



# 高脂饮食联合链脲佐菌素建立2型糖尿病大鼠模型的研究进展

邵俊伟, 蔡逊

(广州军区武汉总医院普通外科, 武汉 430070)

**【摘要】** 2型糖尿病大鼠模型的建立能够为糖尿病及其并发症的发病机制、预防、诊断及治疗的研究提供理想的动物实验技术平台。2型糖尿病大鼠模型的成模率受多种因素的影响, 本文就建立2型糖尿病大鼠模型的主要影响因素 STZ 的应用、高脂高糖饮食及大鼠的选择与饲养等做一综述。以期对建立2型糖尿病大鼠模型的方法提供一定的参考价值。

**【关键词】** 2型糖尿病; 大鼠模型; 链脲佐菌素; 高脂饮食

**【中图分类号】** Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2014) 04-0090-04

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2014.04.020

## Research progress of rat models of type 2 diabetes induced by high calorie diet combined with streptozotocin

SHAO Jun-wei, CAI Xun

(Department of General Surgery, Wuhan General Hospital of Guangzhou Military Command of PLA, Wuhan 430070, China)

**【Abstract】** The establishment of rat models of type 2 diabetes mellitus can provide an ideal animal experimental technology platform for the research of pathogenesis, prevention, diagnosis and treatment of diabetes mellitus and its complications. The establishment of type 2 diabetic rat models may be affected by various factors. In this paper, the main factors, streptozotocin (STZ) application, high fat and calorie diet, selection and breeding of rats are reviewed, which will provide an important reference for the development of rat models type 2 diabetes.

**【Key words】** Type 2 diabetes mellitus; Rat, model; Streptozotocin; High fat and calorie diet

糖尿病是严重危害人类健康的慢性疾病之一, 目前全球约有 1.5 亿人患有糖尿病, 其患病率逐年上升, 其中 90% 以上是 2 型糖尿病<sup>[1]</sup>。但发病机制尚未完全阐明。因此建立合适的 2 型糖尿病动物模型对研究其发病机制, 完善预防及治疗方法具有重要意义。目前制备糖尿病大鼠模型的方法主要有自发性动物模型<sup>[2]</sup>、转基因动物模型<sup>[3]</sup>和实验性动物模型<sup>[4]</sup>。但是前两者由于来源相对减少、饲养和繁殖条件要求严格、动物价格昂贵等缺点, 限制了其在科学研究中的广泛应用和普及。目前国内外最常用

的是实验性动物模型。国内外研究<sup>[5-7]</sup>一致表明, 制备 2 型糖尿病大鼠模型可通过高脂饮食诱导大鼠胰岛素抵抗后, 再注射低剂量 STZ 损伤胰岛功能, 引起血糖升高, 可模拟 2 型糖尿病的发病过程。链脲佐菌素(streptozotocin, STZ)对胰岛  $\beta$  细胞具有高度选择性毒性作用, 通过自由基损伤胰岛  $\beta$  细胞, 使其发生功能障碍, 胰岛素合成减少, 引发糖尿病<sup>[8,9]</sup>。本文就建立 2 型糖尿病大鼠模型的主要影响因素 STZ 的应用、高脂高糖饮食及大鼠的选择与饲养条件等做一综述。

**【基金项目】** 湖北省自然科学基金(编号:2010CDB09201)。

**【作者简介】** 邵俊伟(1970-), 男, 博士。研究方向: 2 型糖尿病的外科手术治疗。

**【通讯作者】** 蔡逊, Email: caiwenqian@sina.com

## 1 STZ 的应用

### 1.1 STZ 的配制

STZ 的纯品为结晶粉状物,其溶剂制剂不稳定,在 pH 值为 4.0 时稳定性最大,当 pH 值高于或者低于 3.5~4.5 时则 STZ 迅速降解。胡凯等<sup>[10]</sup>发现 1% STZ 用前以 0.1 mol/L、pH4.2 柠檬酸-柠檬酸钠缓冲液新鲜配制。章成昌等<sup>[11]</sup>认为 1% STZ 溶于 0.1 mol/L、pH4.22 柠檬酸-柠檬酸钠缓冲液较为合适。吴晏等<sup>[12]</sup>认为 1% STZ 用前以 0.1 mol/L、pH4.4 柠檬酸-柠檬酸钠缓冲液新鲜配制。王海涛等<sup>[13]</sup>注射前将 STZ 溶于 pH4.5 的 0.1 mol/L 的柠檬酸缓冲液中。宋立江等<sup>[14]</sup>发现 pH4.5 柠檬酸缓冲液可以作为理想的溶剂。综上所述,0.1 mol/L、pH4.2~4.5 柠檬酸缓冲液可以作为 STZ 理想的溶剂。STZ 必须保存于 -20℃ 冰箱,现配现用,配好的柠檬酸缓冲溶液和 STZ 溶液应避光冰浴,10 min 内用完。

### 1.2 STZ 的注射剂量

研究表明,高脂高糖喂养 2 周后,45 mg/kg STZ 腹腔注射大鼠成模率高,安全性强,维持时间长,是理想的 2 型糖尿病造模浓度<sup>[15]</sup>。Zhou 等<sup>[16]</sup>发现高脂高糖喂养 4 周后腹腔注射 STZ 40 mg/kg,成模率 72.2%。张玉领<sup>[17]</sup>发现高脂高糖喂养 4 周后,待大鼠出现明显的肥胖和胰岛素抵抗,一次性腹腔注射 STZ 30 mg/kg,可成功制备 2 型糖尿病大鼠模型。施红等<sup>[18]</sup>发现高脂高糖 6 周后加腹腔注射 STZ 30 mg/kg 1 次,可成功制备空腹和随机血糖均升高、糖耐量减低及高血脂的 2 型糖尿病大鼠模型。成模率 75%。何清华等<sup>[19]</sup>根据不同高脂喂养时间及 STZ 剂量设计 3 种不同方法,发现 4 周龄雄性 SD 大鼠,高脂喂养 8 周后腹腔注射 STZ 30 mg/kg,成模率最高,模型稳定,无动物死亡,更适合于 2 型糖尿病的相关研究。

研究表明,单纯的高脂高糖饲料喂养可以使动物血糖升高,但需要很长时间,至少要 6 个月至 1 年以上<sup>[20,21]</sup>。如果一次性大剂量注射 STZ,则直接损伤胰岛  $\beta$  细胞,则更倾向于 1 型糖尿病的表型特点,影响研究结果,而且死亡率增加<sup>[22,23]</sup>。高脂饮食诱导时间延长,动物肥胖和胰岛素抵抗更加明显,加重了胰岛素分泌功能的负担,所需 STZ 剂量减少。小剂量注射 STZ 可激活免疫系统,诱导胰岛的免疫反应,产生更接近于 T2DM 的模型<sup>[24]</sup>。但是考

虑到动物的年龄以及造模后续的实验还需要一定的时间,因此,建议高脂高糖饲养时间 4 周左右为宜。

### 1.3 STZ 的注射频次

在以往的造模中,以一次性大剂量 STZ 注射造模、多次小剂量 STZ 注射造模、STZ 加高脂高糖饮食诱发 2 型糖尿病模型的建立较为多见<sup>[25]</sup>。相比较而言,一次大剂量 STZ 注射造模,成功率虽高,但死亡率亦高,且易形成 1 型糖尿病,多次小剂量 STZ 注射造模,死亡率较低,但成功率不高。针对 STZ 加高脂高糖饮食诱发 2 型糖尿病模型的建立,金磊等<sup>[26]</sup>采用高脂高糖饲料喂养 4 周,配合 30 mg/kg STZ 腹腔注射 2 次,制备 2 型糖尿病模型。庞燕等<sup>[27]</sup>认为:2 次给药法较 1 次给药法成模率高。但是目前多数研究者<sup>[16-19]</sup>认为高脂高糖喂养 4~8 周后,一次性腹腔注射 STZ 30~45 mg/kg,可成功制备 2 型糖尿病大鼠模型。

### 1.4 STZ 的注射方式

大量文献报道<sup>[18,28,29]</sup>注射 STZ 前,对大鼠禁食不禁水 12 h 以上,可提高成模率,注射 STZ 后,应观察 2 h 左右,给予充足饮水和食物。杨金晶等<sup>[29]</sup>认为非空腹可能影响 STZ 的吸收,并且肠道排泄增多。章成昌等<sup>[11]</sup>发现 STZ 注射在腹腔的固定一侧,可保证相同实验条件,成模后血糖数据均一稳定。另外,在进行腹腔注射时应使用一次性注射器及针头等无菌操作,以防感染。

目前诱导实验性糖尿病动物模型的注射方式主要有腹腔注射与尾静脉注射两种途径。国内实验主要采用腹腔注射法。相较而言,尾静脉注射技术难度大,操作误差大。注射时要注意注射速度,以免过快而致心衰,还要避免剂量过大致大鼠药物性中毒而亡。腹腔注射法易于操作,方便快捷,注射时抓住大鼠头朝下,腹腔朝上,使内脏移向上腹,避免注射入其他脏器内<sup>[28]</sup>。另外,还要注意注射部位的适当选择,避免药物误入皮下,降低成模率。

## 2 高脂高糖饮食

大量研究表明,高脂高糖饮食是 2 型糖尿病及胰岛素抵抗发生的重要因素<sup>[30,31]</sup>。STZ 注射和高脂高糖喂养是形成 2 型糖尿病模型的重要条件。高脂高糖饮食导致体内糖脂代谢紊乱,通过糖脂脂肪循环、胰岛素信号传导等多个途径抑制糖储存,降低胰岛素敏感性,进而导致胰岛素抵抗的发生。

高脂高糖饲料按成分重量百分比常用配方如

下:(1)高脂饲料配方:1.5%胆固醇、0.4%胆酸钠、0.02%甲硫咪唑、10%糖、10%猪油、78.08%的基础饲料<sup>[32]</sup>。(2)高脂饲料组成的各成分质量百分比:基础饲料 67.75%、猪油 10%、蔗糖 20%、胆固醇 2.5%、胆盐 0.25%<sup>[33]</sup>。(3)高脂饲料配方为:10%猪油、10%蔗糖、2.5%胆固醇、0.4%胆酸钠和 77%基础饲料,所有成分混匀后压粒即得<sup>[34]</sup>。(4)高脂高糖饲料:动物脂肪 15%、蔗糖 20%、胆固醇 5%、普通饲料 60%<sup>[35]</sup>。(5)饲料组成:20.0%猪油、10.0%蔗糖、2.5%胆固醇、1.0%胆酸盐、66.5%常规饲料<sup>[17]</sup>。(6)高糖高脂饲料由 10%猪油、20%蔗糖、2.5%胆固醇、1.0%胆酸盐、66.5%常规饲料配制<sup>[36]</sup>。综上所述,高脂高糖的配方可总结为:10%~20%猪油、10%~20%蔗糖、1.5%~5%胆固醇、0.4%~1%胆酸盐、60%~80%普通饲料、5%~10%其他。

### 3 大鼠的选择

#### 3.1 大鼠的品系、性别、周龄、体重的选择

目前国内 STZ 诱导大鼠 2 型糖尿病模型常用的大鼠品系是 SD 大鼠或者 Wistar 大鼠。农慧等<sup>[37]</sup>用相同剂量的 STZ 造模,Wistar 大鼠的死亡率可以达到 50% 以上。因为 SD 大鼠的抵抗力强于 Wistar 大鼠。但是,章成昌等<sup>[11]</sup>选用 Wistar 大鼠,因为 Wistar 大鼠有 SD 大鼠的优良基因,且比 SD 大鼠更温顺,有利于实验操作的进行和实验数据的采集。因此,选用合适的动物品系可以提高成模率。

此外,STZ 诱导糖尿病大鼠模型有性别差异。Morimoto 等<sup>[38]</sup>发现雄性大鼠制备模型的成模率明显高于雌性大鼠。另外,选择成年雄性,可避免因受孕而影响观测数据。蒋升等<sup>[39]</sup>发现雄性大鼠腹腔注射 STZ 后 14 天血糖稳定,而雌鼠 4 周后血糖才稳定,而且成年后雌激素对糖脂代谢会产生一定的影响。因此选择雄鼠造模对后续实验干扰更少。

有研究发现,大鼠对于 STZ 的敏感性有年龄依赖性,成鼠或大体重鼠较幼鼠或小体重鼠更易成模型<sup>[40]</sup>。刘欧飞等<sup>[41]</sup>发现鼠龄大的大鼠体内进入药物的总量比鼠龄小得多,且代谢活动减慢,对 STZ 的灭活作用减弱,药物对胰岛  $\beta$  细胞的破坏更为严重。因此成年大鼠可使模型更接近 T2DM。但是蒋朝晖等<sup>[35]</sup>认为采用幼鼠造模更占优势,能为肥胖儿童糖尿病研究提供实验基础。

体重对成模率也有影响。章成昌等<sup>[11]</sup>认为

STZ 注射前体重在  $(240 \pm 5)$  g 范围的大鼠 STZ 注射后成模率高,成模后胰岛素水平更接近于正常对照组胰岛素水平。体重高于此范围的样本,成模率低,成模后胰岛素水平偏低。张新兰等<sup>[42]</sup>发现体重在 220~260 g 大鼠成模率高且死亡率低。体重低于 200 g 成模率高但死亡率也高;体重高于 260 g 大鼠死亡率、成模率均较低。

#### 3.2 大鼠采血方式

蒋朝晖等<sup>[35]</sup>摸索了一套大鼠取血方式:对于少量的用血(1 mL 以下),可用针刺尾静脉或断尾取血,自体前后对照和长期间断取血,用血量大(1 mL 以上),但又不能危害大鼠生命时,可从尾动脉用注射器取血,需大量用血(5~10 mL)且不需顾及大鼠生命时,可以摘除眼球取血。

### 4 结论

总之,建立重复性好、稳定性好及生理指标控制严格的 2 型糖尿病大鼠模型是研究 2 型糖尿病发病机制必不可少的工具。2 型糖尿病大鼠模型的成模率受各种因素的影响,这就要求我们科研工作者在实验过程中严格控制各方面条件,重视实验中每一个步骤,不断总结经验。以保证大鼠模型的成功率,并降低大鼠的死亡率。

#### 参 考 文 献

- [1] Wild S, Roglic G, Green A, et al. Global prevalence of diabetes; estimates for the year 2000 and projections for 2030 [J]. *Diabetes Care*, 2004, 27(5):1047-1053.
- [2] Goto Y, Kakizaki M, Masaki N. Production of spontaneous diabetic rats by repetition of selective breeding [J]. *Tohoku J Exp Med*. 1976, 119(1):85-90.
- [3] Srinivasan K, Ramarao P. Animal models in type 2 diabetes research: an overview [J]. *Indian J Med Res*. 2007, 125(3):451-472.
- [4] Al-Khalifa A, Mathew TC, Al-Zaid NS, et al. Low carbohydrate ketogenic diet prevents the induction of diabetes using streptozotocin in rats [J]. *Exp Toxicol Pathol*. 2011, 63(7-8):663-669.
- [5] Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus: Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus [J]. *Diabetes Care*, 2003, 26 (suppl 1):5-20.
- [6] 杨架林,李果,刘优萍,等.长期高脂饮食加小剂量链脲佐菌素建立人类普通 2 型糖尿病大鼠模型的研究 [J]. *中国实验动物学报*, 2003, 11(3):138-141.
- [7] 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.

- [ 8 ] Brever MD, Bottinger E, Brosius FC, et al. Mouse models of diabetic nephropathy [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2005, 16(1):27.
- [ 9 ] Elsner M, Guldbakke B, Tiedge M, et al. Relative importance of transport and alkylation for pancreatic beta-cell toxicity of streptozotocin [J]. *Diabetologia*, 2000, 43(12):1528.
- [ 10 ] 胡凯, 阮利君, 葛卫红. II 型糖尿病大鼠模型的尿液代谢组学研究 [J]. *浙江中医药大学学报*, 2013, 37(6):751-760.
- [ 11 ] 章成昌, 谢光荣, 姜玉涛, 等. 链脲菌素制备 2 型糖尿病大鼠模型的研究 [J]. *安徽医药*, 2012, 16(9):1241-1244.
- [ 12 ] 吴晏, 韩静, 黄黎明, 等. 高脂喂养合并小剂量链脲菌素建立 2 型糖尿病大鼠模型 [J]. *中国实验动物学报*, 2012, 20(2):11-15.
- [ 13 ] 王海涛, 杨明峰, 孙保亮, 等. 糖尿病并脑梗死大鼠模型的建立体会 [J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2013, 11(8):971-972.
- [ 14 ] 宋立江, 刘长青, 郭金铭, 等. 不同溶剂在链脲菌素血糖模型的作用比较 [J]. *现代预防医学*, 2008, 35(17):3454-3455.
- [ 15 ] 徐文平. 不同浓度 STZ 腹腔注射与 2 型糖尿病大鼠模型建立 [J]. *中国民康医学*, 2013, 25(9):32-33.
- [ 16 ] Zhou YS, Gao Y, Guo XH, et al. Effect of timely insulin treatment on protection of  $\beta$  cells in a rat model of type 2 diabetes mellitus [J]. *Chin Med J*, 2004, 117(10):1523-1529.
- [ 17 ] 张玉领, 陈培, 刘家秀, 等. 2 型糖尿病大鼠模型的建立 [J]. *现代预防医学*, 2012, 39(15):3922-3924.
- [ 18 ] 施红, 金国琴, 余文珍. 诱导构建最佳类似人类 2 型糖尿病大鼠的造模方式 [J]. *中国临床康复*, 2005, 9(39):69-71.
- [ 19 ] 何清华, 周迎生, 王征, 等. 2 型糖尿病大鼠模型制备的影响因素及其特点 [J]. *中国实验动物学报*, 2007, 15(6):425-429.
- [ 20 ] Winzell MS, Ahrén B, et al. The high-fat diet-fed mouse: a model for studying mechanisms and treatment of impaired glucose tolerance and type 2 diabetes [J]. *Diabetes*, 2004, 53(suppl 3):215-219.
- [ 21 ] Chalkley SM, Hettiarachchi M, Chisholm DJ, et al. Long-term high fat feeding leads to severe insulin resistance but not diabetes in Wistar rats [J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2002, 282(6):1231-1238.
- [ 22 ] 董佳生, 徐华, 王露萍, 等. SD 大鼠 1 型糖尿病动物模型的建立 [J]. *山西医药杂志*, 2009, 38(3):218-220.
- [ 23 ] Wilkinson-Berka JL, Kelly DJ, Koerner SM, et al. ALT-946 and aminoguanidine, inhibitors of advanced glycation, improve severe nephropathy in the diabetic transgenic (mREN-2) 27 rats [J]. *Diabetes*, 2002, 51(11):3283-3289.
- [ 24 ] 孙兆峰, 王利, 夏作理. 2 型糖尿病动物模型研究概要 [J]. *中国微循环*, 2008, 12(3):187-189.
- [ 25 ] 周敏, 柴可夫. 实验性 2 型糖尿病动物模型研究及其进展 [J]. *浙江中医学报*, 2001, 25(5):79-80.
- [ 26 ] 金磊, 刘立杰, 李慧. 2 型糖尿病大鼠肝脏损伤与固醇调节元件结合蛋白-1c, c-Jun 氨基末端激酶表达的关系 [J]. *中国医药导报*, 2013, 10(5):19-21.
- [ 27 ] 庞燕. 大鼠糖尿病模型的建立 [J]. *四川解剖学杂志*, 2009, 17(2):23-25, 30.
- [ 28 ] 胡玉焕, 宁亚功, 肖燕. 高热量饮食联合链脲菌素建立 2 型糖尿病大鼠模型的影响因素 [J]. *江西中医学报*, 2013, 25(1):70-73.
- [ 29 ] 杨金晶, 杨秋萍. 链脲菌素诱导糖尿病动物模型的体会 [J]. *昆明医学院学报*, 2008(2B):164-166.
- [ 30 ] Kim CH, Youn JH, Park JY, et al. Effects of high-fat diet and exercise training on intracellular glucose metabolism in rats [J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2000(6), 278:977-984.
- [ 31 ] Sumiyoshi M, Sakanaka M, Kimura Y. Chronic intake of high-fat and high-sucrose diets differentially affects glucose intolerance in mice [J]. *J Nutr*, 2006, 136(3):582-587.
- [ 32 ] 靳瑾, 孙侃, 薛以贵, 等. 实验性糖尿病大血管病变 SD 大鼠模型的建立 [J]. *石河子大学学报(自然科学版)*, 2009, 27(5):622-625.
- [ 33 ] 范爱红, 李伟. Exendin-4 对 2 型糖尿病大鼠胰岛  $\beta$  细胞增殖的影响 [J]. *中国老年学杂志*, 2009, 29(24):3219-3221.
- [ 34 ] 杨李, 唐瑛, 陈芳, 等. 芪莲汤颗粒长期干预对大鼠糖尿病并发症的影响 [J]. *医药导报* 2011, 30(5):563-565.
- [ 35 ] 蒋朝晖, 吕玉晶, 赵芳, 等. 高脂高糖饮食结合链脲菌素建立 2 型糖尿病大鼠模型的改良 [J]. *中国比较医学杂志*, 2011, 21(1):33-35.
- [ 36 ] 汪园园, 欧斌, 李苏华, 等. 利用高糖高脂饮食建立胰岛素抵抗大鼠模型 [J]. *深圳中西医结合杂志*, 2011, 21(1):13-14.
- [ 37 ] 农慧, 盛庆寿, 梁健, 等. STZ 诱导糖尿病大鼠模型的研究 [J]. *广西医科大学学报*, 2010, 27(1):69-72.
- [ 38 ] Morimoto S, Mendoza-Rodriguez CA, Hiriart M, et al. Protective effect of testosterone on early apoptotic damage induced by streptozotocin rat pancreas [J]. *J Endocrinol*, 2005, 187(2):217-224.
- [ 39 ] 蒋升, 谢自敬, 张莉. 链脲菌素诱导 1 型糖尿病大鼠模型稳定性观察 [J]. *中国比较医学杂志*, 2006, 16(1):16-18.
- [ 40 ] Masiello P, De Paoli A, Bergamini E. Age dependent changes in the sensitivity of the rat to a diabetogenic agent (streptozotocin) [J]. *Endocrinology*, 1975, 96(3):787-789.
- [ 41 ] 刘欧飞, 何依珊. 动物体重对四氧嘧啶致糖尿病模型效果的影响 [J]. *中国现代药物应用*, 2010, 4(13):75-76.
- [ 42 ] 张新兰. 体重因素对链脲菌素所致糖尿病大鼠模型的影响 [J]. *辽宁中医药大学学报*, 2008, 10(5):179.

[ 收稿日期 ] 2014-01-27