

STZ 小剂量多次与大剂量单次腹腔注射诱导糖尿病大鼠模型的研究

熊煜欣, 杨莹, 陶文玉, 王飞英, 李显丽, 彭辉
(昆明医科大学第四附属医院内分泌科, 云南昆明 650021)

[摘要] **目的** 观察小剂量 STZ 多次与大剂量单次腹腔注射诱导糖尿病大鼠模型的成模率, 探讨 STZ 建立糖尿病动物模型的理想方案. **方法** 健康雄性 SD 大鼠 48 只, 随机分为 6 组, 第 1 组 (20 mg/kg)、第 2 组 (30 mg/kg)、第 3 组 (40 mg/kg)、第 4 组 (50 mg/kg)、第 5 组 (60 mg/kg) 和第 6 组 (对照组), 其中 1、2、3 组按多次腹腔注射方案, 每次注射间隔时间为 5 d, 4、5 组按一次腹腔注射方案. 在每次注射后第 5 天进行血糖的测定. **结果** 第 2 组注射 4 次后造模成功, 第 3 组注射 2 次后造模成功, 第 4、5 组在注射 1 次后造模均成功. 至实验结束时, 第 2~5 组造模成功率分别为 75%、100%、75%、75%, 第 1 组注射 5 次后造模仍未成功. 第 5 组有 2 只大鼠死亡. **结论** 一次腹腔注射 STZ 50 mg/kg, 成模率较高, 存活率高, 是建立 SD 大鼠糖尿病模型较为经济的方案.

[关键词] 链脲佐菌素; 糖尿病; 大鼠; 血糖

[中图分类号] R587.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 2095-610X (2014) 09-0009-04

Research on Streptozotocin Induced Diabetic Rats by Low Dose Repeated and Large Dose with a Single Intraperitoneal Injection

XIONG Yu-xin, YANG Ying, TAO Wen-yu, WANG Fei-ying, LI Xian-li, PENG Hui
(Dept. of Endocrinology, The 4th Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming Yunnan 650021, China)

[Abstract] **Objective** The study was aimed to observe the success rate of streptozotocin (STZ) induced diabetic rats by low dose repeated and large dose with a single intraperitoneal injection, and explore the ideal scheme of STZ induced diabetic rats. **Methods** 48 healthy male SD rats were randomly divided into 6 groups: group 1 (20 mg/kg), group 2 (30 mg/kg), group 3 (40 mg/kg), group 4 (50 mg/kg), group 5 (60 mg/kg) and group 6 (the control group). The groups 1-3 were treated with repeated intraperitoneal injection scheme, and each injection interval time was 5 days. The groups 4 and 5 were conducted according to the single intraperitoneal injection scheme. Blood glucose was measured at the fifth day after each injection. **Results** The rats model of group 2, group 3, and groups 4 and 5 was successfully established after four times, two times and one time of injection, respectively. At the end of the experiment, the success rate of groups 2 to 5 was 75%, 100%, 75% and 75%, respectively. In group 1, the model has not yet succeeded after five times injection. In group 5, 2 rats died. **Conclusion** The single intraperitoneal injection of STZ 50 mg/kg was an economical approach to induce diabetic SD rats, which has high success rate and survival rate.

[Key words] Streptozotocin; Diabetes mellitus; Rat; Blood glucose

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目 (30960148, 81260135); 云南省中青年学术技术带头人后备人才基金项目 (2011CI045); 云南省医学学科带头人基金资助项目 (D-201217); 云南省应用基础研究基金资助项目 (2013FZ193); 云南省教育厅科学研究基金资助项目 (2012Y032)

[作者简介] 熊煜欣 (1979~), 男, 云南昆明市人, 医学学士, 主治医师, 主要从事内分泌科临床工作.

[通讯作者] 杨莹. E-mail: yangying2072@126.com

糖尿病 (diabetes mellitus, DM) 动物模型的建立对深入研究糖尿病的发病、治疗、预防及其并发症的转归有重要意义。链脲佐菌素 (streptozotocin, STZ) 与葡萄糖分子具有足够的相似度, 能够被胰岛 β 细胞上低亲和力的葡萄糖转运蛋白 (GLUT2) 转运, 故 STZ 可以特异性地作用于胰岛 β 细胞并引起其结构破坏和胰岛素分泌功能障碍^[1]。SD 大鼠饲养成本相对较低, 与其他实验大鼠相比, SD 大鼠的适应性和抗病能力较强, 易于成活, 常作为动物模型的优先选择^[2]。本实验主要通过小剂量 STZ 单次及大剂量多次腹腔注射诱导产生糖尿病动物模型的对比, 探索 STZ 制造 DM 动物模型的理想剂量, 研究其对 SD 大鼠的血糖, 并为该模型的应用提供实验依据。

1 材料与方 法

1.1 实验材料

1.1.1 实验动物 SPF 级健康雄性 SD 大鼠 48 只, 体重 (388.79 ± 34.21) g, 购自昆明医科大学实验动物学部。

1.1.2 药品及试剂 链脲佐菌素 (STZ) (美国 Sigma 公司); 柠檬酸缓冲液 (上海国药集团化学试剂有限公司)。

1.1.3 仪器 微量血糖仪 (美国强生稳豪型)。

1.2 方 法

1.2.1 动物分组 实验前用血糖仪测定大鼠空腹血糖, 入选的 48 只成年健康雄性 SD 大鼠随机分为 6 组, 分别为第 1 组 (20 mg/kg)、第 2 组 (30 mg/kg)、第 3 组 (40 mg/kg)、第 4 组 (50 mg/kg)、第 5 组 (60 mg/kg) 和第 6 组 (对照组)。

1.2.2 糖尿病模型的制备 各组实验动物分笼饲养, 造模前不禁食不禁水。实验当天将 STZ 溶于

0.1% 柠檬酸缓冲液 (pH4.4), 其中第 1、2、3 组按多次腹腔注射方案, 每次注射间隔时间为 5 d, 第 4、5 组按一次腹腔注射方案。于每次注射后第 5 天测血糖。用微量血糖仪测定尾静脉血糖, 以血糖高于 16.7 mmol/L 为造模成功^[3]。

1.2.3 成模率及死亡率的计算

$$\text{成模率} = \frac{\text{成模大鼠数量}}{\text{造模大鼠数量}}$$

$$\text{死亡率} = \frac{\text{死亡大鼠数量}}{\text{造模大鼠数量}}$$

1.3 统计学处理

所有数据以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。组间不同时间段血糖浓度比较采用随机区组方差分析, 多重检验用 Bonferroni 法。以上计算运用 GraphPad Prism 6 统计软件进行处理。P < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 血糖变化情况

腹腔注射 72 h 后, 第 4、5 组大鼠出现饮水增加、进食增加, 尿量增加的情况, 余组无明显变化。至注药后第 5 天, 第 3~5 组大鼠血糖均出现明显升高, 与对照组相比差异有统计学意义 (P < 0.05), 见表 1。在实验第 15 天、第 20 天、第 25 天第 4、5 组大鼠血糖未出现明显变化, 见图 1。第 3 组大鼠在第 2 次注药后第 5 天, 血糖进一步升高, 在实验结束时血糖水平维持在 18 mmol/L 以上, 见图 1。第 2 组大鼠血糖在第 4 次注药后第 5 天, 血糖开始升高, 至实验结束时, 血糖未出现明显下降, 见图 1。第 1 组大鼠共计 5 次注药, 但血糖均无明显变化, 与对照组相比无统计学意义 (P > 0.05), 见表 1。

表 1 各组大鼠造模前及造模后不同时间血糖变化 [$(\bar{x} \pm s)$, mmol/L]

Tab. 1 The changes of blood glucose of rats in each group at different times [$(\bar{x} \pm s)$, mmol/L]

组 别	造模前	造模后				
		第 5 天	第 10 天	第 15 天	第 20 天	第 25 天
第 1 组	5.51 \pm 1.17	5.55 \pm 0.42	6.58 \pm 0.88	5.83 \pm 0.91	6.96 \pm 0.79	7.73 \pm 1.73
第 2 组	5.28 \pm 0.43	6.59 \pm 1.20	7.71 \pm 1.52	11.53 \pm 3.86	18.8 \pm 7.87*	15.83 \pm 5.65*
第 3 组	5.51 \pm 0.35	14.56 \pm 3.98*	23.23 \pm 6.36*	25.64 \pm 6.12*	27.41 \pm 6.09*	28.86 \pm 5.91*
第 4 组	5.49 \pm 0.74	20.93 \pm 2.60*	18.18 \pm 1.07*	20.31 \pm 7.23*	21.18 \pm 9.83*	21.03 \pm 10.02*
第 5 组	5.20 \pm 0.78	21.49 \pm 3.63*	29.05 \pm 4.51*	32.70 \pm 1.47*	31.77 \pm 2.38*	28.88 \pm 5.25*
第 6 组	5.24 \pm 0.62	5.33 \pm 1.08	5.33 \pm 1.22	5.35 \pm 0.22	5.37 \pm 0.61	5.01 \pm 0.58

与第 6 组比较, *P < 0.05。

2.2 成模率及死亡率

至本实验结束时 (第 5 次注药后第 5 天), 第 1 组大鼠血糖均为达到成模标准, 成模率为零, 无大鼠死亡; 第 2 组大鼠成模率为 75%, 无大鼠死亡; 第 3 组大鼠成模率均为 100%, 无大鼠死亡; 第 4 组大鼠成模率为 75%, 无大鼠死亡; 第 5 组大鼠在第 1 次注药后第 14 天, 有 2 只死亡, 成模率为 75%, 死亡率为 25% (表 2) .

表 2 各组大鼠不同时间成模率 (%)

Tab. 2 The success rates in each group at different time (%)

组 别	造模后				
	5 d	10 d	15 d	20 d	25 d
第 1 组	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
第 2 组	0.0	0.0	12.5	62.5	75.0
第 3 组	12.5	87.5	87.5	100.0	100.0
第 4 组	100.0	100.0	62.5	75.0	75.0
第 5 组	100.0	100.0	75.0	75.0	75.0
第 6 组	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

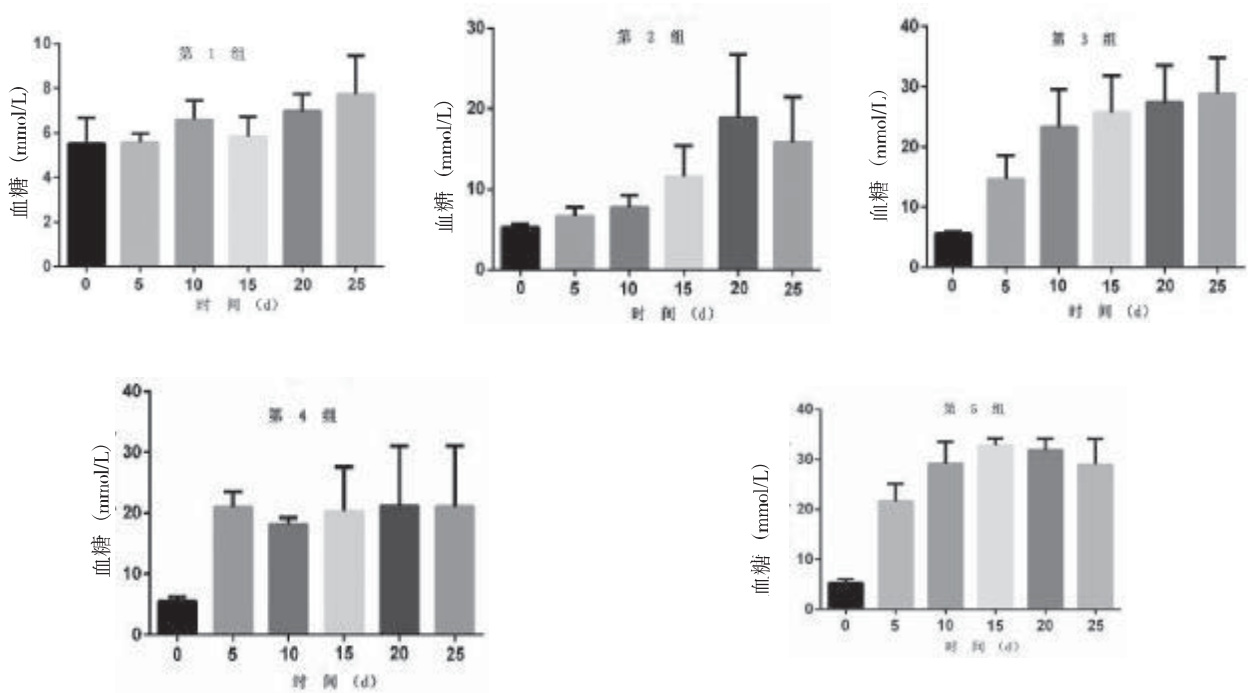
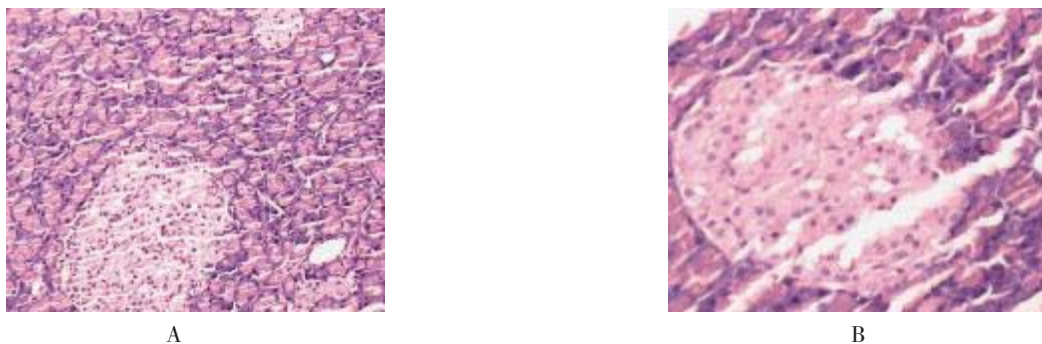


图 1 各组大鼠造模后血糖随时间波动情况

Fig. 1 The fluctuation of blood glucose in each groups at different times after molding



A

B

图 2 胰腺组织病理形态变化

Fig. 2 The pathological changes of pancreatic tissue

A:胰岛大小不一 (HE × 100); B:胰岛空泡变性 (HE × 200)

3 讨论

运用 STZ 和四氧嘧啶 (ALX) 是诱导 DM 动物模型的常用的两种化学造模方法. 与 ALX 相比, STZ 具有用药量小, 药物毒性低, 胰岛 β 细胞损害特异性高等优点, 因此目前多采用 STZ 诱导 DM 动物模型. 目前国内外选择 STZ 诱导 DM 大鼠模型的造模剂量相差较大, 有 20^[4]、30^[5]、40^[4]、50^[6]、60^[7]、65^[8] mg/kg 等, 且造模方法不一, 有多次腹腔注射、单次腹腔注射、尾静脉注射; 因尾静脉注射方法操作成功率较低, 故现已较少采用. 因此, 探研 STZ 诱导实验性大鼠 DM 模型的计量及方法, 对深入研究 DM 的本质、急慢性并发症的发生和发展, 以及 DM 的预防和治疗都有着重要意义.

本次研究中, 第 4、5 组大鼠经 1 次腹腔注射 STZ 后, 血糖均达到成模要求, 造模成功, 但在实验第 14 天第 5 组大鼠有 2 只死亡, 死亡时血糖分别为 1.3、2.4 mmol/L, 经解剖后未见脏器损伤, 行胰腺 HE 染色、病理检查提示胰岛大小不一, 胰岛细胞空泡变性, 见图 2, 考虑为 β 细胞大量破坏释放胰岛素造成低血糖引起死亡. 第 4 组大鼠在实验结束时, 有 2 只大鼠血糖降至 9 mmol/L 以下, 无大鼠死亡. 第 3 组大鼠经 2 次注药、第 2 组大鼠经 4 次注药后, 造模成功, 至实验结束时, 无大鼠死亡. 第 1 组大鼠总共注射 5 次 STZ, 至实验结束时最高血糖为 8.9 mmol/L, 造模未成功, 考虑为剂量过低, 胰岛 β 细胞损害不足.

综上所述, 使用 STZ 单次腹腔注射及多次腹腔注射, 均可成为诱导实验性大鼠 DM 模型的方法, 但 STZ 剂量过低 (≤ 20 mg/kg) 不足以引起足够的胰岛 β 细胞损害, 而剂量过大 (≥ 60 mg/kg) 则会引起胰岛 β 细胞过度损害, 最终都会导致成模率下降. 因此, 在本实验条件下, 一次性腹腔注射 50 mg/kg 剂量的 STZ 是建立 SD 大鼠 DM 动物模

型的理想方案. 该方案具有低成本、动物成模率高、存活率高、死亡风险低的优点, 为本研究后续实验奠定了基础.

[参考文献]

- [1] JURYSTA C, NICAISE C, GIROIX M H, et al. Comparison of GLUT1, GLUT2, GLUT4 and SGLT1 mRNA expression in the salivary glands and six other organs of control, streptozotocin-induced and Goto-Kakizaki diabetic rats [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2013, 31(1):37-43.
- [2] KIMY H, CHOI M Y, KIMY S, et al. Triamcinolone acetate protects the rat retina from STZ-induced acute inflammation and early vascular leakage [J]. *Life Sci*, 2007, 81(14):1167-1173.
- [3] MAITI S, ALI K M, JANA K, et al. Ameliorating effect of mother tincture of *Syzygium jambolanum* on carbohydrate and lipid metabolic disorders in streptozotocin-induced diabetic rat: Homeopathic remedy [J]. *Nat Sci Biol Med*, 2013, 4(1):68-73.
- [4] 杨巍, 罗春元, 于春雷, 等. 不同剂量 STZ 诱导小鼠糖尿病模型的发病机制 [J]. *吉林大学学报 (医学版)*, 2006, 32(3):432-435.
- [5] 刘霆, 张桂珍, 卜丽莎, 等. STZ 小剂量多次注射诱导大鼠胰岛素依赖性糖尿病动物模型探讨 [J]. *白求恩医科大学学报*, 2001, 27(6):578-580.
- [6] JI E S, KO I G, CHO J W, et al. Treadmill exercise inhibits apoptotic neuronal cell death with suppressed vascular endothelial growth factor expression in the retinas of the diabetic rats [J]. *Exerc Rehabil*, 2013, 9(3):348-353.
- [7] KHATHI A, SERUMULA M R, MYBURG RB, et al. Effects of *Syzygium aromaticum*-derived triterpenes on postprandial blood glucose in streptozotocin-induced diabetic rats following carbohydrate challenge [J]. *PLoS One*, 2013, 8(11):e81632.
- [8] 杨竞, 徐洋, 蔡春荣, 等. 链脲佐菌素建立 1 型糖尿病大鼠模型的剂量研究 [J]. *遵义医学院学报*, 2012, 35(1):9-12.

(2014-05-21 收稿)