



糖尿病研究中的动物模型进展

宋丹^{1,3}, 冉丽媛¹, 姜如娇¹, 吴英杰^{1,2,3*}

(1. 大连医科大学重大疾病基因工程模式动物研究所, 大连 辽宁 116044;
2. 大连医科大学医学科学研究院, 大连 辽宁 116044; 3. 大连医科大学中西医结合研究院, 大连 辽宁 116044)

【摘要】 虽然糖尿病的研究不断有新的进展, 诊断方法和治疗手段不断更新, 但其危害并没有明显降低, 反而呈现逐年加重的趋势。为了更深入、全面地揭示糖尿病机制, 研发更有效、可靠、无低血糖风险的药物必须清楚了解相应的疾病模型。该文就糖尿病动物模型的种类, 建模方法, 优缺点, 适用范围等进行综合评述, 旨在为研究者选择合适的动物模型提供参考。

【关键词】 糖尿病; 动物模型; 基因工程

【中图分类号】 R-332 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2016)09-0083-05

doi: 10. 3969. j. issn. 1671 - 7856. 2016. 09. 015

Animal models in diabetes mellitus research

SONG Dan^{1,3}, RAN Li-yuan¹, JIANG Ru-jiao¹, WU Ying-jie^{1,2,3*}

(1. Institute of Gene Engineered Animal Models for Human Diseases, Dalian Medical University, Dalian 116044, China;
2. The Advanced Institute for Medical Sciences, Dalian Medical University, Dalian 116044, China;
3. Institute of Integrative Medicine, Dalian Medical University, Dalian 116044, China)

【Abstract】 In spite of much progress on its mechanism, diagnosis and treatment, diabetes mellitus remains a public health challenge. The harm of diabetes is not significantly reduced, instead shows an increasing tendency year by year. To achieve an in-depth and comprehensive understanding of the underlying mechanism, and to develop efficacious, stable and hypoglycemia-risk free drugs, it is crucial to gain more knowledge about diabetes from animal models. In this review, the types of diabetes animal models, modeling methods, the advantages and disadvantages, their applicable scope are discussed aiming to provide a reference for researchers to choose appropriate animal models.

【Key words】 Diabetes mellitus; Animal models; Genetic engineering

糖尿病是由于多种原因引起的代谢紊乱综合征, 常以慢性高血糖为主要特征。其发病原因和发病机制尚未被充分了解, 缺乏针对性强的有效治疗手段。糖尿病动物模型是研究糖尿病发病机制及新型治疗药物的关键, 通过对建模过程中的动物模型表现现象的观察及药物作用于相应动物模型后的一系列反应, 可直接或者间接地认识其病因、机

制及新药, 所以, 选择适宜的糖尿病模型是研究的前提条件^[1]。起初, 世界卫生组织(WHO)糖尿病专家委员会将糖尿病分为原发性和继发性两类。近年来, 随着对糖尿病认识的逐步加深, 对其遗传易感基因及免疫学的深入研究, 美国糖尿病学会(ADA)专家委员会对糖尿病的分类做了修改, 新的分型为: 1型糖尿病(T1DM)、2型糖尿病(T2DM)、

【基金项目】 国家自然科学基金面上项目(81471000); 高等学校博士学科点专项科研基金(20132105110002)。

【作者简介】 宋丹(1988-), 女, 硕士研究生, 专业: 中西医结合基础。E-mail: songdandan2018@163.com。

【通讯作者】 吴英杰(1965-), 男, 教授, 研究方向: 生物化学与分子生物学。E-mail: yingjiwu@dmu.edu.cn。

其他特殊类型糖尿病及妊娠糖尿病。用于糖尿病治疗药物筛选和治疗机制研究的一般模型有动物模型、细胞模型和分子水平模型。动物模型又称为体内实验模型,用在糖尿病药物筛选的最初及最后阶段的药物验证。细胞模型也称为体外实验模型,用于机理的探讨和动物水平实验的前期。动物体内基因修饰,即分子水平模型,又称为基因实验模型,通过 ZFN/TALEN/CRISPR 等基因编辑技术将某个基因改变,从而研究该基因的作用。实验动物有明确的遗传背景或者清晰的来源,是现代科学技术发展的基本支撑条件之一(其他的三个要素为仪器设备、信息资料和化学试剂),以其多方面的优点而被研究者所喜爱和运用:(1)与人类结构、机能、代谢和疾病特点相似;(2)较人类慢性疾病发病过程短,节约时间;(3)按需要制作的疾病“复制版”更能控制和排除自然条件下不能排除的影响因素;(4)复制率高,可重复性好等等。

1 用于糖尿病的实验动物

糖尿病并不是由唯一病因引起的疾病,与遗传、环境和自身免疫有关,其诱发因素较多,使用的实验动物种类也很广泛,主要是哺乳动物,如家兔、犬、猪、猫、猴等。犬具有较小的胰腺,适用于胰腺摘除。100 多年前, Minkowski 和 Von Mehring 二人切除狗的胰腺,成功建立了第一个 1 型糖尿病狗模型,之后的 Morales AP 等^[2]用低剂量的链脲佐菌素来配合手术切除约 90% 胰腺,从而改进了糖尿病模型的建立方法。糖尿病家兔模型主要用于糖尿病药物实验研究中^[3-5]。小型猪的生理学和解剖学特征包括代谢与人相似,具有多样性的基因库,其具有较短的繁殖周期,价格适中的优点,是代谢性疾病如糖尿病、肥胖病等研究较为理想的动物模型,国外利用小型猪已经制作出了 Sinclair 小型猪、Yucatan 小型猪、Yorkshire 小型猪等^[6-9]糖尿病猪模型,国内的小型猪模型主要分为三种品系:巴马小型猪、五指山小型猪和中国农大小型猪^[10, 11],前两种猪模型更容易诱导成为糖尿病动物模型。非人类灵长类动物进化程度较高,其功能、代谢、结构更加复杂,更加接近人类,与人类的关系极为密切^[12],亲缘关系和药物反应与人类相似,适合做各种疾病模型,其中食蟹猴^[13]和恒河猴^[14]易分别诱导为 2 型、1 型糖尿病,但是由于此类实验动物的价格昂贵,饲养的条件要求高,获得也十分不易,目前应用并不是很广泛。树鼯原来归属于食虫目,1945 年后改归于灵长目,其体型比较小,每隔 45 天便可

繁殖一胎,解剖结构和新陈代谢特征与人相似,已被国内外研究者关注并成功制作出糖尿病模型^[15-18]。啮齿类动物的大鼠被人类称作精密的“生物工具”,它体型比较小,遗传学背景明确,对实验条件的反应较一致,其中封闭群 Wistar 大鼠是由美国 Wistar 研究所 1907 年培育出来,性周期稳定,繁殖力较强,产仔多,生长发育快,是目前使用最多、最广泛的品种,现多用于糖尿病并发症的研究^[19, 20]。SD 大鼠是美国 Sprague 和 Dawley 农场于 1925 年培育而成,生长发育比 Wistar 快,是另一种常用作糖尿病研究的动物^[21]。伴随着小鼠的基因组图谱的绘制胜利完工,华盛顿基因组测序中心遗传学家 Robert Waterston 和麻省理工学院的 Whitehead 研究所的 Kerstin Lindblad-Toh 领导的基因组国际研究联盟曾报道,人类与小鼠都有大约 30000 多个基因,其中大约有 80% 是一样的,小鼠更多的被用于生物学、医学等研究领域中,常用于糖尿病模型小鼠有 ob, db 肥胖小鼠等^[22]。

2 常见糖尿病动物模型

根据美国的糖尿病学会(ADA)专家委员会对糖尿病的分型:即 1 型糖尿病、2 型糖尿病、其他特殊类型糖尿病、妊娠糖尿病,将用于糖尿病研究的模型相应的化分为 1 型糖尿病动物模型、2 型糖尿病动物模型、其他特殊类型糖尿病动物模型、妊娠糖尿病动物模型,本综述主要阐述常见的前两种糖尿病模型:

2.1 1 型糖尿病动物模型

1 型糖尿病目前分为 2 个亚型:免疫介导型和病因未明的特发型。前者是胰岛 β 细胞的自身免疫性遭到破坏,患者体内能够检测出自身免疫抗体^[23];后者具有典型的 1 型糖尿病的临床特点,但没有明显的病因学发现,没有自身免疫抗体反应的证据。1 型糖尿病模型多从破坏动物胰岛着手,如成功建立的第一个 1 型糖尿病狗模型,之后的 1 型糖尿病模型建立,多采用全部或部分胰腺切除术^[24],药物诱导及手术切除加诱导联用^[25]等方法。常用诱导药物为链脲佐菌素(STZ)和四氧嘧啶,前者可以破坏动物的胰岛 β 细胞,从而使动物分泌胰岛素不足^[18, 26]。钟近洁等^[27]研究者通过小剂量(50 mg/kg、70 mg/kg、90 mg/kg)多次腹腔注射链脲佐菌素成功建立了与人类 1 型糖尿病极为相似的小鼠模型,他们观察指标是血糖,体重,糖耐量,结果显示剂量为 70 mg/kg 的小鼠造模成模率为 75%。小鼠的品系,给药的剂量,禁食的时间和饲养膳食

的搭配都将会影响到链脲佐菌素诱导 1 型糖尿病动物模型的成功率^[28-30]。另一种对胰岛 β 细胞分泌功能有损伤作用的药物是四氧嘧啶 (alloxan, ALX), 此药物是尿酸氧化合成的一种乳黄色粉末, 对胰岛 β 细胞功能有特异的破坏作用, 它终止胰岛素的分泌, 引起动物的实验性糖尿病。成雪等^[31]成功制作出 Beagle 犬糖尿病模型, 剂量为 50 mg/kg 时, 造模的成功率为 100%。四氧嘧啶诱导的糖尿病模型的成功率同样受到体重, 剂量等因素的影响。孙昱等^[32, 33]比较了链脲佐菌素和四氧嘧啶作为诱导剂的不同效果, 发现链脲佐菌素静脉中给药较为合理安全, 腹腔给药时则更宜采用四氧嘧啶作为诱导剂。STZ 对动物的胰岛 β 细胞的毒性作用具有高度的选择性^[34], 选用小剂量多次给予腹腔注射 STZ 诱导的 1 型糖尿病模型能够引起机体对自身胰岛的免疫应答, 造成持续性的多次胰岛 β 细胞破坏, 此渐进性胰岛损害与人类的 1 型糖尿病发病的机制及胰岛损害比较类似, 是目前较为理想的 1 型糖尿病的动物模型^[35, 36]。以上两种造模方法, 或是手术切除, 或是药物诱导, 均可以模拟出与人类 1 型糖尿病症状极为相似的模型, 但是手术切除有造模麻烦、术后感染等缺点, 多适用于实验动物用量少、实验环境较为清洁, 课题组成员较多且外科手术精湛的实验人员使用。药物诱导的方法较之于手术方法更为简单, 研究者经一般培训即可掌握造模技术, 成本较低, 容易操作, 但是由于药物毒性较烈, 所造模型不单单是胰岛的损伤, 全身器官均有一定的损害, 使得所成模型合并其它病, 可用此法造模排查新药, 特别是中药或中药组方的药效甄选。

2.2 2 型糖尿病动物模型

2 型糖尿病约占糖尿病发病总数的 85% ~ 90%, 多数在 30 ~ 40 岁发病, 伴随着年龄的增长, 体重的增加, 缺乏运动而增加患病率。由于多数患者发病隐匿, 很难估算出发病的时间, 故患者经常因为严重的并发症而就诊。2 型糖尿病患者多, 程度重使得研究 2 型糖尿病发生、发展、治疗及转归具有重大的临床意义。目前用于 2 型糖尿病的动物模型有实验性动物模型, 自发性动物模型和基因工程动物模型。实验动物模型常用手术方法、化学试剂和高脂饮食诱导而建立, Kurup S 等^[37]对 BALB /c 小鼠行部分胰腺切除术联合使用化学药物, 诱导出与 2 型糖尿病很相似的动物模型, 现在多用在胰腺移植和再生相关因素的研究中。化学诱导方法所使用的化学诱变剂同 1 型糖尿病, 主要是四氧嘧啶和

链脲佐菌素, Like AA 等^[38]于 1976 年第一次用单次腹腔注射或静脉给予不同剂量的链脲佐菌素, 发现了小剂量的链脲佐菌素即可成功诱导 2 型糖尿病, 随后更多的研究人员^[39]利用相似方法制作糖尿病的动物模型, 此类完全使用药物诱导的方法与人类的发病机制差异很大, 现已很少使用。自发性的 2 型糖尿病模型有 GK 大鼠、Zucker 大鼠、KKAY 小鼠、黑线仓鼠、NSY 小鼠、嗜沙肥鼠和 OLETF 大鼠等。其中 GK 大鼠由于其多种优点, 成为使用较为广泛的自发性的糖尿病模型^[40], 但自发性糖尿病鼠的血糖升高并不十分显著, 故与手术法、药物诱导和基因工程造模方法比起来, 其使用有较多的限制。

基因编辑技术 (ZFN、TALEN 和 CRISPR/Cas9)^[41-43]是 DNA 靶向修饰技术的研究热点, 现在已经广泛应用于生物医学和农业研究, 特别是 2013 年 CRISPR 技术的推广, 它几乎能让研究者在任何物种中实现精确的、快速的基因编辑修饰。这一技术的出现和广泛运用, 使得利用基因敲除和基因转移技术来模拟人类疾病的发生发展过程成为一大亮点。短短几年, 该技术已经在人类的多种细胞系、斑马鱼、小鼠、果蝇、线虫、小型猪、食蟹猴等动物中应用^[44, 45]。利用基因工程技术, 糖尿病方面目前已经构建出多种模型, 如 MKR 小鼠^[46]、NOD 小鼠、GK/IRS-1 双基因敲除小鼠、MODY 动物模型等, 其主要相关的位点是胰岛素受体、胰岛素受体底物 1, 2 (IRS-1, IRS-2)、葡萄糖转运蛋白 (GLUT4)、过氧化物酶体增殖物激活受体 (PPAR- γ) 以及胰岛素样生长因子 1 受体 (IGF-1R) 等, 表 1 对近年来糖尿病基因工程模型进行了总结。2 型糖尿病是由多基因联合环境因素、遗传因素共同引起的, 基因工程动物模型有价格昂贵, 饲养环境要求较高和单基因模拟, 繁殖时间长等缺点, 不过科学的发展使得技术难度降低, 双基因甚至多基因同时修饰的时代正在到来, 随之造模价格高, 造模周期长及单基因模拟的缺点也都将克服。科学的严谨性要求从控制单一因素来逐个探索动物乃至人类的某一基因的作用, 基因工程使得这一愿望变成现实, 新的糖尿病相关基因位点不断发现, 研究单一基因在糖尿病中的作用方式、作用程度使得基因工程模型将在未来变成一种主流。

为了更清晰了解糖尿病动物模型的优缺点及适用范围, 根据其造模方法的不同将以上所述常见糖尿病动物模型进行了如下分类 (表 1, 表 2)。

表 1 糖尿病基因工程动物模型概括

Tab. 1 The summary of genetically modified animal models of diabetes mellitus

名称	修饰基因	病理表现
IRS-2 KO 小鼠	胰岛素受体底物-2 基因敲除	葡萄糖耐量受损,胰岛素抵抗,胰岛素分泌不足。
IRS-1/GK KO 小鼠	胰岛素受体底物-1 和胰岛 β 细胞葡萄糖激酶双基因敲除	胰岛素抵抗,糖耐量异常,肝细胞和胰岛 β 细胞对葡萄糖敏感性下降。
MKR 小鼠	骨骼肌特异性过表达功能缺失的人胰岛素样生长因子-1 受体	子代小鼠从 3 周开始血糖升高,5 周后血糖维持在高水平,8 周后糖耐量异常,高胰岛素血症,脂联素含量升高。
KK-Ay 小鼠	转入外源肥胖基因 <i>A^y</i>	显著肥胖,8 周开始中度肥胖,与年龄相关,16 – 20 周脂肪含量增加,并显示角膜退化,皮肤损伤,糖尿病肾病症状。
MODY	MODY2:正常小鼠杂合新酶抵抗基因替代葡萄糖激酶 MODY3:胰岛 β 细胞的 <i>HNF-1α</i> 突变	MODY2:出现糖耐量减退,胰岛 β 细胞和肝细胞对葡萄糖敏感性下降。MODY3:6 周时出现糖尿病症状。
MC4R-KO	<i>MC4R</i>	高血糖,高胰岛素血症,雄性明显。
ICER 转基因鼠	<i>ICER</i>	严重高血糖,体重减轻,胰岛素分泌减少。

表 2 常见糖尿病实验动物模型构建方法及特点

Tab. 2 The modeling methods and characteristics of common animal models of diabetes mellitus

造模方法	定义	特点及应用	常用模型举例
药物/食物诱导	利用药物诱导剂/高脂高糖灌胃/腹腔注射等方式干预实验动物,使其发生功能或器质性病变而产生胰岛素数量的不足或质量的下降。	成功率一般,造模结果不稳定,偶有严重并发症和死亡,耗时不一,重复率不高,诱导剂的剂量不易控制,但价格较便宜,容易操作,目前是应用较为广泛的一种造模方法,可用于 1 型或 2 型糖尿病研究。	已经成功用四氧嘧啶或链脲左菌素诱导出糖尿病大鼠、小鼠、犬等;已经用高脂高糖饲养法诱导胰岛素抵抗的动物模型。
手术法	用手术的方法部分或全部切除实验动物胰腺,从而导致胰岛细胞分泌胰岛素数量不足,产生糖尿病的临床症状。	造模麻烦,术后易感染,对实验环境要求高,对操作人员技术要求高,对实验动物要求高,不易大批量造模,但造模时间较短,易成功,多适用于 1 型糖尿病模型的构建。	1 型糖尿病狗模型。
基因编辑法	用 DNA 靶向修饰技术,改变糖代谢相关基因的表达,从而造成糖代谢紊乱,出现糖尿病相关临床症状。	价格昂贵,繁殖时间较长,单一因素的有效控制使实验更具科学性,严谨性,可靠性,对于精确查找病因提供帮助,更适用于糖尿病机理或药物靶向研究。	MKR 小鼠、 <i>GK/IRS-1</i> 双基因敲除小鼠等。

3 结语

实验动物是现代科学技术发展的基本支撑条件之一,是糖尿病研究的强劲帮手,但迄今为止,尚没有一种完全模拟人类糖尿病发生发展过程的动物模型,以上所述的 1 型糖尿病和 2 型糖尿病模型各具特点也各有缺陷,化学诱导的实验动物模型成模率不高,且常在出生后不久发病而死,自发性糖尿病动物模型血糖升高不显著,基因工程糖尿病动物模型耗时长。对于研究者而言,应该根据其实验目的,实验的条件和实验经费多少等因素选择最适当的糖尿病模型。同时,期待更完美的方法能够构建出造模时间短,实验成本低,成功率高的适用于不同类型研究的糖尿病模型。

参考文献:

[1] Cefalu WT. Animal models of type 2 diabetes: clinical presentation and pathophysiological relevance to the human condition [J]. ILAR J, 2006, 47(3): 186 – 198.

[2] Morales AP, Conde EG, López MG. *et al.* An improved method of 90% pancreatectomy using a low dose of streptozotocin at the

pancreaticoduodenal artery results in a rapid diabetic stage in dogs [J]. Acta Diabetologica, 2005, 42(4): 153 – 155.

[3] Celik F, Ulas F, Ozunal ZG, *et al.* Comparison of the effect of intravitreal bevacizumab and intravitreal fasudil on retinal VEGF, TNF alpha, and caspase 3 levels in an experimental diabetes model [J]. Int J Ophthalmol, 2014, 7(1): 57 – 61.

[4] 陈劲松, 冯作国, 常华, 等. 中药“骨愈合剂”熏蒸对糖尿病模型兔骨折愈合的影响[J]. 江苏医药, 2015, 1(02): 142 – 145.

[5] 姜宗文, 肖秋生, 杨文慧, 等. 温控型胰岛素液体肛门栓对糖尿病兔的降血糖作用[J]. 中国药业, 2015, 1(02): 42 – 44.

[6] Okomo-Adhiambo M, Rink A, Rauw WM, *et al.* Gene expression in Sinclair swine with malignant melanoma [J]. Animal, 2012, 6(2): 179 – 192.

[7] Bassols A, Costa C, Eckersall PD, *et al.* The pig as an animal model for human pathologies: A proteomics perspective [J]. Proteomics Clin Appl, 2014, 8(9 – 10): 715 – 731.

[8] Guzzardi MA, Hodson L, Guiducci L, *et al.* Independent effects of circulating glucose, insulin and NEFA on cardiac triacylglycerol accumulation and myocardial insulin resistance in a swine model [J]. Diabetologia, 2014, 57(9): 1937 – 1946.

[9] Sham JG, Simianu VV, Wright AS, *et al.* Evaluating the mechanisms of improved glucose homeostasis after bariatric surgery in Ossabaw miniature swine [J]. J Diabetes Res, 2014,

- 2014(01):1-7.
- [10] 陈华, 刘亚千, 李春海, 等. 三个品系小型猪 II 型糖尿病模型的比较研究[J]. 实验动物科学, 2007, 24(06):49-55.
- [11] 于健, 叶瑶, 黄漓莉, 等. 巴马小型猪 1 型糖尿病模型胰腺病理及生化指标的变化[J]. 山东大学学报(医学版), 2014, (12):10-14.
- [12] 梁斌, 吴晓云. 非人灵长类糖尿病动物模型研究进展[J]. 动物学研究, 2011, 32(01):91-96.
- [13] 徐传磊, 陈艳明, 徐志勇, 等. 建立食蟹猴糖尿病模型的研究[J]. 广州中医药大学学报, 2009, 26(01):91-94.
- [14] 朱华, 刘颖, 马春梅, 等. STZ 诱导恒河猴糖尿病动物模型的建立[J]. 中国比较医学杂志, 2012, 22(06):53-56.
- [15] Ishiko S, Yoshida A, Mori F, *et al.* Early ocular changes in a tree shrew model of diabetes [J]. Nihon Ganka Gakkai Zasshi, 1997, 101(1):19-23.
- [16] Liang B, Wu XY. Progress on nonhuman primate models of diabetes mellitus [J]. Dongwuxue Yanjiu, 2011, 32(1):91-96.
- [17] Li R, Xu W, Wang Z, *et al.* Proteomic characteristics of the liver and skeletal muscle in the Chinese tree shrew (*Tupaia belangeri chinensis*) [J]. Protein Cell, 2012, 3(9):691-700.
- [18] Wu XY, Li YH, Chang Q, *et al.* Streptozotocin induction of type 2 diabetes in tree shrew [J]. Dongwuxue Yanjiu, 2013, 34(2):108-115.
- [19] Han L, Yu Y, Sun X, *et al.* Exendin-4 directly improves endothelial dysfunction in isolated aortas from obese rats through the cAMP or AMPK-eNOS pathways [J]. Diabetes Res Clin Pract, 2012, 97(3):453-460.
- [20] Eberwine RA, Cort L, Habib M, *et al.* Autoantigen-induced focusing of Vbeta13 + T cells precedes onset of autoimmune diabetes in the LEW.1WR1 rat [J]. Diabetes, 2014, 63(2):596-604.
- [21] Wu QH, Chen WS, Chen QX, *et al.* Changes in the expression of platelet-derived growth factor in astrocytes in diabetic rats with spinal cord injury [J]. Chin Med J (Engl), 2010, 123(12):1577-1581.
- [22] Lindblad-Toh K, Zody MC, Lander ES, *et al.* Initial sequencing and comparative analysis of the mouse genome [J]. Nature, 2002, 420(6915):520-562.
- [23] Ichinose K, Kawasaki E, Eguchi K. Recent advancement of understanding pathogenesis of type 1 diabetes and potential relevance to diabetic nephropathy [J]. Am J Nephrol, 2007, 27(6):554-564.
- [24] Rees DA, Alcolado JC. Animal models of diabetes mellitus [J]. Diabet Med, 2005, 22(4):359-370.
- [25] Freyse EJ, Hahn vDH, Fischer U. Low dose streptozotocin diabetes after partial pancreatectomy in dogs. Histological findings in a new type of experimental diabetes [J]. Acta Biol Med Ger, 1982, 41(12):1203-1210.
- [26] Ola MS, Ahmed MM, Ahmad R, *et al.* Neuroprotective Effects of Rutin in Streptozotocin-Induced Diabetic Rat Retina [J]. J Mol Neurosci, 2015, 56(2):440-448.
- [27] 李甜, 张亚楼, 陈龙, 等. 链脲佐菌素诱导 C57 小鼠 1 型糖尿病模型的研究[J]. 现代生物医学进展, 2014, (26):5031-5033.
- [28] 王维. 不同剂量的链脲佐菌素诱导恒河猴 I 型糖尿病动物模型的研究[D]. 中南大学, 2009.
- [29] 虞冬辉, 程红科, 李勇, 等. 禁食时间对链脲佐菌素诱导 1 型糖尿病小鼠模型的影响[J]. 中国临床医学, 2013, (04):472-473.
- [30] 张金保, 庄朋伟, 林映雪, 等. 小鼠品系、给药剂量及次数对链脲毒素诱导 1 型糖尿病的影响[J]. 中国现代医学杂志, 2013, (36):31-35.
- [31] 成雪, 王意忠. 四氧嘧啶制备犬糖尿病模型的最佳剂量探讨[J]. 山东医药, 2014, 54(06):27-28.
- [32] 孙昱, 杨海山, 柳林. 链脲佐菌素与四氧嘧啶诱导建立兔 1 型糖尿病模型的比较[J]. 中国实验诊断学, 2008, 12(04):442-444.
- [33] 郭仲杰, 彭娟, 罗天友, 等. 四氧嘧啶与链脲佐菌素诱导兔 1 型糖尿病模型的比较[J]. 四川动物, 2014, 1(01):123-126.
- [34] Lin M, Ai J, Harden SW, *et al.* Impairment of baroreflex control of heart rate and structural changes of cardiac ganglia in conscious streptozotocin (STZ)-induced diabetic mice [J]. Auton Neurosci, 2010, 155(1-2):39-48.
- [35] Yasuda H, Jin Z, Nakayama M, *et al.* NO-mediated cytotoxicity contributes to multiple low-dose streptozotocin-induced diabetes but not to NOD diabetes [J]. Diabetes Res Clin Pract, 2009, 83(2):200-207.
- [36] Tong Z, Liu W. IgG-positive cells surround pancreatic ducts and form multiple layers after streptozotocin treatment [J]. Autoimmunity, 2013, 46(6):369-374.
- [37] Kurup S, Bhonde RR. Combined effect of nicotinamide and streptozotocin on diabetic status in partially pancreatectomized adult BALB/c mice [J]. Horm Metab Res, 2000, 32(8):330-334.
- [38] Like AA, Rossini AA. Streptozotocin-induced pancreatic insulinitis: new model of diabetes mellitus [J]. Science, 1976, 193(4251):415-417.
- [39] Movassat J, Portha B. Beta-cell growth in the neonatal Goto-Kakizaki rat and regeneration after treatment with streptozotocin at birth [J]. Diabetologia, 1999, 42(9):1098-1106.
- [40] Portha B. Programmed disorders of beta-cell development and function as one cause for type 2 diabetes? The GK rat paradigm [J]. Diabetes Metab Res Rev, 2005, 21(6):495-504.
- [41] Osiak A, Radecke F, Guhl E, *et al.* Selection-independent generation of gene knockout mouse embryonic stem cells using zinc-finger nucleases [J]. PLoS One, 2011, 6(12):1-8.
- [42] Beumer KJ, Trautman JK, Christian M, *et al.* Comparing zinc finger nucleases and transcription activator-like effector nucleases for gene targeting in Drosophila [J]. G3 (Bethesda), 2013, 3(10):1717-1725.
- [43] Mali P, Yang L, Esvelt KM, *et al.* RNA-guided human genome engineering via Cas9 [J]. Science, 2013, 339(6121):823-826.
- [44] Hisano Y, Sakuma T, Okamoto H, *et al.* Precise in-frame integration of exogenous DNA mediated by CRISPR/Cas9 system in zebrafish [J]. Sci Rep, 2015, 5:8841.
- [45] Wan H, Feng C, Teng F, Yang S, *et al.* One-step generation of p53 gene biallelic mutant Cynomolgus monkey via the CRISPR/Cas system [J]. Cell Res, 2015, 25(2):258-261.
- [46] Fernandez AM, Kim JK, Yakar S, *et al.* Functional inactivation of the IGF-I and insulin receptors in skeletal muscle causes type 2 diabetes[J]. Genes and Development, 2001, 15(15):1926-1934.