

Graves 病动物模型的构建方法研究概述

李青穆 魏军平

Graves 病,我国亦称毒性弥漫性甲状腺肿(以下简称 GD),患病率约为 1% ~ 2%,近年来呈上升趋势,男女性发病比例约 1:7^[1]。临床主要表现为甲状腺毒症、甲状腺肿、眼征和胫前黏液性水肿。其发病机制被认为由遗传易感性、环境和免疫因素共同作用,使机体产生促甲状腺激素受体抗体(TRAbs),该抗体与甲状腺细胞膜上的促甲状腺激素受体(TSHR)结合,激发自身抗原-抗体反应,产生类似 TSH 的作用,导致甲状腺组织的弥漫性肿大和甲状腺激素的过度分泌。

目前仍没有一种治疗方法可以从发病角度根治 GD,建立符合人类发病特点的动物模型是深入研究 GD 发病机制和干预措施的重要手段。自 20 世纪 80 年代始,国内学者曾采用卞安堃法给大鼠饲服大剂量甲状腺素片复制出高甲状腺素状态动物模型^[2,3]。也有学者利用感染小肠结肠炎耶尔森菌的新西兰兔建模,但由于缺乏 GD 的自身免疫病理基础而并未广泛应用于研究^[4]。近 10 年来,涌现出许多利用免疫方法构建的诱发性动物模型,从免疫载体、免疫途径到动物品系的选择都进行了大量尝试,目前已初步探索出较理想的 GD 动物模型,本文对其方法学的研究进展和模型的鉴定指标做一综述。

一、动物模型的构建方法

1. 表达 TSHR 的细胞免疫模型:通过细胞免疫建模旨在模仿 GD 发病的主要特征,选用真核细胞既能稳定携带功能性 TSHR 作为免疫原,又能同时表达 MHC-Ⅱ类分子作为抗原递呈细胞(APC),介导体内正常的 T、B 淋巴细胞免疫反应,引起 TRAbs 在体内的自身免疫应答。

(1)Shimojo 模型:1996 年 Shimojo 等^[5]构建了第 1 个真正意义上的 GD 动物模型。以 AKR/N(H-2k)小鼠为实验动物,用编码人类 TSHR(hTSHR)的

cDNAs 和同源小鼠 MHC-Ⅱ类分子双重转染的成纤维母细胞(RT4.15HP)作免疫细胞,腹腔注射,每 2 周 1 次,共 6 次。结果约 25% 的小鼠发展为具有 GD 内分泌学(T4 水平升高,甲状腺弥漫性肿大,甲状腺细胞增生)和免疫学(TB Ⅱ阳性)的特征。之后 Kita 等^[6]复制了这一模型,并观察了联合加用完全弗氏佐剂(CFA)和组织毒素(PTX)的影响,发现前者可抑制模型的发生(甲状腺功能亢进发生率 10%),而 PTX 能促进模型的诱导(发生率提高到 50%),且缩短了成模时间。

(2)M12-TSHR 和 HEK293-TBP 模型:Kaithamana 等^[7]应用来源于 BALB/c 小鼠 B 淋巴干细胞系的 M12 细胞,分别表达小鼠 TSHR 全长(mM12)和人类 TSHR 全长(hM12),并加霍乱毒素 B 亚单位为 Th2 佐剂。腹腔注射同源小鼠后显示,实验组全部表现出 TSAb 阳性和 T4、T3 水平明显升高。另外又用表达人类 TSHR 可溶性胞外域(TBP)的人胚肾细胞(HEK293-TBP cells)免疫 BALB/c 小鼠,也出现了与前实验类似的甲状腺功能亢进症症状伴体重明显下降。组织学显示甲状腺胶质肿大、部分上皮细胞局灶性坏死和淋巴细胞浸润。该实验证明:①相较于先前研究选用的 AKR/N 小鼠,BALB/c 小鼠对 GD 更为易感^[4,5];②hM12 和 mM12 细胞在表达 TSHR 和引发 GD 的能力上没有差异;③HEK293-TBP 细胞的应用证明 TSHR 胞外域足以诱发 GD。与 Shimojo 模型不同的是,Kaithamana 模型具有更典型的 APC 特征,M12 细胞除 MHC-Ⅱ类分子外还表达共刺激分子 B7 和黏附分子,能更强地诱发免疫应答。这也是可诱导实验动物全部发展为 GD 的首次报道。

(3)CHO-TSHR 模型:Ando 等^[8]将既往模型缺少甲状腺淋巴细胞浸润的情况归因于致免疫性 hTSHR 抗原表达过低。选择雌性中国仓鼠,用高水平表达 hTSHR 的中国仓鼠卵细胞(CHO-hTSHR)和加用 IFN γ 刺激的 CHO-hTSHR(可增加 MHC-Ⅱ类分子的表达)进行免疫,并以百日咳毒素和明矾为佐剂,腹腔注射 2 周 1 次,共 6 次。结果却并不理想,CHO

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81173260)

作者单位:100053 北京中医药大学(李青穆);100053 北京,中国中医科学院广安门医院(魏军平)

通讯作者:魏军平,电子信箱:weijunping@126.com

-hTSHR 组 1/10 发展成明显的甲状腺功能亢进症, 2/10 T4 升高, 4/10 产生了 TSHR - Ab, 2/10 出现淋巴细胞浸润的甲状腺肿大; 而 IFN γ 刺激的 CHO - TSHR 组在 4 周时出现 4 只动物死亡, 未检测到 TSAb, T4 也全部正常。尽管如此, 由于仓鼠个体的 MHC 分子不同, 比近交系小鼠更与人类相似, 该研究认为中国仓鼠是发生自身免疫反应的理想动物, 且腺病毒载体在表达 TRAb 能力上优于细胞载体。

(4) DC - AdTSHR 模型: Kita - Furuyama 等^[9]从 BALB/c 小鼠的骨髓前体细胞中分离出树突状细胞 (DC), 给予粒细胞 - 巨噬细胞集落刺激因子 (GM - CSF) 和 IL - 4 培养, 再转染表达 TSHR 的重组腺病毒 (Ad - TSHR), 最后用 Ad - TSHR 转染的 DC 皮下注射免疫同源小鼠。结果有 36% 出现 T4 水平增高, 且产生了 TB II。病理显示甲状腺弥漫性肿大和上皮细胞增生。证明表达 TSHR 的 DC 亦能有效地在雌性 BALB/c 小鼠中建立 GD 模型。

2. 表达 TSHR 的质粒 DNA 免疫模型: 质粒 DNA 免疫又称核酸免疫, 用带有 hTSHR - cDNA 的重组真核表达质粒直接免疫动物, 使质粒载体上的 hTSHR 基因在动物体内持续表达出天然 TSHR, 诱导特异性免疫应答产生 TRAb。免疫途径大多采用肌肉注射, 因横纹肌系统是最有效的摄取外源基因的组织, 能长期保持高水平的蛋白表达, 具有良好的抗原合成作用^[10]。而且改变骨骼肌的状态可以提高免疫效率, 如预先注射 25% 高渗蔗糖溶液, 可引起肌肉水肿, 增加肌细胞对质粒 DNA 的摄取和表达。与质粒 DNA 共注射毒性药物 (如局麻药布比卡因、洋地黄毒甙等) 可使局部肌肉坏死, 再生状态的肌细胞具有更强的质粒摄取能力。

(1) 肌肉注射: Costagliola 等^[11]首先选用 BALB/c 小鼠肌肉注射 hTSHR - cDNA 质粒, 并分设 25% 蔗糖和心肌毒素预处理组, 11 周后约 70% (10/14) 的小鼠出现 TBII 活性。虽然 FT4 始终正常, 但所有小鼠甲状腺均呈现淋巴细胞浸润, 表明小鼠只发生甲状腺炎未出现甲状腺功能亢进。之后该研究者又换用 NMRI 杂合小鼠重复了上述实验, 结果所有接受免疫的小鼠均出现了 TRAb, 其中 5 雌 (5/29) 1 雄 (1/30) 不仅 TSAb 阳性, 还出现 T4 升高、TSH 下降等甲状腺功能亢进症表现, 伴有甲状腺炎和 GD 相关眼病的改变^[12]。Baker 等^[13]采用相同的策略对 BALB/cbyJico 雌鼠进行免疫, 9 只小鼠全部产生 TSHR - Ab, 约 28% (2/7) T4 升高, 却并未发生甲状腺炎和眼部改

变。后继的两个重复实验中^[14,15], 研究者分别用 Shimojo 细胞模型免疫 AKR/N(H - 2k) 雌鼠和 hTSHR - DNA 肌肉注射免疫 BALB/c 雌鼠, 比较两者发现 Shimojo 模型的 GD 发病率有所提高, 约 60% ~ 70% 可检测出 TSHR 抗体活性; 而质粒免疫组 TSHR 抗体水平很低, 且均未诱导出甲状腺炎和眼部改变。Flynn 等^[16]选用 HLA - DR3 转基因小鼠进行 hTSHR - cDNA 免疫, 结果有 20% 出现 TSAb, 25% T4 升高, 30% 有甲状腺功能亢进症症状, 还出现了淋巴细胞浸润和甲状腺球蛋白抗体 (TgAb)。该实验验证了 HLA - DR3 是 GD 的易感基因, 提示该转基因小鼠不仅可以作为 GD 的动物模型, 还可以作为桥本甲状腺炎的动物模型。赵紫琴等^[17,18]通过自行构建的重组质粒 pcDNA3.1/hTSHR_{188~403bp}, 亦取得了较好的免疫效果, 并证明 hTSHR 膜外区 N 端氨基酸 29 ~ 280 区域的抗原决定簇可使机体产生 TSAb, 与 GD 密切相关。何云等将基因免疫和细胞免疫相结合, 先以 hTSHR - cDNA 肌肉注射免疫第一批 BALB/c 雌鼠, 再用这批小鼠被 hTSHR 活化的脾细胞免疫第二批同源小鼠。结果显示实验组有 44% (7/16) 出现甲状腺组织增生, 其中 4 只小鼠血清 TT4 水平增高伴 TSH 水平降低, 1 只小鼠血清 TSH 水平压低伴 TT4 水平正常, 分别符合甲状腺功能亢进和亚临床甲状腺功能亢进症的特征。

(2) 皮内注射: 上皮组织较肌肉含有更多的朗格汉斯细胞 (LC) 等专职抗原递呈细胞, 更易将抗原携带至临近淋巴组织中激发免疫应答。Barrett 等将肌肉注射改为皮内注射, 结果 67% (10/15) 出现了 TSHR - Ab, 27% (4/15) 伴 TT4 水平升高、甲状腺肿大但无淋巴细胞浸润。

(3) 基因枪免疫: 基因枪 (gene gun) 免疫是应用高能微粒轰击 (particle bombardment) 将包裹在金或钨颗粒上的质粒 DNA 直接射入上皮细胞内, 将高效的转染和抗原递呈相结合, 诱导机体产生以 Th2 型反应为主的免疫应答, 产生 IgG1 型抗体。余毅凯等将 hTSHR - PCRTM3.0 质粒分别用基因枪金颗粒包裹和普通肌肉注射免疫 BALB/c 雌鼠, 结果发现第 4 周即可观察到基因枪组 FT4 水平、TRAb 活性和浓度以及脾脏 IL - 4 产量的改变均高于普通肌肉注射组和对照组, 证明应用基因枪可取得理想的免疫效果。

(4) 电穿孔免疫: 电穿孔技术 (electroporation, EP) 通过脉冲电流增加靶细胞的渗透性而不致杀伤细胞, 使亲水药物和 DNA 可以透过细胞膜, 能有效地传递质粒 DNA 至皮肤。Kaneda 等应用这一技术对

核酸免疫进行改良,对 BALB/c 小鼠分别注射 hTSHR - cDNA 质粒和 hTSHR289 His cDNA 质粒,在注射部位两侧插入一对电极针,每次注射后给予 3 次脉冲和 3 次相反极性脉冲。结果 hTSHR 组有 12.0% ~ 31.8% 而 hTSHR289 His 组有 79.2% ~ 95.7% 出现 T4 升高,伴甲状腺上皮细胞增生,而且 TSAb 可持续存在 8 个月。

3. 表达 TSHR 的腺病毒免疫模型:(1) 表达 TSHR 全长:Nagayama 等首次构建了表达人类 TSHR 全长的腺病毒载体(Ad - TSHR),选用 BALB/C(H - 2d)、C57BL/6(H - 2b)、CBA/J(H - 2k)、DBA/1J(H - 2q)和 SJL/J(H - 2s)5 种品系的小鼠进行肌肉注射。8 周后 55% 雌性和 33% 雄性 BALB/c 以及 25% 雌性 C57BL/6 小鼠出现甲状腺功能亢进症症状,T4 水平明显升高。所有 T4 升高的小鼠都表现为 TSAb 阳性,且 TSAb 的值与 T4 水平呈明显正相关($r = 0.89$)。而另外 3 种品系小鼠均未诱导出甲状腺功能亢进症,除 SJL/J 组 TB II 活性较高外,其余两组无 TSHR - Ab 产生。组织学可见甲状腺功能亢进症小鼠存在甲状腺增大、细胞增生等病理改变,但都没有淋巴细胞浸润。该实验提示腺病毒感染的 TSHR 在肌肉的表达水平高于核酸免疫,且不同种系小鼠间免疫反应的差异说明了遗传背景决定产生 TSAb 的易感性,其中 BALB/c 小鼠为 GD 易感品系。后来的研究表明该动物模型易于复制。(2) 表达 TSHR - A 亚单位:TSHR 属于 7 次跨膜的 G 蛋白偶联受体,结构可以分为:A 亚单位含有 397 个氨基酸,是外部结构域,参与配体(TSH 和 TRAb)结合;B 亚单位包括膜内段和胞内段,参与甲状腺细胞生长的激活和甲状腺激素的合成与分泌。大多数研究认为具有免疫原性的 TSHR - A 亚单位进入机体是诱发自身免疫产生 TRAb 的关键。Chen 等用表达 A 亚单位的腺病毒(Ad - TSHR289)免疫 BALB/c 雌鼠,结果显示 Ad - TSHR289 组 80% (8/10) T4 水平增高,而具有 AB 两个亚单位的 Ad - TSHR - D1NET 组仅为 10% (1/10);A 亚单位组的 TSAb 活性明显高于全长组,而 TBAb 活性明显低于全长组。这证实了 TSHR - A 亚单位具有更强的免疫原性,可使 GD 的发生率更高(65% ~ 84%)。而同期实验 C57BL/6 小鼠的成模率仅有 5%。国内学者成功复制了这一模型。

之后 Chen 等对 Ad - TSHR289 的最佳免疫剂量作了进一步研究。采用 10^{11} 、 10^9 、 10^7 3 种剂量免疫 BALB/c 小鼠,发现随着免疫剂量的下降 TBAb 效价

也下降,而 TSAb 却没有明显的变化;高剂量免疫伴随着 TBAb 的产生增多,甲状腺功能亢进发生率呈下降趋势;而中、低剂量则能引起更严重的甲状腺功能亢进症以及相对低水平的 TBAb。赵泽飞等的研究也证实了低免疫剂量建立的模型更符合 GD 特点。临床上 GD 存在明显的性别偏倚,针对小鼠成模率是否存在性别差异,伍丽萍等用 Ad - TSHR289 免疫雌性和雄性 BALB/c 小鼠,发现两组 TRAb 阳性率均达到 100% 且组间没有显著差异,而甲状腺功能亢进症发生率雌性组 75%,雄性组 41.7%,雌性组 T4 水平明显高于雄性组。猜测可能是雌激素作用使小鼠的体液免疫应答增强,促进了 TSAb 的产生。该研究组进一步研究了不同的注射时间和频率对成模的影响,每 3 周免疫 1 次,分别免疫 2 次(5 周后取材)和 3 次(10 周后取材),发现前者有 56% 而后者有 75% 的小鼠发展为甲状腺功能亢进,且后者可全部表现出组织学改变,故较长时间的干预更优。

4. 转基因动物模型:通过实验手段将外源基因导入到动物的胚胎细胞中,在其染色体基因组内稳定整合,并遗传给后代表现出持久的自身免疫反应,转基因动物可在自身免疫性疾病模型中得到应用。Kim - Saijo 等首先建立了 GD 转基因动物模型,从 GD 患者外周血中分离制备出 TSAb 基因,将其 14.1kb 片段转入 C57BL/6J 小鼠受精卵中,培育出 TSAb 转基因小鼠。显示在出生后 12 ~ 20 周,68% 的 TSAb 转基因小鼠可自发出现一系列甲状腺功能亢进症症状,T4 升高伴 TSH 降低,且 T4 水平和 TSAb - IgM 呈正相关。TSAb 转基因动物模型在发育过程中伴随了自身免疫的克隆剔除、对自身抗原耐受等机制,并且可进行传代,避免了反复建模的繁琐,是一个亟待发展的方向。

5. 单克隆抗体模型:通过人工被动免疫的方式给小鼠注射单克隆抗体(mAbs)亦可激动 TSHR 建立抗体介导的急慢性 GD 模型。Ando 等用具有 TSHR 激动活性的仓鼠单克隆抗体 MS - 1 给 CBA/J 小鼠腹腔注射,使小鼠在 24 ~ 96h 内发展为急性甲状腺功能亢进症,且 T4 水平与 MS - 1 剂量呈正相关,24h 达峰,4 天后降至正常水平;而将分泌 MS - 1 的杂交瘤细胞转移至裸鼠腹腔内,可在 2 周后建立慢性模型,其甲状腺功能亢进症发生率与 MS - 1 浓度呈负相关。Costagliola 等应用更为高效的单克隆抗体 IRI - SAb2、IRI - SAb3 免疫 NMRI 小鼠,甲状腺功能亢进发生率可达到 100%。

6. 甲状腺球蛋白模型:近年来 Endo 等构建了一个新的模型,直接以牛甲状腺球蛋白(Tg)加用完全弗氏佐剂注射到 AKR/N 和 C57BL6 雌性小鼠的比目鱼肌,每两周免疫 1 次,3 个月后发现部分小鼠出现 FT3、FT4 水平升高,¹²⁵I 摄取率增高,TSAb 和 TgAb 阳性以及甲状腺弥漫性增生等典型 GD 症状。任文霞等用 Wistar 大鼠复制了这一模型,第 8 周后实验组 60% (6/10) 在¹³¹I 摄碘率、T3、T4、TRAb 均达到甲状腺功能亢进标准。

7. Graves 眼病模型:大多数 GD 模型都缺少眼征的表现,提示可能仅仅 TSHR 的免疫反应不足以诱发眼病。最近研究认为,胰岛素生长因子受体(IGF - 1R)可能作为与 TSHR 共同作用的自身抗原在 GD 相

关眼病的发病中起重要作用。Zhao 等用表达 TSHR - A 亚单位和 IGF - 1R 的质粒电穿孔免疫 BALB/c 雌鼠建立 GD 眼征模型,发现 TSHR - A 组有 75% 发展为具有 TSAb 阳性的甲状腺功能亢进症,IGF - 1R 组虽然产生了抗体反应但没有明显表现,而同时用两种质粒免疫的小鼠甲状腺功能亢进症发生率下降,可能与抗原竞争有关。眼眶组织检查显示出结缔组织纤维化和Masson染色沉淀物。

上述成功模型的共同点在于:多次重复注射使动物体内表达 TSHR,激发免疫应答产生有活性的 TRAb。而不同的模型也各有优劣:如 Shimojo 细胞模型具备 GD 的特征,但仅可局限于 AKR/N 品系小鼠,且其高甲状腺素血症和 TSAb 活性维持时间较短;用

表 1 已报道的动物模型及其特征

模型	动物品系	TSAb	发生率 (%)	甲状腺功能 阳性	甲状腺肿	上皮细胞增生	淋巴细胞浸润
细胞模型							
成纤维细胞 RT4.15HP	AKR/N	+	25	T4	+	+	-
B 淋巴细胞 M12	BALB/c	+	100	T4、T3	+	+	+
HEK293 细胞株	BALB/c	+	100	T4、T3	+	+	+
成纤维细胞 CHO	Hamster	+	10	T4	+	+	+
树突状细胞 DC - AdTSHR	BALB/c	+	36	T4	+	+	-
核酸模型							
肌内注射	BALB/c	+	0		+	+	+
	outbred NMRI	+	17	T4、TSH	+	+	+
	BALB/cbyJico	+	28	T4			-
	BALB/c	-	0		-	-	-
	DR3	+	25	T4	+		+
	BALB/c	+	25	T4	+	+	+
皮内注射	BALB/c	+	27	T4	+	+	-
基因枪	BALB/c	+		T4		+	-
电穿孔	BALB/c	+	79.2	T4	+	+	-
			95.7				
腺病毒模型							
TSHR 全长	BALB/c	+	55	T4	+	+	-
	C57BL/6	+	25	T4	+	+	-
TSHR - A 亚单位	BALB/c	+	70	T4	+	+	-
	C57BL/6	+	5	T4	+	+	-
	BALB/c	+	50	T4、TSH	+	+	-
	BALB/c	+	61.5		+	+	
	BALB/c	+	75	T4	+	+	-
转基因动物模型							
TSAb 转基因	C57BL/6	+	68	T4、TSH	+	+	-
单克隆抗体模型							
MS - 1 急性	CBA/J	+	100	T4		+	-
MS - 1 慢性	裸鼠	+		T4、T3、TSH		+	-
IRI - SAb3	NMRI	+	100	T4、TSH		+	+
甲状腺球蛋白模型							
牛 Tg	AKR/N	+	36	FT3、FT4、 ¹²⁵ I	+	+	
	C57BL6	+	30	FT3、FT4、 ¹²⁵ I	+	+	
	Wistar 大鼠	+	60	T4、T3、 ¹³¹ I			

TSHR - cDNA 的质粒可普遍诱导出有活性的 TSAb, 能用于接种不同种系的实验鼠, 但其重复性差, 甲状腺功能亢进症发生率较低, 而腺病毒模型具有上述两种载体的优势, 但普遍只适用于 BALB/c 小鼠。目前报道的模型中, 以 Ad - TSHR289 免疫 BALB/c 雌性小鼠的模型兼具 GD 的内分泌学特征 [T4 升高和 (或) TSH 降低]、免疫学特征 (有活性的 TRAb 增高)、组织学特征 (甲状腺上皮细胞增生) 和甲状腺毒症的临床表现 (食欲增加、体重下降、眼征表现等), 在成功率和稳定性等方面具有优势, 近年已被广泛应用到 GD 的研究中。

二、动物模型的鉴定指标

甲状腺的自身抗原包括甲状腺球蛋白 (Tg)、甲状腺过氧化物酶 (TPO) 和 TSH 受体 (TSHR), 这些抗原的自身抗体是自身免疫性甲状腺疾病 (AITD) 特有的标志物。GD 患者血清中可检测到 TgAb、TPOAb 和 TRAb, 其中 TRAb 在初发患者中的阳性检出率可高达 80% ~ 100%, 是诊断 GD 和鉴定动物模型最重要的指标。TRAb 的检测方法有: ①受体分析法, 包括放射受体分析法 (RRA)、ELISA 和流式细胞术, 依据 TRAb 与 TSHR 特异性结合的免疫活性原理设计, 所测得的为 TRAb 3 种亚型的总和, 即 TB II; ②生物分析法, 用待测血清刺激转染 hTSHR 的细胞系 (多为 CHO - TSHR 细胞系), 通过胞内 cAMP 水平可分别测出 TSAb 和 TSBAb。另外模型的鉴定还包括: 通过放射免疫法 (RIA) 测定动物血清的甲状腺功能 (主要为 T4); 组织病理观察甲状腺大体标本的体积、重量、颜色改变和甲状腺滤泡上皮细胞的增生、炎症改变; 以及动物的甲状腺外器官表现 (如体重改变、眼部改变、肝脏受累情况等)。

经过既往 10 余年的探索, 大量新的技术手段被应用到 GD 动物模型的构建中, 为研究者从不同视角探究 GD 的发病机制提供了帮助。随着研究的继续深入, 更加成熟的动物模型将有助于更新人们对 GD 的病因学认识, 促进发展出更加有效的防治策略。

参考文献

- Gleicher N, Barad DH. Gender as risk factor for autoimmune diseases [J]. *Autoimmun*, 2007, 28: 1 - 6
- 林兰, 李鸣镝, 刘喜明, 等. 甲亢宁对甲亢大鼠甲状腺激素及心钠素的影响 [J]. *中国中医基础医学杂志*, 2005, 11(1): 34 - 35
- 杨柳, 高天舒, 时杨. 甲亢平对甲亢大鼠甲状腺功能及肝组织 Na⁺ - K⁺ - ATP 酶的影响 [J]. *吉林中医药*, 2009, 29(3): 262 - 263
- 陈春荣, 赵家军, 许曼音, 等. 小肠结肠炎耶尔森氏菌致 Graves' 病作用的实验研究 [J]. *中华内分泌代谢杂志*, 1998, 14(3): 159

- 162
- Shimojo N, Kohno Y, Yamaguchi K, *et al.* Induction of Grave - like disease in mice by immunization with fibroblasts transfected with the thyrotropin receptor and a class II molecule [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1996, 93(20): 11074 - 11079
- Kita M, Ahmad L, Marians RC, *et al.* Regulation and transfer of a murine model of thyrotropin receptor antibody mediated Graves' disease [J]. *Endocrinology*, 1999; 140(3): 1392 - 1398
- Kaithamana S, Fan J, Osuga Y, *et al.* Induction of experimental autoimmune Graves' disease in BALB/c mice [J]. *Immunol*, 1999; 163(9): 5157 - 5164
- Ando T, Imaizumi M, Graves P, *et al.* Induction of thyroid - stimulating hormone receptor autoantibody in hamsters [J]. *Endocrinology*, 2003; 144(2): 671 - 680
- Kita - Furuyama M, Nagayama Y, Pichurin P, *et al.* Dendritic cells infected with adenovirus expressing the thyrotropin receptor induce Graves' hyperthyroidism in BALB/c mice [J]. *Clin Exp Immunol*, 2003, 131(2): 234 - 240
- Ertl HC, Xiang Z. Novel vaccine approaches [J]. *Immunol*, 1996, 156(10): 3579 - 3582
- Costagliola S, Rodien P, Many MC, *et al.* Genetic immunization against the human thyrotropin receptor causes thyroiditis and allows production of monoclonal antibodies recognizing the native receptor [J]. *Immunol*, 1998, 160(3): 1458 - 1465
- Costagliola S, Many MC, Deneff JF, *et al.* Genetic immunization of outbred mice with thyrotropin receptor cDNA provides a model of Graves' disease [J]. *J Clin Invest*, 2000, 105(6): 803 - 811
- Baker G, Mazzotti G, von Ruhland C, *et al.* Reevaluating thyrotropin receptor induced mouse models of Graves' disease and ophthalmopathy [J]. *Endocrinology*, 2005, 146(2): 835 - 844
- Rao PV, Watson PF, Weetman AP, *et al.* Contrasting activities of thyrotropin receptor antibodies in experimental models of Graves' disease induced by injection of transfected fibroblasts or deoxyribonucleic acid vaccination [J]. *Endocrinology*, 2003, 144(1): 260 - 266
- Pichurin P, Yan XM, Farilla L, *et al.* Naked TSH receptor DNA vaccination: a TH1 T cell response in which interferon - production, rather than antibody, dominates the immune response in mice [J]. *Endocrinology*, 2001, 142(8): 3530 - 3536
- Flynn JC, Rao PV, Gora M, *et al.* Graves hyperthyroidism and thyroiditis in HLA - DRB1 * 0301 (DR3) transgenic mice after immunization with thyrotropin receptor DNA [J]. *Clin Exp Immunol*, 2004, 135: 35 - 40
- 赵紫琴, 李兰英, 朱云娟. hTSHR188 - 403 bp 基因免疫 BALB/c 小鼠建立 Graves 病动物模型 [J]. *中国免疫学杂志*, 2008, 24(2): 153 - 156
- 朱云娟, 赵紫琴, 李兰英, 等. 人促甲状腺激素受体膜外区 N 端基因免疫诱导 BALB/c 小鼠实验性格雷夫斯病 [J]. *中国地方病学杂志*, 2008, 27(3): 242 - 246

(收稿日期: 2013 - 03 - 12)

(修回日期: 2013 - 03 - 15)