

# Graves 病动物模型构建的研究进展

冒婧敬<sup>1</sup>, 相萍萍<sup>1,2</sup>, 刘超<sup>1,2</sup>

(1. 南京中医药大学附属中西医结合医院 内分泌代谢病中心, 江苏 南京, 210028;

2. 江苏省中西医结合医院 内分泌科, 江苏 南京, 210028)

**摘要:** Graves 病(GD)是一种器官特异性自身免疫病。目前, GD 治疗存在诸多难点, 包括药物治疗疗程长、复发率高、缓解率低等。GD 动物模型是研究 GD 病因、发病机制和防治方法的重要工具。近年来, 国内外研究通过更换造模材料, 改变给药途径、时间与频次以及调整造模动物品系等多种方式, 形成了多种有效的造模方法。本文就 GD 模型构建的现状和研究进展进行综述。

**关键词:** Graves 病; 小鼠; 模型; 发病机制

中图分类号: R 581.1; R 363 文献标志码: A 文章编号: 1672-2353(2021)09-113-04 DOI: 10.7619/jcmp.20201887

## Research progress in animal model construction of Graves disease

MAO Jingjing<sup>1</sup>, XIANG Pingping<sup>1,2</sup>, LIU Chao<sup>1,2</sup>

(1. Endocrine and Metabolic Disease Center, Affiliated Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine of Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing, Jiangsu, 210028;

2. Department of Endocrine, Jiangsu Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Nanjing, Jiangsu, 210028)

**Abstract:** Graves disease (GD) is an organ-specific autoimmune disease. At present, there are many difficulties in the treatment of GD, including the long course of drug treatment, high recurrence rate and low remission rate. GD animal model is an important tool to study the etiology, pathogenesis and prevention of GD. In recent years, a variety of effective modeling methods have been developed by changing modeling materials, changing administration routes, time and frequency, and adjusting the strain of modeling animals. In this paper, the status quo and research progress of GD model construction were reviewed.

**Key words:** Graves disease; mice; model; pathogenesis

Graves 病(GD)是一种常见的自身免疫性甲状腺疾病, 典型临床表现为高代谢症候群, 甲状腺弥漫性肿大, 部分患者可伴有 Graves 眼病或局限性胫前黏液性水肿<sup>[1]</sup>。GD 的发病机制主要是促甲状腺激素受体(TSHR)与促甲状腺激素受体抗体(TRAb)结合, 刺激甲状腺激素大量释放, 甲状腺滤泡增生, 从而导致甲状腺功能亢进<sup>[2]</sup>。其中 TRAb 是一种自身免疫性抗体, 分为刺激性抗体(TSAb)以及阻断性抗体(TBAb)。在 GD 患者中, 以刺激性抗体 TSAb 表达为主<sup>[3]</sup>。鉴于 TSHR 与 GD 发病相关, 目前 GD 造模多以此为切入点。

本文就 GD 模型构建造模材料、造模方法、造模成功指标等方面的研究进展进行综述。

### 1 改进造模材料构建 GD 模型

TSHR 可在体内产生抗原性抗体与抗原表位相结合, 导致 GD 发生, 故 GD 模型的构建多基于表达 TSHR 的基础。现有的造模方法主要包括采用表达 TSHR 的细胞、表达 TSHR 的质粒 DNA 以及表达 TSHR 的重组腺病毒。

#### 1.1 表达 TSHR 的细胞免疫

1996 年 SHIMOJON 等<sup>[4]</sup>首次成功建立 GD

模型,研究者以携带人 TSHR 基因的真核表达载体转染 RT4.15HP 后的细胞为载体,免疫 AKR/N (H-2K)小鼠,每 2 周免疫 1 次,共计 6 次,最终约 25% 的模型小鼠出现总甲状腺素(T<sub>4</sub>)水平增高、TSA<sub>b</sub> 阳性及甲状腺弥漫性肿大,提示造模成功。此后,有学者<sup>[5]</sup>采用表达人 TSHR 和小鼠 TSHR 的 M12(hM12、mM12)细胞免疫 BALB/c 小鼠,最终成功诱导 TSA<sub>b</sub>、T<sub>4</sub> 水平升高并出现典型甲亢症状;而后应用表达 TSHR 的重组腺病毒转染树突状细胞并注射免疫 BALB/c 小鼠,亦成功诱导约 25% 的小鼠出现甲亢<sup>[1]</sup>。但以上造模方式繁琐,均需使用其他载体转染细胞后再免疫小鼠,且成模率较低、稳定性差等,逐渐淡出研究者视线。

### 1.2 表达 TSHR 的质粒 DNA

表达 TSHR 的质粒 DNA 也可有效诱导 GD 发生。既往研究<sup>[3]</sup>发现,将表达 TSHR 的质粒 DNA(pcDNA3.1-TSHR)在小鼠双侧股四头肌注射,结果小鼠体内血清 TRAb 浓度增高,T<sub>4</sub>、TSA<sub>b</sub> 水平均增高,而 TBA<sub>b</sub> 水平差异无统计学意义;甲状腺组织呈现甲状腺滤泡增生、胶质浓缩等 GD 的病理表现,提示该质粒可有效建立 GD 小鼠模型。同样,XIA N 等<sup>[6]</sup>采用 pcDNA3.1 质粒载体构建 pcDNA3.1-T289 重组质粒 DNA,使 90% 小鼠出现明显的甲状腺肿大和甲亢表现,80% 实验小鼠血清 T<sub>4</sub>、TRAb 水平显著升高合并甲状腺滤泡肥大和增生,同时 MRI 显像能明显观察到小鼠眼眶肌肉成纤维细胞增大,提示应用质粒 DNA 可成功构建 GD 小鼠模型。此外,pcDNA3.1-TSHR268 重组质粒也可显著提高小鼠模型的 TSHR 水平<sup>[7]</sup>,但重组质粒免疫的小鼠常会出现甲减而非甲亢<sup>[8]</sup>。质粒 DNA 重组方式多样,一部分如 pBacMam-2 或 pTriEx-1.1 构建的质粒 DNA,具有更高的稳定性,但代价较高<sup>[9]</sup>。部分质粒 DNA 在短期实验中无法有效诱导小鼠发生 GD<sup>[6]</sup>。上述不足限制了质粒 DNA 的应用,仍有待进一步完善。

### 1.3 表达 TSHR 的重组腺病毒

相对于质粒 DNA 载体,采用表达 TSHR 全长或 TSHR A 亚单位的重组腺病毒造模重复性更好,成模率更高。GD 的发病是由于 TSHR 结构发生异常改变,在二硫键异构酶以及蛋白酶酶解作用下,连接 A、B 2 个亚单位的二硫键发生溶解断裂,TSHR-A 亚单位脱落表达于细胞表面,诱发并增强自身免疫反应<sup>[10]</sup>。脱落出来的 A 亚单位三聚体结构与致病性 TSA<sub>b</sub> 的抗体具有更高的亲和力<sup>[11]</sup>。

CHEN C R 等<sup>[12]</sup>在 2003 年构建重组腺病毒 Ad-TSHR289,造模成功率高达 86%,并具有高度可重复性,同时还发现应用表达 TSHR-A 亚单位的腺病毒比表达 TSHR 全长者具有更高的造模成功率,TSA<sub>b</sub> 活性也更高。此后,研究者多采用表达 TSHR-A 亚单位的重组腺病毒进行造模。伍丽萍等<sup>[13]</sup>为比较表达 TSHR 的质粒 DNA 和腺病毒的造模效果,分别建立质粒组和病毒组小鼠模型,质粒造模组予 pcDNA3.1-TSHR 50 $\mu$ g 皮内注射,造模组予肌肉注射 Ad-TSHR289,重组腺病毒造模组中所有小鼠的 TRAb 和 T<sub>4</sub> 水平均升高,8 只小鼠中 6 只出现甲状腺增大、甲状腺滤泡组织增生等甲亢症状,而质粒造模组仅 2 只小鼠出现较弱 TSHR 抗体反应且总 T<sub>4</sub> 水平没有升高,甲状腺组织未发生增生性改变。另一研究<sup>[14]</sup>发现,应用 TSHR 重组腺病毒 A 亚单位长时间(3~4 周)免疫 BALB/c 小鼠可以显著增加小鼠抗 TSHR 抗体滴度,促进 TSHR 依赖性 cAMP 水平提高;同时能够促使小鼠出现典型甲状腺肿、甲状腺滤泡组织明显增大,且上述作用可维持长达 9 个月,此外,模型小鼠还出现了心脏肥大、心脏重量增加以及心动过速现象。以上研究表明重组腺病毒建立 GD 模型更稳定、成功率更高。尽管该法还需进一步改进,但仍是目前 GD 造模材料的最佳选择<sup>[15]</sup>。

## 2 改进造模方法构建 GD 模型

### 2.1 改进给药途径

目前 GD 模型的制备可采用多种给药途径,主要包括腹腔注射、股四头肌肌肉注射、尾静脉注射以及电穿孔注射等方法。

早期采用表达 TSHR 的细胞免疫小鼠时,多采取腹腔注射细胞,但该法成模率低,逐渐被淘汰。肌肉注射是目前应用最广泛的给药方式,无论是采用表达 TSHR A 亚单位的腺病毒还是质粒 DNA 都可采用肌肉注射且效果较好。赵紫琴等<sup>[3]</sup>对 BALB/c 小鼠双侧股四头肌注射 pcDNA3.1/hTSHR(188~403 bp)质粒 DNA,每 3 周 1 次,共免疫 5 次,在第 2 次免疫后发现小鼠 T<sub>4</sub>、TRAb 以及 TSA<sub>b</sub> 水平显著升高,病理显示甲状腺滤泡增生,提示成功建立了 GD 模型。

电穿孔(EP)载药也是造模的有效方法之一。电穿孔介导 pC1-hTSHR289His-IRES-CD4 载体免疫小鼠,可使其发生甲亢并可检测出高滴度 TSA<sub>b</sub>

抗体,且该抗体活性明显高于多数模型<sup>[16-17]</sup>。与构建病毒载体相比,电穿孔表达载体快捷、方便,无需建立表达或突变体的细胞系。重组质粒 pcDNA3.1/TSHR268 加电穿孔方法也可成功构建 GD 动物模型<sup>[18]</sup>,在造模第4周时,小鼠血清中 T4、TRAb 羧基端抗体和氨基端抗体水平均达到最高值,停止免疫后18周仍明显高于免疫前水平,提示电穿孔法或可延长 GD 的成模时间。不仅如此,电穿孔法还有助于诱发甲亢突眼,产生显著的眼眶肿大、肉眼可见的眼结膜水肿、眼眶血管扩张和堵塞<sup>[19]</sup>。故利用肌肉注射与电穿孔技术,通过表达载体重复免疫后,均可成功造模 GD 小鼠模型,成功率较高。目前,比较肌肉注射与电穿孔免疫的造模效果的研究较少,但有研究发现,通过电穿孔方法传导腺病毒会导致小鼠在最后1次免疫的4月后死亡<sup>[20]</sup>,故仍需更多研究证明两者的优劣性。

## 2.2 改变给药时间及免疫次数

GD 小鼠免疫周期不完全一致,从2次免疫后2周到3次免疫后8周不等,但多集中在2次免疫后2周及3次免疫后4周。

研究<sup>[21]</sup>发现,每3周1次,共3次,末次免疫后4周造模为 GD 小鼠模型的最佳免疫周期,该免疫周期下,实验小鼠血清 TRAb 水平能达到最高水平,T4 水平升高,并能持续8周。叶枫等<sup>[22]</sup>比较第2次免疫后2周与第3次免疫后4周的造模效果,2组小鼠 TRAb 水平均明显升高,而其中3次免疫4周造模组的成模率(75%)最高,且其甲状腺组织改变与 T4 水平变化吻合度为100%。同样,CHEN C R 等<sup>[11]</sup>选用重组腺病毒 A 亚单位免疫 BALB/c 小鼠,分别比较2次免疫后1周(5周造模),末次免疫后4周(10周造模)及8周(14周造模)小鼠的 TRAb 及 T4 水平,结果发现5周造模组 TRAb 滴度及甲亢发生率与10周造模相似,而14周造模组的抗体水平及 T4 升高的阳性率略低于10周造模组,表明造模时间并非越长越好。HOLTHOFF H P 等<sup>[14]</sup>发现利用重组腺病毒每3~4周进行一次免疫,连续免疫9次,可使模型维持时间延长至9个月,是迄今为止最长维持时间,提示造模时间及免疫次数对 GD 模型有重要影响。

## 2.3 调整动物品系

不同小鼠品系对相同抗体会产生不同反应,SAITOH O 等<sup>[23]</sup>发现,使用 AdTSHR289 抗体免疫

C57BL6 以及 BALB/c 雌性小鼠时,小鼠体内均可产生 TSAb 抗体,但只有 BALB/c 小鼠会出现甲亢病征。与 C57BL6 小鼠相比,BALB/c 小鼠能够产生更多的 TSAb,且能产生甲状腺组织的生理变化和眼眶组织的改变<sup>[24]</sup>,故 BALB/c 小鼠是目前研究 GD 造模的主要小鼠品系。此外,一种 NOD. H2<sup>h4</sup> 小鼠可自发产生免疫性甲状腺炎,甲状腺球蛋白抗体、以及甲状腺过氧化物酶抗体,但不能产生 TSHR 抗体,通过将人 TSHR A 亚单位转移至 NOD. H2<sup>h4</sup> 小鼠后,该转基因小鼠可自发产生 TSAb<sup>[25-26]</sup>,为 GD 提供了新模型,但该小鼠模型研究较少,无法保证其可重复。通常情况下,雌性小鼠本身更容易出现自身免疫性疾病,但有研究<sup>[27]</sup>发现在相同的 GD 模型实验条件下,雄性小鼠 TSH、FT4 的表达水平会比雌性小鼠更高,但性别对于小鼠 GD 造模的具体影响尚不明确。此外,王悦等<sup>[28]</sup>通过肌肉注射重组腺病毒,将猕猴与小鼠进行 GD 造模对比,发现与猕猴相比,小鼠模型 GD 甲亢的诱导时间更短,发生率更高,同时 GD 猕猴基础生理生化指标和免疫相关指标中显示出更多与人类 GD 患者类似的表现及机制。该实验可为日后探索 GD 发病机制及评估新治疗方案研究提供新的造模动物类型,可以根据2种动物 GD 模型的不同特点选择更合适的研究工具。

## 3 鉴定造模成功的指标

检测 GD 造模成功的指标有很多种,临床上 GD 主要以甲状腺毒症所致高代谢症状和体征、甲状腺弥漫性肿大、TRAb 阳性,以及 T3、T4 水平增高和 TSH 水平降低为主。若症状不明确,可进一步测定放射性碘(RAIU)摄取率(增高)或进行甲状腺 B 超确诊<sup>[2]</sup>。

对于 GD 小鼠造模病理和指标变化可分为以下几个方面。①临床症状:出现一系列甲亢临床表现如体重减轻等;②实验室指标:甲状腺素水平增高或促甲状腺素水平降低;血清 TRAb 阳性,尤其是 TSAb 水平;③形态学变化:甲状腺增大,甲状腺滤泡上皮细胞增生,滤泡胶质浓缩或乳头状增生等甲亢表现<sup>[29-30]</sup>。理想的 GD 小鼠模型需要同时具有生化指标变化和甲状腺病理变化。

## 4 小结

GD 的造模始终是当前疾病研究中的难点。近年来,经过多方面的探索,目前已能够成功建立

一个长期并且稳定的 GD 小鼠模型。上述研究提示,经 3 次应用表达促 TSHR-A 亚单位腺病毒免疫 BALB/c 小鼠,免疫后 4 周造模效果最佳, TSHR 抗体水平明显增高,血清 T4 水平升高,甲状腺滤泡上皮细胞增生肥大,滤泡腔中胶质含量减少或缺失等一系 GD 体征出现,为目前较为理想小鼠 GD 模型。

然而,不同研究者采取的终点时间并不一致,同类别小鼠以及相同免疫时间中免疫周期亦不相同,从 2 次免疫后 2 周到 3 次免疫后 8 周不等,部分实验免疫时间不足导致实验结果不够精准,缺乏可比性,故不同免疫时间及周期对于 GD 小鼠造模的影响并不全面,需要更多免疫时间和周期不同的 GD 小鼠造模实验以及同类型条件的对比,以提供更加合理且有效的模型。从给药途径来看,目前电穿孔造模成功率较高,但其操作难度较大且耗费较高,并有小鼠死亡个例,故肌肉注射可能更为经济且常用。此外,更多类别人工合成质粒 DNA 及重组腺病毒等造模材料有待发掘,为 GD 小鼠模型的构建提供更加高效、便捷的造模条件。目前对于小鼠品系的研究较少,常用小鼠仍为 BALB/c 小鼠,对于其他品系如 NOD. H2<sup>h4</sup> 等新型鼠种以及猕猴等其他动物种类,需进一步研究其可行性。转基因模型作为自发性的 GD 模型似乎具有更加广阔的前景,该模型可传代,可供深入研究母体及子代 GD 的发病机制。

综上所述,目前现有 GD 模型各有特点,但仍非理想的 GD 模型,例如伴有 Graves 眼病的模型仍不稳定,或者无法展现 GD 的多系统损害等表现。未来仍需更深入的研究以优化 GD 的造模方式,提高造模效率,为加深 GD 的病因学及发病机制的认识提供依据。

#### 参考文献

- UNGERER M, FABBENDER J, LI Z, *et al.* Review of mouse models of Graves' disease and orbitopathy-novel treatment by induction of tolerance[J]. *Clin Rev Allergy Immunol*, 2017, 52(2): 182-193.
- KAHALY G J, BARTALENA L, HEGEDÜS L, *et al.* 2018 European thyroid association guideline for the management of Graves' hyperthyroidism[J]. *Eur Thyroid J*, 2018, 7(4): 167-186.
- 赵紫琴, 李兰英, 朱云娟. hTSHR188-403bp 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.
- SHIMOJO N, KOHNO Y, YAMAGUCHI K, *et al.* Induction of Graves-like disease in mice by immunization with fibroblasts transfected with the thyrotropin receptor and a class II molecule[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, 93(20): 11074-11079.
- KAITHAMANA S, FAN J, OSUGA Y, *et al.* Induction of experimental autoimmune Graves' disease in BALB/c mice[J]. *J Immunol*, 1999, 163(9): 5157-5164.
- XIA N, YE X Z, HU X H, *et al.* Simultaneous induction of Graves' hyperthyroidism and Graves' ophthalmopathy by TSHR genetic immunization in BALB/c mice[J]. *PLoS One*, 2017, 12(3): e0174260.
- 冯思源. BALB/c 小鼠格雷夫斯病伴格雷夫斯眼病模型的制备[D]. 天津: 天津医科大学, 2018.
- MOSHKELGOSHA S, SO P W, DEASY N, *et al.* Cutting edge: retrobulbar inflammation, adipogenesis, and acute orbital congestion in a preclinical female mouse model of Graves' orbitopathy induced by thyrotropin receptor plasmid-in vivo electroporation[J]. *Endocrinology*, 2013, 154(9): 3008-3015.
- 郑薇, 谭建, 李宁. BALB/c 小鼠格雷夫斯病模型的构建[J]. *中华核医学与分子影像杂志*, 2014, 34(5): 390-395.
- ECKSTEIN A, PHILIPP S, GOERTZ G, *et al.* Lessons from mouse models of Graves' disease[J]. *Endocrine*, 2020, 68(2): 265-270.
- CHEN C R, HUBBARD P A, SALAZAR L M, *et al.* Crystal structure of a TSH receptor monoclonal antibody: insight into Graves' disease pathogenesis[J]. *Mol Endocrinol*, 2015, 29(1): 99-107.
- CHEN C R, 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.
- 伍丽萍, 施秉银, 旬利茹, 等. Graves 病动物模型诱导方法及持续时间的探讨[J]. *中华内科杂志*, 2012, 51(10): 793-797.
- HOLTHOFF H P, GOEBEL S, LI Z M, *et al.* Prolonged TSH receptor A subunit immunization of female mice leads to a long-term model of Graves' disease, tachycardia, and cardiac hypertrophy[J]. *Endocrinology*, 2015, 156(4): 1577-1589.
- 覃海知, 黄一薇, 刘强, 等. 以 Ad-TSHR-289 构建 Graves 病动物模型的研究进展[J]. *辽宁中医杂志*, 2017, 44(7): 1561-1564.
- WIESWEG B, JOHNSON K T, ECKSTEIN A K, *et al.* Current insights into animal models of Graves' disease and orbitopathy[J]. *Horm et Metab*, 2013, 45(8): 549-555.
- NAGAYAMA Y, NAKAHARA M, ABIRU N. Animal models of Graves' disease and Graves' orbitopathy[J]. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*, 2015, 22(5): 381-386.
- ZHENG W, WANG R F, TAN J, *et al.* An improved method for the establishment of a model of Graves' disease in BALB/c mice[J]. *Mol Med Rep*, 2017, 15(4): 1471-1478.

- 2017, 2017; 2929381.
- [48] ZHANG C, HUANG C X, SUI X B, *et al.* Association between gene methylation and HBV infection in hepatocellular carcinoma: a meta-analysis[J]. *J Cancer*, 2019, 10(25): 6457–6465.
- [49] XIANG L, CHEN L M, ZHAI Y J, *et al.* Hypermethylation of secreted frizzled related protein 2 gene promoter serves as a noninvasive biomarker for HBV-associated hepatocellular carcinoma[J]. *Life Sci*, 2021, 270: 119061.
- [50] ZEKRI A E L-R, NASSAR A A, EL-DIN EL-ROUBY M N, *et al.* Disease progression from chronic hepatitis C to cirrhosis and hepatocellular carcinoma is associated with increasing DNA promoter methylation[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2014, 14(11): 6721–6726.
- [51] ELSEWIFY W A E, HASSAN E A, MEKKY M A, *et al.* Usefulness of circulating methylated p16 as a noninvasive molecular biomarker for hepatitis C-related hepatocellular carcinoma with normal serum alpha-fetoprotein levels[J]. *Int J Gen Med*, 2020, 13: 147–155.
- [52] CHALASANI N P, RAMASUBRAMANIAN T S, BHATTACHARYA A, *et al.* A novel blood-based panel of methylated DNA and protein markers for detection of early-stage hepatocellular carcinoma[J]. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2020: S1542–S3565(20)31224–6.
- [53] PASHA H F, MOHAMED R H, RADWAN M I. RASSF1A and SOCS1 genes methylation status as a noninvasive marker for hepatocellular carcinoma[J]. *Cancer Biomark*, 2019, 24(2): 241–247.
- [54] ZHANG Y J, WU H C, SHEN J, *et al.* Predicting hepatocellular carcinoma by detection of aberrant promoter methylation in serum DNA[J]. *Clin Cancer Res*, 2007, 13(8): 2378–2384.
- [55] LIU M, JIANG L X, GUAN X Y. The genetic and epigenetic alterations in human hepatocellular carcinoma: a recent update[J]. *Protein Cell*, 2014, 5(9): 673–691.
- [56] CHEN X, ZHANG J T, RUAN W M, *et al.* Urine DNA methylation assay enables early detection and recurrence monitoring for bladder cancer[J]. *J Clin Invest*, 2020, 130(12): 6278–6289.
- [57] SHIN S H, LEE K, KIM B H, *et al.* Bile-based detection of extrahepatic cholangiocarcinoma with quantitative DNA methylation markers and its high sensitivity[J]. *J Mol Diagn*, 2012, 14(3): 256–263.

(本文编辑:周娟)

(上接第 116 面)

- [19] MOSHKELGOSHA S, SO P W, DIAZ-CANO S, *et al.* Pre-clinical models of Graves' disease and associated secondary complications[J]. *Curr Pharm Des*, 2015, 21(18): 2414–2421.
- [20] KANEDA T, HONDA A, HAKOZAKI A, *et al.* An improved Graves' disease model established by using *in vivo* electroporation exhibited long-term immunity to hyperthyroidism in BALB/c mice[J]. *Endocrinology*, 2007, 148(5): 2335–2344.
- [21] SCHLÜTER A, FLÖGEL U, DIAZ-CANO S, *et al.* Graves' orbitopathy occurs sex-independently in an autoimmune hyperthyroid mouse model[J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 13096.
- [22] 叶枫, 伍丽萍, 侯鹏, 等. Graves 病动物模型干预模式的探讨[J]. *西安交通大学学报: 医学版*, 2014, 35(2): 222–226.
- [23] SAITOH O, NAGAYAMA Y. Regulation of Graves' hyperthyroidism with naturally occurring CD4+ CD25+ regulatory T cells in a mouse model[J]. *Endocrinology*, 2006, 147(5): 2417–2422.
- [24] MOSHKELGOSHA S, MASETTI G, BERCHNER-PFANNSCHMIDT U, *et al.* Gut microbiome in BALB/c and C57BL/6J mice undergoing experimental thyroid autoimmunity associate with differences in immunological responses and thyroid function[J]. *Horm et Metab*, 2018, 50(12): 932–941.
- [25] MCLACHLAN S M, RAPOPORT B. A transgenic mouse that spontaneously develops pathogenic TSH receptor antibodies will facilitate study of antigen-specific immunotherapy for human Graves' disease[J]. *Endocrine*, 2019, 66(2): 137–148.
- [26] RAPOPORT B, ALIESKY H A, 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.
- [27] MCLACHLAN S M, HAMIDI S, ALIESKY H, *et al.* Sex, genetics, and the control of thyroxine and thyrotropin in mice[J]. *Thyroid*, 2014, 24(7): 1080–1087.
- [28] 王悦, 张萌, 赵凤仪, 等. 小鼠及猕猴 Graves 病动物模型比较研究[J]. *中国实验动物学报*, 2020, 28(4): 455–462.
- [29] LUDGATE M, BAKER G. Inducing Graves' ophthalmopathy[J]. *J Endocrinol Invest*, 2004, 27(3): 211–215.
- [30] LUDGATE M, COSTAGLIOLA S, VASSART G. Animal models of Graves' disease[M]//*Endocrine Updates*. Boston, MA: Springer US, 2000: 127–138.

(本文编辑:周娟)