

王悦,张萌,赵凤仪,等. 小鼠及猕猴 Graves 病动物模型的比较研究[J]. 中国实验动物学报, 2020, 28(4): 455-462.

Wang Y, Zhang M, Zhao FY, et al. Comparison of mouse and rhesus monkey models of Graves' disease[J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2020, 28(4): 455-462.

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2020.04.004

小鼠及猕猴 Graves 病动物模型的比较研究

王悦[#], 张萌[#], 赵凤仪, 伍丽萍, 施秉银^{*}

(西安交通大学第一附属医院内分泌代谢科, 西安 710061)

【摘要】 目的 本研究旨在从 Graves 病(Graves' disease, GD)免疫相关机制出发,通过比较我们既往研究中小鼠及猕猴 GD 动物模型,探讨不同动物 GD 模型特点差异,并基于不同动物模型的特点,为日后免疫治疗新方法提供研究工具。**方法** 利用表达促甲状腺素受体(TSHR)A 亚单位的重组腺病毒肌肉注射 BALB/c 小鼠,每三周 1 次,共 3 次。利用同样的重组腺病毒肌肉注射猕猴,基于小鼠病毒剂量通过体重和体表面积换算出猕猴的病毒剂量,每三周 1 次,共 5 次。于末次免疫后四周安乐死小鼠和猕猴,收集外周血、甲状腺、脾等组织测定总甲状腺素 TT4、促甲状腺素受体抗体 TRAb 及免疫学相关指标。**结果** 小鼠造模组($n=8$)TRAb 水平较对照组显著增高 $[(8.1 \pm 0.6) \text{ IU/I vs } 423.1 \pm 61.4 \text{ IU/I}]$,其中有 6 只小鼠的 TT4 水平明显增高,整体 T4 水平显著高于对照组 $[(57.1 \pm 2.9) \mu\text{g/dL vs } (96.7 \pm 13.8) \mu\text{g/dL}, P < 0.05]$,GD 甲亢发生率为 75%。猕猴造模组($n=6$)中有 3 只猕猴的 TT4 和 FT4 水平均明显增高,甲亢发生率为 50%。甲状腺病理中,小鼠(6/8)及猕猴(3/6)造模组中均出现了滤泡上皮明显增生,呈立方状或高柱状。流式细胞学分析显示,猕猴造模组的外周血和脾中的 Treg 细胞比例均显著低于对照组($P < 0.05$),这一结果与小鼠造模组的脾中 Treg 细胞比例结果一致($P < 0.05$)。此外,造模组的猕猴还出现了体重的下降($P < 0.05$)和静息心率的上升($P < 0.05$)。**结论** 与猕猴 GD 模型相比,小鼠模型 GD 甲亢的诱导时间更短,发生率更高,但 GD 猕猴基础生理生化指标和免疫相关指标中显示出更多的与人类 GD 患者类似的表现及机制。在日后探索 GD 发病机制及评估新治疗方案的研究中,我们可以根据两种动物 GD 模型的不同特点选择更合适的研究工具。

【关键词】 Graves 病;BALB/c 小鼠;猕猴;TSHR A 亚单位;动物模型

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2020)04-0455-08

Comparison of mouse and rhesus monkey models of Graves' disease

WANG Yue[#], ZHANG Meng[#], ZHAO Fengyi, WU Liping, SHI Bingyin^{*}

(Department of Endocrinology, First Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710061, China)

Corresponding author: SHI Bingyin. E-mail: shibingy@126.com

【Abstract】 Objective This study compared mouse and rhesus monkey models of Graves' disease (GD), particularly regarding the immunological mechanisms, and provided research tools for further novel treatment. **Methods** Six-week-old female BALB/c mice were injected intramuscularly with adenovirus expressing the A-subunit of thyrotropin receptor (TSHR) (A-sub-Ad) three times at 3-week intervals. The animals were euthanized 4 weeks after the final injection to obtain their blood, spleen cells, thyroid glands and other organs. Three-year-old female rhesus monkeys were injected intramuscularly with A-sub-Ad five times at 3-week intervals, and sera were prepared from blood samples collected at several time points during the immunization regimen. The animals were euthanized 4 weeks after the final injection to

【基金项目】 国家重点研发计划(2018YFC1311500),国家自然科学基金(81500690)。

Funded by National Key R&D Program of China (2018YFC1311500), and National Natural Science Foundation of China (NSFC) (81500690).

【作者简介】 王悦(1987—),女,助理研究员,住院医师,博士,研究方向:甲状腺自身免疫疾病,内分泌代谢性疾病。Email:shelly1021@126.com;

张萌(1992—),女,在读博士研究生,研究方向:甲状腺自身免疫疾病。Email:869083468@qq.com。

[#]共同第一作者

【通信作者】 施秉银(1959—),男,博士生导师,硕士,研究方向:甲状腺自身免疫疾病,内分泌代谢性疾病。Email:shibingy@126.com

obtain their blood, spleen cells, thyroid glands and other organs. Serum total thyroxine (TT4) and thyrotropin receptor antibodies (TRAb) levels and thyroid morphology were detected in both the mice and rhesus monkeys to identify the thyroid function. The body weights of the mice and rhesus monkeys were recorded during the experiment as well as the resting heart rate of the rhesus monkeys. Flow cytometry was performed to detect the changes in splenic CD4+CD25+Foxp3+ cell proportions. **Results** After the final immunization, compared with the controls, the A-sub-Ad-injected mice developed significantly higher TRAb and TT4 levels [(8.1 ± 0.6) IU/I vs (423.1 ± 61.4) IU/I and (57.1 ± 2.9) $\mu\text{g/dL}$ vs (96.7 ± 13.8) $\mu\text{g/dL}$, respectively, $P < 0.05$]. Using the mean ± 2 standard deviations as the normal range, all A-sub-Ad-injected mice and rhesus monkeys showed positive TRAb levels, and 75% of the mice and half of the rhesus monkeys had increased TT4 levels. The thyroid pathology confirmed the GD-induced changes in the mice and rhesus monkeys. Different from the thyroid follicular epithelial cells in the controls, which were lowly cubic or flat, 6/8 mice and 3/6 rhesus monkeys in the model group showed obvious follicular epithelial hyperplasia with cubic or tall columnar-shaped cells, and papillary structures caused by hyperplasia protruded into the follicular cavity in part of the visual field. However, no lymphocyte infiltration occurred in the thyroids of either the mice or rhesus monkeys. In addition, the rhesus monkeys with GD lost body weight and had significantly increased resting heart rates ($P < 0.05$). Flow cytometry showed decreased CD4+CD25+Foxp3+ cell proportions in both the mouse and rhesus monkey GD groups compared with those of the control groups. **Conclusions** Compared with the GD rhesus monkey model, the GD mouse model showed a shorter induction time and a higher GD incidence. However, in terms of physiology and immune response, especially with GD complications, GD rhesus monkeys showed more similarities to GD patients. In future research to explore the pathogenesis and evaluate new treatments for GD, scholars can choose the appropriate research tools according to the different characteristics of the two GD animal models.

【Keywords】 Graves' disease; BALB/c mice; rhesus monkey; TSHR A subunit; animal model

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

Graves 病 (Graves' disease, GD) 是一种常见的器官特异性自身免疫性疾病, 人群患病率 0.5% ~ 2%^[1]。临床表现主要有甲状腺毒症、弥漫性甲状腺肿大, 部分伴有突眼或胫前粘液性水肿。严重时可导致病人发生重度心律失常、重度肝损害、重度肌萎缩及重度贫血等^[2]。在动物活体水平建立真实反应人类疾病的疾病模型, 对疾病发病机制探讨、在体功能研究、药物新靶点发现和临床前药效学评价至关重要^[3]。

近年来, 国内外研究者对于 GD 的疾病模型展开了诸多探索。稳定表达促甲状腺素受体 (TSHR) 的细胞在免疫佐剂的帮助下, 能诱导小鼠产生促甲状腺素受体抗体 (TRAb) 升高、甲状腺毒症及甲状腺病理等 GD 相关表现, 但其操作的可能性较差且诱导成功率不稳定^[4]。此后, 研究者们更换了抗原的表达载体, 发现表达 TSHR 全长的重组腺病毒可以获得甲亢发生率为 30% ~ 50% 的 BALB/c 小鼠^[5]。随着“TSHR A 亚单位可能是 GD 发生的主要抗原”这一发病机制的重大发现, 研究者们利用表达 TSHR A 亚单位的重组腺病毒将甲亢的发生率提高至 60% ~ 80%^[6-8]。虽然近期有自发产生促甲状腺素受体刺激性抗体 (TSAb) 的 TSHR/NOD.H2h4 转

基因小鼠动物模型的相关报道, 但该小鼠甲状腺激素水平正常, 没有甲状腺功能亢进症状, 分析原因认为该抗体是针对人 TSHR 的, 因此与小鼠体内 TSHR 结合比较微弱^[9]。因此, 利用表达 TSHR A 亚单位的腺病毒免疫诱导模型是目前最为广泛接受的 GD 小鼠模型^[4]。

但由于啮齿类动物与人类遗传背景、免疫学、病理学特征上存在较大差异, Graves 病的一些典型临床表现难以在小鼠模型中成功再现, 且医药转化研究中, 啮齿类动物模型也存在着不可忽视的局限性^[10]。为了突破啮齿类动物模型在免疫学研究中的局限性, 非人灵长类动物在免疫学研究中发挥越来越重要的作用。其中, 猕猴模型作为最常见的非人灵长类动物模型, 已经广泛应用于包括感染免疫, 免疫应答, 免疫衰老及自身免疫性疾病的研究领域中。系统性红斑狼疮和类风湿性关节炎的相关模型已经被陆续报道, 给构建猕猴的 GD 动物模型提供了可能性和宝贵的经验^[10]。

本研究旨在从 GD 发病机制出发, 通过比较我们既往研究中小鼠及猕猴 GD 动物模型^[11-12], 一方面探讨不同动物 GD 模型特点差异, 另一方面基于

不同动物模型的特点,为日后免疫治疗新方法提供研究工具。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

16 只 6 周龄 SPF 级雌性 BALB/c 小鼠,体重约 18 ~ 20 g,购自西安交通大学医学实验动物实验中心【SCXK(陕)2018-001】,饲养于西安交通大学医学实验动物中心【SYXK(陕)2015-002】,所有操作均符合西安交通大学医学部生物科研伦理要求(审批号:IACUC 2015036)。

12 只 3 周岁普通级雌性猕猴,体重约 3.8 ~ 4.0 kg,购于中国科学院昆明动物研究所【SCXK(滇)2017-0003】,饲养于空军医科大学实验动物中心【SYXK(陕)2019-001】。单笼饲养,饲养室温度控制在 24 ~ 26℃,相对湿度控制于 40% ~ 60%,自由活动。所有操作均符合陕西省林业厅生物科研伦理要求(审批号:IACUC 2011065)。整体实验过程符合 3R 原则。

1.1.2 试剂与仪器

表达 TSHR A 亚单位的重组腺病毒(A-sub-Ad)(深圳市百恩维生物科技有限公司,S2AD1005-1),对照病毒(con-Ad)(深圳市百恩维生物科技有限公司,P8V0034-2),碘[125I]-甲状腺素放射免疫分析药盒(天津市协和医药科技集团有限公司,RA10102),TRAb 滴度 ELISA 法检测(德国 Medipan GmbH,3505),Treg 细胞检测试剂盒(eBiosciences,A42925)。

正置光学显微镜(Olympus, BX53, 日本),流式细胞仪(BD, FACSCalibur, 美国)。

1.2 方法

1.2.1 动物分组及诱导 GD 动物模型

小鼠随机分为造模组和对照组,采取国际公认的腺病毒造模方案^[5-6],造模组用表达 TSHR A 亚单位的重组腺病毒进行免疫(A-sub-Ad),对照组用对照病毒进行免疫(con-Ad)。小鼠造模组用 PBS 稀释病毒原液,取 50 μ L 病毒稀释液经股四头肌肌肉注射。每只小鼠每次注射剂量为 1×10^8 vp,每三周免疫 1 次,共 3 次,于末次免疫后四周安乐死小鼠。猕猴随机分为造模组和对照组,造模组用 PBS 稀释病毒原液,取 1 mL 病毒稀释液经两侧股四头肌肌肉注射,每侧 500 μ L。猕猴组的病毒用量是基于

小鼠剂量通过体重和体表面积换算出的,每三周注射 1 次,共 5 次,于末次免疫后四周安乐死猕猴。取小鼠和猕猴的外周血、甲状腺、脾等组织测定 T4、TRAb 及免疫学相关指标。

1.2.2 甲状腺激素、TRAb 测定

血清总甲状腺素 TT4 水平由放射免疫法检测:含 T4 的血清和 125I 标记的 T4 与相应的抗体反应后形成抗原抗体复合物。加入二抗和聚乙二醇,使免疫复合物沉淀并离心,使用 γ 计数器测定沉淀物放射性强度。最后通过标准曲线得到血清中 T4 最终浓度。

TRAb 滴度 ELISA 法检测:含 TRAb 的血清加入包被着 TSHR 蛋白的 ELISA 板进行孵育,随后加入 M22 单克隆抗体与 TRAb 竞争性结合 TSHR。加入二抗和辣根过氧化物酶,用四甲基联苯胺进行显色,使用酶标仪测定其 OD 值。最后通过标准曲线得到血清中 TRAb 最终浓度。

1.2.3 甲状腺病理

甲状腺组织用 10% 甲醛固定,石蜡包埋切片,HE 染色,光镜下观察其组织病理学改变。

1.2.4 流式细胞测定

使用流式染色缓冲液将脾或外周血单个核细胞重悬至每毫升 5×10^6 个。Treg 细胞染色按照商品说明书进行,首先使用 FITC 标记的 CD4 和 APC 标记的 CD25 进行表面染色,固定破膜后使用 PE 标记的 Foxp3 进行核内染色。最后使用多通道流式细胞仪进行检测,Cell Quest 软件进行数据分析。

1.3 统计学分析

使用 SPSS 24.0 软件进行统计学检验。计量资料数据形式为平均值 $\pm$ 标准误($\bar{x} \pm s\bar{x}$)。两组间比较采用独立样本 *t* 检验,检验标准以 $P < 0.05$ 表示差异具有显著性。

2 结果

2.1 GD 小鼠及 GD 猕猴体重变化

对照组和造模组小鼠体重平均值分别从 (20.9 ± 0.7) g 和 (19.7 ± 0.6) g,增长为 (26.5 ± 0.9) g 和 (26.6 ± 0.4) g,至整个实验结束,两组体重差异无显著性(图 1A)。而在整个实验过程中,对照组猕猴体重由 (3.9 ± 0.2) kg 增长至 (4.0 ± 0.3) kg。而造模组中甲亢猕猴(3/6)体重从 (3.9 ± 0.05) kg 下降至 (3.6 ± 0.2) kg($P < 0.05$)。与 GD 小鼠体重前后无统计学差异不同,GD 猕猴体重显著下降,

这说明 GD 猕猴出现了消瘦的临床表现(图 1B)。从图 1C 可以看出, GD 小鼠至造模结束时,单位摄食量下的体重增加显著低于对照组[(1.1 ± 0.01) vs (1.5 ± 0.05), $P < 0.05$], 该结果说明与对照小鼠相比,造模组小鼠摄入相同重量饲料,但其体重增长显著低于对照小鼠。这可能是由于小鼠自身体重较轻,摄食量可以显著影响体重的变化。图 1D 所示,对照组猕猴静息心率维持在 190 次/分左右,未出现明显的波动。而造模组中甲亢猕猴(3/6)静息心率由(192 ± 11)次/分上升至(255 ± 14)次/分($P < 0.05$),说明 GD 猕猴出现类似 GD 患者心动过速的表现。

2.2 GD 小鼠及 GD 猕猴 TT4

造模结束时,对照组和造模组小鼠 TT4 平均值分别为(57.1 ± 2.9) $\mu\text{g/dL}$ 和 (96.7 ± 13.8) $\mu\text{g/dL}$, 差异具有显著性($P < 0.05$)。以对照小鼠 TT4 平均值 + 2 倍标准差为正常 TT4 上限($63.1 \mu\text{g/dL}$), 超过该上限判定甲亢。造模组小鼠甲亢发生率为 75%(图 2A)。以对照猕猴血清 TT4 平均值 + 2 倍标准差为正常上限($5.72 \mu\text{g/dL}$), 超过该值视为甲亢。在第 3 次免疫结束联周后,造模组 6 只猕猴中有 1 只猕猴出现了 TT4 升高。而在 5 次免疫结束后两周,造模组共 3 只猕猴出现了 TT4 升高,即甲

亢发生率为 50%(图 2B)。

2.3 GD 小鼠及 GD 猕猴 TRAb

造模结束时,对照组和造模组小鼠血清 TRAb 平均值分别为(8.1 ± 0.6) IU/I 和 (423.1 ± 61.4) IU/I, 差异具有显著性($P < 0.05$)。以对照小鼠 TRAb 平均值 + 2 倍标准差为正常 TRAb 上限(9.3 IU/I), 造模组小鼠 TRAb 阳性率达 100%(图 3A)。以对照猕猴血清 TRAb 的平均值 + 2 倍标准差为正常上限, ELISA 法大于 0.06 IU/L 为阳性, 5 次免疫结束后,造模组 6 只猕猴 TRAb 100% 阳性(图 3B)。

2.4 GD 小鼠及 GD 猕猴甲状腺病理

光镜下,对照小鼠或猕猴甲状腺滤泡上皮细胞呈低立方或者扁平状,滤泡中胶质丰富。造模组中 6/8 只小鼠, 3/6 只猕猴出现明显的滤泡上皮增生呈立方状或高柱状,部分视野下还可观察到由于增生导致的乳头状结构凸入滤泡腔。但小鼠及猕猴均未观察到淋巴细胞浸润。(图 4)

2.5 GD 小鼠及 GD 猕猴 Treg 细胞比例

与对照组小鼠相比(12.2 ± 0.5)%, 造模组小鼠脾中 CD4+CD25+Foxp3+Treg 细胞在 CD4+T 淋巴细胞中的比例显著降低(10.3 ± 0.6)%(图 5A, $P < 0.05$)。在外周血和脾,造模组猕猴 CD4+CD25+FOXP3+Treg 细胞在 CD4+ 细胞中的比例分别是

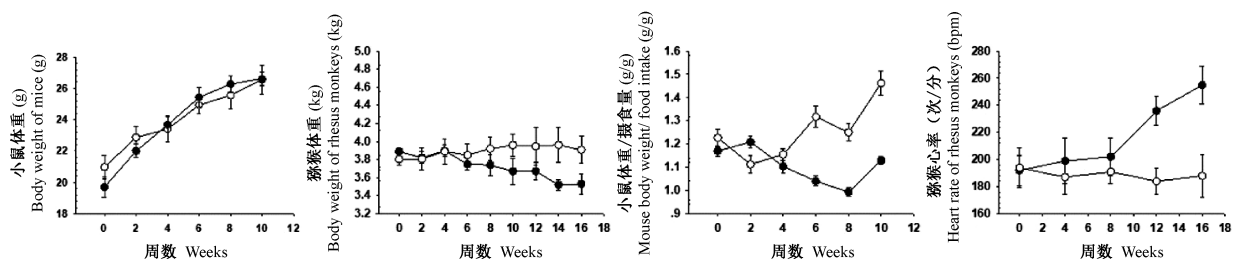


图 1 GD 小鼠及 GD 猕猴的体重变化

Figure 1 Body weight changes in GD mice and GD rhesus monkeys

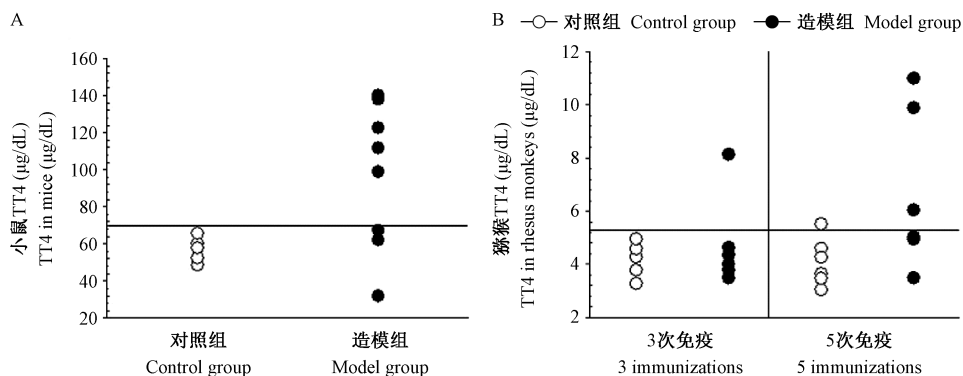


图 2 GD 小鼠及 GD 猕猴 TT4

Figure 2 TT4 levels of GD mice and GD rhesus monkeys

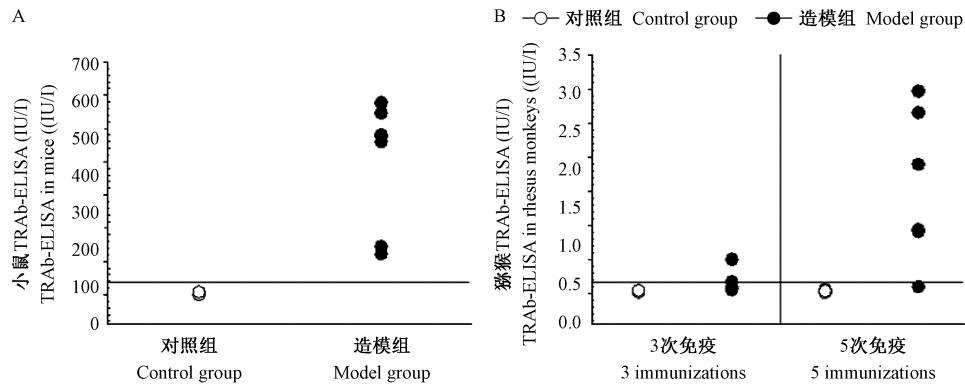


图3 GD小鼠及GD猕猴TRAb

Figure 3 TRAb levels of GD mice and GD rhesus monkeys

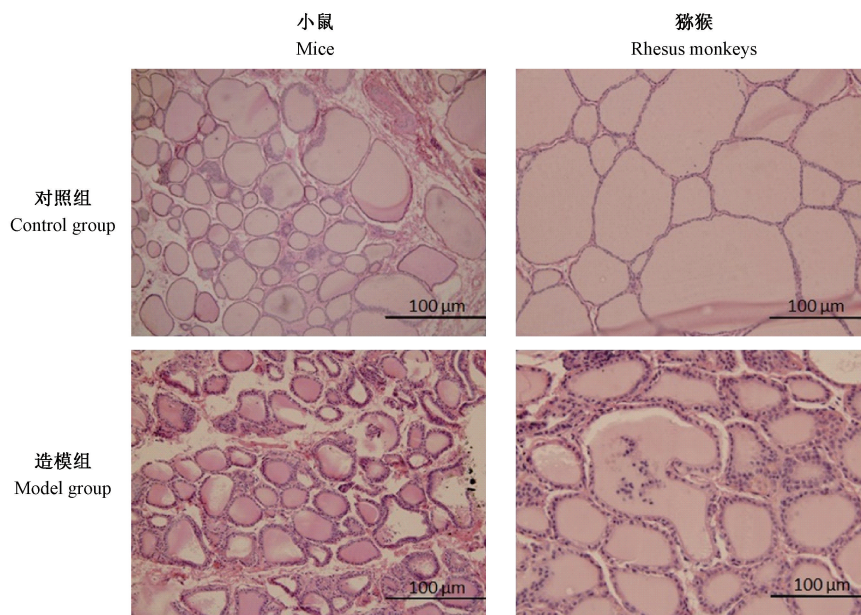


图4 GD小鼠及GD猕猴甲状腺病理切片

Figure 4 Pathological sections of thyroid gland of GD mice and GD rhesus monkeys

(0.9 ± 0.3)% 和 (0.6 ± 0.2)%, 显著低于对照组的 (1.3 ± 0.1)% 和 (2.3 ± 0.5)% (图 5B, $P < 0.05$)。但 CD4+IL-17+ Th17 细胞在造模猕猴和对照猕猴中差异无显著性 (图 5B, $P > 0.05$)。

2.6 GD小鼠及GD猕猴肝病理

GD小鼠和猕猴身体机能处于稳定状态。造模组与对照组小鼠、猕猴的肝在光镜下未发现炎症或其他病理学改变,包括细胞水肿或坏死等。(图 6)

3 讨论

理想的GD动物模型有以下特点:(1)自发模型优于诱导的模型。但目前唯一的自发模型TSHR/NOD.H2h4转基因小鼠产生TSAb周期较长,花费较高,因此不方便广泛推广使用。(2)可复制性。表

达TSHR的质粒诱导的GD模型目前在世界多个实验室可重复性较低^[5]。(3)GD发病率高,便于观察病因及协助新治疗。(4)在多品系小鼠中可诱导GD发生。Shimojo和M12模型都只能在易感品系诱导GD。综合以上四点,表达TSHR A亚单位的腺病毒诱导GD模型是目前被广泛认可,且重复性最好的模型^[13]。

3.1 小鼠及猕猴GD模型的成功构建

本研究中,通过注射表达TSHR A亚单位的重组腺病毒,猕猴造模组(注射5次)和小鼠造模组(注射3次)均出现了TRAb阳性,甲状腺激素水平升高和甲状腺组织显著增生等表现。此外,猕猴造模组还出现了体重下降和静息心率增高等典型GD的临床症状,小鼠造模组也出现了单位摄食量下的

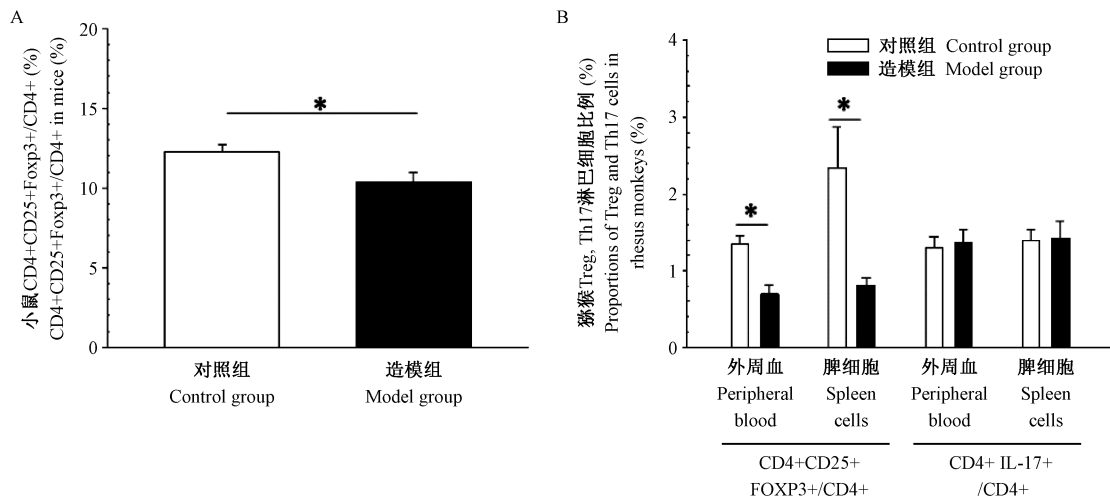


图5 GD小鼠及GD猕猴Treg细胞比例

Figure 5 Proportion of Treg cells in GD mice and GD rhesus monkeys

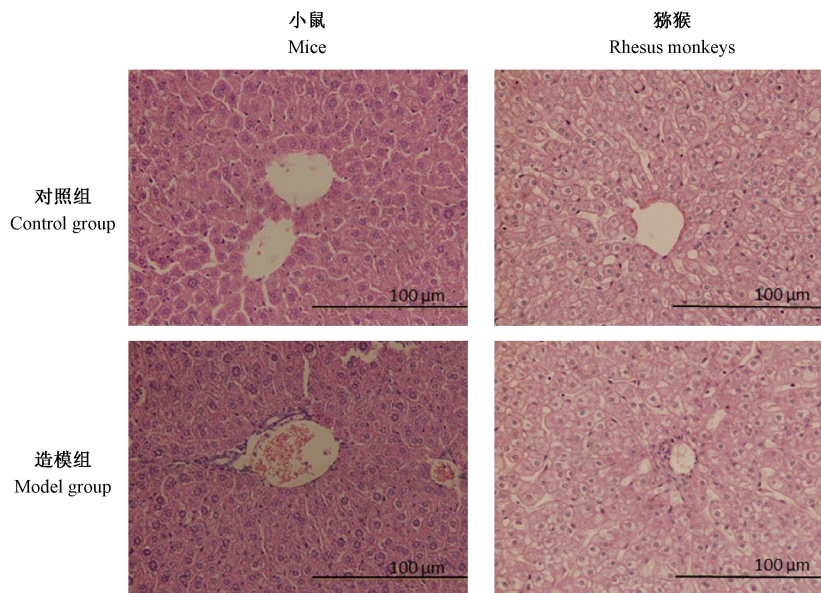


图6 GD小鼠及GD猕猴肝病理切片

Figure 6 Liver pathological sections of GD mice and GD rhesus monkeys

体重增加显著下降。

值得注意的是,猕猴造模组的GD发生率是随着注射次数等增加逐渐增高的,在第3次免疫结束时,猕猴造模组的TT4升高率仅为16.7%,但是在第5次免疫结束时,猕猴造模组的TT4升高率达到了50%。我们未公布的数据显示,继续免疫下去,TT4升高率会继续增高。这一结果间接证明了TSHR是诱发GD最有力的抗原也说明在建立猕猴GD模型时,为了获得更高的GD发病率,可能需要延长免疫时间和增加免疫次数。

3.2 GD模型与Treg细胞的关系

Treg细胞是一类以免疫抑制功能为特点的T

淋巴细胞亚群^[14]。作为重要的免疫调节细胞,其在自身免疫性疾病的发病过程中起着核心的作用^[15]。叉头盒蛋白3(fork head box P3, Foxp3)是Treg细胞发育和功能的重要调节因子^[16]。本研究中,小鼠GD模型与猕猴GD模型均展现了CD4+CD25+Foxp3+的Treg细胞比例的显著降低,这一结果与之前报道的GD临床实验结果一致^[17-19]。这一现象再次佐证了Treg细胞可能与GD发病有关,而这两个动物模型都是未来研究Treg细胞与GD的发病关系和针对Treg细胞免疫疗法的良好工具。

3.3 小鼠及猕猴GD模型的比较

造模结束时,猕猴造模组的6只小鼠中有3只

出现了以上的现象(50%),而小鼠造模组的 8 只小鼠中有 6 只小鼠出现了以上的现象(75%),与报道的数据相符合^[6-7]。因此,小鼠造模组的 GD 发病率略高于猕猴组,但没有显著的统计学差异。但在相同注射次数(三次注射)下,猕猴造模组的 GD 发病率(16.7%)是显著低于小鼠造模组的($P < 0.05$)。这说明在相同的免疫时间和次数的情况下,小鼠 GD 模型的发病率更高。

与小鼠 GD 模型相比,猕猴 GD 模型会出现显著的与人类 GD 患者类似的临床表现,包括体重显著降低和静息心率的增加^[20-21]。另外,对比小鼠及猕猴的 TT4、TRAb 水平的数据可以看出,小鼠 TT4、TRAb 水平均显著高于猕猴,这也可能是因为种属不同而造成的生化差异,其中猕猴与人类的数据更为接近^[22-24]。

本研究中,在小鼠和猕猴模型造模时使用均为表达人 TSHRA 的腺病毒。事实上,在氨基酸水平上,人类和小鼠 TSHRs 的同源性约为 87%,而人类与猕猴 TSHRs 的同源性高达 97%。有研究证实,在流式细胞术检测小鼠 TSHR 时,人 α 亚基免疫诱导的抗体的交叉反应性较差^[25]。从造模机制的层面,GD 及并发症尤其是甲状腺功能亢进性心脏病(甲亢心),其发病机制是靶器官分布的 TSHR 受体与自身抗体的结合启动下游的反应导致,我们有理由推测,猕猴 GD 模型在复制人类 GD 及其并发症中更具说服力。

从模型的应用来看,小鼠 GD 模型具备造模时间短、场地要求不高及实验成本较低的优势,但对于更加深入的研究 GD 的发病机制、尤其是并发症的发病机制等还是有着不小的限制性。而猕猴 GD 模型从发病机制、临床表现、并发症层面及与人类 GD 患者更加相似,尤其为 GD 的并发症的研究提供了切实可行的有效途径及方案,随着大动物价格昂贵、饲养成本高、难以进行规模化等问题的逐渐被解决,其研究前景和应用前景将极为广阔^[10]。

综上所述,小鼠模型的 GD 发生率略高于猕猴模型,但是经过对基础生理生化指标和免疫相关指标的检测,GD 猕猴显示出更多的与人类 GD 患者类似的表现及机制。因此,我们应当根据实验需求及经费安排,选择适当的动物模型,从而更合理的完成预期目标。

参 考 文 献(References)

[1] Smith TJ, Hegedus L. Graves' Disease [J]. N Engl J Med,

2016, 375(16): 1552-1565.

[2] Franklyn JA, Boelaert K. Thyrotoxicosis [J]. Lancet, 2012, 379(9821): 1155-1166.

[3] Dagdelen S, Kong YC, Banga JP. Toward better models of hyperthyroid Graves' disease [J]. Endocrinol Metab Clin North Am, 2009, 38(2): 343-354.

[4] 王悦, 伍丽萍, 施秉银. Graves 病动物模型研究进展 [J]. 医学综述, 2012, (10): 1455-8.

Wang Y, Wu LP, Shi BY. The research progress of Graves disease animal model [J]. Med Recapitulate, 2012, (10): 1455-1458.

[5] Nagayama Y. Animal models of Graves' hyperthyroidism [J]. Endocr J, 2005, 52(4): 385-394.

[6] Chen CR, Pichurin P, Nagayama Y, et al. The thyrotropin receptor autoantigen in Graves disease is the culprit as well as the victim [J]. J Clin Invest, 2003, 111(12): 1897-1904.

[7] Chen CR, Hubbard PA, Salazar LM, et al. Crystal structure of a TSH receptor monoclonal antibody: Insight into Graves' disease pathogenesis [J]. Mol Endocrinol, 2015, 29(1): 99-107.

[8] Chazenbalk GD, Pichurin P, Chen CR, et al. Thyroid-stimulating autoantibodies in Graves disease preferentially recognize the free A subunit, not the thyrotropin holoreceptor [J]. J Clin Invest, 2002, 110(2): 209-217.

[9] Rapoport B, Aliesky HA, Banuelos B, et al. A unique mouse strain that develops spontaneous, iodine-accelerated, pathogenic antibodies to the human thyrotrophin receptor [J]. J Immunol, 2015, 194(9): 4154-4161.

[10] 郑弘毅, 郑永唐. 非人灵长类动物: 免疫学基础研究到临床应用的桥 [J]. 中国免疫学杂志, 2018, 34(8): 1121-1130.

Zheng HY, Zheng YT. Nonhuman primates: connections from bench to bed in immunological researches [J]. Chin J Immunol, 2018, 34(8): 1121-1130.

[11] Wang Y, Zhao F, Rijntjes E, et al. Role of selenium intake for risk and development of hyperthyroidism [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2019, 104(2): 568-580.

[12] Wang Y, Wu LP, Fu J, et al. Hyperthyroid monkeys: a nonhuman primate model of experimental Graves' disease [J]. J Endocrinol, 2013, 219(3): 183-193.

[13] Wiesweg B, Johnson KT, Eckstein AK, et al. Current insights into animal models of Graves' disease and orbitopathy [J]. Horm Metab Res, 2013, 45(8): 549-555.

[14] Shao S, Yu X, Shen L. Autoimmune thyroid diseases and Th17/Treg lymphocytes [J]. Life Sci, 2017, 192: 160-165.

[15] El Menshaw N, Eissa M, Abdeen HM, et al. CD58; leucocyte function adhesion-3 (LFA-3) could be used as a differentiating marker between immune and non-immune thyroid disorders [J]. Comp Clin Path, 2018, 27(3): 721-727.

[16] Bossowski A, Borysewicz-Sańczyk H, Wawrusiewicz-Kurylonek N, et al. Analysis of chosen polymorphisms in FoxP3 gene in children and adolescents with autoimmune thyroid diseases [J]. Autoimmunity, 2014, 47(6): 395-400.

[17] McLachlan SM, Nagayama Y, Pichurin PN, et al. The link

- between Graves' disease and Hashimoto's Thyroiditis: A role for regulatory T cells [J]. *Endocrinology*, 2007, 148 (12): 5724-5733.
- [18] Fountoulakis S, Vartholomatos G, Kolaitis N, et al. HLA-DR expressing peripheral T regulatory cells in newly diagnosed patients with different forms of autoimmune thyroid disease [J]. *Thyroid*, 2008, 18(11):1195-1200.
- [19] Mao CM, Wang S, Xiao YC, et al. Impairment of regulatory capacity of CD4+CD25+ regulatory T cells mediated by dendritic cell polarization and hyperthyroidism in Graves' disease [J]. *J Immunol*, 2011, 186:4734-4743.
- [20] Kyriacou A, Kyriacou A, Makris KC, et al. Weight gain following treatment of hyperthyroidism-A forgotten tale [J]. *Clin Obes*, 2019, 9(5):e12328.
- [21] Witczak JK, Ubaysekara N, Ravindran R, et al. Significant cardiac disease complicating Graves' disease in previously healthy young adults [J]. *Endocrinol Diabetes Metab Case Rep*, 2020, 2020:19-0132.
- [22] Hussain YS, Hookham JC, Allahabadia A, et al. Epidemiology, management and outcomes of Graves' disease-real life data [J]. *Endocrine*, 2017, 56(3): 568-578.
- [23] Bucci I, Giuliani C, Napolitano G. Thyroid-stimulating hormone receptor antibodies in pregnancy: clinical relevance [J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2017, 8:137.
- [24] Hung CS, Chang LY, Sui HH, et al. Clinical and laboratory findings at initial diagnosis in pediatric Graves' disease in Taiwan [J]. *Acta Paediatr Taiwan*, 2006, 47(2):77-82.
- [25] Nakahara M, Mitsutake N, Sakamoto H, et al. Enhanced response to mouse thyroid-stimulating hormone (TSH) receptor immunization in TSH receptor-knockout mice [J]. *Endocrinology*, 2010, 151(8):4047-4054.

[收稿日期] 2020-02-24