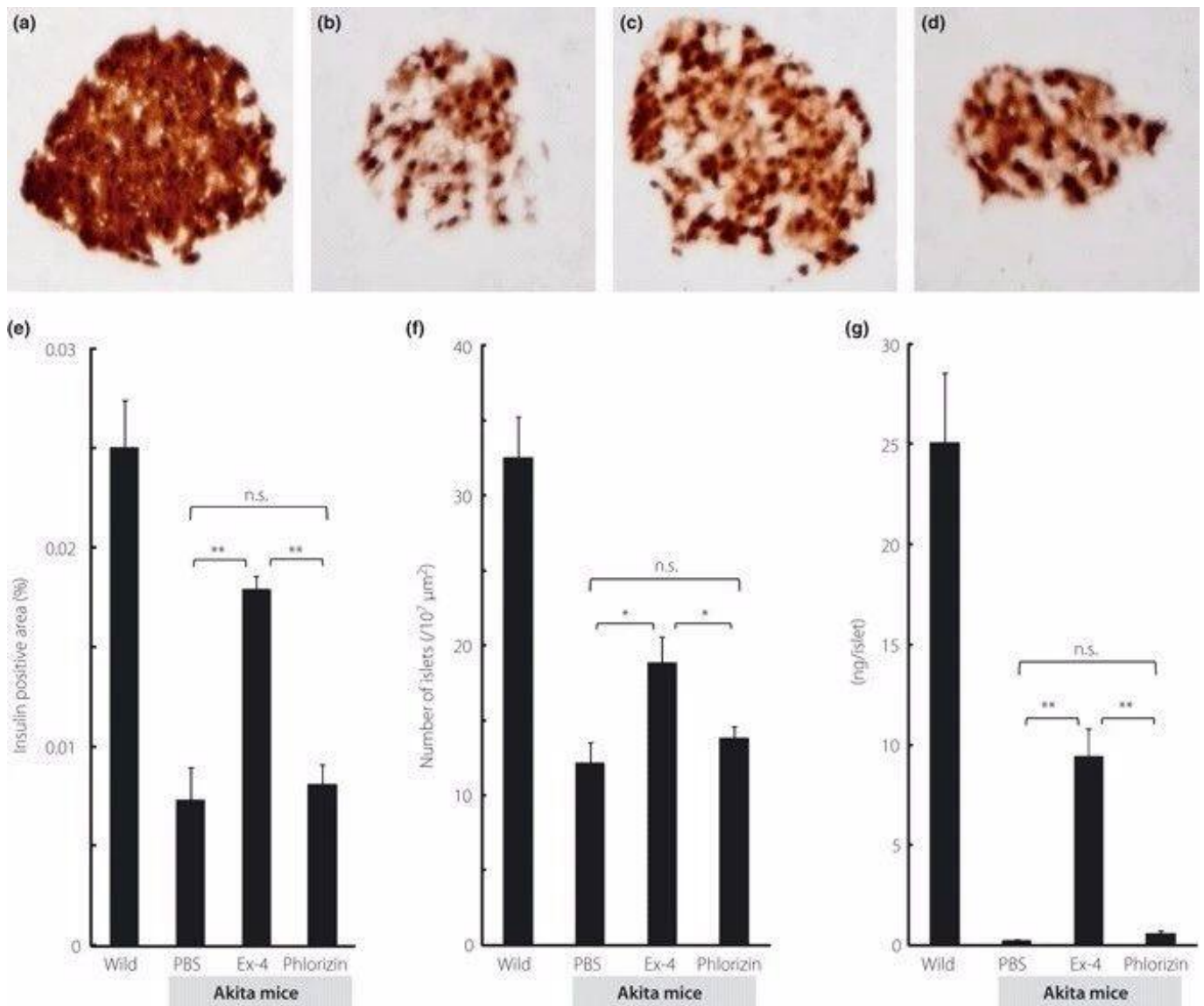


Fig.7 Ex-4 treatment increased insulin-positive areas, number of islets and insulin content.

南模生物自主研发Ins2-(C96Y)小鼠模型

南模生物利用CRISPR技术自主研发Ins2-(C96Y)小鼠模型（基因型与Akita一致）。从4周龄开始，Ins2-(C96Y)杂合子小鼠（以下简称Ins2-(C96Y)小鼠）表现出多食、多饮、高血糖、体重不增的明显糖尿病症状，且症状随着年龄增长而加重(Fig.8)。

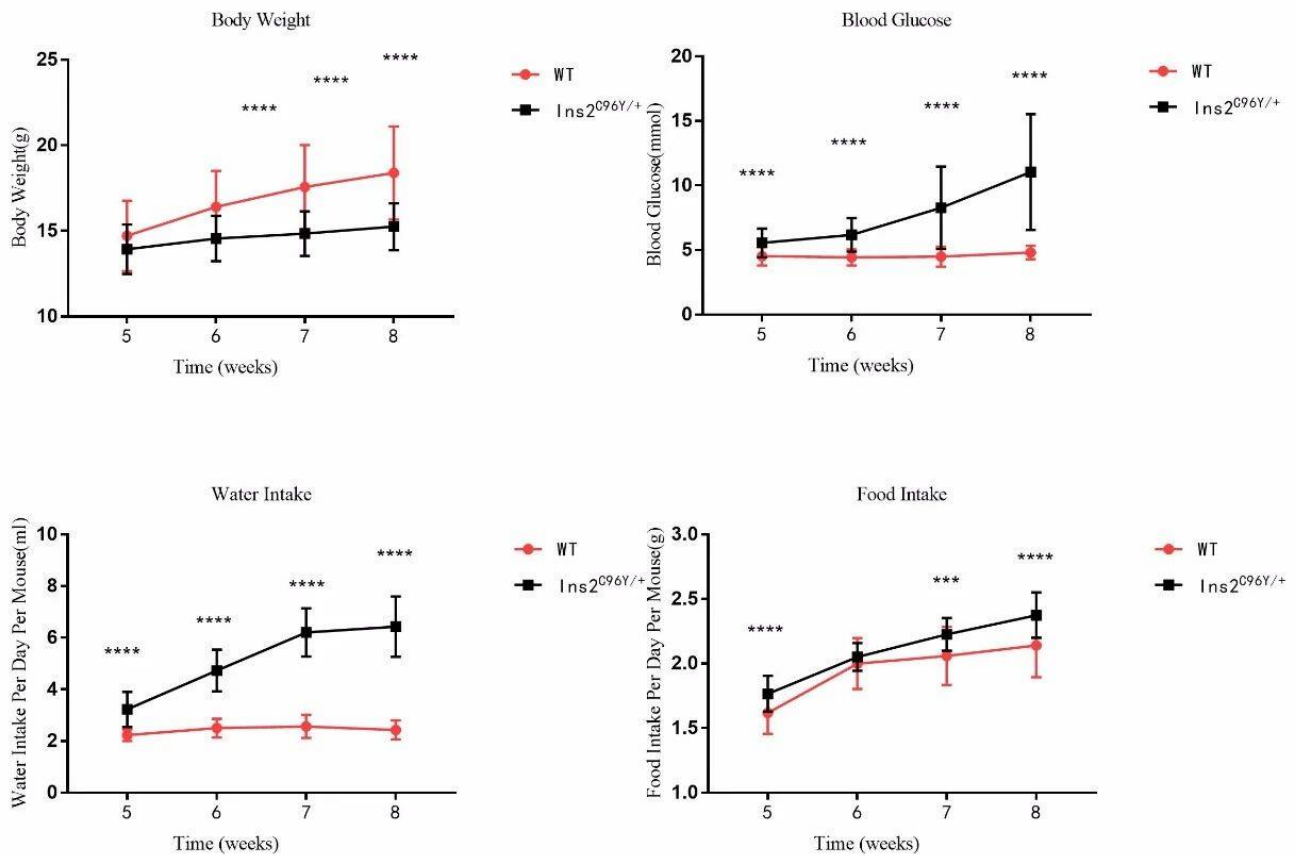


Fig.8 The Basic Symptoms of Ins2-(C96Y) Mouse Compared with Its WT Litter Mate

自6周龄开始，Ins2-(C96Y)小鼠体重明显低于同窝对照。Ins2-(C96Y)雄鼠的体重减轻较雌鼠更为明显(Fig.9)。

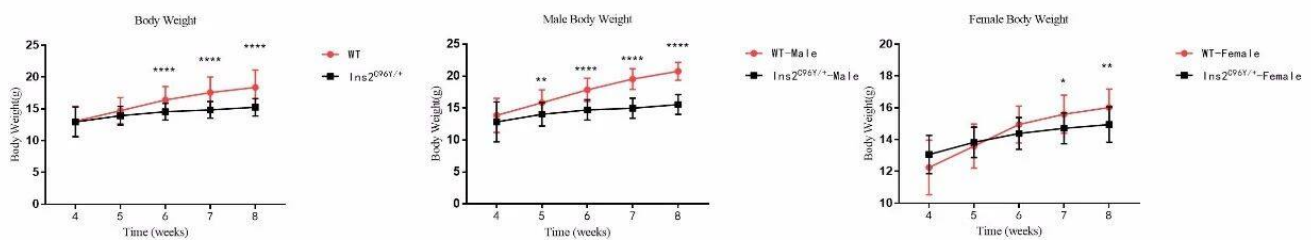


Fig.9 Body Weight of Ins2-(C96Y) Mouse Compared with Its WT Litter Mate

无论是16小时禁食还是4小时禁食血糖，Ins2-(C96Y)小鼠的血糖显著高于同窝对照小鼠。高血糖症特征明显，而且Ins2-(C96Y)雄鼠高血糖症状更为严重(Fig.10)。

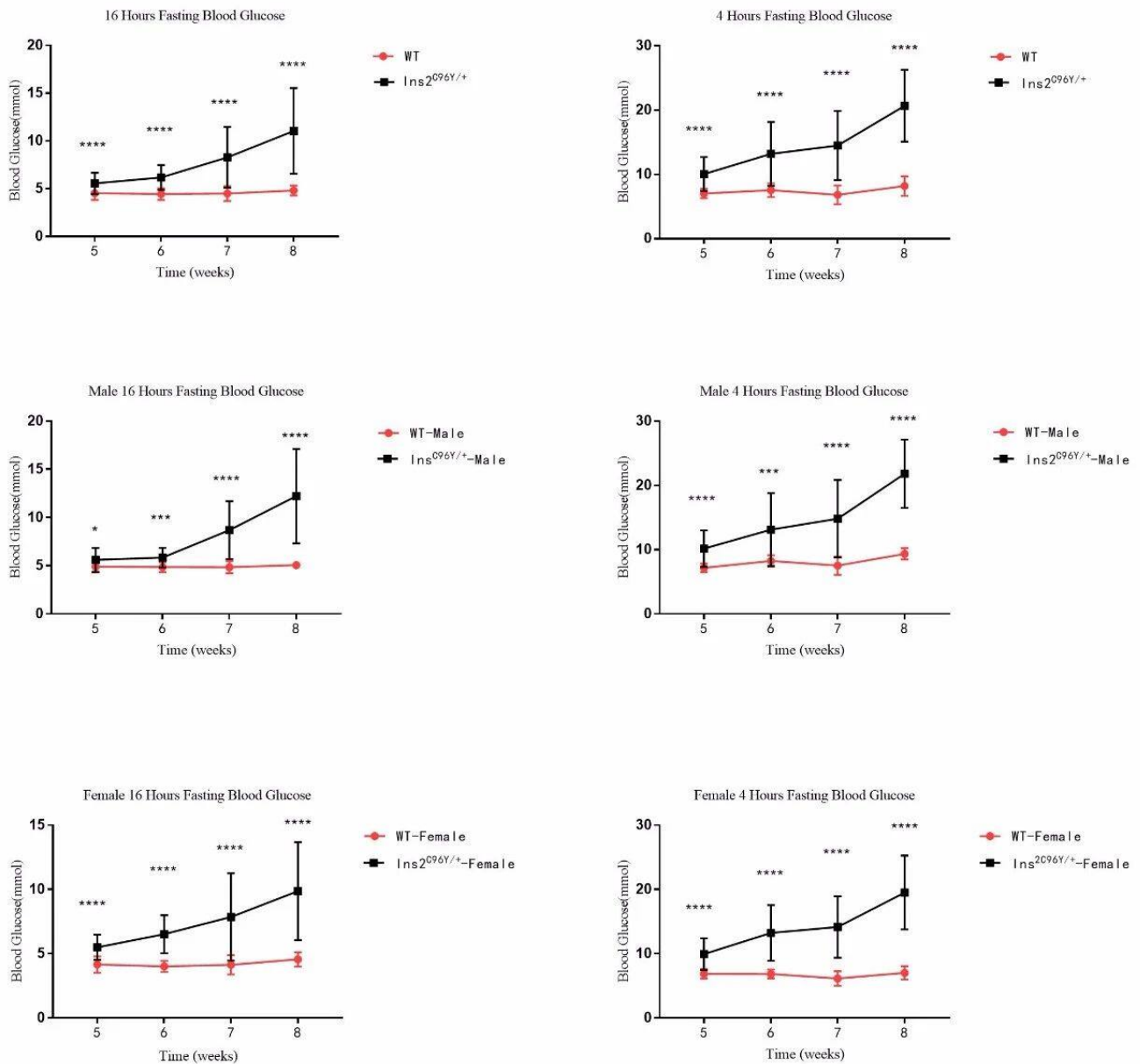


Fig.10 Blood Glucose Level of Ins2-(C96Y) Mouse Compared with Its WT Litter Mate

Ins2-(C96Y)小鼠摄水量显著高于同窝对照小鼠，表现为多饮的糖尿病特征(Fig.11)。

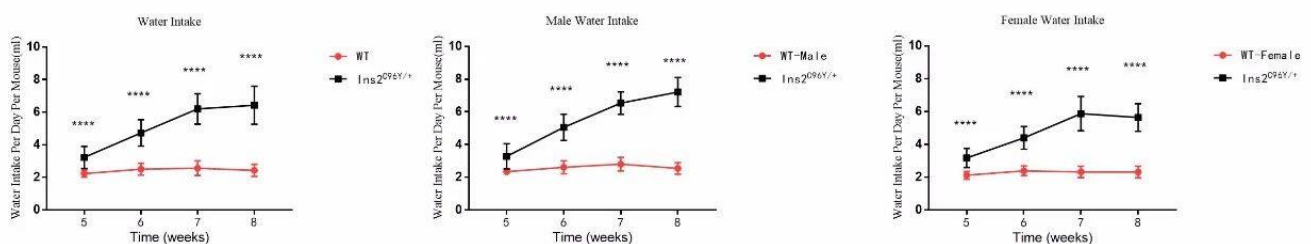


Fig.11 Water Intake of Ins2-(C96Y) Mouse Compared with Its WT Litter Mate

Ins2-(C96Y)雌鼠的摄食量显著高于同窝对照小鼠，表现出糖尿病患者的多食特征，而Ins2-(C96Y)雄鼠的摄食量与对照组相比没有显著变化(Fig.12)。

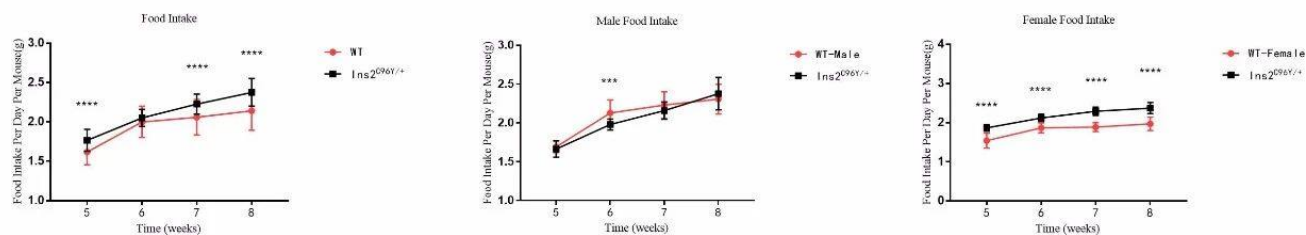


Fig.12 Food Intake of Ins2-(C96Y) Mouse Compared with Its WT Litter Mate

综上所述，Ins2-(C96Y)小鼠是研究I型和II型糖尿病的有力小鼠模型。

References

- [1] Mathews CE, Langley SH, Leiter EH. New mouse model to study islet transplantation in insulin-dependent diabetes mellitus. *Transplantation*. 2002;73:1333-6.
- [2] Kitada M, Ogura Y, Koya D. Rodent models of diabetic nephropathy: their utility and limitations. *Int J Nephrol Renovasc Dis*. 2016 Nov 14;9:279-290.
- [3] Gurley SB, Clare SE, Snow KP, et al. Impact of genetic background on nephropathy in diabetic mice. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2006 Jan;290(1):F214-22.
- [4] Schmidt RE, Green KG, Snipes LL, et al. Neuritic dystrophy and neuronopathy in Akita (Ins2(Akita)) diabetic mouse sympathetic ganglia. *Exp Neurol*. 2009 Mar;216(1):207-18.
- [5] Schmidt RE, Feng D, Wang Q, et al. Effect of insulin and an erythropoietin-derived peptide (ARA290) on established neuritic dystrophy and neuronopathy in Akita (Ins2 Akita) diabetic mouse sympathetic ganglia. *Exp Neurol*. 2011 Dec;232(2):126-35.
- [6] Vastani N, Guenther F, Gentry C, et al. Impaired Nociception in the Diabetic Ins2+/Akita Mouse. *Diabetes*. 2018 Aug;67(8):1650-1662.
- [7] Kesharwani V, Shahshahan HR, Mishra PK, et al. Cardiac transcriptome profiling of diabetic Akita mice using microarray and next generation sequencing. *PLoS One*. 2017 Aug 24;12(8):e0182828.
- [8] Zhou Y, Xiao H, Wu J, et al. Type I Diabetic Akita Mouse Model is Characterized by Abnormal Cardiac Deformation During Early Stages of Diabetic Cardiomyopathy with Speckle-Tracking Based Strain Imaging. *Cell Physiol Biochem*. 2018;45(4):1541-1550.
- [9] Kambis TN, Shahshahan HR, Kar S, et al. Transgenic Expression of miR-133a in the Diabetic Akita Heart Prevents Cardiac Remodeling and Cardiomyopathy. *Front Cardiovasc Med*. 2019 Apr 24;6:45.

- [10] Jiang H, Du J, Song J, et al. Loss-of-function mutation of serine racemase attenuates retinal ganglion cell loss in diabetic mice. *Exp Eye Res.* 2018 Oct;175:90-97.
- [11] Tamaki M, Fujitani Y, Uchida T, et al. Downregulation of ZnT8 expression in pancreatic β -cells of diabetic mice. *Islets.* 2009 Sep-Oct;1(2):124-8.
- [12] Oyadomari S, Koizumi A, Takeda K, et al. Targeted disruption of the Chop gene delays endoplasmic reticulum stress-mediated diabetes. *J Clin Invest.* 2002 Feb;109(4):525-32.
- [13] Ozawa K, Miyazaki M, Matsuhisa M, et al. The endoplasmic reticulum chaperone improves insulin resistance in type 2 diabetes. *Diabetes.* 2005 Mar;54(3):657-63.
- [14] Yamane S, Hamamoto Y, Harashima S, et al. GLP-1 receptor agonist attenuates endoplasmic reticulum stress-mediated β -cell damage in Akita mice. *J Diabetes Investig.* 2011 Apr 7;2(2):104-10.