

王娇娇,李苗,史平玲,等. 糖尿病视网膜病变动物模型研究进展 [J]. 中国实验动物学报, 2021, 29(5): 681-688.

Wang JJ, Li M, Shi PL, et al. Research progress of animal model of diabetic retinopathy [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2021, 29(5): 681-688.

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2021.05.017

糖尿病视网膜病变动物模型研究进展

王娇娇,李苗,史平玲,张贝贝,魏圆梦,王艳歌,宋宗明*

(河南省人民医院,河南省立眼科医院,郑州 450003)

【摘要】 糖尿病视网膜病变是成年人低视力和致盲的主要原因,其发病机制复杂,动物模型能使我们更加全面地了解疾病的病因病机,一个合理的动物模型成为人们探索其发病机制的关键。该文根据糖尿病视网膜病变的临床表现,对药物诱导型、高脂高糖饮食型和遗传性动物模型进行介绍,并将不同方法诱导的糖尿病视网膜病变动物模型的病理特点简要总结,以期能为糖尿病视网膜病变机制研究及相应的药物研发提供参考。

【关键词】 糖尿病视网膜病变;动物模型;研究进展

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2021) 05-0681-08

Research progress of animal model of diabetic retinopathy

WANG Jiaojiao, LI Miao, SHI Pingling, ZHANG Beibei, WEI Yuanmeng, WANG Yange, SONG Zongming*

(Henan Provincial People's Hospital, Henan Eye Hospital, Zhengzhou 450003, China)

Corresponding author: SONG Zongming. E-mail: szmeyes@126.com

【Abstract】 Diabetic retinopathy is the main cause of low vision and blindness in adults, and its pathogenesis is complex. Animal models can help us to understand the pathogenesis of diseases more comprehensively. A reasonable animal model is the key to explore the pathogenesis of diseases. According to the clinical manifestations of diabetic retinopathy, drug-induced, high-fat and high-sugar diet and genetic animal models were introduced in this paper. In addition, the pathological characteristics of animal models of diabetic retinopathy induced by different method were briefly summarized in order to provide reference for the research on the mechanism of diabetic retinopathy and the corresponding drug development.

【Keywords】 diabetic retinopathy; animal model; research progress

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

糖尿病视网膜病变(diabetic retinopathy, DR)是糖尿病(diabetes mellitus, DM)最常见的微血管并发症之一,是成年人低视力和致盲的主要原因^[1-3]。我国是世界上 II 型糖尿病患者最多的国家,成年人糖尿病患病率约为 10.9% ~ 11.6%^[3-4],其中约 27.9%发展成 DR^[5]。DR 的发病机制复杂,具体机制尚不明确^[6],研究表明 DR 病理改变涉及视网膜

缺血,异常新生血管,视网膜炎,血管通透性增加^[7],神经元和神经胶质异常等诸多表现^[8],给 DR 的临床诊治及研究带来不便。受临床标本来源及伦理学限制,围绕 DR 发病机制的临床研究极难开展。DR 动物模型不仅能帮助人们更加全面地了解 DR 的病因病机,同时也能更好地进行新型药物和干预手段的筛选,更重要的是动物模型具有可控

【基金项目】 国家自然科学基金(82004426),中国博士后科学基金(2020M682305),河南省医学科技攻关计划联合共建项目(LHGJ20190817),河南省立眼科医院基础研究专项(20JCQN007)。

Funded by the National Natural Science Foundation of China(82004426), Postdoctoral Science Foundation of China(2020M682305), Henan Province Medical Science and Technology Research Project(LHGJ20190817), Basic Research Project of Henan Provincial Eye Hospital(20JCQN007)。

【作者简介】 王娇娇(1988—),女,博士后,研究方向:糖尿病视网膜病变的基础研究。Email: wjjnzy@126.com

【通信作者】 宋宗明,男,博士,主任医师,教授,研究方向:糖尿病视网膜病变的基础和临床研究。Email: szmeyes@126.com

性、易得性及预知性等特点,具备了优于人体研究的优势。因此,选择可靠、可行和适当的动物模型是探索 DR 病因病机的关键。近年来随着 DR 发病率及危害性的持续升高,诸多 DR 动物模型被学者筛选并建立。其中啮齿类动物以其成本较低,造模时间短,取材方便,重复性好等优势成为建立 DR 模型的首选。目前,国际上围绕 DR 的动物模型主要有药物诱导型、高脂高糖饮食型和遗传型动物模型。为全面了解 DR 动物模型的优劣势,为实验研究提供参考,特将当前主流 DR 动物模型综述如下,以资参考。

1 药物诱导型

DR 根据眼底血管损伤程度分为非增生型糖尿病视网膜病变 (nonproliferative diabetic retinopathy, NPDR) 和增生型糖尿病视网膜病变 (proliferative diabetic retinopathy, PDR) 两类。NPDR 以血管迂曲、视网膜出血、微血管瘤和脂质渗出为特点,当出现异常新生血管增殖时发展为 PDR。DR 另一个重要病理特征为糖尿病黄斑水肿,主要由液体积聚在神经视网膜中导致视网膜增厚和黄斑囊样改变引起^[9]。能否较好模拟 DR 临床病理特征,是判断模型成功与否的重要标志。药物诱导模型因建模便捷,病理改变模拟性强等特点是当前 DR 常用动物模型。药物诱导型主要包括链脲佐菌素 (streptozocin, STZ) 及四氧嘧啶诱导 (alloxan, AXL) 模型。

STZ 是诱发糖尿病最常用的药物,其药效机制主要通过破坏胰岛 β 细胞导致高血糖^[10-13]。STZ 诱导的糖尿病大鼠,2 ~ 4 周出现血-视网膜屏障 (blood-retinal barrier, BRB) 破坏,4 ~ 6 周时神经胶质细胞的凋亡增加,同时伴随视网膜外核层厚度的变薄和神经细胞的减少,紧接着出现感光细胞的死亡^[14]。基底膜的增厚、周细胞的丢失是 DR 的基本病理改变,且周细胞和内皮细胞结构和功能的完整性对维持视网膜毛细血管的稳定性具有十分重要的作用,STZ 诱导的糖尿病可出现上述一系列病理改变,成为 DR 早期病理改变的理想动物模型。研究显示,STZ 可诱导兔出现视网膜出血、血管病变、静脉血栓形成和增殖性视网膜病变,并可诱导猴子出现带有棉絮斑和高荧光斑的缺血性视网膜病变,STZ 可诱导猪的视网膜 BRB 通透性增加,INL 和神经节细胞层 (GCL) 变薄,毛细血管基底膜增厚^[15]。

STZ 诱导动物模型所致 DR 在病理改变上能够较好地模拟临床常见 DR 病理特征,能够为 DR 发病机制研究及治疗提供预测性,在 DR 研究中应用广泛。

此外,在 STZ 诱导 DR 模型中,由于胰岛 β 细胞的损伤程度取决于 STZ 的剂量,因此 STZ 诱导的糖尿病可能因剂量的不同,成模效果有所差别^[16]。唐东红等^[17]使用单次大剂量 (60 mg/kg, 45 mg/kg) 和多次小剂量 (30 mg/kg) 的 STZ 静脉注射恒河猴,结果发现实验猴均出现不同程度的视网膜病,分别显示早期眼底微血管动脉扩张、视网膜出血瘤、微血管瘤、新生血管及晚期白内障等。但是,单次大剂量注射倾向于造成胰岛素依赖性糖尿病,而多次小剂量注射倾向于造成慢性持续性高血糖症,后者诱发的 DR 模型与人类极为相似,表现为胰岛 β 细胞受到损害导致的糖代谢紊乱,损伤视网膜上的微血管,发生纤曲、变形,甚至破裂,进而形成微血管瘤。有文献表明单次大剂量注射 STZ 可快速导致大量的胰岛 β 细胞坏死,而多次小剂量注射可造成部分胰岛 β 细胞损伤,激发炎症反应,从而导致胰岛 β 细胞迅速失活^[18]。因此,在实验研究中需要选择合适的剂量,既要保证 DR 的发生,又要避免胰岛素合成和分泌功能的衰竭,且尽量减少 STZ 对其它组织的损害。基于当前 DR 模型的病理结果研究,STZ 诱导 DR 模型以采取小剂量多次诱导方法更为适宜。

AXL 和 STZ 机理类似,目前 AXL 广泛用于小鼠、大鼠、狗、兔子、猪等多种动物中诱导 DR。大鼠给药 AXL 一周内出现糖尿病^[19],2 个月时出现光感受器的破坏和间质水肿,且视网膜的厚度减小,伴随脉络膜血管数量减少,内皮细胞和血管壁紊乱^[20]。另外,四氧嘧啶可诱发幼犬糖尿病,每周给药 1 次,持续 5 周,诱导的视网膜病变与人类的 DR 非常相似。综合而论,药物诱导 DR 动物模型能够不同程度上模拟 DR 临床病理改变特征,其中以 STZ 诱导模型与临床符合度最高。在实验研究中,学者可以根据对 DR 病理改变的研究侧重选择相应动物模型。

2 高脂高糖饮食型

高脂高糖饮食诱发的啮齿类视觉疾病动物模型已经有 50 年的历史^[21-22]。小鼠在高脂高糖饮食 6 周时出现高血糖,15 个月后,观察到视网膜内皮细胞减少,21 个月后,可观察到微动脉瘤和视网膜增

厚的病变^[15]。而使用高脂高糖饲料喂养大鼠 4 周后,大鼠的视锥细胞感光器对光的敏感度下降^[23]。然而,此种模型的缺点是视网膜病变的发展需要更长的时间,发病较慢,但其优点是比其他模型的小鼠活得更久,可以观察更长时间。因此,目前比较常用的是高脂高糖饮食联合 STZ 注射来诱导的 DR 模型,通过高脂高糖饮食诱导胰岛素抵抗之后,再注射低剂量 STZ 损伤胰岛功能,引起血糖的升高,模拟 II 型糖尿病的发病过程^[24]。研究表明此种方法可导致视网膜变薄和结构的紊乱,和血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)的表达升高^[25-26]。因此,单纯使用高脂高糖饮食诱导 DR 动物模型常见于对 DR 的长期研究观察及药物筛选中,常规实验研究中应用较少。

3 遗传性动物模型

DR 成因复杂,主要观点认为糖尿病病程和血糖控制情况是 DR 出现的核心诱因,但临床研究发现部分患者即使血糖控制良好,糖尿病病程持续时间短,也可能短期内出现 DR。而部分患者血糖控制较差,糖尿病病程持续时间较长,但也可能不会发展为 DR,表明 DR 的发生发展存在异质性^[26]。且基于人群研究显示,DR 呈现一定的种族发病特征,表明遗传因素是 DR 发病的重要诱因^[27]。为探索 DR 遗传病因及机制,遗传性 DR 动物模型被大量建立。I 型和 II 型糖尿病诱发的 DR 都存在遗传性动物模型,常用的实验动物模型包括小鼠、大鼠和斑马鱼等。由于啮齿类动物具有简便易得、操纵性强、经济高效等特点,因此啮齿类动物常被用作 DR 的遗传模型。

3.1 小鼠遗传模型

DR 的遗传小鼠模型主要包括 Ins2Akita、非肥胖糖尿病(non-obese diabetic, NOD)、db/db (Leprdb)、Kimba 和 Akimba 共 5 种,它们在遗传模式、疾病病因学、病理学和疾病进展方面各不相同。Ins2Akita 小鼠是 I 型糖尿病模型,主要是由于胰岛素基因 Ins2 突变,导致胰岛素蛋白的构象变化,引起的细胞死亡^[28-29]。该模型可表现为血管通透性增加,周细胞丢失和新生血管的形成^[30]。因此,Ins2Akita 小鼠较适合于研究 DR 的早期进展和神经保护作用类药物药效评价^[31]。NOD 小鼠 I 型糖尿病的动物模型,小鼠在 12 周龄发生自发型高血糖,血糖升高 4 周后就开始出现周细胞、内皮细胞和

RGCs 凋亡,视网膜毛细血管基底膜增厚^[32],约 4 个月可检测到大血管收缩和退行性变,微血管异常^[33]。db/db (Leprdb) 小鼠是美国 Jackson 实验室发现的自发型基因突变小鼠,为 II 型糖尿病的成熟模型,其瘦素受体发生突变,在 4 ~ 8 周大时,出现肥胖和高血糖,持续 6 周后,可观察到 RGCs 数量减少,中央视网膜厚度增加,15 个月,这些小鼠表现出 BRB 的严重破坏、周细胞丢失、RGCs 细胞凋亡、胶质细胞激活^[34]。Kimba 小鼠是一种增殖性视网膜病变的非糖尿病模型,用纯合子 Kimba 小鼠和 Ins2Akita 小鼠交配培育出 Akimba 小鼠,Akimba 小鼠的表现兼有 Kimba 小鼠和 Ins2Akita 小鼠的特征^[35]。主要包括是周细胞和血管缺失,视网膜新生血管和弥漫性血管渗漏,随着疾病的进展可以观察到视网膜厚度的减少及视网膜持续水肿甚至视网膜脱离^[36-37]。

3.2 大鼠遗传模型

DR 的遗传大鼠模型主要包括 Zucker 大鼠(zucker diabetic fatty, ZDF)、Long-Evans 大鼠(otsuka long-evans tokushima fatty, OLETF)、BB 大鼠(biobreeding, BB)、WBN/Kob 大鼠、GK 大鼠(goto kakizaki, GK)和 Torii 大鼠(spontaneously diabetic torii, SDT)。ZDF 大鼠是一种自发性 II 型糖尿病模型大鼠,该模型在 3 个月时出现稳定的高血糖,高血糖 8 个月后,表现出类似 DR 的毛细血管基底膜增厚,毛细血管核密度增加等病理改变^[38]。OLETF 大鼠亦是一种自发性 II 型糖尿病和肥胖的模型,由于 G 蛋白偶联受体 GPR10 的起始密码子发生突变,导致肥胖^[39-40],约在 12 周可表现为轻度肥胖,直到 18 周时才出现高血糖,27 周时可观察到视网膜神经纤维层变薄^[41]。据报道 OLETF 大鼠的视网膜毛细血管超微结构的形态学变化以及视网膜电图的变化与 DR 患者相似。因此,不同于 I 型糖尿病小鼠模型和 STZ 诱导的动物模型,OLETF 大鼠表现为高血糖、胰岛素抵抗和病理特征类似于人类的 II 型糖尿病^[42]。BB 大鼠模型被广泛应用于 I 型糖尿病所致 DR 的研究,该模型在 8 ~ 11 个月时出现视网膜病变、周细胞丢失、毛细血管变性和微动脉瘤,以及由于自身免疫反应导致的胰腺小细胞凋亡^[43]。WBN/Kob 大鼠模型的特点是具有新生血管形成和腔内血管透明化的病变,这使其成为了解 DR 新生血管的理想模型^[44]。GK 大鼠和 SDT 大鼠均属于非肥胖 II 型糖尿病大鼠模型。52 周龄的 GK 大鼠可表现为

脉络膜厚度增加,内层脉络膜血管密度降低,视网膜内 VEGFR2 免疫反应性增强等^[45]。SDT 大鼠的一个显著特征是在视盘周围出现巨大的视网膜皱襞,并有广泛的渗漏,类似于在人类中观察到的视网膜脱离^[46]。

3.3 斑马鱼遗传模型

除了啮齿类动物,最新研究表明斑马鱼也是 DR 的常用模型。Vhl 斑马鱼的 von Hippel-Lindau

肿瘤抑制基因发生突变,导致血管形成增加,同时,缺氧诱导因子上调,触发 VEGF 的 mRNA 高表达,该模型的特点是玻璃样血管增多并伴有血管渗漏、黄斑水肿、视网膜脱离和严重的新生血管形成^[47]。

为系统了解各种 DR 动物模型在模拟病理改变上的特征,特将当前主要动物模型所表现的病理改变总结如下,见表 1。

表 1 研究 DR 的动物模型
Figure 1 Animal model of DR

动物模型 Animal model	形成机制 Formation mechanism	病理改变 Pathological changes	模型评价 Model evaluation
STZ 诱导 STZ induced	破坏胰岛 β 细胞 Destroy islet β cells	BRB 破坏,神经胶质细胞凋亡,外核层变薄,感光细胞死亡等 BRB breakdown, glial cell apoptosis, outer nuclear layer becomes thinner, photoreceptor cells death	优点:类似于人非增殖期 DR 表现 Advantages: Similar to non-proliferative DR in humans 缺点:持续时间较长,增加实验成本,注射剂量需合适选择 Disadvantages: Long duration, increase the cost of the experiment, the injection dose needs to be appropriately selected
AXL 诱导 AXL induced	破坏胰岛 β 细胞 Destroy islet β cells	光感受器的破坏和间质水肿,视网膜的厚度减小,脉络膜血管数量减少,内皮细胞和血管壁紊乱 Damage of photoreceptors and interstitial edema, decreased retinal thickness, decreased choroid vessels, and endothelial cells and vascular walls are disturbed	临床表现和发病机制类似 STZ 诱导,但建模时间长于 STZ 诱导 The clinical manifestations and pathogenesis are similar to that of STZ induction model, but the modeling time is longer than that of STZ induction model
高脂高糖饮食 High-fat/high-sugar diet	胰岛素抵抗、糖脂代谢紊乱 Insulin resistance, metabolism disorder	内皮细胞减少,微动脉瘤和视网膜增厚,视锥细胞感光器对光的敏感度下降 Endothelial cells decrease, microaneurysms and retina thickens, and the sensitivity of cone photoreceptors to light decreases	优点:动物活的更久,可观察更长时间 Advantages: Animals live longer and can be observed for longer 缺点:建模较慢,持续时间久 Disadvantages: Modeling is slow and takes a long time
Ins2Akita 小鼠模型 Ins2Akita mice model	胰岛素基因突变 Mutation of insulin gene	血管通透性增加,周细胞丢失和新生血管的形成 Increased vascular permeability, pericyte loss, and neovascularization	优点:具有新生血管形成的 PDR 表现 Advantages: PDR features of neovascularization 缺点:建模成本较高 Disadvantages: Modeling costs are high
NOD 小鼠模型 NOD mice model	自发性 I 型糖尿病模型 Spontaneous type I diabetes model	周细胞、内皮细胞和 RGCs 凋亡,视网膜毛细血管基底膜增厚,大血管收缩和退行性变,微血管异常 Apoptosis of pericytes, endothelial cells and RGCs, thickened capillary basement membrane, vasoconstriction and degeneration, and microvascular anomaly	优点:DR 建模较快 Advantages: The model is built quickly 缺点:建模成本较高 Disadvantages: Modeling costs are high
db/db 小鼠模型 db/db mice model	II 型糖尿病模型,瘦素受体发生突变 Type II diabetes model, the leptin receptor mutates	RGCs 数量减少,中央视网膜厚度增加,BRB 的破坏、周细胞丢失、RGCs 细胞凋亡、胶质细胞激活 Decreased RGCs, increased central retinal thickness, damaged BRB, pericyte loss, apoptosis of RGCs, glial cell activation	优点:模型成熟,应用较多 Advantages: The model is mature and widely used 缺点:建模成本较高 Disadvantages: Modeling costs are high
Akimba 小鼠模型 Akimba mice model	Kimba 小鼠与 Ins2Akita 小鼠杂交 Kimba mice were hybridized with Ins2Akita mice	周细胞和血管缺失,视网膜新生血管和弥漫性血管渗漏 Pericyte and vascular loss, retinal neovascularization and diffuse vascular leakage	优点:具有新生血管和视网膜脱离等严重的 PDR 表现 Advantages: Severe PDR manifestations such as neovascularization and retinal detachment 缺点:建模成本高 Disadvantages: Modeling costs are high

续表 1

动物模型 Animal model	形成机制 Formation mechanism	病理改变 Pathological changes	模型评价 Model evaluation
ZDF 大鼠模型 ZDF rat model	自发性 II 型 糖尿病模型(肥胖) Spontaneous type II diabetes model (obesity)	毛细血管基底膜增厚,毛细血管核密度增加 Thickened capillary basement membrane, increased capillary density	优点:肥胖 II 型糖尿病模型,无化学药物器官 损害 Advantages: It is obesity type 2 diabetes model and there is no chemical organ damage 缺点:造模成本高 Disadvantages: Modeling costs are high
OLETF 大鼠模型 OLETF rat model	自发性 II 型糖尿病模型(肥 胖) Spontaneous type II diabetes model (obesity)	脉络膜厚度增加,内层脉络膜血管密度降低, 视网膜内 VEGFR2 免疫反应性增强 Thickened choroid, decreased inner choroid vessels density, enhanced immune reactivity of VEGFR2 in the retina	优点:肥胖 II 型糖尿病模型,无化学药物器官 损害 Advantages: It is obesity type 2 diabetes model and there is no chemical organ damage 缺点:造模成本高 Disadvantages: Modeling costs are high
BB 大鼠模型 BB rat model	I 型糖尿病模型 Type I diabetes model	周细胞丢失、毛细血管变性和微动脉瘤 Pericyte loss, capillary degeneration and microaneurysm	优点:I 型糖尿病模型,无化学药物器官损害 Advantages: It is type 1 diabetes model and there is no chemical organ damage 缺点:造模成本高 Disadvantages: Modeling costs are high
WBN/Kob 大鼠 模型 WBN/Kob rat model	I 型糖尿病模型 Type I diabetes model	新生血管形成和腔内血管透明化 Neovascularization and vascular transparency	优点:有新生血管形成,I 型糖尿病模型,无化 学药物器官损害 Advantages: neovascularization, type 1 diabetes model, no chemical organ damage 缺点:造模成本高 Disadvantages: Modeling costs are high
GK 大鼠模型 GK rat model	自发性 II 型 糖尿病(非肥胖) Spontaneous type II diabetes model (non- obesity)	脉络膜厚度增加,内层脉络膜血管密度降低, 视网膜内 VEGFR2 免疫反应性增强 Thickened choroid, decreased inner choroid vessels density, enhanced immune reactivity of VEGFR2 in the retina	优点:非肥胖 II 型糖尿病模型,无化学药物器 官损害 Advantages: It is non-obesity type 2 diabetes model and there is no chemical organ damage 缺点:造模成本高 Disadvantages: Modeling costs are high
SDT 大鼠模型 SDT rat model	自发性 II 型 糖尿病(非肥胖) Spontaneous type II diabetes model (non- obesity)	视盘周围出现巨大的视网膜皱襞,并有广泛 的渗漏 Large retinal folds surround the optic disk and extensive leakage	优点:非肥胖 II 型糖尿病模型,无化学药物器 官损害 Advantages: It is non-obesity type 2 diabetes model and there is no chemical organ damage 缺点:造模成本高 Disadvantages: Modeling costs are high
Vhl 斑马鱼 Vhl zebrafish	基因突变 Genetic mutations	血管渗漏、黄斑水肿、视网膜脱离和严重的新 生血管形成 Vascular leakage, macular edema, retinal detachment and severe neovascularization	优点:繁殖率高,后代数量大。有新生血管形 成,无化学药物器官损害 Advantages: High reproductive rate and large number of offspring and there is neovascularization and no chemical organ damage 缺点:体积较小,实验操作较难 Disadvantages: Small volume and experimental operation is difficult

4 展望

动物模型是实验研究的基础,高度还原 DR 的临床特征和发病状态的动物模型是研究 DR 的理想对象。目前围绕 DR 的病因及发病机制而研发的动物模型不断增多,一方面显示了学术界对本病的不断重视,同时模型的多样化也体现了对 DR 病因及发病机制的研究缺乏明确的结论,表现出一定的局限性。目前针对动物模型优劣的评价,国际上多从表面效度、结构效度及预测效度三个维度进行评价。表面效度,即模型能够模拟疾病的典型特征;结构效

度,即模型要符合一定的理论假说且病理生理改变与假说或理论相一致;预测效度,即模型的药理学反映及非药理学反应与临床治疗表现相一致,并能够为远期的治疗及发病机制研究提供预测性^[48]。基于评价三维度,结合模型制备的难易程度及经济效应进行评价,当前 DR 主要动物模型中,STZ 诱导模型能够较好模拟 DR 临床病理表现及临床特征,且 STZ 诱导模型在细胞因子、胶质细胞增生等发病机制上能够为 DR 发病机制研究提供一定的方向预测,具有一定的预测效度,故 STZ 诱导 DR 模型为目前较理想动物模型,且建模成本低,操作方便。对于

其他药物诱导 DR 模型,均能够模拟 DR 临床症状及对疾病发病机制进行一定的模拟,均有较好的表面效度及预测效度,而在模拟 DR 临床病例特征是不能够较全面与临床相吻合,结构效度不足。高脂高糖诱导动物模型结构效度、预测效度较差,且建模时间长,经济效益一般,元气淘汰可能性较大,除非进行长期药理观察,目前选择性较低。对于基因遗传模型,其建模目的围绕模拟疾病遗传发病机制而设立,本身具有较药物诱导模型更好的预测效度,但在模拟 DR 病理改变及临床症状时,遗传模型具有特定针对性,其结构效度及表面效度弱于药物诱导 DR 模型。遗传型动物模型的优点是能够自发形成 I 型或 II 型糖尿病,减少化学诱导方法可能带来的器官损害,但是该类模型造模成本高,繁殖力低,某些模型只有纯合子或者单一性别的鼠才能自发形成糖尿病,因此增加了动物的饲养数量^[49]。

此外,尽管 STZ 诱导模型具有较好的表面效度、结构效度及预测效度,STZ 诱导大鼠或小鼠糖尿病是目前比较公认的经典模型。但有一点需要指出,PDR 是以新生血管的形成成为主要标志的糖尿病微血管并发症,如果研究 PDR 必然涉及到新生血管,而 STZ 诱导模型出现视网膜新生血管非常困难,有研究表明糖尿病大鼠成模 3 个月后 HE 染色显示视网膜组织出现水肿,成模 6 个月时视网膜各层结构不清晰,周围水肿更加明显,毛细血管明显扩张,但是并未看到明显的 PDR 表现^[50]。因此,对于 PDR 的研究,STZ 诱导模型的应用受限,在造模剂量、方法上需要继续探索。目前,由于糖尿病性新生血管模型建立困难,目前,非糖尿病性氧诱导视网膜病变(oxygen-induced retinopathy, OIR)模型已经成为研究视网膜新生血管的经典模型,被广泛使用。OIR 模型利用了小鼠出生时只有部分发育的血管系统和后天对氧气浓度的控制可以影响血管行为这一特点,用于评估视网膜新生血管和中央血管闭塞。另外,往兔玻璃体腔内注射 DL- α -氨基己二酸(DL-AAA),可造成持续性视网膜新生血管,可导致长达 48 周的持续性血管渗漏^[51]。但是这些模型终究不是高血糖引起的视网膜新生血管模型,结合 DR 疾病本身的复杂性,难以开发出一种和人类具有相同的所有的表型和基因型特征的“完美”模型,还没有一个单一的模型能够显示出在人类身上看到的 DR 的所有临床特征。

目前,已经建立的各种动物模型各具优点及缺

点,都只能模拟人类 DR 的早期特征,并没有一种动物模型可以代表人 DR 的所有特征。因此,在选取 DR 的动物模型时,应认识到模型的优势和劣势,结合自己的实验设计和目的选择合适的动物模型。未来仍然需要大量的实验研究结合先进的检测技术开发出更加合适的 DR 模型,探索一种完美模拟 DR 的动物模型已成为本研究领域最大的挑战。

参 考 文 献(References)

- [1] Zhao K, Liu J, Dong G, et al. Preliminary research on the effects and mechanisms of umbilical cord-derived mesenchymal stem cells in streptozotocin-induced diabetic retinopathy [J]. *Int J Mol Med*, 2020, 46(2): 849–858.
- [2] Xiao F, Li L, Fu JS, et al. Regulation of the miR-19b-mediated SOCS6-JAK2/STAT3 pathway by lncRNA MEG3 is involved in high glucose-induced apoptosis in hRMECs [J]. *Bioscience Rep*, 2020, 40(7): BSR20194370.
- [3] Sinclair SH, Schwartz SS. Diabetic retinopathy—an underdiagnosed and undertreated inflammatory, neuro-vascular complication of diabetes [J]. *Front Endocrinol*, 2019, 10: 843.
- [4] Chan JC, Zhang Y, Ning G. Diabetes in China: a societal solution for a personal challenge [J]. *Lancet Diabetes Endocrinol*, 2014, 2(12): 969–979.
- [5] Zhang G, Chen H, Chen W, et al. Prevalence and risk factors for diabetic retinopathy in China: a multi-hospital-based cross-sectional study [J]. *Br J Ophthalmol*, 2017, 101(12): 1591–1595.
- [6] Shafabakhsh R, Aghadavod E, Ghayour MM, et al. Role of histone modification and DNA methylation in signaling pathways involved in diabetic retinopathy [J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(6): 7839–7846.
- [7] Roy S, Kern TS, Song B, et al. Mechanistic insights into pathological changes in the diabetic retina: implications for targeting diabetic retinopathy [J]. *Am J Clin Pathol*, 2017, 187(1): 9–19.
- [8] Fehér J, Taurone S, Spoletini M, et al. Ultrastructure of neurovascular changes in human diabetic retinopathy [J]. *Int J Immunopathol Pharmacol*, 2018, 31: 394632017748841.
- [9] 张凤俊, 李晶明, 刘秋平. 糖尿病视网膜病变发病机制及潜在治疗研究进展 [J]. *眼科新进展*, 2020, 40(7): 677–685. Zhang FJ, Li JM, Liu QP. Pathogenesis and potential treatment of diabetic retinopathy [J]. *Rec Adv Ophthalmol*, 2020, 40(7): 677–685.
- [10] Samaha MM, Said E, Salem HA. Modulatory role of imatinib mesylate on pancreatic β -cells' secretory functions in an STZ rat model of diabetes mellitus [J]. *Chem Biol Interact*, 2020, 328: 109197.
- [11] Li S, Huang Q, Zhang L, et al. Effect of CAPE-pNO against type 2 diabetes mellitus via the AMPK/GLUT4/ GSK3 β /PPAR α pathway in HFD/STZ-induced diabetic mice [J]. *Eur J Pharmacol*, 2019, 853: 1–10.

- [12] Yuan X, Ni H, Chen X, et al. Identification of therapeutic effect of glucagon-like peptide 1 in the treatment of STZ-induced diabetes mellitus in rats by restoring the balance of intestinal flora [J]. *J Cell Biochem*, 2018, 119(12): 10067–10074.
- [13] Ammon HPT. Boswellic extracts and 11-keto- β -boswellic acids prevent type 1 and type 2 diabetes mellitus by suppressing the expression of proinflammatory cytokines [J]. *Phytomedicine*, 2019, 63: 153002.
- [14] Zhang J, Wu Y, Jin Y, et al. Intravitreal injection of erythropoietin protects both retinal vascular and neuronal cells in early diabetes [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2008, 49(2): 732–742.
- [15] Lai AK, Lo AC. Animal models of diabetic retinopathy: summary and comparison [J]. *J Diabetes Res*, 2013, 2013: 106594.
- [16] 朱超, 朱莹莹. II 型糖尿病动物模型的构建 [J]. *中国实验动物学报*, 2013, 21(2): 84–88.
Zhu C, Zhu YY. Animal models of type II diabetes: an overview [J]. *Acta Lab Anim Sci Sin*, 2013, 21(2): 84–88.
- [17] 唐东红, 代解杰, 蒋禄芝, 等. STZ 诱发实验恒河猴糖尿病性视网膜并发症模型的建立 [J]. *中国实验动物学报*, 2002, 10(3): 173–176.
Tang DH, Dai JJ, Jiang LZ, et al. Establishment of diabetic retinopathy complication animal model induced by streptozotocin in experimental rhesus monkey [J]. *Acta Lab Anim Sci Sin*, 2002, 10(3): 173–176.
- [18] 高鑫, 宋洪元, 沈炜. 链脲佐菌素诱导的小鼠糖尿病视网膜病变模型的构建 [J]. *第二军医大学学报*, 2018, 39(12): 1360–1363.
Gao X, Song HY, Shen W. Establishment of streptozotocin-induced diabetic retinopathy model in mice [J]. *Acad J Second Mil Med Univ*, 2018, 39(12): 1360–1363.
- [19] Vattam KK, Raghavendran H, Murali MR, et al. Coadministration of alloxan and nicotinamide in rats produces biochemical changes in blood and pathological alterations comparable to the changes in type II diabetes mellitus [J]. *Hum Exp Toxicol*, 2016, 35(8): 893–901.
- [20] Danilova I, Medvedeva S, Shmakova S, et al. Pathological changes in the cellular structures of retina and choroidea in the early stages of alloxan-induced diabetes [J]. *World J Diabetes*, 2018, 9(12): 239–251.
- [21] Clarkson-Townsend DA, Douglass AJ, Singh A, et al. Impacts of high fat diet on ocular outcomes in rodent models of visual disease [J]. *Exp Eye Res*, 2021, 204: 108440.
- [22] Vidal E, Lalarme E, Maire MA, et al. Early impairments in the retina of rats fed with high fructose/high fat diet are associated with glucose metabolism deregulation but not dyslipidaemia [J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 5997.
- [23] Zhao L, Liao Q, Zhang Y, et al. Ischemic postconditioning mitigates retinopathy in tree shrews with diabetic cerebral ischemia [J]. *J Diabetes Res*, 2020, 2020: 6286571.
- [24] 杨架林, 李果, 刘优萍, 等. 长期高脂饮食加小剂量链脲佐菌素建立人类普通 II 型糖尿病大鼠模型的研究 [J]. *中国实验动物学报*, 2003, 11(3): 138–141.
Yang JL, Li G, Liu YP, et al. Establishing a rat model similar to the adult patient of the general type 2 diabetes by long-term fat-enriched fed and lower dose of streptozotocin-treated rats [J]. *Acta Lab Anim Sci Sin*, 2003, 11(3): 138–141.
- [25] Wang CF, Yuan JR, Qin D, et al. Protection of tauroursodeoxycholic acid on high glucose-induced human retinal microvascular endothelial cells dysfunction and streptozotocin-induced diabetic retinopathy rats [J]. *J Ethnopharmacol*, 2016, 185: 162–170.
- [26] Cai Z, Lu X, Zhang C, et al. Hyperglycemia cooperates with Tet2 heterozygosity to induce leukemia driven by proinflammatory cytokine-induced lncRNA Morbid [J]. *J Clin Invest*, 2021, 131(1): e140707.
- [27] 包敏, 蔺晓慧. 糖尿病视网膜病变易感性与相关基因多态性研究进展 [J]. *国际眼科杂志*, 2021, 21(2): 262–265.
Bao M, Lin XH. Research progress on susceptibility to diabetic retinopathy and related gene polymorphism [J]. *Inter Eye Sci*, 2021, 21(2): 262–265.
- [28] 邓宇轩, 叶雯青, 孙艳婷, 等. 中国糖尿病视网膜病变患病率的荟萃分析 [J]. *中华医学杂志*, 2020, 100(48): 3846–3852.
Deng YX, Ye WQ, Sun YT, et al. A meta-analysis of prevalence of diabetic retinopathy in China [J]. *Natl Med J Chin*, 2020, 100(48): 3846–3852.
- [29] Araújo RS, Silva MS, Santos DF, et al. Dysregulation of trophic factors contributes to diabetic retinopathy in the Ins2 mouse [J]. *Exp Eye Res*, 2020, 194: 108027.
- [30] Wang W, Tam KC, Ng TC, et al. Long-term lutein administration attenuates retinal inflammation and functional deficits in early diabetic retinopathy using the Ins2 mice [J]. *BMJ Open Diabetes Res Care*, 2020, 8(1): e001519.
- [31] Vieira E, Mirizio GG, Barin GR, et al. Clock genes, inflammation and the immune system-implications for diabetes, obesity and neurodegenerative diseases [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(24): 9743.
- [32] Li CR, Sun SG. VEGF expression and cell apoptosis in NOD mouse retina [J]. *Int J Ophthalmol*, 2010, 3(3): 224–227.
- [33] Lee S, Harris NR. Losartan and ozagrel reverse retinal arteriolar constriction in non-obese diabetic mice [J]. *Microcirculation*, 2008, 15(5): 379–387.
- [34] Tang L, Zhang Y, Jiang Y, et al. Dietary wolfberry ameliorates retinal structure abnormalities in db/db mice at the early stage of diabetes [J]. *Exp Biol Med*, 2011, 236(9): 1051–1063.
- [35] 李才锐, 孙曙光. 自发型糖尿病视网膜病变啮齿动物模型 [J]. *国际眼科纵览*, 2010, 34(2): 119–122.
Li CR, Sun SG. Rodent model of spontaneous diabetic retinopathy [J]. *Int Rev Ophthalmol*, 2010, 34(2): 119–122.
- [36] Rakoczy EP, Ali Rahman IS, Binz N, et al. Characterization of a mouse model of hyperglycemia and retinal neovascularization [J]. *Am J Pathol*, 2010, 177(5): 2659–2670.
- [37] Katsuda Y, Ohta T, Miyajima K, et al. Diabetic complications in

- obese type 2 diabetic rat models [J]. *Exp Anim*, 2014, 63(2): 121–132.
- [38] Wohlfart P, Lin J, Dietrich N, et al. Expression patterning reveals retinal inflammation as a minor factor in experimental retinopathy of ZDF rats [J]. *Acta Diabetol*, 2014, 51(4): 553–558.
- [39] Kubota R, Hayashi N, Kinoshita K, et al. Inhibition of γ -glutamyltransferase ameliorates ischaemia-reoxygenation tissue damage in rats with hepatic steatosis [J]. *Br J Pharmacol*, 2020, 177(22): 5195–5207.
- [40] Fujita N, Goto N, Nakamura T, et al. Hyperbaric normoxia improved glucose metabolism and decreased inflammation in obese diabetic rat [J]. *J Diabetes Res*, 2019, 2019: 2694215.
- [41] Baek SM, Kim K, Kim S, et al. SP prevents T2DM complications by immunomodulation [J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 16753.
- [42] Deguchi S, Ogata F, Yamaguchi M, et al. In situ gel incorporating disulfiram nanoparticles rescues the retinal dysfunction via ATP collapse in otsuka long-evans tokushima fatty rats [J]. *Cells*, 2020, 9(10): 2171.
- [43] Wallis RH, Wang K, Marandi L, et al. Type 1 diabetes in the BB rat: a polygenic disease [J]. *Diabetes*, 2009, 58(4): 1007–1017.
- [44] Tsuji N, Matsuura T, Ozaki K, et al. Diabetic retinopathy and choroidal angiopathy in diabetic rats (WBN/Kob) [J]. *Exp Anim*, 2009, 58(5): 481–487.
- [45] Campos A, Martins J, Campos EJ, et al. Choroidal and retinal structural, cellular and vascular changes in a rat model of type 2 diabetes [J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 132: 110811.
- [46] Kakehashi A, Saito Y, Mori K, et al. Characteristics of diabetic retinopathy in SDT rats [J]. *Diabetes Metab Res Rev*, 2006, 22(6): 455–461.
- [47] van Rooijen E, Voest E, Logister I, et al. von Hippel-Lindau tumor suppressor mutants faithfully model pathological hypoxia-driven angiogenesis and vascular retinopathies in zebrafish [J]. *Dis Model Mech*, 2010, 3(5–6): 343–353.
- [48] 周荣易, 党伟利, 周正, 等. 孤独症谱系障碍动物模型研究进展 [J]. *中国实验动物学报*, 2019, 27(3): 380–386.
Zhou RY, Dang WL, Zhou Z, et al. Advances in research of animal models of autism spectrum disorders [J]. *Acta Lab Anim Sci Sin*, 2019, 27(3): 380–386.
- [49] 陈大年, 王钰娇. 重视不同糖尿病视网膜病变动物实验模型的差异及应用 [J]. *中华实验眼科杂志*, 2018, 36(6): 404–409.
Chen DN, Wang YJ. Paying attention to the differences and applications of animal models diabetic retinopathy [J]. *Chin J Exp Ophthalmol*, 2018, 36(6): 404–409.
- [50] 逢冰. 益气温阳通络法预防糖尿病大鼠视网膜病变发生的作用及机制研究 [D]. 北京: 中国中医科学院; 2018.
Pang B. Study on the mechanism of preventing rats from diabetic retinopathy by boosting qi, warming yang and dredging collaterals principle [D]. Beijing: China Academy of Chinese Medical Sciences; 2018.
- [51] Moon SW, Sun Y, Warther D, et al. New model of proliferative vitreoretinopathy in rabbit for drug delivery and pharmacodynamic studies [J]. *Drug Deliv*, 2018, 25(1): 600–610.

[收稿日期] 2021-03-18