

# NOD 小鼠胰岛的分离及其在体内外的生物学特性

舒冠男<sup>1,2,3</sup>,滕夏虹<sup>4</sup>,许倩倩<sup>1,2,3</sup>,邹春林<sup>1,2\*</sup>

(1. 广西医科大学转化医学中心, 南宁 530021; 2. 长寿与老年相关疾病教育部重点实验室(广西医科大学), 南宁 530021; 3. 广西医科大学基础医学院, 南宁 530021; 4. 广西医科大学信息与管理学院, 南宁 530021)

**【摘要】 目的** 建立分离纯化非肥胖性糖尿病(NOD)小鼠胰岛的方法,并对其体内外生物学特性进行研究。**方法** 采用改良的胶原酶消化结合 Ficoll 密度梯度离心方法,分离纯化 NOD 小鼠胰岛。应用体外糖刺激实验检测分离纯化的胰岛功能,以及通过监测移植小鼠的血糖、体重变化及糖耐量实验对移植胰岛的体内生物学功能进行分析,并通过 HE 染色和免疫荧光染色检测肾被膜下移植胰岛的存活情况。**结果** 胰岛产率为(116 ± 12)个胰岛/胰腺,纯度 >90%。体外糖刺激实验结果显示,NOD 小鼠胰岛的糖刺激胰岛素释放水平明显低于 KM 小鼠胰岛。胰岛移植实验显示,移植胰岛能有效改善糖尿病小鼠的血糖、体重和糖耐量,但改善作用一般仅能维持 2 周左右。HE 染色和免疫荧光染色结果显示,肾被膜下可见胰岛素阳性的胰岛细胞团,并且在残存的移植胰岛细胞团周围存在大量淋巴细胞浸润。**结论** 通过改良的小鼠胰岛分离方法可由 NOD 小鼠分离得到大量较高纯度的胰岛,可用于今后探索如何阻断自身免疫损伤保护移植胰岛的研究。

**【关键词】** 非肥胖性糖尿病;胰岛;分离纯化;移植;小鼠

**【中图分类号】** Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2018) 01-0045-07

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2018.01.007

## Isolation and characterization *in vitro* and *in vivo* of pancreatic islets from NOD mice

SHU Guannan<sup>1,2,3</sup>, TENG Xiahong<sup>4</sup>, XU Qianqian<sup>1,2,3</sup>, ZOU Chunlin<sup>1,2\*</sup>

(1. Center for Translational Medicine, Guangxi Medical University, Nanning 530021, China. 2. Key Laboratory of Longevity and Ageing-related Diseases, Ministry of Education (Guangxi Medical University), Nanning 530021. 3. School of Preclinical Medicine, Guangxi Medical University, Nanning 530021. 4. School of Information and Management, Guangxi Medical University, Nanning 530021)

Corresponding author: ZOU Chunlin. E-mail: zouchunlin@sohu.com

**【Abstract】 Objective** This study was conducted to establish a stable and highly efficient method for isolation and purification of pancreatic islets from NOD mice and to evaluate their characteristics *in vitro* and *in vivo*. **Methods** The islets were isolated from mouse pancreas using modified collagenase digestion and Ficoll density gradient centrifugation. The endocrine secretory function was assessed by insulin secretion in either low or high dose glucose stimulation. To evaluate the function of the graft, body weight and blood glucose were monitored, and IVGTT was performed. In addition, to assess survival of the implanted islets, Pathology using HE staining and insulin immunostaining of the graft were performed. **Results** The average islet yield was 116 ± 12 islets/pancreas and purity was higher than 90%. Compared with islets from Kunming mice, the islets isolated from NOD mice were poorly responsive to glucose challenge. Blood glucose levels and body weight changes of the islet-transplanted diabetic mice were significantly improved compared with the sham-operated mice. In addition, blood glucose levels *in vivo* after an IVGTT also significantly improved. However, these improvements were only maintained for 2 weeks. Furthermore, HE staining and immunostaining assays demonstrated that there were insulin-positive cell

**【基金项目】** 国家自然科学基金项目(No. 81360123), 广西自然科学基金项目(No. 2014GXNSFDA118030)。

Funded by National Natural Science Foundation of China(No. 81360123) and Guangxi Natural Science Foundation (No. 2014GXNSFDA118030)。

**【作者简介】** 舒冠男(1992 -), 男, 硕士研究生, 专业: 转化医学。Email: 1035338185@qq.com

**【通信作者】** 邹春林(1975 -), 男, 副教授, 研究方向: 干细胞与再生医学。Email: zouchunlin@sohu.com

clusters and lymphocyte infiltration in the graft-bearing kidney. **Conclusions** A large number of quality islets can be isolated and purified from NOD mice by using the modified mouse islet isolation method, which can be used to develop therapeutic strategies to protect transplanted islets from rejection and autoimmune attack.

**【Key words】** NOD; pancreatic islets; isolation and purification; transplantation; mice

Conflict of interest statement: We declare that we have no conflict of interest statement.

1 型糖尿病是一类自身免疫性疾病,胰岛  $\beta$  细胞由于受到自身免疫系统的攻击,导致胰岛  $\beta$  细胞的破坏,胰岛素的绝对缺乏,产生一系列的代谢障碍和血糖升高。目前常用的 1 型糖尿病动物模型是链脲佐菌素(streptozotocin, STZ)诱导的 1 型糖尿病啮齿类动物模型<sup>[1]</sup>,但这种模型是利用 STZ 对胰岛  $\beta$  细胞的选择性毒性杀伤作用,诱使动物产生糖尿病,这种化学诱导法虽然简单易操作,但与临床上 1 型糖尿病病人的发病原因并不相同。非肥胖型糖尿病小鼠(NOD)是通过选择繁殖和近亲交配从 Jcl:ICR 小鼠中获得的一种 1 型糖尿病小鼠模型,该小鼠模型通常于 4~5 周龄开始出现胰岛炎,进而破坏胰岛  $\beta$  细胞,于 12~14 周龄时出现明显糖尿病症状,到 30 周龄时雌性小鼠累计发病率可达到 60%~80%,而雄性小鼠则不到 20%~30%<sup>[2]</sup>。其与 1 型糖尿病患者一样,都是由于自身免疫系统的攻击导致胰岛细胞的损坏,最终导致代谢紊乱和血糖升高。因此,在 1 型糖尿病的研究中,具备较高的研究与实用价值。目前国内有关 NOD 小鼠胰岛分离与纯化方法的研究报导较少<sup>[3]</sup>,未见有对分离的 NOD 小鼠胰岛生物学功能的详细研究报道。本文旨在建立一种稳定高效的 NOD 小鼠胰岛分离方法,并对其体内外的生物学功能进行研究。旨在为今后利用 NOD 小鼠进行胰岛移植实验提供有价值的实验依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

#### 1.1.1 实验动物

7~8 周龄雌性 SPF 级 NOD 小鼠 23 只,体重 18~20 g;13 周龄雌性 SPF 级 NOD 小鼠 30 只,体重 22~25 g,均由北京华阜康生物科技股份有限公司【SCXK(京)2014-0004】,并已通过相关检疫,饲养于广西医科大学实验动物中心【SYXK 桂 2014-0003】,SPF 级封闭环境下,温度:22~24℃,湿度:45%~80%,光照:150~300 Lx,12 h 昼夜交替。动物实验方案已通过广西医科大学实验动物管理与伦理委员会审查批准(批准号:201702007)。

#### 1.1.2 主要试剂

胶原酶(货号:C9263)、Ficoll PM 400(货号:

F4375)和双硫脲(dithizone, DTZ)(货号:D5130)均购自 Sigma 公司。小鼠 Insulin ELISA 试剂盒(货号:10-1247-01)购自 Mercodia 公司。25  $\mu$ L 气相微量进样针购自 Hamilton 公司。RPMI-1640(货号:11875-093)和胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)(货号:10099-141)购自 Thermo Fisher Scientific 公司。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 实验分组

同基因胰岛移植胰岛供体小鼠:7~8 周龄血糖正常的雌性 NOD 小鼠。同基因胰岛移植受体小鼠:13 周龄的雌性 NOD 小鼠每周监测两次血糖,连续两次血糖均 >16.7 mmol/L 即定义为发病小鼠,30 只小鼠中共有 12 只发病,将发病小鼠随机分为两组,每组 6 只,一组移植组,一组为假手术组。

#### 1.2.2 小鼠胰岛细胞团的分离纯化

10%水合氯醛腹腔注射麻醉胰岛供体 NOD 小鼠,动脉夹夹闭胆总管近胆囊端。小号头皮针(0.45 mm  $\times$  0.16 mm)于胆总管内插管逆行注射预冷的胶原酶 2~2.5 mL。分离胰腺,转移至 50 mL 离心管,每只胰腺再加入 2 mL 胶原酶溶液,于 37℃ 水浴锅中消化 18 min。消化完毕加入预冷的 RPMI 1640 溶液至 50 mL 终止消化,手摇 1 min,然后通过孔径为 500  $\mu$ m 的不锈钢滤网过滤,离心去上清(800 r/min, 2 min),并再次洗涤两次(800 r/min, 2 min)。完全去除 RPMI1640 液,加入 4 mL 25%的 Ficoll(常温),涡旋数秒,待细胞液混合均匀,转移至 15 mL 离心管。再依次沿离心管壁缓慢加入 2 mL 23%、21.5%、11.5%的 Ficoll 溶液和 2 mL RPMI1640 溶液,常温下 2 500 r/min,离心 15 min,并缓慢降速。使用微量移液器小心吸取 11.5%与 21.5%交界层的细胞团。转移至 15 mL 离心管,加入 8 mL RPMI1640 溶液洗涤两次(800 r/min, 2 min)。

#### 1.2.3 分离胰岛的染色鉴定与纯度分析

将分离纯化后的胰岛细胞团转移至 6 cm 培养皿,加入 3 mL RPMI 1640。均匀加入 60  $\mu$ g/mL 的 DTZ 溶液 3 mL,避光常温下孵育 15 min。倒置显微镜下拍照观察。成桃红色的即为胰岛细胞团。Image J 统计计数阳性胰岛细胞团。

### 1.2.4 分离胰岛刺激实验

胰岛细胞团培养两天后,于倒置显微镜下,采用 20  $\mu\text{L}$  的移液枪小心吸取胰岛细胞团置于 1.5 mL EP 管中,50 个胰岛/管,共 3 管,然后转移至 24 孔板中。分别按照 KRBB 基础液,含 1.6 mmol/L 葡萄糖的 KRBB 低糖刺激液和含 16.7 mmol/L 葡萄糖的 KRBB 高糖刺激液的顺序依次刺激 1 h、1.5 h、1.5 h。收集低糖与高糖刺激上清液。采用小鼠的 insulin 的 ELISA 试剂盒检测胰岛素的分泌量。

### 1.2.5 分离胰岛的移植实验

在倒置显微镜下收集胰岛细胞团与 1.5 mL EP 管中,每组收集 300 胰岛团左右。收集完毕于 4 $^{\circ}\text{C}$  冰上保存。转运至 SPF 级别的动物房中进行移植操作。将细胞团于离心机中离心 30 s,采用微量移液器小心吸除大部分上清。留下大概 20~30  $\mu\text{L}$  上清液。10% 的水合氯醛腹腔注射麻醉受体小鼠,将小鼠正面放置于手术台,并将四肢固定。取脊柱旁切口暴露左侧肾脏,并轻轻将其挤压出体外。于肾脏中部将肾被膜切开一小口,通过该切口应用玻璃剥离子将肾被膜下腔隙扩张分离至肾上极,然后通过 PE50 管将胰岛细胞团缓慢注入肾被膜下(假手术组仅移植注射 PBS),同时在移植过程中采用生理盐水始终保持肾被膜的湿润状态,并使用玻璃剥离子将胰岛细胞团推至远离切口处,将肾重新纳入腹腔内,缝合针缝合腹膜及皮肤。将小鼠置于热源灯光下复温 1 h,待小鼠呼吸平稳,神经反射恢复,方可放回鼠笼中继续饲养。在手术后的两周内,每天检测小鼠非空腹血糖和体重,两周之后每周检测两次。

### 1.2.6 移植后小鼠腹腔糖耐量实验

分别于移植实验前一周,移植后两周行糖耐量实验。通过腹腔注射葡萄糖溶液(葡萄糖注射量为 2.0 g/kg),然后分别测定 0、15、30、60、90、120 min

和 180 min 的血糖结果。通过计算血糖曲线的曲线下面积(AUC)来判断小鼠胰岛  $\beta$  细胞功能和机体对血糖的调节作用。

### 1.2.7 肾被膜下移植物的免疫组化染色

移植侧小鼠肾组织经 4% 多聚甲醛固定,石蜡包埋,切成 5  $\mu\text{m}$  厚的切片,石蜡切片经二甲苯和乙醇脱蜡,5% 正常封闭用驴血清于室温下封闭 1 h,然后加入 rabbit anti-insulin antibody(1:100, Cell Signaling Technology)4 $^{\circ}\text{C}$  孵育过夜,0.01 mol/L PBS 漂洗(5 min  $\times$  3 次),转入 Alexa Fluor 555 donkey anti-rabbit IgG (H+L)(1:400, Thermo Fisher Scientific)室温孵育 1.5 h,0.01 mol/L PBS 漂洗(5 min  $\times$  3 次),然后 DAPI 复染细胞核 5 min,0.01 mol/L PBS 漂洗(5 min  $\times$  3 次),最后用含 10% 甘油的 PBS 封片,并于 Olympus BX53 荧光显微镜下观察拍照。

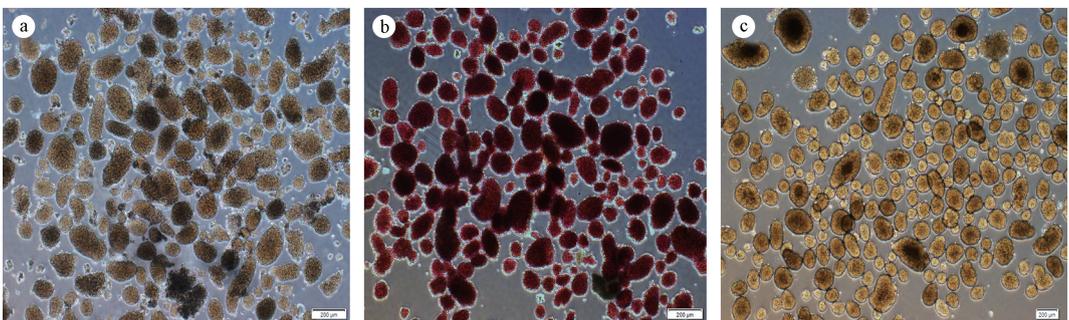
### 1.3 统计学分析

所得数据应用 SPSS 17.0 统计软件进行统计学分析,计量数据结果的比较采用  $t$  检验,数值以均数  $\pm$  标准误( $\bar{x} \pm s$ )表示, $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 分离胰岛的鉴定与纯度

胰岛细胞团经分离纯化后,镜下可见包膜完整、大小不一的细胞团(图 1 a)。平均每只小鼠可分离得到(116  $\pm$  12)个胰岛团,胰岛细胞团经 DTZ 特异性染色后,呈现鲜艳的亮红色(图 1b),经 Image J 计数阳性细胞团,结果显示,亮红色的胰岛细胞团占细胞团总数的 90% 以上,表明分离纯化后的胰岛细胞团纯度 > 90%。且该胰岛细胞团经培养 2 d 以后,相较于未培养前,形态更为光滑,包膜更为完整(图 1c)。



注:a. 新鲜分离胰岛;b. DTZ 染色胰岛;c. 培养 2 d 后胰岛。bars = 200  $\mu\text{m}$

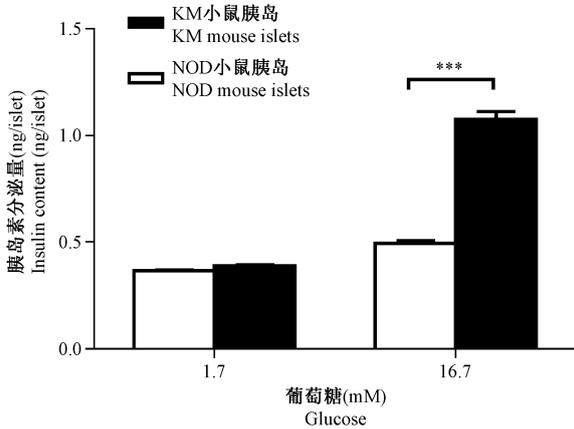
图 1 分离纯化后胰岛细胞团

Note. A. freshly isolated islets. b. DTZ-stained islets. c. islets after 2 days of culture. Scale bars = 200  $\mu\text{m}$ .

Fig. 1 Isolated and purified NOD mouse islets

## 2.2 血糖正常 NOD 小鼠胰岛与 KM 小鼠胰岛刺激胰岛素释放水平的比较

如图 2 所示, NOD 小鼠的低糖刺激后 (1.7 mmol/L 葡萄糖) 胰岛素的释放量为 (0.365 ± 0.0577) ng/胰岛, 高糖刺激后 (16.7 mmol/L 葡萄糖) 的胰岛素释放量为 (0.489 ± 0.0295) ng/胰岛, 高糖刺激后的胰岛素释放量为低糖刺激后的 1.33 倍。由年龄性别相同的 KM 小鼠分离纯化得到的胰岛, 经低糖刺激后的胰岛素释放量为 (0.391 ± 0.0125) ng/胰岛, 而高糖刺激后的胰岛素释放量为 (1.052 ± 0.033) ng/胰岛, 高糖刺激的胰岛素释放量为低糖刺激的 2.69 倍。此外, KM 小鼠胰岛高糖刺激后的胰岛素释放量明显高于 NOD 小鼠胰岛 ( $P < 0.001$ )。



注: NOD 小鼠胰岛与 KM 小鼠胰岛比较, \*\*\*  $P < 0.001$ 。

图 2 NOD 小鼠与 KM 小鼠胰岛胰岛素释放量比较

Note. NOD mouse islets vs. KM mouse islets, \*\*\*  $P < 0.001$ .

Fig. 2 Comparison of the insulin secretion in NOD mice and KM mice

## 2.3 胰岛移植对糖尿病发病 NOD 小鼠血糖的影响

如图 3 所示, 假手术组小鼠在两周左右陆续死亡, 且血糖一直维持在 20 mmol/L 以上, 而相对于假手术组, 胰岛移植组小鼠在移植了 (300 ± 23) 个胰岛后, 血糖有了明显的降低 ( $P < 0.001$ )。有 66% 的老鼠在两周以内将血糖维持在 10 ~ 15 mmol/L。两周后血糖逐步上升。而有 33% 的小鼠在移植后 50 d 仍然能够将血糖控制在 10 mmol/L 左右。

## 2.4 胰岛移植对糖尿病发病 NOD 小鼠体重的影响

如图 4 所示, 在移植后, 我们分别检测了假手术组和胰岛移植组小鼠的体重变化, 移植组在移植后半个月体重变化不明显, 与术前比较体重基本在 0.5 g 上下浮动, 而假手术组小鼠在术后第 5 天和第

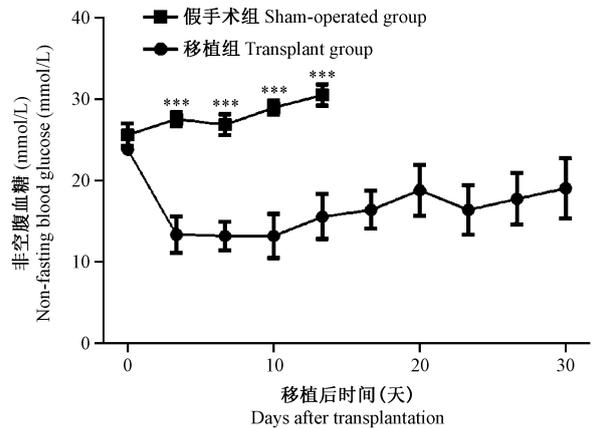


图 3 胰岛移植后血糖变化

Fig. 3 Blood glucose levels at different times after islet transplantation

7 天体重较术前有明显减轻, 其下降幅度分别为 (4.68 ± 0.55) g 和 (2.14 ± 0.56) g, 与移植组的体重变化幅度比较, 差异有显著性 ( $P < 0.001$  和  $P < 0.01$ )。

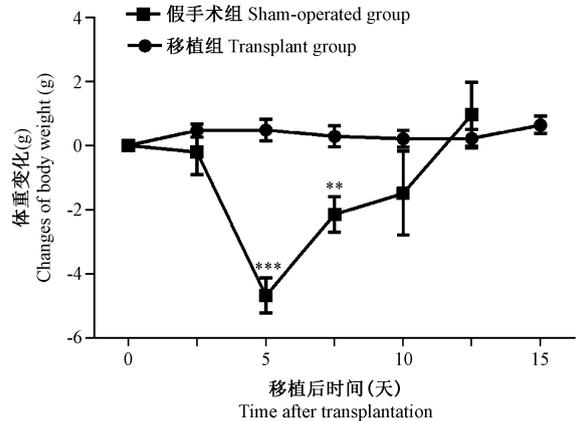


图 4 移植后体重变化量

Fig. 4 Changes of body weight of the mice after transplantation

## 2.5 移植前后糖耐量实验结果

为了评价移植胰岛在体内的生物学功能, 本研究分别于移植前和移植后两周, 对胰岛移植组小鼠进行腹腔糖耐量实验。结果如图 5 所示, 胰岛移植组小鼠的糖耐量在移植后明显改善, 并通过比较糖耐量曲线下面积 (area under the curve, AUC), 结果如图 6 所示, 移植前 AUC 值为 (3784.2 ± 435) mmol/L × 180 min, 移植后 AUC 值为 (2489.2 ± 389.3) mmol/L × 180 min, 差异有显著性 ( $P < 0.05$ )。

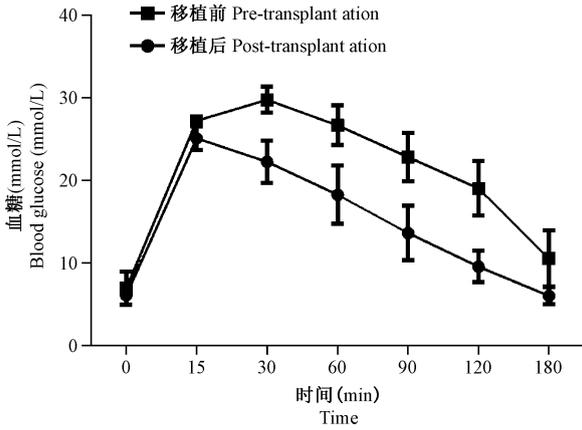


图 5 糖耐量实验结果

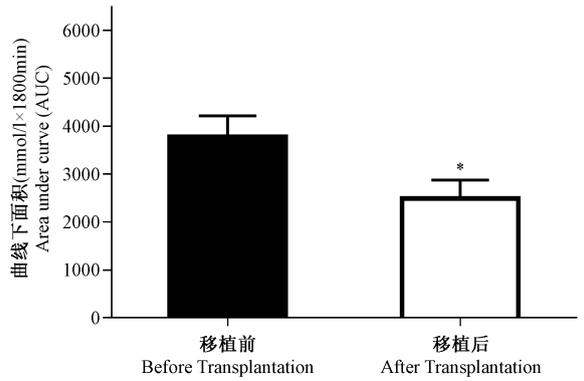
Fig. 5 Results of IPGTT in the transplant recipients

### 2.6 肾被膜下移植胰岛组织形态学观察

为了证实移植胰岛在受体小鼠体内的存活情况,本研究对移植侧小鼠肾脏进行 HE 染色和免疫荧光染色,结果显示肾被膜下可见胰岛素抗体免疫荧光染色阳性的细胞团,表明该细胞团确为移植入肾被膜下的胰岛细胞团(图 7b),并且在残存移植胰岛细胞团周围存在大量的淋巴细胞浸润(图 7a)。

### 3 讨论

1 型糖尿病是一种由 T 淋巴细胞介导的以免疫性胰岛炎和选择性胰岛 β 细胞损伤为特征的自身免疫性疾病。在胰腺或胰岛移植术后,移植物胰岛内免疫细胞的积聚导致胰岛炎,是糖尿病复发的主要原因。有研究报道 1 型糖尿病病人接受白细胞抗原相同的非糖尿病正常胰腺移植后,发生了针对移



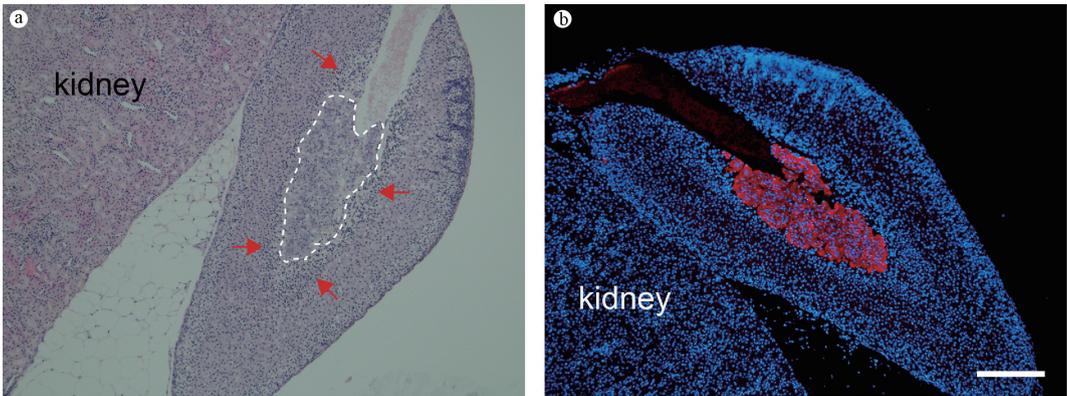
注:移植前与移植后比较,\* $P < 0.05$ 。

图 6 移植前和移植后糖耐量曲线下面积比较

Note. Before vs. after transplantation, \* $P < 0.05$ .

Fig. 6 Comparison of the areas under the curve (AUC) before and after islet transplantation

植物内胰岛的单核细胞浸润,胰岛结构被破坏,导致糖尿病复发<sup>[4]</sup>。提示即使同基因胰岛细胞移植同样有可能遭到 1 型糖尿病宿主自身免疫反应的攻击,而使移植的胰岛细胞被破坏。而 NOD 小鼠也是一种自身免疫性 1 型糖尿病小鼠模型。T 细胞攻击胰岛细胞团导致胰岛素的分泌不足是其发病主要原因<sup>[5]</sup>。因此,NOD 小鼠是一种研究如何保护移植胰岛免受自身免疫反应攻击的理想动物模型,而如何获得高质量的 NOD 小鼠胰岛以及对它们进行生物学功能进行分析是这方面研究的基础,目前有关这方面的研究报道不多。本文旨在建立一种高效稳定的 NOD 小鼠胰岛分离纯化方法,并对分离纯化的 NOD 小鼠胰岛进行生物学功能研究。



注:a. 在残存移植胰岛细胞团(白色虚线框出)周围存在大量的淋巴细胞浸润(红色箭头所指);b. 肾被膜下可见胰岛素抗体免疫荧光染色阳性的细胞团(红色荧光),DAPI 复染细胞核,bar = 200 μm。

图 7 移植后肾被膜下移植部位的 HE 染色和胰岛素抗体免疫荧光染色

Note. Extensive lymphocyte infiltration (red arrows) surrounding the transplanted islet (outlined by a white line) (HE staining). B. Insulin-positive cells (red fluorescence) in a subcapsularly transplanted islet. The blue fluorescence indicates cell nuclei. Immunofluorescence DAPI staining. Scale bar = 200 μm.

Fig. 7 Histology of an islet transplanted under the renal capsule

由于在血糖正常 NOD 小鼠的胰腺内,胰岛周围已有一定的炎性细胞浸润,因此本研究发现在分离 NOD 小鼠胰岛的操作过程中,存在许多与之前其他研究报道的小鼠胰岛分离方法的不同之处:(1)消化酶浓度的选择不同:有文献报道,小鼠胰腺多采用 0.5 ~ 1 mg/L 胶原酶<sup>[6-9]</sup>,但本研究发现,NOD 小鼠采用过高浓度的胶原酶消化,会对分离的胰岛团造成损害,破坏胰岛包膜的完整性,且会产生大量的死细胞,分泌许多粘性物质,影响胰岛团的纯化,因此在分离过程中,我们选择采用 0.3 mg/mL 的 V 型胶原酶进行灌注消化。不仅能够保持包膜的完整性,得到较高的产率,而且基本不产生粘性物质,不会影响后续的纯化移植。(2)静止消化时间上的不同:合适时间对于胰岛团的得率至关重要,但消化时间与所选择消化酶的种类和浓度密切相关,以小鼠胰岛分离中常用的 collagenase P 和 collagenase V 为例,3 mg/mL 的 collagenase P 消化时间一般为 6 ~ 7 min, collagenase V 一般为 10 min<sup>[10]</sup>,但在本实验中,由于降低了胶原酶的浓度,因此本研究选取了几个时间点作为比较:10、15、18 min 和 20 min,本研究发现 10 min 与 15 min 的细胞得率极低,18 min 与 20 min 均能够得到纯度高,包膜完整的细胞团,因此本研究最终选择 18 min 作为消化时间,不仅节约了时间,而且提高了胰岛分离的产率。(3)分离纯化后 NOD 小鼠胰岛的体外培养:由于在胰岛分离纯化过程中,胰岛会受到许多外界压力的损伤,例如失巢凋亡<sup>[11]</sup>、缺氧和受损胰腺外分泌细胞所释放蛋白酶的损伤作用等<sup>[12-13]</sup>。因此,通过体外培养过程,有利于所分离胰岛活性和功能的修复。此外,由于胰腺外分泌部细胞在体外悬浮培养条件下不易存活,也有利于排除胰岛分离过程中受损的胰腺外分泌细胞。本研究之所以选择葡萄糖浓度为 11.1 mmol/L 的 RPMI 1640 培养基,是由于有研究显示,当培养基的葡萄糖浓度低于 11 mmol/L 时,胰岛细胞内调节糖代谢的基因表达将下调,而当葡萄糖浓度高于 11 mmol/L 时,将导致培养胰岛细胞的损伤<sup>[14]</sup>。

在胰岛生物学功能研究方面,本研究在体外的糖刺激实验中发现,血糖正常 NOD 小鼠胰岛的刺激指数(SI = 高糖刺激胰岛素分泌量/低糖刺激胰岛素分泌量比值)仅为 1.33,远低于 KM 小鼠。这表明由血糖正常 NOD 小鼠分离的胰岛细胞团,其胰岛素分泌功能已经受损。这与 NOD 小鼠在 4 到 5 周出现胰岛炎的报道相一致。在 NOD 小鼠同基因异体的移植实验中,我们发现胰岛移植后所有 NOD 糖尿病小鼠的血糖水平明显降低,表明移植胰岛在受体

小鼠体内能够分泌胰岛素调节宿主血糖,但移植胰岛在改善受体小鼠高血糖状态时间长短方面个体差异较大,有的受体小鼠在移植后,高血糖逆转仅能维持 15 d,有的可维持 50 d 以上。由于是同基因小鼠间的移植,因此不存在同种异体排斥反应,出现上述移植胰岛不能在受体小鼠体内长期存活的原因,可能是已发生糖尿病的受体 NOD 小鼠自身免疫系统对移植胰岛的破坏所造成。本研究体内实验结果也显示,在移植后期,在残存移植胰岛的周围存在大量的淋巴细胞浸润。综上所述,本研究为今后利用 NOD 小鼠同基因异体胰岛移植模型,探讨 1 型糖尿病胰岛移植治疗中如何保护移植胰岛免受自身免疫系统攻击,提供了一定的研究基础和借鉴。

#### 参 考 文 献 (References)

- [ 1 ] 金勇, 朱勇, 吴南翔. 实验性链脲佐菌素诱导的大、小鼠糖尿病动物模型研究进展 [J]. 中国比较医学杂志, 2009, 19 (3): 80 - 82.  
Jin Y, Zhu Y, Wu NX. Advances in experimental streptozotocin-induced rodent models of diabetes mellitus [J]. Chin J Comp Med, 2009, 19 (3): 80 - 82.
- [ 2 ] Anderson MS, Bluestone JA. The NOD mouse: a model of immune dysregulation [J]. Annu Rev Immunol, 2005, 23: 447 - 485.
- [ 3 ] 蒋铁建, 苏恒, 周智广. NOD 小鼠胰岛分离与纯化的方法研究 [J]. 中南大学学报 (医学版), 2002, 27(1): 85 - 87.  
Jiang TJ, Su H, Zhou ZG. Study on isolation and purification of islets in NOD mice [J]. J Centr South Univ Med Sci, 2002, 27 (1): 85 - 87.
- [ 4 ] Sibley RK, Sutherland DE, Goetz F, et al. Recurrent diabetes mellitus in the pancreas iso- and allograft. A light and electron microscopic and immunohistochemical analysis of four cases [J]. Lab Invest, 1985, 53(2): 132 - 144.
- [ 5 ] Adorini L, Gregori S, Harrison LC. Understanding autoimmune diabetes: insights from mouse models [J]. Trends Mol Med, 2002, 8(1): 31 - 38.
- [ 6 ] 李敏, 宋陆军, 高晓东, 等. 一种高效的小鼠胰岛分离纯化新技术 [J]. 中国临床医学, 2011, 18(02): 145 - 146, 149.  
Li M, Song LJ, Gao XD, et al. An efficient technology for isolation and purification of mouse islets [J]. Chin J Clin Med, 2011, 18 (02): 145 - 146, 149.
- [ 7 ] Shewade YM, Umrani M, Bhonde RR. Large-scale isolation of islets by tissue culture of adult mouse pancreas [J]. Transplant Proc, 1999, 31 (3): 1721 - 1723
- [ 8 ] 刘爽, 崔士华, 孙海晨, 等. 一种改良的小鼠胰岛分离和移植模型 [J]. 首都医科大学学报, 2009, 30(2): 259 - 261.  
Liu S, Cui SH, Sun HC, et al. An improved model for isolation and transplantation of mouse islets [J]. J Capit Med Univ, 2009, 30 (2): 259 - 261.
- [ 9 ] Yin ZL, Zuo FN, Li H, et al. A rapid, efficient, and economic device and method for the isolation and purification of mouse islet

- cells [J]. PLoS One, 2017, 12(2): e0171618.
- [10] Ramírez-Domínguez M (ed.), Pancreatic Islet Isolation, Advances in Experimental Medicine and Biology [M]. Switzerland: Springer International Publishing, 2016.
- [11] Wang RN, Rosenberg L. Maintenance of beta-cell function and survival following islet isolation requires re-establishment of the islet-matrix relationship [J]. J Endocrinol, 1999, 163(2):181-90.
- [12] Elgendy H, Okitsu T, Kimura Y, et al. Augmented damage of islets by impaired exocrine acinar cells undergoing apoptosis that is possibly converted to necrosis during isolation [J]. Islets, 2011, 3(3): 102-110.
- [13] 韩小乐, 黎沙, 夏小林, 等.  $\alpha-1$  抗胰蛋白酶减轻小鼠胰腺外分泌细胞对移植胰岛的损伤 [J]. 中华器官移植杂志, 2015, 36(2): 102-107.
- Han XL, Li S, Xia XL, et al.  $\alpha-1$  antitrypsin reduces the damage about mouse pancreatic exocrine cells to graft islet [J]. Chin J Organ Transplant, 2015, 36(2): 102-107.
- [14] Bensellam M, Van Lommel L, Overbergh L, et al. Cluster analysis of rat pancreatic islet gene mRNA levels after culture in low-, intermediate- and high-glucose concentrations [J]. Diabetologia, 2009, 52(3): 463-476.

[收稿日期] 2017-08-21

简讯

## 《中国实验动物学报》《中国比较医学杂志》 入选网络首发首批示范期刊

为了更好地宣传学术期刊转型对促进国家“创新驱动发展”战略的重要意义,并积极推动学术评价机制改革,整体推进学术期刊数字化、网络化转型升级,根据国家新闻出版广电总局关于“首批连续型网络出版物规范化试点”与“国家数字复合出版系统工程试点”工作要求,基于前不久发布的《中国学术期刊(网络版)》(CAJ-N)的出版传播平台(CAJ-NP),本着试点先行、扎实推进的原则,《中国学术期刊(光盘版)》电子杂志社将启动“学术期刊网络版示范工程”,组织、支持一批数字出版工作基础较好的重要期刊率先以录用定稿网络首发方式在 CAJ-N 正式出版期刊网络版。

以网络首发方式发表单篇论文是出版学术期刊网络版的实质意义所在,其对作者研究成果首发权、学术竞争力和影响力,以及读者获取科研情报与知识的及时性具有无可争议的重要性。CAJ-N 作为学术期刊网络版的正式出版平台,与以往没有正式刊号的优先数字出版不同,已经解决了论文网络首发的规范性问题,可以得到国家出版管理、科研与人事管理等相关部门的认可。