

STZ 诱导的 2 型与 1 型糖尿病大鼠模型的对比研究

崔雅忠 杨 丹 张 倩 王 超 张改丽 梁晓春 吴群励

摘 要 **目的** 观察链脲佐菌素(STZ)诱导的 2 型与 1 型糖尿病大鼠模型的差异。**方法** 雄性 SD 大鼠,高脂高糖饲养 6 周后按 35mg/kg 单次腹腔注射 2% STZ 溶液建立 2 型糖尿病(T2DM)模型,普通饲料饲养 6 周后按 60mg/kg 单次腹腔注射 2% STZ 溶液建立 1 型糖尿病(T1DM)模型,设立正常对照组。检测大鼠体重、血糖、糖化血红蛋白(HbA1c)、血脂谱及氧化型低密度脂蛋白(ox-LDL)水平。**结果** 与正常组比较,糖尿病组大鼠的血糖、血脂和 ox-LDL 水平显著升高($P < 0.01$);T1DM 组体重显著下降($P < 0.01$),T2DM 组体重差异无统计学意义($P > 0.05$)。T2DM 组的体重、血脂谱及 ox-LDL 水平显著高于 T1DM 组($P < 0.01$),血糖差异无统计学意义($P > 0.05$)。**结论** 高脂、高糖喂养基础上单次腹腔注射 STZ 可成功诱导 2 型糖尿病大鼠模型,其体重及血脂异常显著高于 1 型糖尿病模型,近似于人类 2 型糖尿病。

关键词 糖尿病 大鼠模型 链脲佐菌素 高脂高糖饮食

中图分类号 R4

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2018.05.009

Comparison of Type 2 and Type 1 Diabetic Rats Induced by Streptozotocin. Cui Yazhong, Yang Dan, Zhang Qian, et al. Department of Traditional Chinese Medicine, Peking Union Medical College Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100730, China

Abstract **Objective** To observe the difference between type 2 and type 1 diabetic rats induced by streptozotocin (STZ). **Methods** Male SD rats, after 6 weeks' high fat and high sugar diet and then with a single intraperitoneal injection of 2% STZ solution by dose of 35mg/kg to establish type 2 diabetes mellitus (T2DM) model, common diet for 6 weeks to establish type 1 type 1 diabetes mellitus (T1DM) model by single intraperitoneal injection of 60mg/kg 2% STZ. And the normal control group is also established. The body weight, blood sugar, glycated hemoglobin (HbA1c), blood lipid spectrum and oxidized low density lipoprotein (ox-LDL) level were measured. **Results** Compared with the normal group, the blood glucose, lipid and ox-LDL levels in the diabetic group increased significantly ($P < 0.01$), the weight in the T1DM group decreased significantly ($P < 0.01$), and there was no significant difference in the T2DM group ($P > 0.05$). The body weight, blood lipid spectrum and ox-LDL level in T2DM group were significantly higher than those in T1DM group ($P < 0.01$). There was no significant difference in blood sugar between T1DM and T2DM groups ($P > 0.05$). **Conclusion** A single intraperitoneal injection of STZ in rats on the basis of high fat and high glucose diet can induce type 2 diabetes model similar to human type 2 diabetes, and their body weight and blood lipid abnormalities are significantly higher than those of type 1 diabetes.

Key words Diabetes mellitus; Rat model; Streptozotocin; High fat and glucose diet

据国际糖尿病联盟预测至 2030 年全球成人糖尿病(diabetes mellitus, DM)患者将增加至 5.52 亿。随着我国经济的发展和人们生活方式的改变,中国已经成为全世界糖尿病第一大国,成年人口发生率高达 11.6%,且 2 型 DM 占糖尿病总体人群的 90% 以上^[1]。建立 2 型糖尿病(T2DM)动物模型,对研究 T2DM 的发病机制、治疗和预防十分重要。目前国内构建 T2DM 动物模型的方法很多,比如自发性性

模型、转基因/基因敲除模型、药物诱导、膳食诱导、药物+膳食诱导等。笔者采用链脲佐菌素(STZ)加高脂高糖膳食诱导建立 T2DM 模型,并与单纯 STZ 诱导的 1 型糖尿病(T1DM)模型做比较,分析其模型特点。

材料与方法

1. 材料:(1)动物及饲料:6~7 周龄的清洁级雄性 SD 大鼠,体重 180~200g,购自北京维通利华实验动物技术有限公司,实验动物许可证号:京 2007-0101,实验动物伦理号:XHDW-2015-0050。高脂高糖饲料配方:猪油 10%、蔗糖 20%、胆固醇 2.5%、胆酸盐 0.5%、基础饲料 67%,由北京科奥协力公司提供。(2)主要试剂与仪器:链脲佐菌素(STZ,美国

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81001580);北京市自然科学基金资助项目(7152122)

作者单位:100730 北京协和医学院/中国医学科学院北京协和医院中医科、北京协和医院转化医学中心

通讯作者:吴群励,电子信箱:chinlie@163.com

Sigma 公司)、氧化型低密度脂蛋白(ox - LDL) ELISA 试剂盒(上海西唐生物科技有限公司)、血糖仪(德国罗氏公司)、全自动生化分析仪(美国 Beckman 公司)、多功能酶标仪(美国 Thermo 公司)。

2. 方法:(1) 动物模型建立及分组:适应性喂养大鼠 3 天。10 只于实验开始即第 0 周喂以高脂高糖饲料,饲养 6 周禁食 12h 后按 35mg/kg 单次腹腔注射 2% STZ 溶液(pH 值 4.4),建立 2 型糖尿病模型(T2DM 组)。10 只喂以普通饲料,饲养 6 周禁食 12h 后按 60mg/kg 单次腹腔注射 2% STZ(pH 值 4.4)溶液,建立 1 型糖尿病(T1DM 组)。造模 3 天后测定大鼠尾静脉血糖,随机血糖 > 16.7mmol/L 者入选实验。另取 10 只性别、周龄、体重相匹配的 SD 大鼠为正常对照组(Con 组),予普通饲料喂养,不做任何处理。(2) 体重及血糖:各组大鼠于实验第 0、4 和 6 周以及成模后第 1、4 和 6 周时用血糖仪测定尾静脉血糖并称量体重。(3) 血脂谱、ox - LDL 及糖化血红蛋白(HbA1c)检测:各组大鼠于成模后第 6 周实验结束时颈动脉采血处死,酶标仪检测血脂谱,包括胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、低密度脂蛋白(LDL - C)、高密度脂蛋白(HDL - C)和游离脂肪酸(FFA);生化分析仪检测糖化血红蛋白(HbA1c);ELISA 法检测 ox - LDL。

3. 统计学方法:采用 SPSS 20.0 统计学软件进行统计分析,计量资料以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较两组采用独立样本 *t* 检验,多组采用单因素方差分析,以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

结 果

1. 一般情况、血糖及体重:实验过程中,T1DM 与 T2DM 组各有 9 只成模,T1DM 组死亡 1 只,T2DM 组死亡 2 只。普通饲料组和高脂高糖饲料组大鼠的体重和血糖,在实验开始即第 0 周差异无统计学意义(*P* > 0.05);在不同饲料喂养后第 4 周和 6 周时,高脂高糖组的体重显著高于普通饲料组(*P* < 0.01),而血糖比较差异无统计学意义(*P* > 0.05)。造模后 72h,Con 组平均体重为 419.6g、血糖为 5.7mmol/L,T1DM 组平均体重为 319.5g、血糖为 20.7mmol/L,T2DM 组平均体重为 378.40g、血糖为 22.8mmol/L;与 Con 组比较,T1DM 与 T2DM 组大鼠的体重明显下降(*P* < 0.05 或 *P* < 0.01),T1DM 组比 T2DM 组下降更明显(*P* < 0.01);血糖则明显升高(*P* < 0.01),T1DM 和 T2DM 组间的血糖差异无统计学意义(*P* > 0.05),详见表 1、表 2。成模后 1、4 和 8 周,与 Con 组比较,T1DM 组大鼠的体重显著下降(*P* < 0.01),

T2DM 组体重略有下降,但差异无统计学意义(*P* > 0.05);T2DM 组大鼠的体重显著高于 T1DM 组(*P* < 0.01),详见表 3。DM 组的血糖在成模后 1、4、8 周,均显著高于 Con 组(*P* < 0.01),但 T1DM 与 T2DM 两组间比较差异无统计学意义(*P* > 0.05),详见表 4。

表 1 造模前大鼠体重监测表 ($\bar{x} \pm s, g$)

组别	<i>n</i>	0 周	4 周	6 周
普通饲料组	20	183.5 ± 8.3	297.6 ± 19.2	373.6 ± 23.2
高糖高脂组	10	181.5 ± 7.7	399.9 ± 27.1 *	459.6 ± 31.7 *

与普通饲料组比较, * *P* < 0.05

表 2 造模前大鼠血糖监测表 ($\bar{x} \pm s, mmol/L$)

组别	<i>n</i>	0 周	4 周	6 周
普通饲料组	20	5.80 ± 0.73	6.15 ± 0.58	5.80 ± 0.73
高糖高脂组	10	6.19 ± 0.60	6.20 ± 0.65	6.17 ± 0.81

表 3 成模后各组大鼠体重监测表 ($\bar{x} \pm s, g$)

组别	<i>n</i>	成模后 1 周	成模后 4 周	成模后 8 周
Con 组	10	451.1 ± 38.1	482.3 ± 39.9	535.9 ± 60.4
T1DM 组	8	330.0 ± 45.6 *	372.7 ± 34.8 *	408.5 ± 36.9 *
T2DM 组	7	429.6 ± 46.1 [△]	467.6 ± 45.3 [△]	502.5 ± 32.7 [△]

与 Con 组比较, * *P* < 0.01;与 T1DM 组比较, [△] *P* < 0.01

表 4 成模后各组大鼠血糖监测表 ($\bar{x} \pm s, mmol/L$)

组别	<i>n</i>	成模后 1 周	成模后 4 周	成模后 8 周
Con 组	10	5.70 ± 0.60	5.78 ± 0.69	5.79 ± 0.72
T1DM 组	8	27.74 ± 2.00 *	23.83 ± 4.03 *	23.82 ± 4.64 *
T2DM 组	7	28.07 ± 3.93 *	25.01 ± 3.55 *	23.90 ± 4.09 *

与 Con 组比较, * *P* < 0.01

2. 血脂谱、HbA1c 及 ox - LDL 检测:表 5 和表 6 结果显示,DM 组大鼠的 TG、TC、LDL - C、FFA 和 ox - LDL 水平均较 Con 组明显升高(*P* < 0.01),且 T2DM 组较 T1DM 组升高显著(*P* < 0.05 或 *P* < 0.01),各组间的 HDL - C 水平比较差异无统计学意义(*P* > 0.05)。HbA1c 的变化趋势同上述血糖检测结果。

讨 论

鼠类作为目前应用最广的 DM 动物模型,因其体积小、生长周期短、经济易得、易于实现基因修饰等,较其他种属有着无可比拟的优势。STZ 对实验动物的胰岛 β 细胞具有高度选择性毒性作用,是目前使用最广泛的 DM 动物模型化学诱导剂。研究表明,STZ 建立 DM 模型时的作用强度与性别有关,雄性大鼠更敏感。空腹成年鼠造模,将 STZ 现配溶于

表 5 各组大鼠血脂谱检测结果 ($\bar{x} \pm s$, mmol/L)

组别	n	TG	TC	HDL - C	LDL - C
Con 组	10	0.83 ± 0.15	1.63 ± 0.19	2.47 ± 0.19	1.16 ± 0.18
T1DM 组	8	1.86 ± 0.53 *	2.35 ± 0.45 *	2.58 ± 0.23	2.29 ± 0.36 *
T2DM 组	7	2.77 ± 0.62 * ^{△△}	3.31 ± 0.55 * ^{△△}	2.63 ± 0.26	3.16 ± 0.41 * [△]

与 Con 组比较, * $P < 0.01$; 与 T1DM 组比较, [△] $P < 0.05$, ^{△△} $P < 0.01$

表 6 各组大鼠 HbA1c、FFA 及 ox - LDL 检测结果 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	HbA1c(%)	FFA(μmol/L)	ox - LDL(pg/ml)
Con 组	10	9.92 ± 0.85	414.00 ± 47.20	9.26 ± 2.35
T1DM 组	8	19.90 ± 1.08 *	508.30 ± 52.40 *	14.72 ± 3.09 *
T2DM 组	7	20.25 ± 1.12 *	614.59 ± 66.20 * [△]	22.15 ± 3.58 * [△]

与 Con 组比较, * $P < 0.01$; 与 T1DM 组比较, [△] $P < 0.01$

0.1mmol/L、pH 值为 4.2 ~ 4.5、浓度 2% 的枸橼酸缓冲液中、腹腔注射的成模率较高^[2]。所以,本实验采用成年雄性 SD 大鼠、禁食 12h 后、空腹腹腔注射现配的 2% STZ 溶液 (pH 值 4.4) 来造模,成模率为 90%。目前认为,1 次大剂量注射 STZ 所诱发的模型比较符合 T1DM 特征。高糖高脂饲养配合小剂量 STZ 所诱发的模型所诱发的为 T2DM 模型,该方法通过高脂高糖饮食诱导动物胰岛素抵抗后,再注射低剂量 STZ 部分损伤胰岛 β 细胞,引起血糖升高,模拟 T2DM 发病过程,较单纯饮食诱导的 T2DM 模型大大缩短了成模周期^[3]。本实验采用 60mg/kg 单次腹腔注射 STZ 建立 T1DM 模型,高脂高糖饲养 6 周后按 35mg/kg 单次腹腔注射 STZ 建立 T2DM 模型,两组大鼠自成模后血糖水平一直显著高于正常对照组,且持续至实验结束时的第 8 周,所检测的反映近 2 ~ 3 个月平均血糖水平值的 HbA1c 亦支持这一特点,表明糖尿病造模是成功且稳定的。

胰岛素抵抗是 T2DM 的主要发病机制。超重和肥胖是 2 型糖尿病的独立危险因素,二者参与了胰岛素抵抗和胰岛 β 细胞衰竭过程,可促进 DM 的发生。糖尿病及糖尿病前期患者都存在不同程度的血脂代

谢异常,脂代谢紊乱对细胞具有脂毒性作用,会引起或加重胰岛素抵抗,其典型表现是血浆甘油三酯和游离脂肪酸水平升高,其中 FFA 升高是胰岛素抵抗的独立致病因素,而甘油三酯水平升高是 DM 发病的独立危险因素^[4]。ox - LDL 是动脉粥样硬化斑块形成和发展的关键环节,ox - LDL 与 T2DM 及糖尿病大血管病变间存在着密切关系。本实验 T2DM 组大鼠的体重、血脂 (FFA、TG、TC 和 LDL - C) 及 ox - LDL 水平,均显著高于 T1DM 组,表明该模型具备了 T2DM 的胰岛素抵抗、中度高血糖和高血脂等临床特征,与文献报道一致^[5]。

综上所述,高脂高糖膳食 + 低剂量 STZ 所诱导的 T2DM 大鼠模型,具有实验周期短、方法简便、相对可靠稳定、造模成本低等优点,可广泛应用于 T2DM 的相关实验研究。

参考文献

1 Xu Y, Wang L, He J, *et al.* Prevalence and control of diabetes in Chinese adults[J]. JAMA, 2013,310(9):948 - 959

2 杨金晶,杨秋萍. 链脲佐菌素诱导糖尿病动物模型的体会[J]. 昆明医学院学报,2008,29(2B):164 - 166

3 高秀莹,周迎生. 2 型糖尿病鼠类模型的研究进展[J]. 中国实验动物学报,2014,22(4):71 - 76

4 曹荟哲,哈小琴,李雪雁,等. 游离脂肪酸致胰岛素抵抗的分子机制[J]. 解放军医学杂志,2017,42(1):81 - 85

5 Chatzigeorgiou A, Halapas A, Kalafatakis K, *et al.* The use of animal models in the study of diabetes mellitus[J]. In Vivo,2009, 23(2): 245 - 258

(收稿日期:2018 - 01 - 16)

(修回日期:2018 - 01 - 16)

(接第 42 页)

10 Cuschieri JR, Drawz P, Falck - Ytter Y, *et al.* Risk factors for acute gastrointestinal bleeding following myocardial infarction in veteran patients who are prescribed clopidogrel[J]. J Digest Dis, 2014, 15(4): 195 - 201

11 罗荷,秦廷莉. 急性心肌梗死合并消化道出血的防治策略[J]. 中日友好医院学报,2013,27(1):44 - 47

12 Eikelboom JW, Mehta SR, Anand SS, *et al.* Adverse impact of bleeding on prognosis in patients with acute coronary syndromes[J]. Circulation, 2006, 114(8): 774 - 782

13 Wu CJ, Lin HJ, Weng SF, *et al.* Acute Myocardial infarction risk in patients with coronary artery disease doubled after upper gastrointestinal tract bleeding: a nationwide nested case - control study[J]. PLoS One, 2015, 10(11): e0142000

14 Hamm CW, Bassand JP, Agewall S, *et al.* ESC guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST - segment elevation[J]. Eur Heart J, 2011, 32(23): 2999 - 3054

(收稿日期:2017 - 07 - 13)

(修回日期:2017 - 09 - 07)