

- mythology [J]. *Anaesthesia & Intensive Care*, 2012, 40 Suppl 1(40 Suppl 1): 22-27
- [10] Sansone A, Romanelli F, Jannini E A, et al. Hormonal correlations of premature ejaculation[J]. *Endocrine*, 2015, 49(2): 1-6
- [11] Moncada I, Bethencourt F R D, Lledó -García E, et al. Effects of tadalafil once daily or on demand versus placebo on time to recovery of erectile function in patients after bilateral nerve-sparing radical prostatectomy[J]. *World Journal of Urology*, 2015, 33(7): 1031-1038
- [12] Giovannone R, Busetto G M, Antonini G, et al. Hyperhomocysteinemia as an Early Predictor of Erectile Dysfunction: International Index of Erectile Function (IIEF) and Penile Doppler Ultrasound Correlation With Plasma Levels of Homocysteine [J]. *Medicine*, 2015, 94(39): e1556
- [13] Zhu J Q, Lu H K, Cui Z Q, et al. Therapeutic potential of human umbilical cord blood mesenchymal stem cells on erectile function in rats with cavernous nerve injury [J]. *Biotechnology Letters*, 2015, 37 (7): 1515-1525
- [14] Kim E D, Owen R C, White G S, et al. Endovascular treatment of vasculogenic erectile dysfunction [J]. *Asian Journal of Andrology*, 2015, 17(1): 40-43
- [15] Diehm N, Borm A K, Keo H H, et al. Interdisciplinary options for diagnosis and treatment of organic erectile dysfunction [J]. *Swiss Medical Weekly*, 2015, 145(23): w14268
- [16] Park H J, Kim S W, Kim J J, et al. A Randomized, Placebo-Controlled, Double-Blind, Multi-Center Therapeutic Confirmatory Study to Evaluate the Safety and Efficacy of Avanafil in Korean Patients with Erectile Dysfunction [J]. *Journal of Korean Medical Science*, 2017, 32(6): 1016-1023
- [17] Hernández-Arteaga E, Hernández-González M, Mlr R, et al. Prenatal stress alters the developmental pattern of behavioral indices of sexual maturation and copulation in male rats [J]. *Physiology & Behavior*, 2016, 163: 251-257
- [18] Qingyan W. Mechanism Construction Analysis of Carbon Tax Rates under Asymmetric Information[J]. *Protoplasma*, 2016, 58(4): 1
- [19] Chong H S, Baheti A D, Tirumani S H, et al. Multimodality imaging of penile cancer: what radiologists need to know [J]. *Abdominal Imaging*, 2015, 40(2): 424-435
- [20] Hsieh C H, Huang Y P, Tsai M H, et al. Tunical Outer Layer Plays an Essential Role in Penile Veno-Occlusive Mechanism Evidenced From Electrocautery Effects to the Corpora Cavernosa in Defrosted Human Cadavers[J]. *Urology*, 2015, 86(6): 1129-1136
- [21] Pisano F, Falcone M, Abbona A, et al. The importance of psychosexual counselling in the re-establishment of organic and erotic functions after penile prosthesis implantation[J]. *International Journal of Impotence Research*, 2015, 27(5): 197-200
- [22] Bai Y, Pu C, Han P, et al. Selective Serotonin Reuptake Inhibitors Plus Phosphodiesterase-5 Inhibitors for Premature Ejaculation: A Systematic Review and Meta-analysis[J]. *Urology*, 2015, 86(4): 758-764
- [23] Sharma N M, Patel K P. Post-translational regulation of neuronal nitric oxide synthase: implications for sympathoexcitatory states [J]. *Expert Opinion on Therapeutic Targets*, 2016, 21(1): 11-22
- [24] Kaplan S A. Re: Safety and Efficacy of Bipolar versus Monopolar Transurethral Resection of the Prostate: A Comparative Study [J]. *Journal of Urology*, 2017, 197(6): 1530
- [25] Shin H J, Na H S, Jeon Y T, et al. The impact of irrigating fluid absorption on blood coagulation in patients undergoing transurethral resection of the prostate: A prospective observational study using rotational thromboelastometry[J]. *Medicine*, 2017, 96(2): e5468
- [26] Kaplan S A. Re: Greenlight High-Performance System (HPS) 120-W Laser Vaporization versus Transurethral Resection of the Prostate for the Treatment of Benign Prostatic Hyperplasia: A Meta-Analysis of the Published Results of Randomized Controlled Trials[J]. *Journal of Urology*, 2017, 198(1): 182-184
- [27] Griebbling T L. Re: Functional Outcomes after Transurethral Resection of the Prostate in Nursing Home Residents [J]. *Journal of Urology*, 2017, 71(6): 989
- [28] Gratzke C, Barber N, Speakman M J, et al. Prostatic urethral lift vs transurethral resection of the prostate: 2-year results of the BPH6 prospective, multicentre, randomized study [J]. *Bju International*, 2017, 119(5): 767-775
- [29] Ahmed E, Ingvar J, Nyman C R, et al. Comparison between normal saline and Ringer's acetate in bipolar transurethral resection of the prostate[J]. *Scandinavian Journal of Urology*, 2017, 51(12): 319-322
- [30] Becker B, Knipper S, Gross A J, et al. Current Management in Transurethral Therapy of Benign Prostatic Obstruction in Patients on Oral Anticoagulation: A Worldwide Questionnaire [J]. *Journal of Endourology*, 2017, 31(2): 163-168
- [31] Marien T, Kadihasanoglu M, Tangpaitoon T, et al. Outcomes of Holmium Laser Enucleation of the Prostate in the Re-Treatment Setting[J]. *Journal of Urology*, 2017, 197(6): 1517-1522
- [32] Wang C, Kishan A U, Kamrava M, et al. External Beam Radiation Therapy With a Brachytherapy Boost Versus Radical Prostatectomy in Gleason Pattern 5 Prostate Cancer: A Population-Based Cohort Study [J]. *International Journal of Radiation Oncology Biology Physics*, 2017, 98(5): 1045-1052

(上接第 192 页)

- [22] Chen S, Yang T, Liu F, et al. Inflammatory factor-specific sumoylation regulates NF-kappaB signaling in glomerular cells from diabetic rats[J]. *Inflamm Res*, 2014, 63: 23-31
- [23] Kojima N, Slaughter TN, Paige A, et al. Comparison of the development diabetic induced renal disease in strains of Goto-Kakizakirats[J]. *J Diabetes Metab*, 2013, (Suppl 9)(5): S9-005
- [24] Nobrega MA, Fleming S, Roman RJ, et al. Initial characterization of a rat model of diabetic nephropathy [J]. *Diabetes*, 2004, 53 (3): 735-742
- [25] Munehiro Kitada, Yoshio Ogura, Daisuke Koya1. Rodent models of diabetic nephropathy: their utility and limitations [J]. *International Journal of Nephrology and Renovascular Disease*, 2016, 9: 279-290
- [26] Betz B, Conway BR. Recent advances in animal models of diabetic nephropathy[J]. *Nephron Exp Nephrol*, 2014, 126(4): 191-195

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2019.01.041

糖尿病肾病啮齿动物模型研究进展*

丁 雷¹ 董笑克¹ 郭翔宇^{2△} 刘铜华³ 段 颖⁴ 孙 文³ 韩亦凡¹ 乐海波¹

(1 北京中医药大学第二临床医学院 北京 100078; 2 北京中医药大学东方医院内分泌科 北京 100078;

3 北京中医药大学中医养生研究所 北京 100029; 4 首都医科大学附属北京同仁医院传统医学科 北京 100730)

摘要: 糖尿病肾病 (Diabetic nephropathy, DN), 是糖尿病微血管病变中常见的并发症, 也是发展为终末期肾病 (End stage renal disease, ESRD) 的主要原因之一, 其病因与发病机制非常复杂, 至今尚未完全阐明。理想的动物模型研究对于探索 DN 的病因、发病机制, 发病早期作出诊断、发现临床相关治疗靶点并探索新的治疗方法, 评价干预措施等方面有着不可替代的作用。本文现就目前国内常用的 DN 啮齿动物模型展开综述, 探讨不同 DN 啮齿动物模型的特点和应用范围。

关键词: 糖尿病肾病; 动物模型; 综述

中图分类号: R-332; R587.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273(2019)01-189-04

Research Progress of DN (Diabetic Nephropathy) Rodent Model*

DING Lei¹, DONG Xiao-ke¹, GUO Xiang-yu^{2△}, LIU Tong-hua³, DUAN Ying⁴, SUN Wen³, HAN Yi-fan¹, YUE Hai-bo¹

(1 Second Clinical College of Beijing University of Chinese Medicine, Beijing, 100078, China;

2 Endocrine Department, Dongfang Hospital, Beijing, 100078, China;

3 Institute of Chinese Medicine Health Preservation, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing, 100029, China;

4 Department of traditional Chinese medicine, Tongren Hospital, Beijing, 100730, China)

ABSTRACT: Diabetic nephropathy (DN) is a common complication in diabetic microangiopathy and is one of the main causes of end stage renal disease (ESRD). Its etiology and pathogenesis are very complicated, and they have not been fully elucidated. The ideal animal model study can help to explore the etiology and pathogenesis of DN, to diagnose early onset, to find clinically relevant therapeutic targets and to explore new treatment methods, evaluation of interventions and other aspects of irreplaceable role. In this paper, we present a review of the commonly used DN rodent models at home and abroad to explore the characteristics and application of different DN rodent models.

Key words: Diabetic nephropathy; Rodent Animal model; Review

Chinese Library Classification(CLC): R-332; R587.2 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2019)01-189-04

糖尿病肾病 (Diabetic nephropathy, DN) 是糖尿病微血管病变中常见的并发症, DN 早期症状隐匿, 加上患病意识及筛查水平较低^[1], 后期发展为终末期肾病 (End stage renal disease, ESRD), 是糖尿病患者致残、致死的主要原因之一^[2]。DN 早期病理改变表现为基底膜轻度增厚及系膜基质增生, 肾小球滤过率升高和肾小球肥大, 后期形成典型的 Kimmelstiel-Wilson 结节, 肾小球滤过率进行性下降, 进行性蛋白尿和肾功能减退。DN 模型的建立是基于 1 型及 2 型糖尿病动物模型的基础之上, 根据人类 DN 的临床和病理特征, 美国糖尿病并发症动物模型协会 (Animal models of diabetic complication consortium, AMDCC) 制定了 DN 啮齿动物模型验证标准: (1) DN 小鼠整个生存期肾小球滤过率下降 50% 以上; (2) 与相同品系、性别、年龄的对照组相比, 尿蛋白增幅超过 10 倍; (3) 肾脏系膜基质增生伴或不伴结节硬化和系膜溶解, 基底膜增厚超过基线水平的 50%, 小动脉透明样变, 小管间质纤维化。目前研究中常使用的动物模

型主要有化学药物诱导、基因突变、基因替换、基因敲除等。本文现就目前常用的 DN 动物模型展开综述, 探讨不同 DN 动物模型的特点和应用范围。

1 1 型 DN 模型

1.1 STZ 诱导的 1 型糖尿病小鼠

链脲佐菌素 (Streptozotocin, STZ) 由葡萄糖胺 - 亚硝基脲组成, 对胰岛 β 细胞有毒性, 广泛用于诱导 1 型糖尿病小 / 大鼠模型。STZ 可能对包括肾脏在内的其他组织器官产生毒性作用, 为了尽可能减少 STZ 非特异性毒性, 在造模时应避免向小鼠腹腔内注射高剂量 (150-200 mg/kg) 的 STZ。AMDCC 推荐实验动物禁食 4-6 h 后, 采用小剂量 (30-50 mg/kg) 连续 5 天腹腔注射的方法, 成模周期一般为 8-24 周^[3-5], 该造模方法广泛用于糖尿病及其并发症领域的众多研究, 但需要注意的是, STZ 诱导的糖尿病小鼠模型研究 DN 时不同品系和遗传背景的小鼠

* 基金项目: 北京中医药大学东方医院东方新星项目 (DFRC2014C06); 国家自然科学基金项目 (81303130)

作者简介: 丁雷 (1993-), 男, 硕士研究生, 主要研究方向: 2 型糖尿病, E-mail: bucmidl@163.com

△ 通讯作者: 郭翔宇 (1979-), 男, 副主任医师, 主要研究方向: 2 型糖尿病, 电话: 010-67689672, E-mail: gxyc1003@163.com

(收稿日期: 2018-02-27 接受日期: 2018-03-23)

糖尿病肾病易感性有所差异。

1.1.1 C57BL/6 C57BL/6 小鼠是 DN 临床前研究最常用的品系,许多自发性 DN 小鼠都是由该品系基因突变而成的。C57BL/6 小鼠品种良好,寿命长,但在糖尿病肾病的模型中肾损伤并不理想,C57BL/6 小鼠 STZ 诱导糖尿病 6 个月后出现轻至中度蛋白尿,与非糖尿病小鼠相比,增幅小于十倍,并可以观察到轻度肾小管损伤,但未出现肾小管间质纤维化^[6]。

1.1.2 DBA/2 STZ 诱导的 DBA/2 糖尿病小鼠比 C57BL/6 小鼠肾脏损伤更为易感,STZ 诱导的 DBA/2 糖尿病小鼠患糖尿病后 5 周即出现蛋白尿,25 周时会表现出人类 DN 的一些病理特征,并伴有显著蛋白尿^[7],但该模型不会发生小管间质纤维化。DBA/2 糖尿病小鼠在高血糖发生 25 周后死亡率明显增加,约有 40% 的死亡率,而 C57BL/6 糖尿病小鼠在高血糖发生后 45 周仍可存活^[7]。

1.1.3 CD1 STZ 诱导的 CD1 糖尿病小鼠与人类 DN 晚期病理改变相似,是一种更适合研究晚期 DN 的动物模型。Sugimoto^[8]等研究发现 CD1 小鼠在单次腹腔注射 STZ(200 mg/kg)后 6 个月内出现肾功能下降以及与肾小管间质纤维化相关的慢性肾损伤,与 STZ 诱导 C57BL/6、129/Sv 小鼠相比,CD1 小鼠有明显肾小球损伤,但未观察到结节性病变,使用尿蛋白/肌酐比值估计的 STZ 诱导的 CD1 小鼠尿蛋白水平比对照 CD1 小鼠要高出 10 倍以上,与之相比 STZ 诱导的 C57BL/6J 和 129/Sv 小鼠增幅均不超过 10 倍。

1.1.4 129/Sv 129/Sv 小鼠由于肾素水平升高,肾素-血管紧张素-醛固酮系统(RAAS)激活,是目前广泛用于研究高血压肾损害的品系之一。相较于 DBA/2 和 CD1 小鼠,该品系小鼠对 STZ 诱导糖尿病肾损伤包括组织学变化的易感性较低,STZ 诱导的 129/Sv 小鼠发生轻至中度的蛋白尿,尿蛋白/肌酐比值与对照小鼠相比增幅小于 10 倍。肾组织学表现为轻至中度系膜基质增生和肾小管损伤,并未出现肾小管间质纤维化。在用醋酸脱氧皮质酮(Deoxycortone acetate, DOCA)诱导高血压的研究中,129/Sv 小鼠比 C57BL/6 小鼠更易发生高血压,肾小球硬化,肾小管间质纤维化和蛋白尿,但目前没有研究显示与其他品系相比 129/Sv 小鼠这种对肾损伤和高血压的易感性是否有利于糖尿病肾病的进展。

1.2 STZ 诱导的 1 型糖尿病大鼠

STZ 诱导的 Sprague-Dawley(SD)大鼠用于 DN 早期的模

型研究。诱导 24 周后,SD 大鼠尿蛋白水平约 12 ± 1.3 mg/天,明显高于对照组 1.0 ± 0.5 mg/天^[9],STZ 诱导的 SD 大鼠虽然在肾脏组织上可以观察到氧化应激和炎症,但是没有观察到严重的系膜基质增生、肾小球结节性病变、肾小管细胞损伤或小管间质纤维化^[10],而且,STZ 诱导的大鼠肾脏形态学变化不如小鼠中那样显著。

1.3 1 型糖尿病小鼠的转基因模型

1.3.1 Insulin -2 Akita 小鼠 Akita 小鼠是 C57BL/6 小鼠常染色体胰岛素 -2 (insulin -2) 基因常染色体显性突变产生的一种小鼠,其中 Ins2+/C96Y 突变导致胰岛素蛋白异常折叠和胰岛 β 细胞的毒性损伤,从而导致 1 型糖尿病。不同遗传背景的 Akita 小鼠的 DN 易感性不同,蛋白尿水平和组织学变化也有所差异,Akita 糖尿病小鼠可以产生轻度的蛋白尿和肾脏组织结构变化^[11]。但是所有品系的 Akita 小鼠均没有表现出人类 DN 晚期肾脏病理改变。因此,Insulin-2 Akita 小鼠可能是糖尿病肾病早期至中晚期肾形态变化的模型。Haseyama 等^[12]研究显示 C57BL/6Insulin-2 Akita 小鼠从 20 周开始出现免疫球蛋白 A(IgA)的弥漫性颗粒状肾小球系膜沉积。IgA 沉积是系膜增生性肾小球肾炎的主要原因,这限制了对 DN 所导致系膜增生等肾脏组织改变的评估。

1.3.2 OVE26 FVB 小鼠 OVE26 小鼠胰岛 β 细胞中钙调蛋白转基因过表达,导致小鼠在出生一周内缺乏胰岛素,从而发生 1 型糖尿病^[13]。雄性杂交 OVE26 糖尿病小鼠与雌性野生的 FVB 小鼠育种所得的 OVE26 小鼠在 2 个月龄时就显示出明显的蛋白尿,OVE26 糖尿病小鼠肾组织可出现典型的结节性系膜基质增生并可发展成更广泛的肾小球硬化和肾小管间质纤维化。C57BL/6 或 DBA/2 小鼠转基因过表达钙调蛋白后,其蛋白尿、系膜基质增生及纤维化程度均没有在 FVB 小鼠上显著,因此这种模型只能选用 FVB 品系的小鼠才能成功建立。OVE26 小鼠可以表现出人类晚期 DN 的大部分特征,这种小鼠模型适合针对 DN 治疗的研究,但也有研究表面该模型小鼠难以存活^[14]。

2 2 型 DN 模型

2.1 2 型 DN 小鼠模型

2.1.1 db/db 小鼠 db/db 小鼠是目前使用最广泛的 2 型糖尿病模型^[14]。该小鼠 4 号染色体上的瘦素受体(LepRdb/db)缺失,

表 1 1 型 DN 啮齿动物模型

Table 1 Type 1 diabetic nephropathy rodent models

啮齿动物模型 Rodent Model	优点 Advantages	缺点 Disadvantages
C57BL/6	应用广泛,品种优,肿瘤易感性低, 寿命长,早期 DN	糖尿病相关肾损伤不理想
DBA/2	人类 DN 病理特征并伴显著蛋白尿	寿命不长,高血糖发生 25 周后死亡率明显增加
CD1	晚期 DN	
129/Sv	高血压易感	糖尿病相关肾损伤及组织病理改变不理想
STZ 诱导 1 型糖尿病大鼠	早期 DN	组织病理改变不显著
Insulin -2 Akita	早中期 DN	仅 C57BL/6 Akita 可用价格较贵并出现不明原因 IgA 沉积
OVE26 FVB	晚期 DN	较难存活

引起瘦素蛋白信号传导缺陷影响下丘脑摄食中枢,导致食欲过盛,引起肥胖、高脂血症、高胰岛素血症、胰岛素抵抗以及糖尿病的发生。db/db 小鼠是研究 DN 肾脏早期形态学变化的良好模型,雄性 db/db 小鼠的糖尿病要比雌性更严重,db/db 小鼠在 6-10 周龄时快速发展为糖尿病,8-25 周龄之间出现中度至重度蛋白尿,15-18 周龄时,db/db 小鼠肾脏组织学呈进行性变化,但是 db/db 小鼠不会发生肾小球系膜溶解,结节性肾小球硬化或严重的肾小管间质纤维化,蛋白尿水平并未随糖尿病发展而进行性加重,也不会出现进行性肾功能不全等人类晚期 DN 的特征。

2.1.2 KK 和 KK-Ay 小鼠 KK 小鼠最初是由 Kondo 等人由日本小鼠的近亲繁殖而来,表现为轻度的胰岛素抵抗和肥胖,雄性小鼠要比雌性更严重。KK 小鼠在 10-15 周龄出现蛋白尿,STZ 诱导的 KK/H1J 在诱导糖尿病后 35 周出现比未注射的 KK/H1J 小鼠更严重的肾小球系膜基质增生,结节性肾小球硬化和小动脉透明样变,表现出更为显著的蛋白尿^[8]。

KK-Ay 小鼠由 Nishimura 等在 1969 年通过将黄色肥胖基因(Ay 等位基因)转移到 KK 小鼠而成的一种转基因自发性 2 型糖尿病小鼠。Ay 基因可引起代谢紊乱,KK-Ay 小鼠表现出更严重的代谢综合征和蛋白尿。KK-Ay 小鼠肾组织学改变包括中至重度的弥漫性肾小球系膜扩张及系膜细胞增殖、基底膜增厚、足细胞缺失、系膜结节性病变及节段性硬化,同时也能观察到炎症与氧化应激,这些病变要比 KK 小鼠更严重^[9],KK-Ay 小鼠蛋白尿随年龄增长而逐渐增加,但这些小鼠不会发展为肾功能不全。KK-Ay 小鼠肾小球的病理变化与人类糖尿病肾病早期观察到的病理变化一致,是 2 型糖尿病肾病早中期阶段的理想动物模型,因此,KK-Ay 小鼠广泛应用于早期 DN 研究。但是 KK-Ay 小鼠在 6-7 个月时出现肾盂积水,出现膀胱膨胀,7 月龄时因肾衰竭的死亡率很高,因此很少应用于晚期 DN 的研究。

2.1.3 高脂饮食诱导的 2 型糖尿病小鼠 高脂饮食(HFD)喂养可引起小鼠代谢综合征。有研究表明,与低脂肪饮食(LFD)小鼠相比,C57BL/6 小鼠的体重和血糖水平在 HFD 干预后 12 周后可出现代谢综合征表现,并出现尿蛋白轻度升高,HFD 喂养 C57BL/6 小鼠肾脏损伤可能是由于全身性脂质过载而不是高血糖的作用。

2.2 2 型 DN 大鼠模型

2.2.1 ZDF 大鼠 Zucker 糖尿病肥胖(Zucker Diabetic Fatty, ZDF)大鼠是瘦素受体基因(Lepr)中纯合子(fa/fa)的错义突变,表现为肥胖、高胰岛素血症、高血糖、高脂血症、蛋白尿和中度高血压,目前被广泛用于研究 2 型糖尿病^[10]。6 周龄雄性 ZDF 大鼠的蛋白尿水平略高于对照瘦大鼠,随后蛋白尿逐渐增加,12 周龄时观察到轻度肾脏肥大,16 周龄时肾肥大更为突出,22 周龄至 39 周龄的 ZDF 大鼠表现为肾小管细胞损伤、中度至重度肾小管间质性纤维化,炎症和缺氧^[11]。但是在人类 DN 晚期出现的肾小球结节性病变或肾小球膜溶解并未能在 ZDF 大鼠中出现,而且,ZDF 大鼠会出现不同程度的肾积水^[18]。

2.2.2 WF 大鼠 Wistar(WF)肥胖大鼠是 Wistar Kyoto(WKY)的同品系大鼠,WKY 大鼠 Lepr 基因中也具有 fa/fa 纯合错义突变,所以该品系与 ZF 大鼠以相同的方式发生肥胖、代谢紊乱等相关特征。与 ZDF 大鼠相似,WF 大鼠也是 3-8 周龄

时出现进行性胰岛素抵抗和糖耐量异常,在 8-10 周龄出现明显的糖尿病症状,但 WF 大鼠要比 ZDF 大鼠病情要轻。组织学上,WF 大鼠在 24-44 周时出现不断加重的肾小球病变和肾小管间质纤维化使得 WF 大鼠可能适用于晚期 DN 的理想模型,但它没有发生人类 DN 晚期出现的肾小球结节性病变或肾小球膜溶解,这与 ZDF 大鼠结果相似。

2.2.3 OLETF 大鼠 OLETF 大鼠是由 Long-Evans 大鼠繁殖而来的,该品系大鼠的缩胆囊素(cholecystokinin,CCK)受体 A 基因表达完全缺失导致消化道对 CCK 刺激无反应,从而引起食欲亢进和肥胖。雄性 OLETF 大鼠中 8 周龄出现糖耐量异常,18 周龄血糖水平上升,近 100%在 25 周龄时发展为糖尿病^[19]。随着周龄增加持续进展,25 周时观察到肾小球系膜细胞增殖,30 周龄起尿蛋白明显增多,40 周龄出现中度的系膜增生伴随肾小球毛细血管壁增厚、细胞外基质增生,54 周龄时出现大量蛋白尿,并可观察到肾脏肥大,65 周龄可以发现肾小球结节性病变的扩张和更严重的系膜基质增生,并可以发现管状间质损伤,例如扩张和扁平的管状细胞,单核细胞过滤和萎缩性小管周围的纤维化。OLETF 大鼠表现出与人类晚期 DN 非常相似的弥漫性肾小球硬化和结节性病变,这与临床 2 型 DN 患者的病理表现极为相似,是研究 2 型 DN 发病机制及其防治的理想模型。

2.2.4 Goto-Kakizaki 大鼠 Goto-Kakizaki(GK)大鼠是通过糖耐量异常的 Wistar 大鼠近亲繁殖产生的一种自发性非肥胖 2 型糖尿病大鼠模型。通过糖耐量试验,筛选多代血糖水平升高的 Wistar 大鼠选择性育种,发展为 GK 品系大鼠。12 周龄时,GK 大鼠发展为 2 型糖尿病,其特征是升高的空腹血糖和胰岛素水平但无脂代谢紊乱。几项研究报道表明^[20-22]GK 大鼠可以表现出在其他 DN 动物模型中常见的肾脏病理变化,但即便是较老的 GK 大鼠也不表现出进行性肾损伤^[23]。

2.2.5 T2DN/Mcwi 大鼠 Nobrega 等^[24]报道了 T2DN/Mcwi 大鼠是由 GK 大鼠和 Fawn-Hooded Hypertensive(FHH)大鼠交配产生的一种 GK 大鼠转基因亚型模型^[24]。在 6 月龄时出现糖尿病和进行性蛋白尿,18 月龄几乎所有的 T2DN/Mcwi 大鼠都会出现弥漫性肾小球硬化,结节形成和小动脉透明样变^[23],这些肾脏病理表现说明 T2DN/Mcwi 大鼠可能是研究晚期 DN 的合适模型。

3 小结与展望

DN 动物模型对于探索 DN 的病因、发病机制、诊断和治疗等方面的研究便有着不可替代的作用。理想的 DN 模型应表现出进行性肾功能的降低和蛋白尿,以及在人类 DN 所观察到的特征性组织学变化。现在使用最多的仍是 STZ 诱导的糖尿病模型,但是由于其非特异性肾脏毒性作用,所以这类模型与人类 DN 的病理生理过程有所差异。现在随着基因工程的发展,自发性及基因工程技术所构建的 DN 动物模型可以很好的模拟人类 DN 发病机制和病理过程,但由于其造价及技术要求较高,近些年,国内才逐渐开始使用这类动物模型。此外,不同动物模型的遗传背景和品系导致其对糖尿病肾病的易感性有差异,因此研究各种动物模型对糖尿病肾病易感性和及其病理生理学的差异可能会更好地理解糖尿病肾病的遗传机制,例如

表 2 2 型 DN 啮齿动物模型

Table 2 Type 2 diabetic nephropathy rodent models

啮齿动物模型 Rodent Model	优点 Advantages	缺点 Disadvantages
db / db 小鼠	应用广泛, DN 肾脏早期形态学改变	db 基因突变人体中不发生糖尿病
KK-Ay 小鼠	早中期 DN	因肾盂积水而肾衰竭导致死亡率高, 较少用于晚期研究
HFD 诱导的小鼠	代谢综合征	全身性脂质过载可能导致肾损伤
ZDF 大鼠	组织病理改变理想	出现不明原因的肾积水
WF 大鼠	组织病理改变理想	未出现肾小球结节性病变或肾小球膜溶解
OLETF 大鼠	晚期 DN	
Goto-Kakizaki 大鼠	无脂代谢紊乱	不出现进行性肾损伤
T2DN/Mcwi 大鼠	晚期 DN	

STZ 诱导的糖尿病 C57BL/687 和 STZ 诱导的 C57BL/6 小鼠中的 Apo E 敲除等。

目前由高血糖诱发的 DN 动物模型有明显肾小球损伤, 系膜基质增生和基底膜增厚, 氧化应激和炎症以及蛋白尿^[25], 对于早期 DN 的研究有用, 然而大多数模型不能重现人类患病晚期的重要功能和结构特征的病理表现, 如肾小球结节性病变和伴有进行性肾功能不全的肾小管间质纤维化。由于无法表现所有关键组织学^[26]特征, 动物模型对于了解晚期 DN 发病机制的用途有限, 这也许是对动物模型有效的试验疗法未能在临床实践中取得良好效果的原因。

综上所述, 在选择 DN 模型时, 不仅要考虑品系遗传背景组织病理, 还要综合成本、可操作性、可重复性等多方面因素来选择最适宜的 DN 模型。

参 考 文 献 (References)

- [1] Erratum Regarding "US Renal Data System 2016 Annual Data Report: Epidemiology of Kidney Disease in the United States" [J]. American Journal of Kidney Diseases, 2017, 69(5)
- [2] Miranda AG, Pazarin L, Yanowsky FG, et al. Oxidative stress in diabetic nephropathy with early chronic kidney disease [J]. J Diabetes Res, 2016: 7047238
- [3] Johansen NJ, Tripovic D, Brock JA. Streptozotocin-induced diabetes differentially and affects sympathetic innervation and control of plantar metatarsal and mesenteric arteries in the rat[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2013, 304(2): H215-H228
- [4] Kota N, Panpatil VV, Kaleb R, et al. Dose-dependent effect in the inhibition of oxidative stress and anticlastogenic potential of ginger in STZ induced diabetic rats[J]. Food Chem, 2012, 135(4): 2954-2959
- [5] Brosius FC 3rd, Alpers CE, Bottinger EP, et al. Mouse models of diabetic nephropathy[J]. J Am Soc Nephrol, 2009, 20(12): 2503-2512
- [6] Sugimoto H, Grahovac G, Zeisberg M, et al. Renal fibrosis and glomerulosclerosis in a new mouse model of diabetic nephropathy and its regression by bone morphogenic protein-7 and advanced glycation end product inhibitors[J]. Diabetes, 2007, 56(7): 1825-1833
- [7] Qi Z, Fujita H, Jin J, et al. Characterization of susceptibility of inbred mouse strains to diabetic nephropathy[J]. Diabetes, 2005, 54(9): 2628-2637
- [8] Sugimoto H, LeBleu VS, Bosukonda D, et al. Activin-like kinase 3 is important for kidney regeneration and reversal of fibrosis [J]. Nat Med, 2012, 18(3): 396-404
- [9] Mima A, Arai H, Matsubara T, et al. Urinary Smad 1 is a novel marker to predict later onset of mesangial matrix expansion in diabetic nephropathy[J]. Diabetes, 2008, 57(6): 1712-1722
- [10] Koda R, Shikata K, Takatsuka T, et al. Dipeptidyl peptidase-4 inhibitor ameliorates early renal injury through its anti-inflammatory action in a rat model of type 1 diabetes [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2014, 443(3): 828-833
- [11] Alpers CE, Hudkins KL. Mouse models of diabetic nephropathy[J]. Curr Opin Nephrol Hypertens, 2011, 20(3): 278-284
- [12] Haseyama T, Fujita T, Hirasawa F, et al. Complications of Ig A nephropathy in a non-insulin-dependent diabetes model, the Akita mouse[J]. Tohoku J Exp Med, 2002, 198(4): 233-244
- [13] XU J, HUANG Y, LI F, et al. FVB mouse genotype confers susceptibility to OVE26 diabetic albuminuria [J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2010, 299: F487-F494
- [14] Tesch GH, Lim AK. Recent insights into diabetic renal injury from the db/db mouse model of type 2 diabetic nephropathy [J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2011, 300(2): F301-F310
- [15] Omote K, Gohda T, Murakoshi M, et al. Role of the TNF pathway in the progression of diabetic nephropathy in KK-A(y) mice[J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2014, 306(11): F1335-F1347
- [16] Shiota M, Printz RL. Diabetes in Zucker diabetic fatty rat [J]. Methods Mol Biol, 2012, 933: 103-123
- [17] Takiyama Y, Harumi T, Watanabe J, et al. Tubular injury in a rat model of type 2 diabetes is prevented by metformin: a possible role of HIF-1alpha expression and oxygen metabolism[J]. Diabetes, 2011, 60(3): 981-992
- [18] Baynes J, Murray DB. Cardiac and renal function are progressively impaired with aging in Zucker diabetic fatty type II diabetic rats[J]. Oxid Med Cell Longev, 2009, 2(5): 328-334
- [19] Nagai N, Ito Y. Therapeutic effects of sericin on diabetic keratopathy in Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty rats [J]. World J Diabetes, 2013, 4(6): 282-289
- [20] Feng B, Yan XF, Xue JL, et al. The protective effects of alpha-lipoic acid on kidneys in type 2 diabetic Goto-Kakisaki rats via reducing oxidative stress[J]. Int J Mol Sci, 2013, 14: 6746-6756
- [21] Wang Y, Nie M, Lu Y, et al. Fucoidan exerts protective effects against diabetic nephropathy related to spontaneous diabetes through the NF-kappaB signaling pathway in vivo and in vitro [J]. Int J Mol Med, 2015, 35(4): 1067-1073

(下转第 90 页)