

斑马鱼糖尿病模型的构建及应用进展

江霞¹, 钱豪杰², 魏迅¹, 郑羽旋¹, 周正宇¹

(1. 苏州大学实验动物中心, 苏州 215123; 2. 苏州市科学技术局, 苏州 215002)

[摘要] 糖尿病是一组代谢紊乱性疾病, 其发病机制至今尚未完全阐明。糖尿病主要分为 1 型糖尿病、2 型糖尿病和妊娠糖尿病。常用的糖尿病模型动物主要有小鼠、大鼠、兔、小型猪和猕猴等。另外, 斑马鱼 (*Danio rerio*) 作为一种模式生物, 在很多领域已被用于构建人类疾病模型, 包括 1 型糖尿病和 2 型糖尿病研究中斑马鱼模型也取得了一定的应用进展。本文总结了现有的斑马鱼糖尿病模型构建方法以及应用进展, 以期为今后糖尿病斑马鱼模型研究及应用提供参考。

[关键词] 糖尿病; 斑马鱼; 动物模型; 1 型糖尿病; 2 型糖尿病

[中图分类号] Q95-33; R587.1 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1674-5817(2020)06-0547-06

糖尿病是以慢性高血糖为特征, 由胰岛素分泌或其作用缺陷引起的非传染性代谢性疾病。国际糖尿病联合会 (International Diabetes Federation, IDF) 指出, 2015 年全球有 4.15 亿糖尿病患者, 预计到 2040 年糖尿病患者将增至 6.42 亿^[1-2]。随着中国老年人口数目增加, 老龄化速度加快, 最近三十多年来中国糖尿病发病率从 0.67% 飙升至 10.9%, 因此中国已经成为糖尿病大国之一^[3]。已知糖尿病主要分为 1 型、2 型以及妊娠糖尿病, 其中多数患者为 1 型糖尿病或 2 型糖尿病。

动物模型是研究人类疾病发病机制的良好材料, 且便于治疗药物的研发与筛选。目前较成熟的糖尿病动物模型有大鼠、小鼠、兔和小型猪等, 它们的优点是实验稳定性好, 缺点是需要样本量大、实验周期长 (通常需要 2~3 个月), 且难以完全呈现出人类糖尿病的临床症状和发病过程。因此, 开发新的动物模型对糖尿病发病机

制等比较医学研究具有重要价值。

模式生物斑马鱼 (*Danio rerio*) 具有体积小、产卵多、可活体观察组织、监测生物进程和建模周期短等优点, 且目前已完成的斑马鱼基因测序结果显示斑马鱼与人类基因同源性高达 87%^[4-5]。此外, 斑马鱼的胰腺在形态学和基因表达上与哺乳动物非常相似, 其胰腺是由外分泌腺和内分泌腺两部分组成, 前者分泌胰液, 后者分泌胰高血糖素、胰岛素、生长抑制素和胰多肽^[6]。因此, 斑马鱼可以用于糖尿病研究。本文对斑马鱼糖尿病模型的构建及相关应用进展进行综述。

1 1 型糖尿病斑马鱼模型

1 型糖尿病 (type 1 diabetes mellitus) 被称为胰岛素依赖性糖尿病, 它主要是胰岛 β 细胞自身免疫性炎症反应导致 β 细胞破坏和功能损害, 从而使胰岛素分泌缺乏^[7-8]。针对斑马鱼, 虽然缺乏其自身免疫导致的 1 型糖尿病模型, 但已经开发出靶向损伤 β 细胞的 1 型糖尿病模型。目前, 有 3 种通过破坏 β 细胞建立 1 型糖尿病模型的方法: 手术切除、药物诱导和转基因法。

1.1 手术切除法

手术是最早的糖尿病复制方法。早在 1689 年, Johann Conrad Brunner 将犬的胰腺切除后,

[收稿日期] 2020-04-01

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(31970505)

[作者简介] 江霞(1993—), 女, 硕士研究生。

E-mail: 20174250001@stu.suda.edu.cn

[通信作者] 周正宇(1973—), 男, 副教授, 主要从事糖尿病分子机制、动物模型与比较医学研究。

E-mail: zacharyzhou@suda.edu.cn

记录了犬多饮、多食和多尿即“三多”现象；200多年后陆续有学者将胰腺与糖尿病联系起来，并证明手术切除胰腺可诱发糖尿病^[9-10]。但是有研究者在进行肝癌和胰腺癌研究时，尝试在光学显微镜下对用绿色荧光蛋白特异性标记胰岛的转基因斑马鱼进行胰腺切除，由于斑马鱼的胰腺较小且弥散性分布在肝脏、胆囊和肠道周围，为此很难将胰腺完全切除^[11-12]。因此，通过手术切除法建立斑马鱼糖尿病模型对研究者的操作技术和设备要求较高，不常用于斑马鱼。

1.2 药物诱导法

啮齿动物糖尿病模型的构建普遍用化学药物诱导。常用的化学药物有四氧嘧啶（alloxan）和链脲佐菌素（streptozotocin），它们均可使 β 细胞凋亡，造成胰岛素分泌不足，血糖升高。文献报道，四氧嘧啶处理受精斑马鱼胚胎后，胚胎中胰岛变小，且近一半的斑马鱼胚胎死亡，说明四氧嘧啶具有一定毒性^[13-14]。另外，Olsen等^[15]通过腹腔注射剂量为350 mg/kg的链脲佐菌素构建了1型糖尿病成年斑马鱼模型，为了使斑马鱼处于高血糖状态，需多次腹腔注射链脲佐菌素。链脲佐菌素诱导的斑马鱼糖尿病模型不仅空腹血糖升高，胰岛素表达水平降低，且出现糖尿病并发症，如糖尿病肾病和尾鳍再生障碍等^[15-16]。与四氧嘧啶相比，链脲佐菌素的组织毒性相对较小；而四氧嘧啶可致肝肾功能损害，建模死亡率较高。总之，化学药物诱导糖尿病模型的方法操作简单，可行性较高。

1.3 转基因法

有研究报道了一种转基因斑马鱼 Tg (*HS4-sst2:CFP; ins:PhiYFP-m-dest1-2TA-nfsB*)^{lmcoo9}，简称 *ins:NTR*^[10]。*ins:NTR* 斑马鱼的胰岛 β 细胞中表达绿色荧光蛋白和硝基还原酶，硝基还原酶可使甲硝唑（metronidazole）转化为细胞毒素，破坏胰岛 β 细胞。该转基因斑马鱼经腹腔注射甲硝唑3 d后，99.7%的 β 细胞损伤，但 α 细胞不损伤，斑马鱼出现高血糖；甲硝唑注射5~7 d后， β 细胞数量开始增加，两周后血糖恢复正常，推测可能是由于斑马鱼再生能力强，胰岛内单细胞增殖和分化使得 β 细胞再生^[10, 17]。

2 2型糖尿病斑马鱼模型

2型糖尿病（type 2 diabetes mellitus）受多种环境因素的诱导，主要特点是胰岛素抵抗和胰岛素分泌相对缺乏^[18]。胰岛素抵抗被认为是2型糖尿病的主要驱动因素，主要是胰岛素对其靶器官敏感性下降，表现为肌肉、肝脏和脂肪等胰岛素靶组织对葡萄糖利用出现障碍，导致葡萄糖滞留在血液中。在发病早期，胰岛素与其靶细胞亲和力下降，需要 β 细胞分泌和释放更多的胰岛素，引发胰高血糖素血症，如此形成糖代谢紊乱和 β 细胞功能不足的恶性循环，最终导致 β 细胞功能严重缺陷，引发2型糖尿病^[18-20]。2型糖尿病的动物模型有自发性动物模型（如ob/ob小鼠）、诱发性动物模型（如高脂饮食与药物干预共同诱导）和转基因模型等^[21]。斑马鱼2型糖尿病模型的构建方法主要有3种：葡萄糖浸泡法、饮食诱导法和基因敲除法。

2.1 葡萄糖浸泡法

成年斑马鱼能够调节其体内水分和总溶质浓度，且4~11月龄成年斑马鱼经葡萄糖刺激的效果优于1~3年成年斑马鱼。斑马鱼一般饲养在水温为（28±2）℃、明暗周期为14 h/10 h的水循环系统中，正常喂食商用饲料或孵化好的丰年虾。葡萄糖浸泡法有两种方案：用2%的葡萄糖溶液连续浸泡14 d；隔天浸泡2%葡萄糖溶液，培养28~30 d。葡萄糖浸泡3~7 d后，斑马鱼体内血糖水平明显上升^[22]。两种方案进行对比发现，前者的优点在于造模所需时间短，血糖相对稳定，而缺点是会有20%的斑马鱼死亡。葡萄糖浸泡法可导致糖尿病并发症如视网膜病变，因此可用于糖尿病视网膜病变研究^[22-23]。另外，模式生物斑马鱼具有产卵多、胚胎透明的优点，将受精5 d后的斑马鱼幼鱼给予3%葡萄糖浸泡联合高脂饮食，10 d即可得到2型糖尿病模型，非常适用于糖尿病药物的研发与筛选。

2.2 饮食诱导法

流行病学调查结果显示，肥胖容易引起高胰岛素血症和胰岛素抵抗，也是发生2型糖尿病的重要危险因素。在啮齿动物模型中，高脂肪饮食

同时导致肥胖和 2 型糖尿病^[24]。张靖溥课题组通过对成年斑马鱼过度喂食, 结合高脂饮食饲养, 获得 2 型糖尿病斑马鱼模型^[25]: 模型组 10 周内每天每只喂食 60 mg 丰年虾和 1% 新鲜蛋黄液, 10 周后检测发现该模型的血糖、脂质表达和体质指数均升高, 肝脏、肌肉和大脑出现胰岛素基因高表达, 且肝脏中胰岛素受体底物 2 与葡萄糖转运蛋白 2 的基因表达降低, 这些表现与 Oka 等^[26]研究的肥胖斑马鱼模型相似。

另外, 日本西村研究团队通过过度喂食得到饮食诱导肥胖 (diet-induced obesity, DIO) 的斑马鱼, 对 DIO 斑马鱼胰岛素进行增强型绿色荧光蛋白 (EGFP) 标记, 得到 Ins-EGFP DIO 斑马鱼^[27]; 对该斑马鱼进行 8 周的过度喂食, 即利用自动喂食器每天每只喂食 120 mg, 连续 8 周每周称体质量, 并测空腹血糖; 过度喂食结束后, 对斑马鱼模型进行糖耐量和胰岛素含量 (通过绿色荧光蛋白间接反映) 检测, 发现糖代谢异常。这与高日丽等^[28]建立的自发缓解的 2 型糖尿病小鼠动物模型中糖代谢异常相类似。

2.3 基因敲除法

胰岛素抵抗主要是胰岛素与其作用的靶器官敏感性下降, 因此敲低靶器官中胰岛素受体 (insulin receptor, *INSR*) 基因表达可导致血糖升高。Maddison 等^[29]建立了肌肉 *INSR* 基因敲降的转基因斑马鱼, 其中骨骼肌抵抗 (skeletal muscle insulin-resistant, *zMIR*) 转基因斑马鱼的骨骼肌中胰岛素样生长因子 I (insulin-like growth factor- I, IGF- I) 受体失活, 刚开始表现为 β 细胞数目代偿性增加和正常的葡萄糖耐受性, 但随着斑马鱼年龄的增加, β 细胞数目减少, 出现葡萄糖耐受性差, 空腹血糖升高。另外, 有研究利用成簇的规律间隔短回文重复序列及其相关蛋白 9 [clustered regularly interspaced short palindromic repeat (CRISPR) /CRISPR-associated protein 9 (Cas9)] 技术敲降斑马鱼肝脏中 *INSR* 活性, 可导致空腹低血糖和餐后高血糖^[30]。

斑马鱼 *INSR* 有 A 和 B 两种, Gong 等^[31]和 Yang 等^[32]课题组分别对这两种斑马鱼 *INSR* 基因进行敲除, 结果发现基因敲除后的斑马鱼出现了高血糖现象和 β 细胞代偿性增加, 其中 *INSRA*^{-/-} 斑

马鱼餐后血糖升高程度远高于 *INSRB*^{-/-} 斑马鱼, 而且发现 *INSRA*^{-/-} 斑马鱼在抑制糖异生和刺激糖酵解时出现障碍, 而 *INSRB*^{-/-} 斑马鱼在刺激糖酵解方面也存在严重缺陷, 提示 *INSRA* 和 *INSRB* 在维持斑马鱼稳态方面具有重叠和多样化的功能。然而在肌肉组织中 *INSRA* 表达低的 MKR 转基因 2 型糖尿病小鼠出现高血糖症状, 但未观测到 β 细胞团代偿性增加的现象, 这可能是由于 *INSRA*^{-/-} 和 *INSRB*^{-/-} 斑马鱼的糖原储存受损和糖异生抑制减弱引起的。

3 斑马鱼糖尿病模型的应用进展

斑马鱼是理想的脊椎模式生物。它的胰腺以及胰岛素作用敏感的靶组织如肝脏、肌肉等在进化上均具有保守性, 而且糖代谢相关的关键机制与一些哺乳动物非常相似。碳水化合物是维持生命活动所需的主要物质。据鱼类在碳水化合物利用方面的研究表明, 斑马鱼糖代谢速度高于肉食性鱼类, 其生长速度与碳水化合物含量成正比。另外, 糖代谢相关的重要基因如己糖激酶等在斑马鱼体内表达活跃, 而这些基因缺失会导致斑马鱼胚胎神经缺陷^[33]。因此, 斑马鱼非常适用于糖代谢方面的研究, 可用于糖尿病发病机制研究及其药物的研发与筛选。

3.1 糖尿病并发症研究

糖尿病是受多种病因引起的代谢紊乱性疾病, 长期高血糖将引起大血管或微血管并发症, 如冠状动脉疾病、视网膜病变、慢性肾病和中枢神经病变等, 这也是该病致残和致死的重要原因^[34-35]。相比于其他动物模型, 斑马鱼实验周期短, 按照不同的斑马鱼造模方法可呈现不同的并发症, 适用于糖尿病研究。

糖尿病视网膜病变 (diabetic retinopathy, DR) 是威胁糖尿病患者视力的慢性炎性疾病, 是由视网膜色素上皮细胞和视网膜神经节细胞的大量丢失或损坏所导致^[36]。斑马鱼与哺乳类动物有非常相似的视网膜结构。研究发现, 斑马鱼胚胎置于 130 mmol/L 的葡萄糖培养液中温育 3 d, 可快速得到 DR 模型, 该模型出现视网膜血管扩张与缺失、血管上皮生长因子和一氧化氮浓度升

高^[37]。另外,在含有4%葡萄糖的培养液中孵育28 d后,雄性斑马鱼显示视网膜增厚,视网膜血管出现硬化^[38]。而链脲佐菌素诱导建立的糖尿病模型会出现视网膜退化变薄,这一现象在人类及其他哺乳类动物中也会发生^[15]。

糖尿病肾病(diabetic nephropathy, DN)是常见的糖尿病并发症,患者出现肾小管基底膜增厚、肾小球膜增厚或细胞外基质积累等情况^[39]。胰腺十二指肠同源盒1(pancreatic duodenal homeobox factor 1, Pdx 1)基因在斑马鱼胰腺的形成与分化中发挥重要作用。研究发现,利用吗啉代对Pdx 1基因敲降建立的斑马鱼胚胎出现高血糖,且导致前肾小球增大、前肾滤过屏障受损和足细胞发育缺陷^[40]。而且在成年斑马鱼中,腹膜内注射链脲佐菌素引起的高血糖会导致肾小球基底膜增厚,这在人类中也可以看到^[15]。

糖尿病潜在的并发症通常涉及中枢神经系统病变,它是由中风和其他血管疾病引发突触传递或神经可塑受损,从而影响大脑进程,易引起抑郁症、焦虑症和阿尔茨海默症^[41]。斑马鱼具有与人类基因高度同源、易于实验操作、体外受精、早期发育的特点,且与人类糖尿病相关基因高度同源,非常适合神经科学研究。已知神经炎症反应与新陈代谢不足是导致人类感情障碍(如焦虑或抑郁)的病因,因此斑马鱼作为中枢神经系统疾病模型中的新型生物,可用于糖尿病与感情相关的重叠发病机制研究^[42]。研究发现,链脲佐菌素药物诱导斑马鱼可影响斑马鱼的早期神经发育,减少神经产生(包括神经细胞增殖、分化和存活),使脑容量不足,合并引起斑马鱼的血脑屏障(blood-brain barrier, BBB)缺陷,且脑损伤的干细胞增殖能力下降,两周后该模型出现神经紊乱,从而损害关键神经源性区域的神经细胞增殖^[41]。此外,糖尿病相关的其他神经系统病变,如听力损失同样可用斑马鱼建模。总之,糖尿病及其相关的高血糖引起的神经系统缺陷容易在斑马鱼身上建模。

3.2 糖尿病患者肠道菌群研究

肠道微生物菌群在疾病风险与其进展中发挥潜在作用,因此了解糖尿病发生过程中肠道菌群的变化具有重要意义。糖尿病患者肠道菌群研究

发现,肠道中革兰阴性菌增加,脂多糖释放^[43]。脂多糖参与抗炎巨噬细胞M2向促炎巨噬细胞M1转化,促使促炎因子如肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)和白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)释放^[43-44]。对糖尿病斑马鱼的肠道菌群研究发现,2型糖尿病斑马鱼的 β 蛋白细菌和黄杆菌-II α 多样性较低,而较低的菌群多样性与胰岛素抵抗相关,菌群可能使精氨酸和脯氨酸代谢下调,导致谷氨酸也下调,而精氨酸及其代谢物可促进胰岛素分泌,并改善胰岛素抵抗^[45]。因此,糖尿病斑马鱼模型的菌群组成与人类2型糖尿病患者的相似,可作为研究肥胖及其相关疾病中宿主-细菌相互作用的模式生物。

3.3 糖尿病药物筛选

斑马鱼胚胎是透明的,且其繁殖频繁、数量庞大,拥有完整的基因组测序,并且可以有效地进行基因突变,因此非常适合进行大规模的糖尿病药物或基因筛选。Emfinger等^[46]构建了ATP-敏感性钾通道(ATP-sensitive K⁺ channels, KATP)功能获得型(gain-of-function, GOF)转基因斑马鱼,该类型斑马鱼阻断了葡萄糖依赖的Ca²⁺升高,导致严重的高血糖,这与哺乳类动物高血糖的后果相似,因此这种模型可能有助于糖尿病药物及基因修饰的筛选。

4 总结与展望

建立良好的糖尿病动物模型有利于临床药物的研发与筛选。斑马鱼的遗传背景明确,因此其作为研究糖尿病发病机制的新兴糖尿病模型,相关研究结果可能为人类糖尿病治疗提供新的理论依据。另外,斑马鱼糖尿病模型可以弥补其他糖尿病动物模型的不足。因此,斑马鱼用于糖尿病机制研究,可为糖尿病临床治疗提供良好的实验基础。

参考文献:

- [1] Ogurtsova K, Linnenkamp U, Huang Y, et al. IDF Diabetes Atlas: Global estimates for the prevalence of diabetes for 2015 and 2040[J]. Diabetes Res Clin Pract, 2017, 128(4): 40-50.

- [2] Ito H, Omoto T, Abe M, et al. Relationships between the duration of illness and the current status of diabetes in elderly patients with type 2 diabetes mellitus[J]. *Geriatr Gerontol Int*, 2017, 17(1):20-30.
- [3] Wu Z, Jin T, Weng J. A thorough analysis of diabetes research in China from 1995 to 2015: current scenario and future scope[J]. *Sci China Life Sci*, 2019, 62(1):46-62.
- [4] 吉薇, 章超桦, 宋采, 等. 糖尿病斑马鱼模型的建立与南极磷虾酶解物降血糖活性评价[J]. *食品与机械*, 2019, 35(6):24-29.
- [5] Heckler K, Kroll J. Zebrafish as a model for the study of microvascular complications of diabetes and their mechanisms[J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(9):E2002-E2010.
- [6] 史文超. 斑马鱼胚胎期 β 细胞再生机制研究[D]. 重庆: 西南大学, 2017: 115-116.
- [7] 刘鲁豫, 刘爱霞. 1型糖尿病的发病机制与治疗的新进展[J]. *医学综述*, 2019, 25(22):4504-4508.
- [8] Herold KC, Bundy BN, Long SA, et al. An anti-CD3 antibody, teplizumab, in relatives at risk for type 1 diabetes [J]. *N Engl J Med*, 2019, 381(7):603-613.
- [9] Keck FS, Pfeiffer EF. The first experimental diabetes mellitus[J]. *Acta diabetol lat*, 1989, 26(1):79-81.
- [10] Delaspre F, Beer RL, Rovira M, et al. Centroacinar cells are progenitors that contribute to endocrine pancreas regeneration[J]. *Diabetes*, 2015, 64(10):3499-3509.
- [11] Hwang KL, Goessling W. Baiting for cancer: using the zebrafish as a model in liver and pancreatic cancer[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2016, 916(4):391-410.
- [12] Menke AL, Spitsbergen JM, Wolterbeek AP, et al. Normal anatomy and histology of the adult zebrafish[J]. *Toxicol Pathol*, 2011, 39(5):759-775.
- [13] Moss JB, Koustubhan P, Greenman M, et al. Regeneration of the pancreas in adult zebrafish[J]. *Diabetes*, 2009, 58(8):1844-1851.
- [14] Nam YH, Hong BN, Rodriguez I, et al. Synergistic potentials of coffee on injured pancreatic islets and insulin action via KATP channel blocking in zebrafish[J]. *J Agric Food Chem*, 2015, 63(23):5612-5621.
- [15] Olsen AS, SarrasMJ, IntinRV. Limb regeneration is impaired in an adult zebrafish model of diabetes mellitus[J]. *Wound Repair Regen*, 2010, 18(5):532-542.
- [16] Intine RV, Olsen AS, Sarras MP. A Zebrafish model of diabetes mellitus and metabolic memory[J]. *J Vis Exp*, 2013, 28(72):e50232.
- [17] Prince VE, Anderson RM, Dalgin G. Zebrafish pancreas development and regeneration: fishing for diabetes therapies [J]. *Curr Top Dev Biol*, 2017, 12(4):235-276.
- [18] Gleeson M, Connaughton V, Arneso LS. Induction of hyperglycaemia in zebrafish (*Danio rerio*) leads to morphological changes in the retina[J]. *Acta Diabetol*, 2007, 44(3):157-163.
- [19] Sun Z, Sun X, Li J, et al. Using probiotics for type 2 diabetes mellitus intervention: advances, questions, and potential [J]. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2020, 60(4):670-683.
- [20] 陶雪, 车金营, 杨硕, 等. 五味子多糖对2型糖尿病大鼠肝脏的保护作用[J]. *北华大学学报(自然科学版)*, 2019, 20(1):43-46.
- [21] 张贤梅, 江波, 孙勤国. 糖尿病实验动物模型的研究进展[J]. *中西医结合研究*, 2017, 9(2):101-104.
- [22] Capiotti KM, Antonioli RJ, Kist LW, et al. Persistent impaired glucose metabolism in a zebrafish hyperglycemia model[J]. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol*, 2014, 171(1):58-65.
- [23] Tanvir Z, Nelson RF, DeCicco-Skinner K, et al. One month of hyperglycemia alters spectral responses of the zebrafish photopic electroretinogram[J]. *Dis Model Mech*, 2018, 11(10):1-13.
- [24] Kleinert M, Clemmensen C, Hofmann SM, et al. Animal models of obesity and diabetes mellitus[J]. *Nat Rev Endocrinol*, 2018, 14(3):140-162.
- [25] Meng XH, Chen B, Zhang JP. Intracellular insulin and impaired autophagy in a zebrafish model and a cell model of type 2 diabetes[J]. *Int J Biol Sci*, 2017, 13(8):985-995.
- [26] Oka T, Nishiura Y, Zang L, et al. Diet-induced obesity in zebrafish shares common pathophysiological pathways with mammalian obesity[J]. *BMC Physiol*, 2010, 21(10): 21-33.
- [27] Zang L, Shimada Y, Nishimura N. Development of a novel zebrafish model for type 2 diabetes mellitus[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1):1461-1471.
- [28] 高日丽, 林可意, 谭莺. 建立自发缓解2型糖尿病动物模型可行性探讨[J]. *新医学*, 2018, 49(4):241-247.
- [29] Maddison LA, Joest KE, Kammeyer RM, et al. Skeletal muscle insulin resistance in zebrafish induces alterations in β -cell number and glucose tolerance in an age- and diet-dependent manner[J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2015, 308(8):E662-E670.
- [30] Yin L, Maddison LA, Li M, et al. Multiplex conditional mutagenesis using transgenic expression of Cas9 and sgRNAs[J]. *Genetics*, 2015, 200(2):431-441.
- [31] Gong Y, Zhai G, Su J, et al. Different roles of insulin receptor α and β in maintaining blood glucose homeostasis in zebrafish[J]. *Gen Comp Endocrinol*, 2018, 269(1):33-45.
- [32] Yang BY, Zhai G, Gong YL, et al. Depletion of insulin receptors leads to β -cell hyperplasia in zebrafish[J]. *Science Bulletin*, 2017, 62(7):486-492.

- [33] 王雪, 韩利文, 何秋霞, 等. 斑马鱼模型在糖尿病研究中的应用[J]. 中国比较医学杂志, 2017, 27(8):1-5.
- [34] Tan SY, Mei WJ, Sim YJ, et al. Type 1 and 2 diabetes mellitus: A review on current treatment approach and gene therapy as potential intervention[J]. Diabetes Metab Syndr, 2019, 13(1):364-372.
- [35] Strain WD, Paldanius PM. Diabetes, cardiovascular disease and the microcirculation[J]. Cardiovasc Diabetol, 2018, 17(1):57-66.
- [36] Obara EA, Hannibal J, Heegaard S, et al. Loss of melanopsin-expressing retinal ganglion cells in patients with diabetic retinopathy[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2017, 58(4):2187-2192.
- [37] Jung SH, Kim YS, Lee YR, et al. High glucose-induced changes in hyaloid-retinal vessels during early ocular development of zebrafish: a short-term animal model of diabetic retinopathy[J]. Br J Pharmacol, 2016, 173(1):15-26.
- [38] Carnovali M, Luzi L, Banfi G, et al. Chronic hyperglycemia affects bone metabolism in adult zebrafish scale model[J]. Endocrine, 2016, 54(3):808-817.
- [39] Dai H, Liu Q, Liu B. Research progress on mechanism of podocyte depletion in diabetic nephropathy[J]. J Diabetes Res, 2017, 2017(3):286-295.
- [40] Sharma KR, Heckler K, Stoll SJ, et al. ELMO1 protects renal structure and ultrafiltration in kidney development and under diabetic conditions[J]. Sci Rep, 2016, 6(16):37172.
- [41] Lakstygai AM, Abreu MS, Lifanov DA, et al. Zebrafish models of diabetes-related CNS pathogenesis[J]. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry, 2019, 92(8):48-58.
- [42] Wang J, Li Y, Lai K, et al. High-glucose/high-cholesterol diet in zebrafish evokes diabetic and affective pathogenesis: The role of peripheral and central inflammation, microglia and apoptosis[J]. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry, 2020, 96(10):109752.
- [43] Salguero MV, Al-Obaide M, Singh R, et al. Dysbiosis of gram-negative gut microbiota and the associated serum lipopolysaccharide exacerbates inflammation in type 2 diabetic patients with chronic kidney disease[J]. Exp Ther Med, 2019, 18(5):3461-3469.
- [44] Hersoug LG, Moller P, Loft S. Role of microbiota-derived lipopolysaccharide in adipose tissue inflammation, adipocyte size and pyroptosis during obesity[J]. Nutr Res Rev, 2018, 31(2):153-163.
- [45] Okazaki F, Zang L, Nakayama H, et al. Microbiome alteration in type 2 diabetes mellitus model of zebrafish [J]. Sci Rep, 2019, 9(1):867-876.
- [46] Emfinger CH, Lorincz R, Wang Y, et al. Beta-cell excitability and excitability-driven diabetes in adult zebrafish islets[J]. Physiol Rep, 2019, 7(11):e14101.

Research Progress in Construction and Application of Diabetes Model in Zebrafish

JIANG Xia¹, QIAN Haojie², WEI Xun¹, ZHENG Yuxuan¹, ZHOU Zhengyu¹

(1. Laboratory Animal Center of Soochow University, Suzhou 215123, China;

2. Suzhou Science and Technology Bureau, Suzhou 215002, China)

Correspondence to: ZHOU Zhengyu, E-mail: zacharyzhou@suda.edu.cn

[Abstract] Diabetes mellitus is a group of metabolic disorders, and its pathogenesis has not been fully elucidated. Diabetes mainly includes type 1 diabetes, type 2 diabetes and gestational diabetes. Many animals such as mice, rats, rabbits, mini-pigs and macaques are commonly used as diabetes models. As a model organism, zebrafish (*Danio rerio*) has been widely used to simulate human disease in many fields, including type 1 and type 2 diabetes mellitus. By searching a large amount of literature, this article summarized the current construction methods of zebrafish models of diabetes and its application progress in order to provide references for its future research and application.

[Key words] Diabetes; Zebrafish; Animal model; Type 1 diabetes mellitus; Type 2 diabetes mellitus