



2型糖尿病兼抑郁症大鼠模型的建立与评价

李娜¹, 刘群¹, 李晓娟¹, 白晓晖¹, 刘玥芸¹, 金钟晔¹,
景玉霞^{1,2}, 赵宏波^{1,3}, 陈家旭¹

(1. 北京中医药大学基础医学院, 北京 100029; 2. 新疆医科大学中医学院, 乌鲁木齐 830054;
3. 北京市石景山区中医医院, 北京 100043)

【摘要】目的 用体重检测、空腹血糖检测、宏观表征、旷场实验行为学评价糖尿病兼抑郁症的大鼠模型。**方法** 采用高脂饲料喂养加腹腔注射小剂量链脲佐菌素(STZ)的方法制备2型糖尿病模型,在其基础上再用21 d慢性束缚的方法建立糖尿病兼抑郁症大鼠模型。将32只Wistar大鼠随机分为3组($n=8$):正常组(N组),2型糖尿病组(T组),2型糖尿病兼抑郁症组(T+D组)。2型糖尿病模型建立后,在慢性束缚的第0、7、14、21天检测大鼠的空腹血糖和体重,并对大鼠的宏观表征、饮食量、粪便、小便、精神状态进行观察,在第21天利用行为学设备分析软件,对大鼠旷场实验进行分析,检测大鼠的抑郁程度,验证评价2型糖尿病兼抑郁症大鼠模型是否成功。**结果** 给予高脂饲料及腹腔注射STZ制备2型糖尿病模型后,T+D组大鼠的毛发散乱,无光泽,活动迟缓,进食量、饮水量增加,粪便尿量增加,精神萎靡。第0、7、14、21天T组和T+D组大鼠体重均下降,与N组比较差异有显著性($P<0.05$; $P<0.01$),21d慢性束缚刺激后,T+D组体重比T组大鼠体重增加较慢,差异有显著性($P<0.05$);第0、7、14、21天,T组和T+D组大鼠血糖均升高,与N组比较差异有显著性($P<0.01$),21d慢性束缚刺激后,第21天T+D组大鼠血糖比T组较高,差异有显著性($P<0.01$),大鼠5 min内总移动距离有变化,与N组相比,T组差异没有显著性($P>0.05$),T+D组差异有显著性($P<0.05$);与N组相比,T组大鼠5 min内移动速度减慢,差异有显著性($P<0.05$),T+D组差异有显著性($P<0.01$)。**结论** 利用高脂饲料喂养加腹腔注射小剂量STZ及21天慢性束缚的方法,可以成功复制2型糖尿病兼抑郁症大鼠模型,适用于后续研究。

【关键词】 2型糖尿病兼抑郁症;大鼠模型;链脲佐菌素;空腹血糖;体重;宏观表征;旷场实验

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2014)04-0016-04

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2014.04.004

Establishment and evaluation of a rat model of type 2 diabetes associated with depression

LI Na¹, LIU Qun¹, LI Xiao-juan¹, BAI Xiao-hui¹, LIU Yue-yun¹, JIN Zhong-ye¹, JING Yu-xia^{1,2},
ZHAO Hong-bo^{1,3}, CHEN Jia-xu¹

(1. School of Basic Medicine, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China;

2. College of Chinese Medicine, Xinjiang Medical University, Urumchi 830054;

3. Shijingshan Chinese Medical Hospital, Beijing 100043)

【Abstract】 Objective To evaluate the rat model of type 2 diabetes mellitus (T2DM) associated with depression by body weight, fasting blood glucose, manifestations, and open field test. **Methods** The T2DM rat model was induced by high fat diet and low dose of STZ injection, and in addition, the T2DM rats were made restraint stress for 21 days. 32 Wistar rats were randomly divided into three groups: normal group (group N), T2DM group (group T)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(项目编号:81072756);北京中医药大学创新团队项目资助(项目编号:2011CXTD-07)。

[作者简介] 李娜(1983-),女,河北唐山人,在读博士研究生,研究方向:中医证候的病理生理基础及中医病证规范化。E-mail: freshman_911@163.com。

[通讯作者] 陈家旭,教授,电话:010-64286656, E-mail: chenjx@bucm.edu.cn

and T2 DM with depression group (group T + D), with 8 rats in each group. After the model was established, to measure the body weight, fasting blood glucose at day 0, 7, 14, and 21, and observe the gross manifestations, drinking and diet, feces, urine, and mental state, and test the rat depression by open field test. **Results** After establishment of the T + D rat model, the rats in group T + D showed some symptoms, including messy dark and gloomy hair, slow movement, increasing drinking, diet, feces and urine and mental fatigue. At day 0, 7, 14, and 21, compared with the group N, the body weight of the group T and group T + D were decreased, showing a significant difference ($P < 0.05$; $P < 0.01$). At day 0, 7, 14, and 21, compared with the group N, and the fasting blood glucose in the groups T and T + D were increased, with a significant difference ($P < 0.01$). After 21 days of restraint stress, the fasting blood glucose in the group T + D was significantly higher than that in the group T ($P < 0.01$). Compared with the group N, the total movement distance in 5 minutes in the group T + D was reduced, but without a significant difference (1532.6 ± 126.8 cm vs. 940.5 ± 208.3 cm, $P > 0.05$). Compared with the group N, the movement speed in 5 minutes in the group T was significantly slower than that in the group T, with a significant difference (5.1 ± 0.4 cm/s vs. 2.9 ± 0.6 cm/s, $P < 0.05$), and even more slower than that in the group T + D, with a significant difference (5.1 ± 0.4 cm/s vs. 2.4 ± 0.5 cm/s, $P < 0.01$). **Conclusions** A rat model of type 2 diabetes mellitus associated with depression has been successfully established by high fat diet and injection of low dose streptozotocin in combination with restraint stress for 21 days. This rat model is useful for further relevant studies.

【Key words】 Type 2 diabetes mellitus associated with depression; Rat model; streptozotocin; Fasting blood glucose; Body weights; Manifestations; Open field test

糖尿病并发抑郁症是在糖尿病的基础上出现抑郁症状,糖、蛋白质及脂肪代谢紊乱,持续高血糖并伴情绪障碍,以心境低落为主,严重者有自杀倾向^[1]。转引自世界卫生组织 1993 年以来开展全球疾病负担研究发现的一段资料表明,糖尿病患者的抑郁症患病率为 21.8% ~ 60.8%^[2],并有国外资料报道,糖尿病患者抑郁症患病率至少是普通人群的 3 倍,其中中重度抑郁占 1/3^[3]。现今生理-心理-社会医学模式已被广大医学工作者所接受,但糖尿病合并抑郁症的具体作用机制众说纷纭。用链脲佐菌素(streptozotocin, STZ)诱发糖尿病模型已有 50 年的历史^{[4][5]},本课题组采用的 21 d 慢性束缚建立抑郁症模型也有良好稳定的实验基础^[6]。因此本课题组采用高脂饲料喂养加腹腔注射小剂量 STZ 的方法制备 2 型糖尿病模型,并在其基础上再用 21 d 慢性束缚应激抑郁的方法建立糖尿病兼抑郁症大鼠模型。并从大鼠的宏观表征、空腹血糖、体重、旷场实验行为学角度评价此模型。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

SPF 级 Wistar 大鼠 38 只,雄性,4 周龄,体重(170 ± 20) g。购自北京维通利华实验动物技术有限公司【SCXK(京)2012-0001】。实验在北京中医药大学屏障环境动物实验室进行【SYXK(京)2011-0024】。

1.1.2 仪器

STZ: Sigma 公司(美国)。一水合柠檬酸:西陇化工股份有限公司(中国)。二水合柠檬酸三钠:国

药集团化学试剂有限公司(中国)。强生稳豪型血糖仪及配套试纸(美国)。大鼠束缚架:自制,木质结构,上面两侧分别有两条可以调节的粘贴软带,分别用来束缚大鼠的胸部和腹部(中国)。大鼠旷场行为测试箱:自制,木质(长×宽×高为 100 cm×100 cm×40 cm),底面由黄色线条划分成面积相等的 25 个方格(中国)。计算机 WV-CP470 摄像头(Panasonic)(日本)。The Observer. 5.0 分析软件(Noldus, Netherlands), EthoVision 3.0 分析软件(Noldus, Netherlands)进行分析(荷兰)。

1.1.3 饲料

基础饲料由北京中医药大学动物中心提供;高脂饲料购自北京华阜康公司(配方:68.8% 基础饲料、10% 蔗糖、10% 猪油、10% 蛋黄粉、1% 胆固醇、0.2% 胆盐)。

1.2 方法

1.2.1 动物分组

38 只大鼠适应性喂养 1 周后,按体重随机分为两组,其中 8 只为正常组,饲以普通饲料,其余 30 只大鼠饲以高脂饲料。所有大鼠均由 SPF 级饲养,每天 12 h 光照维持,昼夜循环,自由饮水进食。6 周后,夜间禁食 14 h 后,高脂饲料组腹腔注射 STZ (35 mg/kg 溶于 0.1 mmol/L 柠檬酸缓冲液, pH 4.4) 于 3 d 后及 7 d 后测空腹血糖,测得两次血糖值 > 11.1 mmol/L 者为 2 型糖尿病造模成功。选取造模成功的 19 只大鼠,按血糖高低编号,用 Excel 表进行随机分组,分为 2 型糖尿病模型组(T 组),2 型糖尿病兼抑郁症模型组(T + D 组)。

1.2.2 2 型糖尿病模型成功后慢性束缚应激模型的建立

2 型糖尿病兼抑郁症造模参考^[7-10], 并进行改良, 采用本课题组长期稳定的慢性束缚应激抑郁模型^[11], 即将 2 型糖尿病大鼠捆绑在自制的束缚架上造模, 随机选取时间进行束缚, 3 h/d, 连续 21 d。正常组及 2 型糖尿病组不予束缚, 但在相同的时间内禁食水。

1.2.3 观测指标与方法

(1) 一般状态的观察

包括毛发、精神状态、情绪反应、大便、四肢耳廓皮肤黏膜、对束缚的反应。

(2) 体重及空腹血糖监测

于慢性束缚期间的第 0、7、14、21 天进行体重和空腹血糖的监测。

(3) 旷场实验

在安静、遮光的环境下进行。将大鼠放入箱内底面中心, 利用同步录像、计时, 观察 5 min 内大鼠在旷场行为测试箱内的活动情况。每只大鼠检测完毕后用 70% 乙醇清洗方箱内壁及底面, 以免上次大鼠余留的信息(如大鼠的大、小便、气味)影响下次测试结果。更换大鼠, 继续实验。观察指标如下: ①总移动距离; 5 min 内大鼠运动轨迹的总长度; ②移动速度; 5 min 内大鼠运动轨迹的速度。

1.2.4 统计学方法

运用 SPSS 17.0 软件, 采用单因素方差分析及 t 检验进行统计, 数据以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

慢性束缚期间, 3 只大鼠死亡, 总共剩余 24 只

表 1 各组大鼠体重变化情况 ($g, \bar{x} \pm s, n = 8$)

Tab. 1 Body weight of the rats in each group

组别 Groups	第 0 天 Day 0	第 7 天 Day 7	第 14 天 Day 14	第 21 天 Day 21
N 组	402.475 ± 8.997	427.063 ± 10.425	435.238 ± 10.501	451.213 ± 11.115
T 组	357.125 ± 12.594 [#]	367.988 ± 12.393 ^{##}	374.525 ± 11.813 ^{##}	385.363 ± 12.149 ^{##}
T + D 组	349.200 ± 11.947 ^{##}	337.763 ± 11.348 ^{##}	338.234 ± 12.791 ^{##}	345.800 ± 10.817 ^{##*}

注: 与 N 组相比, [#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$; 与 T 组相比, ^{*} $P < 0.05$, ^{**} $P < 0.01$ 。

Note: Compared with the group N, [#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$; Compared with the group T, ^{*} $P < 0.05$, ^{**} $P < 0.01$.

表 2 各组大鼠空腹血糖变化情况 ($mmol/L, \bar{x} \pm s, n = 8$)

Tab. 2 Fasting blood glucose of rats in each group

组别 Groups	第 0 天 Day 0	第 7 天 Day 7	第 14 天 Day 14	第 21 天 Day 21
N 组	4.562 ± 0.174	4.075 ± 0.385	4.388 ± 0.506	4.562 ± 0.096
T 组	20.075 ± 1.268 ^{##}	20.625 ± 0.623 ^{##}	21.975 ± 0.995 ^{##}	20.700 ± 1.034 ^{##}
T + D 组	22.375 ± 4.579 ^{##}	21.800 ± 3.746 ^{##}	23.000 ± 3.000 ^{##}	24.475 ± 0.903 ^{##**}

注: 与 N 组相比, [#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$; 与 T 组相比, ^{*} $P < 0.05$, ^{**} $P < 0.01$ 。

Note: Compared with the group N, [#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$; Compared with the group T, ^{*} $P < 0.05$, ^{**} $P < 0.01$.

大鼠。

2.1 宏观表征

N 组大鼠, 皮毛顺滑有光泽, 精神状态良好。T 组大鼠, 精神尚可, 毛色发黄, 体重增长缓慢, 粪便、尿量增多, 进食量、饮水量增多。T + D 组大鼠, 造模初期焦躁, 反抗力强, 后期毛发散乱, 无光泽, 反抗力减弱, 活动迟缓、扎堆、反应迟钝, 精神萎靡, 皮肤及黏膜颜色变浅、皮毛变黄、清洁度明显减低, 大便时干时稀甚至稀溏, 进食量、饮水量增加, 粪便尿量增加。

2.2 体重变化

给予高脂饲料及腹腔注射 STZ 制备 2 型糖尿病模型后, T 组和 T + D 组在 0、7、14、21 d 各组大鼠体重均下降, 与 N 组比较差异有显著性 ($P < 0.05$; $P < 0.01$), 21 天慢性束缚刺激后, 大鼠体重下降, T + D 组体重比 T 组大鼠体重增加缓慢, 差异有显著性 ($P < 0.05$)。见表 1。

2.3 空腹血糖变化

给予高脂饲料及腹腔注射 STZ 制备 2 型糖尿病模型后, T 组和 T + D 组在 0、7、14、21 天各组大鼠血糖均升高, 与 N 组比较差异有显著性 ($P < 0.01$), 21 天慢性束缚刺激后, 第 21 天 T + D 组大鼠空腹血糖比 T 组较高, 两组间差异有显著性 ($P < 0.01$)。

2.4 旷场实验

21d 慢性束缚造模后, 大鼠 5 min 内总移动距离有变化, 与 N 组相比, T 组差异无显著性 ($P > 0.05$), T + D 组差异有显著性 ($P < 0.05$), 但与 T 组相比, T + D 组差异无显著性 ($P > 0.05$); 大鼠 5 min 内移动速度有变化, 与 N 组相比, T 组差异有显著性 ($P < 0.05$), T + D 组差异有显著性 ($P < 0.01$), 但与 T 组相比, T + D 组差异无显著性 ($P > 0.05$)。

表 3 旷场实验大鼠 5 min 内总移动距离、运动速度 (cm, cm/s, $\bar{x} \pm s$, $n=8$)

Tab. 3 Total movement distance (cm) and movement speed in 5 minutes of open field test

组别 Groups	总移动距离/cm Movement distance	移动速度/cm/s Movement speed
N 组	1532.604 ± 126.805	5.114 ± 0.423
T 组	1304.333 ± 201.770	2.943 ± 0.609 [#]
T + D 组	940.533 ± 208.296 [#]	2.429 ± 0.508 ^{##}

注:与 N 组相比, [#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$; 与 T 组相比, ^{*} $P < 0.05$, ^{**} $P < 0.01$ 。

Note: Compared with the group N, [#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$; Compared with the group T, ^{*} $P < 0.05$, ^{**} $P < 0.01$.

3 讨论

根据临床研究发现,在糖尿病人群中,抑郁症的发生与女性 20 ~ 40 岁、病程较长、体重指数 $> 25 \text{ kg/m}^2$ 、糖化血红蛋白 $> 8\%$ 、无配偶支持或婚姻不完整、经济状况不好、从事体力劳动、并发症数目较多、慢性并发症增加密切相关,其中中重度抑郁占 $1/3$ ^[12]。糖尿病是慢性疾病,可引起全身多器官的病变。患者体重下降、形体消瘦,因血糖控制不稳定,多脏器同时功能降低,加重患者的心理负担,严重者则抑郁,而抑郁的患者体内某些神经递质改变,又会加重血糖的升高,情绪更加低落,降低治疗的依从性,从而导致恶性循环。因此开发治疗糖尿病兼抑郁症的药物是最迫切的项目之一,而要做到起效快、毒性小的药物,动物模型的应用必不可少。动物模型是药物研发和机制研究中不可或缺的环节,对于评价药物的有效性和安全性起着重要的作用,而合理的动物模型的建立和评价,能缩短动物模型和临床疾病的特征差异,使之与临床吻合度增高^[13]。本研究综合运用高脂饲料喂养加腹腔注射 STZ,并在其基础上采用 21 天慢性束缚的方法造成大鼠的抑郁状态,从而建立 2 型糖尿病兼抑郁症大鼠模型。此实验中,2 型糖尿病兼抑郁症模型大鼠,造模初期焦躁,反抗力强,后期毛发散乱,无光泽,反抗力减弱,活动迟缓,反应迟钝,精神萎靡,进食量、饮水量增加,粪便尿量增加,体重减轻。2 型糖尿病兼抑郁症模型大鼠较之 2 型糖尿病模型大鼠,在糖尿病形成的初期,即慢性束缚第 0 天,体重与空腹血糖没有统计学差异,在 21 天慢性束缚期间,2 型糖尿病兼抑郁症模型大鼠的体重增长缓慢,空腹血糖升高,在第 21 天,2 型糖尿病组大鼠和 2 型糖尿病兼抑郁症组的体重和空腹血糖有差异,在旷场实验中运动距离和运动速度都下降,而旷场实验是评定大鼠在新

异环境中的启动、探究行为和对新环境的警觉性。总移动距离和移动速度初步评价大鼠的自发活动度,2 型糖尿病兼抑郁症模型大鼠的总移动距离明显小于正常大鼠和糖尿病大鼠,表明 2 型糖尿病兼抑郁症模型大鼠的自发活动度减小^[14],说明 21 天慢性束缚应激抑郁模型的建立成功。这同临床上糖尿病兼抑郁症患者不思饮食,体重下降,兴趣丧失,精神运动改变、情绪低落,活动减少,血糖监控较差,治疗依从性低,在一定程度上有一致性,因此提示成功复制 2 型糖尿病兼抑郁证大鼠模型,有利于后续的实验研究。

参 考 文 献

- [1] Robertson MM, Katona CLE. Depression and Physical Illness [M]. John Wiley & Sons Ltd, 1997: 257 - 260.
- [2] 刘增垣, 何裕民. 心身医学 [M], 上海: 上海科技教育出版社, 2000: 3.
- [3] Padett DK. Sociodemographic and disease related correlates of depressive morbidity among diabetic patients in Zagreb, Croatia [J]. J New Nerv. Ment Dis, 1993, 181(3): 280.
- [4] Rakieten N, Rakieten ML, Nadkarni MV. Studies on diabetogenic action of streptozotocin (NSC - 367917) [J]. Cancer Chem Ther Rep, 1963, 29: 91 - 941.
- [5] 穆松牛, 高云, 万福生, 等. 链尿佐菌素加高糖高脂饮食复制大鼠 2 型糖尿病模型 [J]. 中国比较医学杂志, 2008, 18(2): 19 - 22.
- [6] 岳利峰, 丁杰, 陈家旭, 等. 肝郁脾虚证大鼠模型的建立与评价 [J]. 北京中医药大学学报, 2008, 31(6): 396 - 400.
- [7] 王晓敏, 谢斌, 周志瑜, 等. 丹栀逍遥散对糖尿病抑郁大鼠胰岛素受体和胰岛素底物-1 mRNA 表达的影响 [J]. 中国老年学杂志, 2011, 4(7): 1181 - 1183.
- [8] 王晓敏, 罗颖, 高增光. 丹栀逍遥散对糖尿病抑郁大鼠肝组织 IRS2-PI3K 信号通路的作用 [J]. 中华中医药学刊, 2013, 31(11): 2450 - 2452.
- [9] 朱艳芳, 徐志伟. 加减逍遥散影响慢性心理应激 T2DM 小鼠 IR 机制的研究 [D]. 广东中医药大学 2013 年博士学位论文
- [10] 李杰, 刘艳民, 李庆和, 等. 心理应激诱发实验性 2 型糖尿病大鼠的行为学改变及中药干预 [J]. 天津中医药, 2008, 20(4): 72 - 74.
- [11] 李伟, 陈家旭, 杨建新, 等. 疏肝健脾补肾复方对慢性束缚应激大鼠行为学和免疫功能的影响 [J]. 中国实验动物学报, 2003, 11(1): 33 - 37.
- [12] 赵毛红, 付阿丹. 糖尿病人群伴发抑郁症的临床研究 [J]. 中国糖尿病杂志, 2002, 10(5): 272 - 275.
- [13] 白晓宇, 杜冠华. 抑郁症动物模型的转换研究 [J]. 中国比较医学杂志, 2011, 21(10, 11): 121 - 126.
- [14] 李腾飞, 孙秀萍, 石哲, 等. 不同品系小鼠在三种常见抑郁检测方法中的行为学表现 [J]. 中国比较医学杂志, 2011, 21(8): 20 - 23.

[收稿日期] 2014-06-03