

# 链脲佐菌素与特殊膳食诱导的糖尿病动物模型的建立及比较实验

卢 丽,李哲轩,刘子维

(武汉工程大学化工与制药学院,湖北 武汉 430205)

**摘要:**目的 比较两种不同糖尿病动物模型的建立及作用。方法 将 40 只雄鼠 ICR 小鼠随机分为正常对照组和不同剂量链脲佐菌素组(120、130、140 mg/kg)。健康清洁级雄性小鼠 20 只,分为普食对照组和高脂饮食组,比较正常小鼠与不同剂量 STZ 组血糖值,普食组与高脂组喂养第 1、4、8、12、16 周体重,分析高脂饮食喂养对糖尿病模型动物糖耐量的影响。结果 STZ 高剂量组空腹血糖水平与正常对照组比较,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。高脂组高脂饮食喂养第 4、8、12 周体重高于普食组,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。第 16 周体重高于普食组,但差异无统计学意义( $P>0.05$ )。第 16 周的喂养后高脂组给糖后 30、60、120 min 血糖值高于普食组,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。结论 链脲佐菌素诱导的糖尿病动物模型可有效模拟 1 型糖尿病病程及发病机理,而特殊膳食诱导建立 2 型糖尿病动物模型适用于对降糖药物的临床前筛选实验。

**关键词:**链脲佐菌素;糖尿病;血糖;高脂饮食诱导;动物模型

中图分类号:R587.1;R-332

文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.1006-1959.2024.03.025

文章编号:1006-1959(2024)03-0125-04

## Establishment and Comparison of Animal Models of Diabetes Mellitus Induced by Streptozotocin and Special Diet

LU Li,LI Zhe-xuan,LIU Zi-wei

(School of Chemical Engineering and Pharmacy,Wuhan University of Engineering,Wuhan 430205,Hubei,China)

**Abstract: Objective** To compare the establishment and effects of two different animal models of diabetes mellitus.**Methods** Forty male ICR mice were randomly divided into normal control group and different doses of streptozotocin groups (120, 130 and 140 mg/kg). Twenty healthy male mice of clean grade were divided into normal diet control group and high-fat diet group. The blood glucose levels of normal mice and different doses of STZ groups were compared. The body weights of normal diet group and high-fat diet group were fed for 1, 4, 8, 12 and 16 weeks. The effect of high-fat diet on glucose tolerance of diabetic mellitus model animals was analyzed.**Results** There was a statistically significant difference in fasting blood glucose levels between the high-dose STZ group and the normal control group ( $P<0.05$ ). The body weight of the high-fat diet group was higher than that of the normal diet group on the 4th, 8th and 12th weeks of high-fat diet feeding, and the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ). The body weight of the 16th week was higher than that of the normal diet group, but the difference was not statistically significant ( $P>0.05$ ). After 16 weeks of feeding, the blood glucose levels in the high-fat group were higher than those in the normal diet group at 30, 60, and 120 min after glucose administration, and the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ).**Conclusion** The animal model of diabetes mellitus induced by streptozotocin can effectively simulate the course and pathogenesis of type 1 diabetes mellitus, while the animal model of type 2 diabetes mellitus induced by special diet is suitable for preclinical screening of hypoglycemic drugs.

**Key words:** Streptozotocin; Diabetes mellitus; Blood glucose; High-fat diet induction; Animal model

糖尿病(diabetes mellitus,DM)是一种进行性糖、脂肪、蛋白质、水和电解质的代谢性疾病,是遗传和环境因素共同作用下胰岛素分泌相对或绝对缺乏所致<sup>[1,2]</sup>。该病的长期存在及发展使机体长期处于高血糖的环境下,可出现肾损伤、视网膜脱落、坏疽等一系列的并发症症状<sup>[3,4]</sup>,因此已成为世界范围内致死、致残,并造成沉重医疗及生活负担的重要原

因<sup>[5]</sup>。近年来,我国糖尿病发病率和青少年发病率都有所上升,即发病率越来越呈现年轻化,目前为我国糖尿病发病率为 11%,发病人数超过 1 亿,是世界上最高的,所以对该病的研发治疗是十分必要的<sup>[5,6]</sup>。糖尿病的病因和发病机制至今未完全了解<sup>[7,8]</sup>,更需要做好对糖尿病的预防。未来糖尿病的主要研究方向之一是其发病机制及新药的研究,实验动物模型的建立对研究其发病机制和开发新药具有重要意义<sup>[9,10]</sup>。目前,国内外尚无统一的糖尿病模型,且模型的选择也多种多样<sup>[11]</sup>。例如多基因诱导的模型、饮食诱导的模型、链脲佐菌素(Streptozotocin,STZ)诱导的模型、Goto-Kakizaki(GK)大鼠等多种模型<sup>[12,13]</sup>。实

作者简介:卢丽(1995.2-),女,贵州安顺人,硕士研究生,主要从事天然产物资源利用研究

通讯作者:刘子维(1984.3-),男,湖北武汉人,博士,副教授,主要从事天然产物资源评价与利用研究

验通过链脲佐菌素和饮食诱导动物模型这两种较为经典常用的糖尿病模型建立方法进行研究。链脲佐菌素是一种 DNA 烷基化试剂,能通过 GLUT2 葡萄糖转运蛋白独自进入细胞<sup>[14]</sup>,是一种从链霉菌中提取的抗生素,可特异性破坏胰岛  $\beta$  细胞,引发胰岛的自身免疫性炎症损伤和凋亡,胰岛  $\beta$  细胞受损导致胰岛素分泌迅速减少而血糖大幅度升高,可出现糖尿病的表现<sup>[15]</sup>。大鼠和小鼠是常采用的动物<sup>[16]</sup>,雄性小鼠的建模率远高于雌性小鼠。1 型糖尿病和 2 型糖尿病是以不同的链脲佐菌素给药方式制造,类似于 2 型糖尿病的模式以小剂量开发<sup>[17]</sup>。此外,大量单剂量链脲佐菌素注射可模拟 1 型糖尿病模型。其原理可能与胰岛的损伤程度有关<sup>[18]</sup>。基于此,本研究比较了两种不同糖尿病动物模型的建立及作用,现报道如下。

## 1 材料与方法

1.1 仪器 罗氏逸动型血糖仪,血糖试纸,注射器,手术剪,电子分析天平(美国 METTLER TOLEDO 公司生产)。

1.2 实验药品及试剂 链脲佐菌素(VETEC,批号 V900890-1G),一水合柠檬酸,二水合柠檬酸三钠,pH 试纸,生理盐水,医用酒精。

1.3 实验药品配置 柠檬酸缓冲液配置:柠檬酸(FW:210.14)2.1 g 加入双蒸水 100 ml 中配成 A 液;柠檬酸钠(FW:294.10)2.94 g 加入双蒸水 100 ml 中配成 B 液;将 A 液与 B 液按(1:1.32 或 1:1)的比例混合使用,测定它的 pH 值,并调节 pH 在 4.2~4.5 的范围内,即可配置成所需缓冲液。链脲佐菌素配置:将链脲佐菌素用 1%柠檬酸缓冲液溶解,并在 30 min 内注射完毕。

1.4 实验动物 链脲佐菌素诱导:ICR 小鼠 40 只,SPF 级,18~22 g,雄性,动物许可证号 SCXK(京)2002-0003。饲养环境:室温应保持在各种动物最适宜温度 $\pm 3^{\circ}\text{C}$ ,动物最适宜的环境为  $21^{\circ}\text{C}$ ~ $27^{\circ}\text{C}$ 。相对湿度在 40%~70%,动物室的音响保持在 60 分贝以下,空气中氨浓度的限度,不超过 20 ppm。特殊膳食诱导:健康清洁级雄性小鼠 20 只,4 周龄,体质量( $10\pm 2$ )g,饲养条件:室内温度  $18^{\circ}\text{C}$ ~ $22^{\circ}\text{C}$ ,相对湿度,自由摄取水、食物。

## 1.5 方法

1.5.1 糖尿病模型制备及药物的干预 将 40 只雄性 ICR 小鼠,适应 3 d,在给药前 12 h 内不给食物,可

以喂水,之后随机分为正常对照组和不同剂量链脲佐菌素组(120、130、140 mg/kg)。

1.5.2 血糖的检测 在第 1 次腹腔注射给药后的第 6 天不给食物喂养 2 h,取小鼠尾尖的血,然后测其空腹的血糖值,应当将血糖值选择在  $10\text{ mmol/L}\leq$  血糖值 $\leq 25\text{ mmol/L}$  之中,得到数值后与正常对照组比较,如果有显著的差异则认为造模成功,之后就使用此剂量来进行造模。

1.5.3 分组与高脂饮食诱导 将 20 只 4 周龄的雄性小鼠适应性的喂养 1 周后,随机分为两组,每组 10 只,一组为普食组,另一组为高脂组。普食饲料的成分(4%脂肪,78%碳水化合物,18%蛋白质),高脂饲料中的成分(45%脂肪,35%碳水化合物,20%蛋白质)。普食组给予喂养普食饲料,高脂组给予高脂饲料喂养,自由进食饮水,经过 16 周的长期喂养,进行糖耐量(oral glucose tolerance test,OGTT)检测。

1.5.4 动态监测体重与 OGTT 血糖值 每周固定的时间对所有小鼠称取体重,将小鼠体重变化绘制记录为曲线表,观察小鼠的变化。第 16 周后所有小鼠都进行口服葡萄糖耐量试验,小鼠在 12 h 内不给予食物和水喂养,之后对小鼠进行剂量为 2 mg/g 的葡萄糖液灌胃。首先需要在乙醚麻醉的情况下分别在各时间点 0、30、60、120 min,将小鼠的尾静脉断尾后,对其进行取血,最后测定其血糖值,达到糖尿病标准,随机血糖 $\geq 11.1\text{ mmol/L}$ (200 mg/dl)或空腹血浆葡萄糖浓度 $\geq 7.0\text{ mmol/L}$ (126 mg/dl)或 OGTT 2 h 血浆葡萄糖浓度 $\geq 11.1\text{ mmol/L}$ <sup>[19]</sup>。

1.6 观察指标 比较正常小鼠与不同剂量链脲佐菌素组血糖值,普食组与高脂组喂养第 1、4、8、12、16 周体重,分析高脂饮食喂养对糖尿病模型动物糖耐量的影响。

1.7 统计学方法 用 SPSS 15.0 软件进行数据处理。采用方差分析方法,在方差分析中,各实验组以差异总体相等为前提,在保证差异相等之前,首先进行方差齐性检验,计算统计的  $F$  值,确定  $P$  值,并得出推断结果。当  $F<0.05$  时,各组平均样本数无显著性差异,具有统计学意义。当  $F\geq 0.05$ , $P\leq 0.05$ ,每个实验组与同一对照组进行比较。

## 2 结果

2.1 链脲佐菌素诱导实验结果 STZ 高剂量组空腹血糖水平与正常对照组比较,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),见表 1。

表 1 正常小鼠空腹进行腹腔注射 STZ 后血糖的影响( $\bar{x}\pm s$ )

组别	n	剂量(mg/kg)	注射后血糖值(mmol/L)
正常对照组	10	/	9.30±0.98
STZ 低剂量组	10	120	9.12±1.89
STZ 中剂量组	10	130	12.88±6.03
STZ 高剂量组	10	140	17.98±5.73*

注:与正常对照组比较,\* $P<0.05$

2.2 特殊膳食诱导 高脂组高脂饮食喂养第 4、8、12 周体重高于普食组,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。第 16 周体重高于普食组,但差异无统计学意义( $P>0.05$ ),见表 2。第 16 周的喂养后高脂组给糖后 30、

60、120 min 血糖值高于普食组,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),见表 3。

表 2 喂养 16 周各组小鼠体重比较( $\bar{x}\pm s,g$ )

饲养时间	普食组(n=10)	高脂组(n=10)
第 1 周	11.31±0.39	11.32±1.33
第 4 周	20.16±0.78	22.35±0.54*
第 8 周	22.40±0.48	27.49±0.90*
第 12 周	25.26±0.59	29.58±0.84*
第 16 周	27.32±0.34	29.93±2.76

注:与普食组比较,\* $P<0.05$

表 3 高脂饮食喂养对糖尿病模型动物糖耐量的影响( $\bar{x}\pm s,mmol/L$ )

组别	n	给糖后 30 min 血糖值	给糖后 60 min 血糖值	给糖后 120 min 血糖值
普食组	10	9.34±3.21	8.99±1.75	6.77±3.49
高脂组	10	18.31±3.21*	16.26±3.27*	15.50±2.32*

3 讨论

实验采用链脲佐菌素诱导 1 型糖尿病动物模型,利用链脲佐菌素对动物胰岛功能的破坏建成需要的模型,建模后血糖值选择在  $10\text{ mmol/L}\leq$  血糖值 $\leq 25\text{ mmol/L}$ ,得到数值后与正常对照组比较,如果有显著的差异,就认为造模成功,之后用此剂量来进行造模。本实验结果得出  $140\text{ mg/kg}$  链脲佐菌素为最佳造模剂量。链脲佐菌素具有半衰期长、建模快速稳定、对实验动物选择性低、对实验动物毒性低等优点,更适合于临床应用,用这种方法制作的模型可以模拟临床 1 型糖尿病,与既往研究一致<sup>[20]</sup>。

实验采用的另一种动物模型为特殊膳食诱导建立 2 型糖尿病动物模型,建立胰岛素抵抗动物模型的方法是通过过量摄入食物或高蛋白、高脂肪、高糖饮食,使实验动物的胰岛细胞超载,从而引发糖尿病。小鼠在高脂饲料喂养后造成的 2 型糖尿病动物模型,具有明显的糖尿病的表型特征,其糖耐量也高于普食组,对小鼠进行检测,达到了糖尿病的标准,它们与因肥胖而引发的 2 型糖尿病患者有相似的表现特征,说明可以通过给小鼠喂养高脂肪食物来建立肥胖型糖尿病老鼠模型。这些动物有明显的高血糖症及致死性酮症<sup>[21]</sup>。高脂高糖饲料喂养的糖尿病模型与人类肥胖引起的 2 型糖尿病发病机制相似,且这种方法能够避免化学试剂对小鼠组织的伤害,但是特殊膳食诱导的动物模型一般需要的

周期比较长。

综上所述,第一种方法链脲佐菌素破坏动物的胰岛功能从而使机体产生高血糖、胰岛素抵抗等,这种模型的优点是稳定且建模快速,但是由于链脲佐菌素对胰岛细胞的破坏作用较强,不适合用于对降糖药物的筛选,比较适合于糖尿病发病机制的研究。另一种特殊饮食诱导的 2 型糖尿病动物模型。在进行高脂饲料喂养后,动物血糖水平和胰岛素抵抗可能与临床 2 型糖尿病相似,更适合降糖药物的临床前筛选试验,缺点是需要周期比较长。因此,该实验采用高脂饲料喂养建立模型。

参考文献:

[1]Glovaci D,Fan W,Wong ND.Epidemiology of Diabetes Mellitus and Cardiovascular Disease[J].Curr Cardiol Rep,2019,21(4): 21.  
[2]McHugh K,DeVore AD,Wu J,et al.Heart Failure With Preserved Ejection Fraction and Diabetes: JACC State-of-the-Art Review[J].J Am Coll Cardiol,2019,73(5):602-611.  
[3]Nather A,Cao S,Chen JLW,et al.Prevention of diabetic foot complications[J].Singapore Med J,2018,59(6):291-294.  
[4]Christ-Crain M.Diabetes Insipidus: New Concepts for Diagnosis[J].Neuroendocrinology,2020,110(9-10):859-867.  
[5]Luo Z,Fabre G,Rodwin VG.Meeting the Challenge of Diabetes in China[J].Int J Health Policy Manag,2020,9(2):47-52.

(下转第 132 页)

(上接第 127 页)

- [6] Wei W, Jiang W, Han T, et al. The future of prevention and treatment of diabetes with nutrition in China [J]. *Cell Metab*, 2021, 33(10): 1908–1910.
- [7] Makaryus AN, McFarlane SI. Diabetes insipidus: diagnosis and treatment of a complex disease [J]. *Cleve Clin J Med*, 2006, 73(1): 65–71.
- [8] Almalki MH, Ahmad MM, Brema I, et al. Management of Diabetes Insipidus following Surgery for Pituitary and Suprasellar Tumours [J]. *Sultan Qaboos Univ Med J*, 2021, 21(3): 354–364.
- [9] Al-Awar A, Kupai K, Veszelka M, et al. Experimental Diabetes Mellitus in Different Animal Models [J]. *J Diabetes Res*, 2016, 2016: 9051426.
- [10] Mieczkowski M, Mrozikiewicz-Rakowska B, Kowara M, et al. The Problem of Wound Healing in Diabetes—From Molecular Pathways to the Design of an Animal Model [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(14): 7930.
- [11] Jolivald CG, Frizzi KE, Guernsey L, et al. Peripheral Neuropathy in Mouse Models of Diabetes [J]. *Curr Protoc Mouse Biol*, 2016, 6(3): 223–255.
- [12] Zheng Y, Zhang F, Deng C, et al. Research progress on effects of high glucose microenvironment on biological activity of adipose-derived stem cells [J]. *Chinese Journal of Reparative and Reconstructive Surgery*, 2020, 34(12): 1602–1606.
- [13] Magalhães DA, Kume WT, Correia FS, et al. High-fat diet and streptozotocin in the induction of type 2 diabetes mellitus: a new proposal [J]. *An Acad Bras Cienc*, 2019, 91(1): e20180314.
- [14] Akinlade OM, Owoyele BV, Soladoye AO. Streptozotocin-induced type 1 and 2 diabetes in rodents: a model for studying diabetic cardiac autonomic neuropathy [J]. *Afr Health Sci*, 2021, 21(2): 719–727.
- [15] Sakai S, Yamamoto T, Takabatake Y, et al. Proximal Tubule Autophagy Differs in Type 1 and 2 Diabetes [J]. *J Am Soc Nephrol*, 20(6): 929–945.
- [16] Furman BL. Streptozotocin-Induced Diabetic Models in Mice and Rats [J]. *Curr Protoc Pharmacol*, 2015, 70: 5.47.1–5.47.20.
- [17] 付庭吕, 李宁, 刘博昊. 链脲佐菌素诱导糖尿病肺纤维化小鼠模型的建立与评价 [J]. *中国实验动物学报*, 2023, 31(2): 194–200.
- [18] 党佳蓉, 党琳慧, 郭煦妍. 糖尿病肾病的发病机制研究 [J]. *医学信息*, 2022, 35(17): 161–165.
- [19] 罗文海, 张庆凤. 定量数据 SPSS 正态性检验影响因素探讨 [J]. *中国医院统计*, 2018, 25(4): 283–286.
- [20] Yuan W, Fukuda S, Inoue T, et al. Establishment of a diabetes mellitus type 1 model in the common marmoset [J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 14546.
- [21] de Sá-Ferreira CO, da Costa CHM, Guimarães JCW, et al. Diabetic ketoacidosis and COVID-19: what have we learned so far? [J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2022, 322(1): E44–E53.

收稿日期: 2023-05-10; 修回日期: 2023-05-22

编辑/肖婷婷