



糖尿病动物模型的研究进展

方厚华, 仇志华

(军事医学科学院实验动物中心, 北京 100071)

中图分类号: R587.1 文献标识码: A 文章编号: 1006-6179(2001)02-0039-04

糖尿病的患病率呈逐年升高的趋势, 其发病机制也正在得到阐明, 认为它与多种致病基因和环境因素(生活习惯、年龄、应激反应)的交互作用有关。但从患者中得到的研究材料受到诸多因素的制约, 需要利用糖尿病动物模型来进行一些基础性研究。在此之前曾通过各种手段(药物投入、外科手术、基因改造等)获得糖尿病的动物模型, 这些动物的病态表现和人的糖尿病的病态有部分的相似, 可以用于对糖尿病的发生和发展过程的分析, 所以糖尿病动物作为人的糖尿病模型而被广泛的应用。

1 糖尿病的病型分类和模型动物

1.1 糖尿病的病型分类

糖尿病的发生和发展除与基因作用密切相关外还和环境因素相关。在基因方面, 等效异位基因参与了糖尿病的形成。胰岛素的作用不足缘于B细胞胰岛素产生障碍和末梢胰岛素的需求增加。胰岛素的需求超过供给血糖值就会持续上升(持续高血糖状态)。在人医临床上已确定了诊断的标准。但动物的种属间血糖值存在着很大的差异, 在兽医临床诊断上还没有建立起一个统一的标准。考虑到今后开发模型动物的可能性增大, 在实验动物中确定出糖尿病的标准是当务之急。

糖尿病的病因很多, 在病型分类上存在分歧, 但WHO的分类方法已被全世界所接受。作为临床上的一个概念, 它可分为胰岛素依赖型糖尿病(Insulin-dependent diabetes mellitus, IDDM)、营养障碍型糖尿病(non-insulin-dependent diabetes mellitus, NIDDM)和其它型糖尿病。NIDDM中有的伴有肥胖, 有

的则不伴有肥胖。

动物的糖尿病的病型也按人的糖尿病的分类方法进行。但WHO的糖尿病的病型分类是个临床概念而不是按病因分类的, 因此对糖尿病模型动物进行分类时需要注意这一点。

1.2 病态模型动物和病因模型动物

糖尿病模型动物的病因尚不清楚, 有的临床表现和病态反应与人的糖尿病相类似, 有的直接病因与人的糖尿病类似或相同。前者为病态模型, 后者为病因模型(严格地说后者才是糖尿病的动物模型), 见表1。

自发糖尿病模型是在自然发生糖尿病的个体和糖负荷发生异常的个体中实施遗传学控制(近交系、突变系等)获得的。如果糖尿病的病态能够作为系统特征表现出来或突变基因能被固定下来的话, 则能够作为病态模型分类的。但这一阶段的病因依然是不清楚的。另一方面, 制作病因模型必须制作出转糖尿病基因的动物来用于分析糖尿病的特性。首先要考虑的问题是, 在动物体中无论是导入或是敲除和人相同的糖尿病基因, 都不能肯定会显示出和人完全相同的病态。自发性糖尿病模型只有在各个变异基因被弄清之后, 并发现了相对应的人的致病基因才有可能说有了病因模型。

2 自发性糖尿病模型动物病态特征

2.1 IDDM 模型的病态

人一旦患上胰岛素依赖型糖尿病则需终身服用胰岛素, 不管病因如何, 患者胰岛B细胞都受到了极大的损伤并出现功能丧失。目前已培育出NOD

表1 人和模型动物的胰岛素依赖性自发糖尿病的比较

项 目	人			主要模型动物		
	A	B	C	BB/W 大鼠	NOD 小鼠	LETL 大鼠
发病						
日龄	终身	35岁	35岁	60日	90日	60日
性别	M < F	M = F	M = F	M = F	M < F	M = F
肥胖	-	-	-	-	-	-
遗传因素						
脏器特异性	++	+	-	++	++	++
胰腺病毒感染	-	+	+++	?	+	?
抗体						
ICA	+	+	-	-?	+	?
ICSA	+	+	-	+	+	?
GDA	+	+	+	+	?	?
IA ₂	+	+	+	-	-	?
抗胰岛素抗体	+	+	+	?	?	?
胰腺炎	+++	++	-	+++	+++	+++
胰腺 B 细胞坏死	++	++	+++	+++	+++	+++
脏器特异性						
自身免疫疾病	++	±	-	++	++	+
淋巴细胞减少症	-	-	-	++	++	+

?: 为可疑

小鼠、BB/W 和 LETL 大鼠可以作为糖尿病的模式使用。这些模型动物没有肥胖,发病之初呈现胰腺炎的症状,MHC 参与发病过程,这些都与人的 IDDM 特征相似。利用这些模型可以对人 IDDM 的病态和发病机理做深入的研究。但这些模型动物也有其不足之处,如 BB 大鼠的淋巴细胞减少现象是其作为模型动物使用的典型特征,而在人的 IDDM 中却未发现这一现象。

2.2 NIDDM 模型的病态

人的 NIDDM 病态是多种多样的,但肥胖是致病

的重要因素,这已得到免疫学的证明。因肥胖而导致胰岛素的感受性降低,相应的会引起胰岛素分泌增加(高胰岛素血症),胰脏 B 细胞功能降低,不能维持正常的耐糖量。单就肥胖而言,在糖尿病患者中有肥胖的也有不甚肥胖的,即使是肥胖的人也并不一定会发生糖尿病。胰岛素抗性的意义还不甚明了,但肥胖、原发性高血压或脂质代谢障碍是诱发本病的重要因素。在此之前曾开发出和人的 NIDDM 病态相似的模型动物(见表2)。

表2 并发肥胖的糖尿病模型动物的单基因突变

基因名称	基因标志	遗传方式	与人相同处	主要遗传背景
小鼠 Yellow	obese A', A ^{ly} , A ^{ny} ,	显性	20q11.2	C ₅₇ BL/6J, KK, ALS, ALR
obese	Lep ^{op} , Lep ^{op-2j}	隐性	7q31	C ₅₇ BL/6J, C ₅₇ BL/KsJ
Diabetes	Lep ^{db} , Lepr ^{db-pam}	隐性	1p35-31	C ₅₇ BL/6J, C ₅₇ BL/KsJ
Tubby	tub	隐性	11q15	C ₅₇ BL/6J
Fat	Cpe ^{fat}	隐性	4q32	C ₅₇ BL/KsJ
大鼠 Fatty	Lepr ^{fa} , Lepr ^{fa-k}	隐性	1p35-31	Zucker, WKY, SHROB/Kol LA/N, BBZ/Wor

表2有助于对NIDDM的病态和发病机制的理解,对治疗方案的确立也有启示作用,所以可以用于NIDM病态模型的培育。作为单一基因突变形成的具有特征性的模型,有呈现肥胖和高前胰岛素血症的 $C_{57}BL/6J - Cpe^{fl}/Cpe^{fl}$ 小鼠,也有呈高血压和高血脂症状的 $SHROB/Kol - Lepr^{fa-k}/Lepr^{fa-k}$ 大鼠。

另一方面,多因子遗传模型可以作为品系特征通过遗传被固定下来,再以近交系维持下去。还没有发现极度肥胖并伴有高胰岛素血症的动物,但有胰岛素分泌明显异常的NSY小鼠。大鼠模型方面,有特异性胰岛组织学变化GK系统和OLETF大鼠。它们都显示出和小鼠模型不同的病态特性。

3 致病基因的遗传学和生物化学的分析

3.1 单一主基因变异NIDDM模型动物

来自人的一卵双生的研究证明,其NIDDM基因的相似性明显提高,达90%。目前正在进行人NIDDM致病基因、胰岛素受体基因和葡萄糖激酶(*glucokinase*)基因的单一基因变异问题的研究,还没有发现与这些基因变异相对应的模型动物的基因变异。但也有人从遗传性高血糖肥胖小鼠(*ob/ob*)中分离出肥胖基因(*ob*基因的无意义的突变),同时检出相当于*ob*基因的人的基因。正常小鼠中由*ob*基因位点对立的基因产生被称之为Leptin的蛋白质。这种蛋白质起着降低食欲、增加耗能的作用。但是,*ob/ob*小鼠是因基因无意义突变而产生异常的Leptin,所以还没有发现Leptin的本来的作用。把从人和小鼠中提取的复合Leptin用于*ob/ob*小鼠,可见其采食量减少,体重迅速减轻,消除了肥胖。*Ob/ob*小鼠因过于肥胖而没有妊娠能力,给予Leptin后,则有繁殖能力。最近把基因符号由*ob*改为 Lep^{ob} 。

以Leptin的发现为契机,对*db/db*小鼠、*fa/fa*大鼠和 fa^k/fa^k 大鼠的致病基因进行了分析,发现都是Leptin受体的变异,*db/db*小鼠的基因变异为剪接异常,*fa/fa*大鼠为错义变异, fa^k/fa^k 大鼠为无意义变异。模型动物*a*, Lep , $lepr$, Cpe 基因位点分别与人ASIP,LEP,LEOR和CPE基因位点相对应,所以如果发现基因位点出现变异则有可能使人和模型动物的糖尿病在基因水平对应起来,即可以建立起病因模型。最近,以 Lep^{ob}/Lep^{ob} 小鼠基因分析结果为基础,从超肥胖儿童中发现编码leptin的变异LEP基因,引起Leptin的缺陷。这说明对自发糖尿病模型动物

万方数据

的基因分析结果可以直接与人的基因分析结果相联系以确立病因模型。

3.2 由遗传背景不同引起的病态差异

在糖尿病的病态受单一的主基因变异支配的模型动物中,可以发现因遗传背景不同引起的病态差异。例如,把 Lep^{ob} 导入 $C_{57}BL/KsJ$ 系统的隐性同型(Lep^{ob}/Lep^{ob})小鼠中,就会出现比以 $C_{57}BL/KsJ$ 系统为背景的隐性同型小鼠更重的病态。 Lep^{ob} 基因亦是如此。即使是 Lep^{fa} 基因,导入WKY系统的病态会比导入Zucker系统更严重。这些病态上的差异起因于各自的遗传背景(系统的基因组成)的不同,所以认为有修饰病态的基因存在。即主基因突变的时候,病态的变化受主基因和修饰基因的支配。因此模型动物修饰基因的分析对加深人的糖尿病基因的理解具有重要作用。

3.3 多因子遗传性模型动物

人的糖尿病多为多因子遗传性疾病,可通过连锁分析和患者群体来进行基因的遗传学分析。但不能获得随机组合的研究材料成为一大难题。现在可以把从动物中得到的信息用于对人的遗传分析。模型动物致病基因遗传学分析的意义和用途得到体现。即如果能从模型动物身上得到致病基因在染色体上的位置,就能够从人和大鼠小鼠之间的比较基因组中找到和模型动物相同的人的致病基因,并可判断其在染色体上的位置。如果能从模型动物中分离和鉴定出致病基因,那么人的基因分析也就比较容易了。用从模型动物中分离出来的致病基因制作转基因小鼠就能更详细地研究该基因的作用。在此之前曾用IDDM模型动物证实了MHC和MHC以外的等位异效基因的存在。目前已有许多用IDDM模型动物进行遗传学分析的专题论文发表。

NIDDM模型动物中被认为是多因子遗传的动物很多,且都是分析人类糖尿病基因遗传学的最好模型。但这些模型的遗传学特性和IDDM的一样复杂,现在仅对OLETF大鼠的一个致病基因做过鉴定。把 $C_{57}BL/6J$ 小鼠和野生*Mus spretus*互交,再将其F1代小鼠和 $C_{57}BL/6J$ 小鼠回交,所产生的仔鼠(BSB)会出现肥胖、高血糖、高胰岛素血和高脂血症。而它们的父母代则没有肥胖现象,同样用*Mus musculus castaneus*进行回交,仔鼠也不会肥胖。BSB小鼠的4个(*Mob1 - Mob4*)基因被标记出来,其中*Mob1*和*Mob4*分别靠近*tub*和 Lep 基因位点,在*tub*和 Lep 基因位点鉴定出肥胖突变基因。BSB系小鼠

对肥胖基因的分析具有重要作用。另外最近还有对 GK 和 OLETF 大鼠致病基因进行分析的报道。

动物的使用将越来越多,遗传学分析越来越进步,遗传和微生物的检测控制也将比以前更为重要。

4 糖尿病模型动物的开发

参考文献:

4.1 新病态模型动物的开发

目前已有很多的糖尿病模型动物被开发出来并加以利用。但是,尚未达到能分别与多样性糖尿病病态相对应的程度,急待开发新的动物模型。最近开发出新的糖尿病模型小鼠(Akita mouse;为常染色体显性基因非肥胖性糖尿病)和大鼠(常染色体单一隐性基因)。另外,通过基因操作对原有的模型动物进行改造制作新的模型动物,但都还仅限于小鼠。利用已知的单一突变基因开发新的模型也仅限于小鼠和大鼠,而这两种动物都很难出现合并症,这是目前尚未解决的问题。

4.2 把现有的病态模型作为病因模型进行分析

现在,已被利用的病态模型动物中,从提高其用途来考虑也需要进行更详细的病态分析。与此同时,在多因子遗传模型动物中,致病基因的遗传学分析也十分重要。日本米田氏等在90年代末从大鼠模型中发现一个新的MHC以外的致病基因,制作出人、小鼠、大鼠之间的比较基因图谱,从而认定人的IDDM致病基因的存在。今后还会利用各种各样的模型动物进行致病基因的遗传学分析,如果做不到这一点,模型动物的存在价值就会大为降低。初期胚胎操作技术的建立和基因多型标记的开发也会促进糖尿病病因学的研究。开发模型动物后还应研究动物的饲养管理、品系维持和生产繁育。总之模型

- [1] Bone A.J. Animal models of insulin - dependent diabetes mellitus. In Textbook of Diabetes Vol.1, pp 151 - 166, Pickup, J. C., and Williams, G., Blackwell Scientific Publications, London. 1991.
- [2] Owerbach, D., gabbay, K. H. The search for IDDM susceptibility genes - the next generation. Diabetes, 45, 1 - 14,1996.
- [3] Ghosh, S., Schork, N.J. genetic analysis of NIDDM: the study of quantitative traits. Diabetes, 45,1 - 14,1996.
- [4] Seale, A. G., Selley, R. L. Table of genetic homology. Mouse Genome, 95, 106 - 160,1997.
- [5] Yoshioka, M., Kayo, T., Ikeda, t., A nobel locus, Mody4, distal to D7Mit189 on chromosomes early - onset NIDDM in nonobese C57BAL/6(Akita) mutant mice. Diabetes, 1997. 46;887 - 894.
- [6] [日]牧野进. NOD小鼠的IDDM基因分析[J]. 实验动物新闻, 1998. 47;107 - 109.
- [7] [日]马场谷城,池上博司. 糖尿病模型动物的分析 - NOD小鼠. 内分泌. 糖尿病科, 1997, 5;220 - 226.
- [8] [日]井原裕,清野裕. 糖尿病模型动物的分析 - GK大鼠. 内分泌[J]. 糖尿病科, 1997, 5;238 - 246.
- [9] [日]栗原卓也. 糖尿病模型动物的分析 - BB大鼠[J]. 内分泌. 糖尿病科, 1997, 5;227 - 231.
- [10] [日]米田加重郎, 糖尿病模型动物的特征及其用途[J]. 实验动物新闻, 1998, 47, 86 - 97.

**向多年来支持本刊工作的读者、作者
致以深深的谢意,并祝工作顺利,身体健康!**