

糖尿病小鼠模型制备方法的初步探讨

屈彦纯 杜 娥 张 玥 李胜芝 韩瑞发

摘 要 目的 动物模型在糖尿病的基础和临床等领域有着广泛的应用。目前多为通过大鼠链脲佐菌素注射制备糖尿病模型。本实验探索以小鼠代替大鼠进行糖尿病动物造模的合理方法。**方法** 7 周龄雄性昆明小鼠 30 只随机分为 3 组: I 组为链脲佐菌素小剂量多次注射组; II 组为链脲佐菌素一次大剂量注射组; III 组为柠檬酸缓冲液注射对照组。各组给药方式均为腹腔注射, 实验前空腹 12 ~ 16h, 并测量空腹体重和血糖值。血糖高于 16.7mmol 的视为模型成立, 小鼠成模后 2 周测量空腹体重与血糖, 结束实验。比较各组的成模率、成模小鼠的血糖值变化和体重变化。**结果** 大剂量注射组和小剂量多次注射组分别有 9 只和 8 只小鼠模型成立。成模时和试验结束时的血糖水平和体重在两组之间具有明显差异 ($P < 0.01$)。**结论** 两种方法均可制备糖尿病小鼠模型, 且成模后血糖有继续升高的趋势, 利用昆明小鼠制备糖尿病动物模型具有成模率高、周期短、成本低等优势, 可以替代大鼠成为糖尿病动物模型制备的理想材料。

关键词 糖尿病 小鼠 动物模型 链脲佐菌素

Preliminary Studies on Approaches for Setting Up Diabetic Mice Model. Qu Yanchun, Du E, Zhang Yue, Li Shengzhi, Han Ruifa. The Tianjin Urological Institute, The 2nd Hospital of Tianjin Medical University, Tianjin 300211, China

Abstract Objective Animal models were widely used in studies on basic and clinical aspects of diabetes. Presently, diabetic animal model was usually built up by streptozocin injection of rats. In this study, we explored the possibility and suitable approach to use Kunming mice as a substitute diabetic animal model. **Methods** Thirty male seven-week-old Kunming mice were divided into three groups randomly. I was for streptozocin small dose multiple injection group; II was for streptozocin large dose single injection group; and III was for buffer solution injection control group. The mice were fasted for 12 ~ 16 hours before the streptozocin treatment and weight and fasting plasma glucose were obtained. The diabetic mice model was set up if the fasting plasma glucose was higher than 16.7mmol. The study was ended two weeks after the diabetic mice model setting up and the second fasting weight and fasting plasma glucose were obtained. The weights and fasting plasma glucose were compared between model groups. **Results** Eight and nine mice were successfully built up diabetic mice model for group I and group II respectively. Furthermore, fasting weights and fasting plasma glucose were different significantly between groups ($P < 0.01$). **Conclusion** Both approaches can set up diabetic mice model successfully, and the fasting plasma glucose continually rose up after the model was set up. Kunming mice can substitute rats as a diabetic animal model with the advantage low cost, short duration and higher success rate.

Key words Diabetes; Mice; Animal model; Streptozocin

糖尿病是一种常见的多发性代谢病。目前全球的糖尿病发病人口呈迅速增加的趋势, 给人们的健康带来了严重的威胁。糖尿病动物模型是糖尿病基础与临床研究中有着广泛应用的研究工具, 常用的糖尿病动物模型有实验性糖尿病模型和自发性糖尿病模型两种, 自发性动物模型由于昂贵的成本目前尚未得到广泛的应用^[1]。制备实验性动物模型的方法包括

胰腺切除术和化学药物诱导, 其中化学诱导法由于简单易行得到了较为广泛的应用。目前多用的化学诱导药物为链脲佐菌素 (streptozotocin, STZ), STZ 对机体组织的不良反应小, 造模动物病死率低, 长期稳定性好, 是目前国内外使用较多的糖尿病模型制备方法。造模动物多采用大鼠^[2-4]。由于大鼠对 STZ 的敏感性很高, 诱导糖尿病模型的用药剂量需严格控制, 否则易造成死鼠等问题, 用小鼠代替大鼠, 可以耐受更高的 STZ 剂量, 减少死亡, 并可以降低糖尿病动物模型制备的成本。本研究探讨了不同给药方式 (大剂量一次性腹腔注射和小剂量多次注射) 制备小鼠糖尿病动物模型的成模率和体重、血糖等生理指标的改变。

基金项目: 天津市高等学校科技发展计划项目 (20080101)

作者单位: 300211 天津医科大学第二医院、天津市泌尿外科研究所

通讯作者: 韩瑞发, 电子信箱: han_ruifa@hotmail.com

材料与方法

1. 试验动物及分组处理:7 周龄雄性昆明小鼠 30 只,购自天津山川红实验动物有限公司。随机分为 3 组,分别做链脲佐菌素大剂量单次腹腔注射和和小剂量多次腹腔注射处理,另一组注射枸橼酸缓冲液作为对照组。全部小鼠自由采食、饮水,自然光照。

2. 试验过程及方法:实验处理前空腹 12~16h,称量体重,以美国会好优测型血糖仪采尾部血液测量空腹血糖。链脲佐菌素购自 Sigma 公司,溶于 pH4.6 的柠檬酸缓冲液,配制 10mg/ml 链脲佐菌素溶液,以 0.22μm 滤膜除菌,保存于冰上,通过腹腔注射给药,其中大剂量单次注射组按照 180mg/kg 体重注射,小剂量多次注射组按照 50mg/kg 体重连续 5 天给药^[5]。最后一次药物注射结束后第 3 天测量空腹血糖,小鼠血糖值高于 16.7mmol 并出现多饮多尿等症状视为模型成立^[6]。小鼠成模后继续饲养两周,再次测量体重和空腹血糖。结束实验,统计分析各组小鼠的成模率和成模前后体重和空腹血糖等指标的变化特征。

3. 数据统计分析:各组组内不同时点的体重以 ANOVA 进行分析,各组之间同一时点的数量性状特征比较采用独立分组 *t* 检验,计数指标采用 Fisher 精确检验方法分析。统计分析采用 SPSS11.5 完成。

结 果

大剂量单次腹腔注射组和小剂量多次腹腔注射组分别有 9 只和 8 只模型成立,经 Fisher 精确检验差异不显著($P=0.50$)。分别采用独立分组的 *t* 检验分析大剂量和小剂量组成模前后的体重变化并比较了两种不同处理方法成模后体重及空腹血糖水平的差异,结果大剂量单次注射组成模后与结束实验前体重与处理前相比体重均显著减轻($P<0.01$),小剂量多次注射组成模时体重与处理前相比未发生显著变化,但在实验结束时体重比处理前也显著减轻($P<0.01$)(表 1)。两种不同的处理成模后,一次性大剂量注射法处理的动物体重减轻更显著($P<0.01$)(表 2),且空腹血糖水平也更高($P<0.01$)。两种处理方法在成模后到结束实验血糖水平均有显著升高($P<0.01$)(表 3)。结果表明,STZ 小剂量多次注射和大

表 1 不同处理方法成模前后及实验结束时的
体重变化特征

处理方式	W0(g)	W1(g)	W2(g)
小剂量多次注射	29.5±1.7 ^A	28.0±1.7 ^{AB}	26.5±1.9 ^B
大剂量单次注射	28.6±2.1 ^A	23.8±2.3 ^B	22.0±1.9 ^B

小鼠不同阶段的体重通过单因素方差分析进行比较,具有显著性差异的体重以不同的字母进行标识。表中同行上标为不同大写字母表示差异极显著, $P<0.01$;表中同行有相同字母则差异不显著。W0:试验开始时空腹体重;W1:模型建立时空腹体重;W2:试验结束时空腹体重

表 2 两种处理方法成模后体重与血糖差异比较

处理方式	小剂量多次注射	大剂量单次注射	<i>P</i>
W1(g)	28.0±1.7	23.8±2.3	<0.01
W2(g)	26.5±1.9	22.0±1.9	<0.01
G1(mmol/L)	19.1±1.4	23.8±1.1	<0.01
G2(mmol/L)	22.8±2.0	29.8±2.3	<0.01

体重和空腹血糖通过独立分组的 *T* 检验进行分析。W1:模型建立时空腹体重;W2:试验结束时空腹体重;G1:模型建立时空腹血糖;G2:试验结束时空腹血糖

表 3 两种处理方法成模后与实验结束前血糖差异比较

处理方式	G1(mmol/L)	G2(mmol/L)	<i>P</i>
小剂量多次注射	19.1±1.4	22.8±2.0	<0.01
大剂量单次注射	23.8±1.1	29.8±2.3	<0.01

空腹血糖差异通过 *T* 检验进行比较。G1:模型建立时空腹血糖;G2:试验结束时空腹血糖

剂量单次注射均能获得稳定的糖尿病小鼠模型,单次大剂量注射造成的生理变化和血糖波动比小剂量多次注射更为剧烈。

讨 论

糖尿病动物模型在糖尿病基础与临床治疗研究中有着非常广泛的应用。本研究重点探讨了小剂量多次注射和大剂量单次腹腔注射 STZ 对糖尿病小鼠模型成模的稳定性和生理状况,尤其是体重和空腹血糖的波动强度的影响和特征,为研究者以小鼠为实验材料制被糖尿病模型研究糖尿病动物的组织器官损伤和药物对糖尿病损伤的治疗作用提供了参考依据。本研究系统的评价了不同的给药方式对糖尿病模型小鼠体重和血糖水平的影响,发现不同的 STZ 处理方式导致的血糖波动和生理变化具有显著的差异。单次大剂量 STZ 注射对糖尿病模型的体重影响较大,且血糖水平上升速度快且波动幅度大,多饮多尿等糖尿病特异性症状非常典型,一般认为这是由于 STZ 造成大量胰岛 β 细胞的损伤坏死,导致胰岛素分泌迅速降低,从而引起血糖迅速升高,造成急性糖尿病^[7],适用于研究高血糖和糖尿病所带来的急性损伤,对模型动物的生理状况带来的毒性作用也较大。而小剂量多次注射 STZ 的动物模型,体重减轻相对较为缓和,而且空腹血糖波动范围较窄,更适合研究高血糖和糖尿病所引起的慢性损伤和并发症,可以模拟 1 型糖尿病的主要临床特征^[8]。这主要是由于小剂量多次注射对胰岛 β 细胞的直接损伤较小,胰岛素的分泌由于未被损伤的 β 细胞具有代偿性补充而

没有发生急骤下降;在疾病的进展过程中会通过 β 细胞的自身抗体介导的免疫损伤使胰岛素的分泌逐级下降。最终导致了不可逆的血糖升高,造成 1 型糖尿病的发生。

也有部分研究者认为大剂量 STZ 注射造模没有胰岛 β 细胞自身免疫过程的参与,可以视为 2 型糖尿病,我们认为 STZ 对 β 细胞的急骤破坏造成的胰岛素分泌骤减与 2 型糖尿病的胰岛素抵抗与相对缺乏有着根本区别。2 型糖尿病模型可以通过单次 STZ 小剂量注射与高糖高脂饲料相结合来制备。而小剂量多次注射可以更好的模拟 1 型糖尿病的特征。通过这些数据资料,我们认为小鼠可以通过不同方式的 STZ 处理,获得 2 型或 1 型糖尿病模型,有利于降低实验动物的成本,获得稳定且符合实验需要的糖尿病动物模型。

参考文献

- 1 魏荣锐,苗明三. 糖尿病动物模型及特点分析. 中医研究,2010,23

(2):7-11

- 2 王太成,任大力,陈启龙. 链脲佐菌素诱导 1 型糖尿病大鼠模型方法改进. 新疆医科大学学报,2010,33(5):499-500
- 3 于德民,吴锐,尹潍,等. 链脲佐菌素诱导大鼠糖尿病肾病动物模型. 中国糖尿病杂志,1995,3(2):105-109
- 4 徐坤,何继端,张思功,等. 2 型糖尿病大鼠经不同干预后血浆内脏脂肪素水平的变化. 兰州大学学报(医学版),2010,36(2):39-43
- 5 郑素玲,陈超,武炜,等. 链脲佐菌素诱导小鼠 II 型糖尿病模型的研究. 动物医学进展,2010,31(7):60-63
- 6 黄昕,崔磊,曹谊林. STZ 诱导裸鼠糖尿病模型的建立及观察. 组织工程与重建外科杂志,2007,3(4):186-188
- 7 邵伟娟,陶凌云,赵茜茜,等. 不同剂量 STZ 诱导小鼠糖尿病模型及生殖能力的研究. 上海交通大学学报(农业科学版),2007,25(6):541-546
- 8 王叶,邢杰. STZ 诱导小鼠 DM 模型及其机制的研究. 中国实验诊断学,2010,14(7):1023-1025

(收稿:2010-09-25)

(修回:2011-03-08)

中药治疗痰瘀互结型阻塞性睡眠呼吸暂停综合征的临床观察

王春娥 诸 晶 严桂珍

摘 要 目的 观察中药“鼾症一号方”治疗痰瘀互结型阻塞性睡眠呼吸暂停综合征(obstructive sleep apnea syndrome, OSAS)的临床疗效。**方法** 30 例痰瘀互结型 OSAS 患者入选为治疗组,另随机选取 30 例 OSAS 患者为对照组。除一般性治疗外,治疗组给予“鼾症一号方”治疗 3 个月,对照组不予其他治疗。比较两组治疗前后中医证素积分和西医睡眠监测指标差异。**结果** 两组中医证素积分、呼吸暂停-低通气指数(AHI)、夜间最低血氧饱和度均有改善,治疗组改善更明显,差异有统计学意义。证候积分,治疗前 9.53 ± 1.36 比治疗后 4.70 ± 1.06 , $P < 0.05$; AHI, 治疗前 33.34 ± 9.01 次/小时比治疗后 12.28 ± 6.45 次/小时, $P < 0.05$; 夜间最低血氧饱和度,治疗前 $69.73\% \pm 11.44\%$ 比治疗后 $83.08\% \pm 5.36\%$, $P < 0.05$ 。对照组前后比较差异无统计学意义,证候积分,治疗前 9.07 ± 1.21 比治疗后 8.87 ± 1.29 , $P > 0.05$; AHI, 治疗前 30.52 ± 5.89 次/小时比治疗后 27.20 ± 5.99 次/小时, $P > 0.05$, 夜间最低血氧饱和度,治疗前 $71.43\% \pm 6.67\%$ 比治疗后 $73.62\% \pm 6.39\%$, $P > 0.05$ 。**结论** “鼾症一号方”治疗阻塞性睡眠呼吸暂停综合征疗效可靠,耐受性好,无不良反应。

关键词 中药治疗 阻塞性睡眠呼吸暂停综合征 痰瘀互结型

Effects of Chinese Medicinal Herbs on Phlegm and Blood Stasis Type of Obstructive Sleep Apnea Syndrome. Wang Chune, Zhu Jing, Yan Guizhen. Respiratory Diseases Department of the Second People's Hospital Affiliated to Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fujian 350005, China

Abstract Objective To evaluate the efficacy of Chinese medical herbs "the 1st snoring prescription" for phlegm and blood stasis type of obstructive sleep apnea syndrome. **Methods** Thirty cases of phlegm and blood stasis type patients with OSAS were selected for the treatment group and the other 30 cases of OSAS patients were randomly selected as the control group. In addition to general treatment, the cases in treatment group were given "the 1st snoring prescription" for 3 months, while no other treatment to control group. Then integral

基金项目:福建省教育厅科技基金资助项目(JB10080)

作者单位:350003 福州,福建中医药大学附属第二人民医院呼吸科