

实验性肥胖及糖尿病大鼠模型

谢明智 刘海帆 张凌云 申竹芳 陈其明

(中国医学科学院药物研究所, 北京)

提要 本文报告用小剂量链脲霉素 (25 mg/kg) 给雌性大鼠静脉注射, 使大鼠糖耐量异常, 然后加喂高热量食物, 引起动物肥胖, 饲养 8 或 18 周, 可形成类似 II 型糖尿病的肥胖大鼠模型。

关键词 肥胖; 糖尿病; 实验大鼠模型; 链脲霉素; 高糖-脂肪食物

II 型糖尿病 (非胰岛素依赖型) 病人血胰岛素水平接近于正常或偏高, 但血中胰岛素却不能有效地控制血糖水平, 因而表现糖耐量异常; 病人靶组织 (肝、肌肉及脂肪) 对胰岛素反应不敏感甚至出现抗性; 临床上大多数 II 型糖尿病病人常伴有肥胖。根据以上特点, 本实验以化学物质造成大鼠的糖耐量异常, 再以高热量食物诱发动动物肥胖, 在不长的时期内形成类似人 II 型糖尿病的实验动物模型, 此模型可用于研究 II 型糖尿病的病理生理、并发症及口服降血糖药的作用等。

材 料 和 方 法

实验用雌性 Wistar 大白鼠, 体重为 230~250 g, 由本院动物中心供应; 链脲霉素 (streptozotocin, 简称 SZ) 为美国 Sigma 化学公司产品, 用时溶于 0.1 M pH 4.4 枸橼酸缓冲液中。将大鼠随机分为两组, 一组尾静脉注射 SZ 25~30 mg/kg, 给药后, 2~3 周测定葡萄糖耐量, 挑选糖耐量异常者, 加喂高脂高糖半合成高热量饲料 (22% 脂肪, 52% 蔗糖, 18% 蛋白质及适量混合盐, 维生素及纤维素等, 热量为 4.8 Cal/g)。另一组大鼠不注射 SZ, 只喂正常饲料, 为对照组。两组动物分别放在小长方铁丝笼 (17×11×19 cm²) 中单个喂养, 以保证每个动物的进食量, 同时也可限制其活动。从实验组喂高热量食物开始计算实验时间, 先后观察两批实验动物, 第一批实验时间为 8 周, 第二批为 18 周。实验中定期记录动物体重, 尾部采血测定葡萄糖耐量。实验结束时剪头处死动物, 收集血液, 测定血胰岛素水平, 血脂 (甘油三酯、胆固醇及游离脂肪酸) 及肝脂 (甘油三酯, 胆固醇及游离脂肪酸), 称体内脂肪重量 (肾周围及腹膜后脂肪) 并计算脂肪与体重的比值。对肝、肾及胰岛进行病理切片观察。

血清葡萄糖测定用葡萄糖氧化酶及过氧化物酶法⁽¹⁾; 血清胰岛素测定用放射免疫法。测定甘油三酯 (乙酰丙酮显色法), 胆固醇 (邻苯二甲醛显色法) 及游离脂肪酸 (铜试剂显色法) 均按“临床生化检验”^(2~4)的方法。

实 验 结 果

(一) 体重变化

实验组 (SZ + 高热量食物, 以下同) 的体重明显高于正常对照组。二批实验基本一致。图 1 为第二批实验大鼠与对照组大鼠在喂养 18 周内的体重变化曲线。从实验第 2 周起, 动

本文于 1985 年 1 月 17 日收到

本文曾在第三届全国药理学术会议 (1984, 九江) 论文报告会上宣读

物体重的增长, 实验组明显较对照组快 ($P < 0.05$), 第 5 周以后, 两组差异更显著 ($P < 0.001$)。

(二) 葡萄糖耐量试验

两组大鼠于禁食 4 h 后, 腹腔注射葡萄糖 2 g/kg, 测定 0, 0.5, 1 及 2 h 血糖水平, 实验组动物无论在实验早期 (3 周), 中期 (7 周) 或晚期 (13 周), 都表现明显的糖耐量异常, 而对照组动物的糖耐量始终无异常变化。

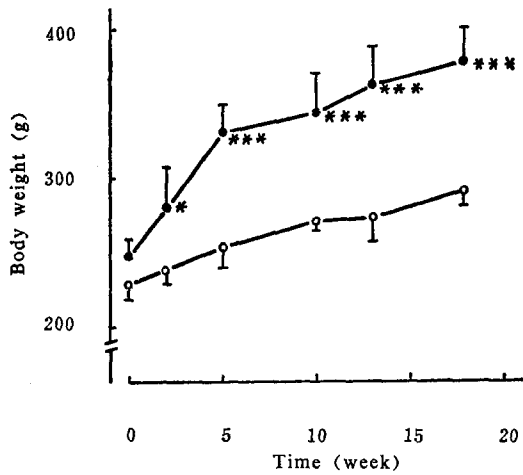


Fig 1. Effect of SZ+high sucrose-fat diet on body weight of rats. * $p < 0.05$; *** $p < 0.001$. Each point represents $\bar{X} \pm SD$ of 5 rats. \circ — \circ Control; \bullet — \bullet Treated

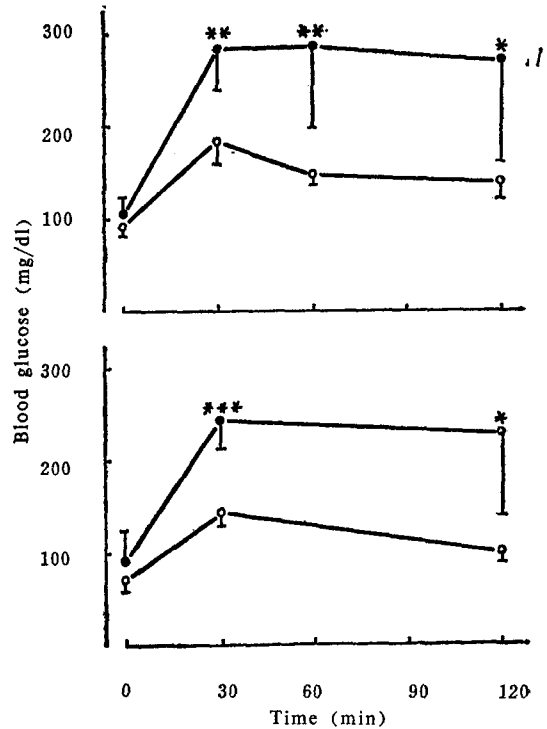


Fig 2. Effect of SZ+high sucrose-fat diet on glucose tolerance of rats. A: 3 weeks; B: 7 weeks. \circ — \circ Control; \bullet — \bullet Treated; * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$; Each point represents $\bar{X} \pm SD$ of 5 rats

(三) 胰岛素耐量试验及血胰岛素水平

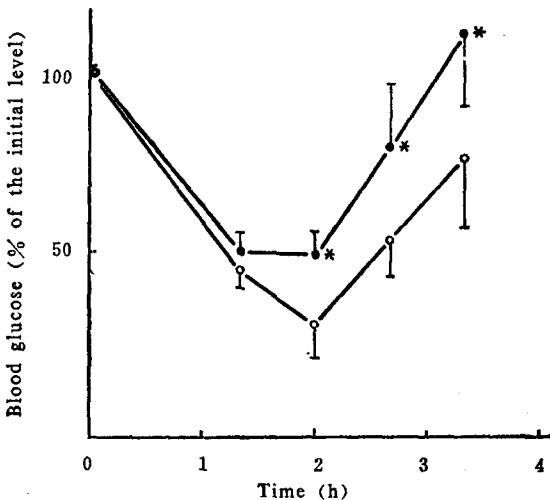


Fig 3. Effect of SZ+high sucrose-fat diet on insulin tolerance of rats. \circ — \circ Control; \bullet — \bullet Treated. * $p < 0.05$; Each point represents $\bar{X} \pm SD$ of 5 rats

图 3 为两组大鼠禁食 4 h, 腹腔注射胰岛素 0.5 u/kg 后, 测定的 0, 1, 2, 3 及 4 h 血糖水平。可见对照组动物血糖下降比实验组明显, 说明实验组动物已出现胰岛素抗性, 这种现象一般在实验开始 5 周以后才发生。

实验结束时测定各组动物禁食 4 h 后的血清胰岛素水平, 实验组高于对照组 (表 1)。

(四) 血脂、肝脂含量及体内脂肪量

实验结束时, 动物禁食 4 h 后测血脂, 实验组的血清甘油三酯及胆固醇量均明显高于对照组, 但游离脂肪酸的含量二者无明显区别 (表 1)。

实验组动物肝脏中的甘油三酯, 胆固醇及游离脂肪酸均明显高于对照组 (表 2)。在

Tab 1. Effect of SZ+high sucrose-fat diet on body weight, serum glucose, serum insulin and serum lipids of rats ($\bar{X}\pm SD$)

	Treated	Control	Treated	Control
Weeks of treatment	8	8	18	18
Number of rats	5	5	5	5
Dosage of SZ (mg/kg)	25		30	
Body weight (g)	304.4±23.6**	260.4±16.6	379.4±31.2***	293.4±12.1
Serum glucose (mg/dl)	89.6±17.4	75.7±11.2	121.6±31.5*	79.8±7.6
Serum insulin (μ u/ml)	64.7±34.8	29.5±7.0	62.4±26.9*	28.0±11.4
Serum triglyceride (mg/dl)	193.5±64.5*	96.8±32.3	384.7±149.6**	113.3±39.7
Serum cholesterol (mg/dl)	493.1±133.3**	225.1±40.0	377.9±86.1**	98.8±36.0
Serum free fatty acid (μ Eq/l)	240.0±60.0	210.0±30.0	—	—

* $P<0.05$; ** $P<0.01$; *** $P<0.001$

另一批喂高热量食物 16 周的实验组动物肝脏重量为 18.2 ± 4.0 g ($n=5$), 同批对照组肝重仅 9.3 ± 0.5 g ($n=3$) ($P<0.001$), 说明实验组动物的肝脏明显增大。肉眼观察, 各实验组动物的肝脏呈土黄色, 病理切片观察, 有明显的脂肪性变。

动物处死后, 剥离腹膜后及肾周围脂肪组织并称重。实验组明显高于对照组, 脂肪/体重比值, 前者也明显高于后者, 如表 2 所示。

Tab 2. Effect of SZ+high sucrose-fat diet on adipose tissue weight and liver lipid content of rats ($\bar{X}\pm SD$)

	Treated	Control	Treated	Control
Weeks of treatment	8	8	18	18
Number of rats	5	5	5	5
Body weight(B W, g)	304.4±23.6*	260.4±16.6	379.4±31.2**	293.4±12.1
Adipose tissue [△]				
Wet weight (g)	16.8±2.4**	5.7±2.0	27.7±8.0*	12.5±1.6
Wet weight/100 g B. W.	5.5±0.5**	2.2±0.7	7.2±1.5*	4.2±0.4
Liver				
Triglyceride (mg/g)	113.5±25.0**	14.0±5.1	78.6±25.7**	9.0±3.9
Cholesterol (mg/g)	—	—	30.0±14.2*	6.2±3.2
Free fatty acid (μ Eq/g)	—	—	24.1±3.4**	8.2±2.4

* $p<0.01$; ** $p<0.001$; [△] Postperitoneal and perinephric adipose tissue of the animals were removed in toto

(五) 胰岛及肾脏的形态改变

对照组胰岛形态正常, 边界清楚, 醛复红染色的 β 细胞胞浆内均有紫红色颗粒 (图 4-1)。实验组胰岛大小不一, 有些边界不整齐, 胰岛中的大部分 β 细胞肥大, 呈索状或小梁状排列, 其边缘部分与胰腺外分泌腺腺泡紧密联接, 并在多处可以看到由胰腺外分泌腺的腺泡上皮化生成 β 细胞的现象, 化生的细胞逐渐增多形成新的胰岛, 醛复红染色胰岛中数量多少不等的 β 细胞呈脱颗粒现象 (图 4-2, 4-3)。胰岛内未见细胞坏死或炎症细胞浸润。

肾脏改变, 对照组肾小球毛细血管基底膜较薄, 管腔明显 (图 4-4)。实验组部分肾小球毛细血管基底膜明显增厚, 管腔狭窄, 在毛细血管之间的基质中有嗜伊红物质沉积 (图 4-5)。

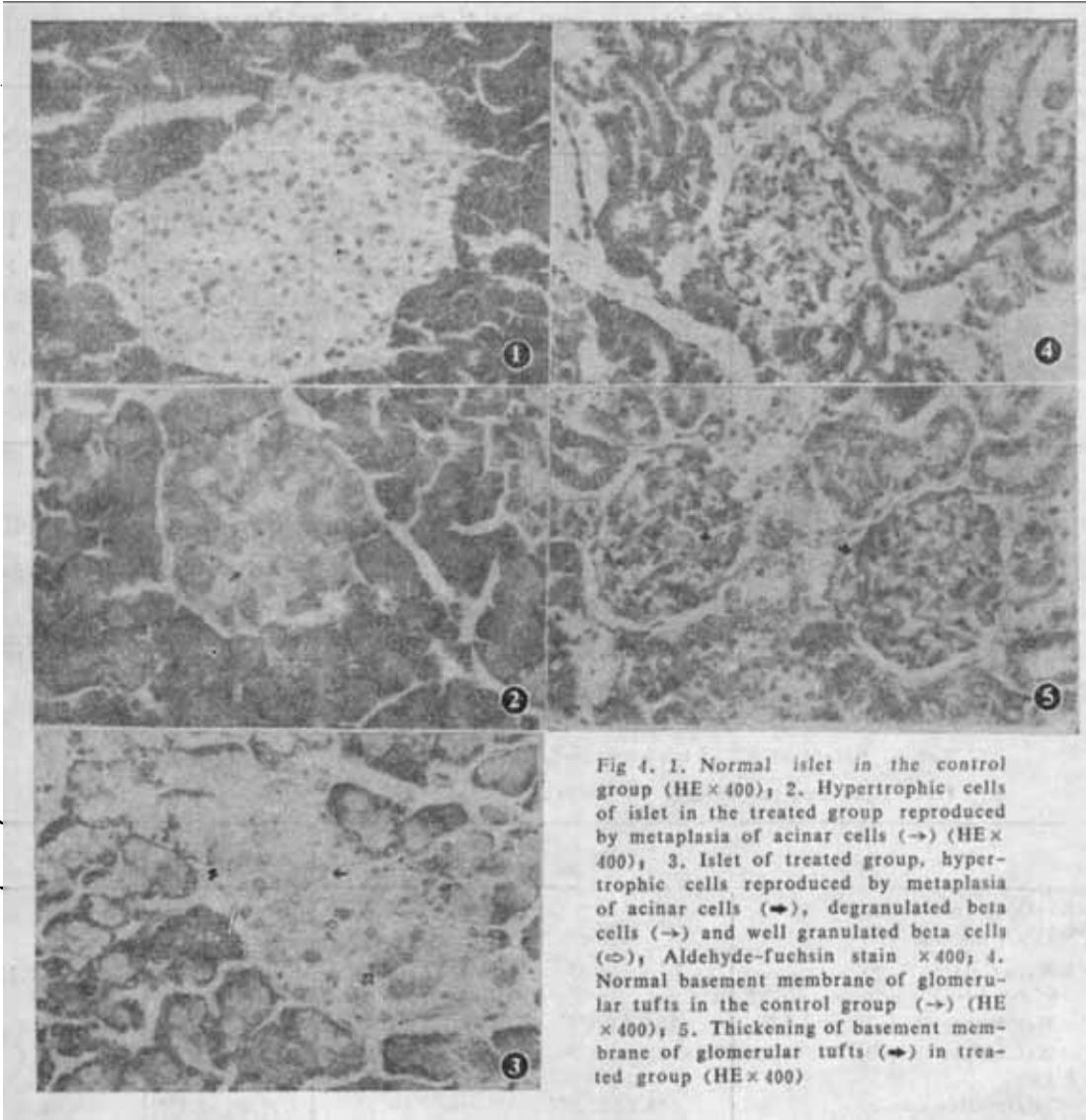


Fig 4. 1. Normal islet in the control group (HE \times 400); 2. Hypertrophic cells of islet in the treated group reproduced by metaplasia of acinar cells (\rightarrow) (HE \times 400); 3. Islet of treated group, hypertrophic cells reproduced by metaplasia of acinar cells (\rightarrow), degranulated beta cells (\rightarrow), and well granulated beta cells (\rightarrow); Aldehyde-fuchsin stain \times 400; 4. Normal basement membrane of glomerular tufts in the control group (\rightarrow) (HE \times 400); 5. Thickening of basement membrane of glomerular tufts (\rightarrow) in treated group (HE \times 400)

讨 论

糖尿病实验动物模型可分以下几类：1. 注射化学物质（四氧嘧啶或链脲霉素）选择性破坏动物胰岛的 β 细胞，使胰岛素的生成明显减少，从而诱发高血糖，这种糖尿病动物的症状与I型糖尿病（依赖胰岛素型）相似。2. 注射金硫葡萄糖选择性破坏动物下丘脑腹内侧核的饱食中枢，使动物产生贪食和肥胖，但多数动物无高血糖，而且注射金硫葡萄糖的剂量要接近半数致死量，动物死亡率高，而形成率仅为30%。3. 自发性糖尿病动物，如ob/ob, db/db, NZO, Yellow KK小鼠及Zucker大鼠等，这些动物表现肥胖，胰岛素抗性、高血糖等，基本符合II型糖尿病的症状。目前国外不少部门可以供应这些动物模型，但价格十分昂贵，此外，对饲养与繁殖这类实验动物的条件要求较高，在近交系中常出现变异，因而繁殖后代的个体差异大，所以需要专用动物房及专人管理。

在人类糖尿病的发病中，II型占多数，因此在防治糖尿病的研究中，建立更理想实用的II型糖尿病动物模型一直是国内外所关注的。近年来国外学者就这个问题进行了不少探

讨^(5~7)，但国内尚未见研究报道。我们以小剂量 SZ (25~30 mg/kg，文献上大鼠常用量是 70~90 mg/kg) 给雌性大鼠静脉注射，造成胰岛 β 细胞的轻度损伤，其中约 60~80% 的动物产生糖耐量异常，在此基础上加喂高热量食物引起动物肥胖。在摸索实验中我们发现，用小量 SZ 引起大鼠糖耐量异常，如继续喂正常饲料，则 SZ 大鼠的体重增长比同批正常大鼠慢。如动物只喂高脂高糖食物，不注射 SZ，饲养 6 周后，大鼠的体重及体内脂肪虽明显增加，但糖耐量仍正常。若加大 SZ 用量在 50 mg/kg 以上，部分动物产生高血糖，此时加喂高热量食物，动物病情加重，迅速死亡。因此小量 SZ 及高热量食物是形成本实验大鼠模型的必需条件。实验组经过 8 或 18 周的高脂高糖食物饲养后，动物出现肥胖，血脂增高，明显的脂肪肝。除糖耐量异常外还有胰岛素抗性及高胰岛素血症，这些表现基本符合 II 型糖尿病的特征。饲养 18 周后处死的实验组动物，肾脏形态学观察有明显的肾小球基底膜肥厚，说明动物已出现糖尿病常并发的肾病变(糖尿病性肾小球硬化)。胰岛的形态学观察显示，实验组动物有大量胰腺外分泌腺泡上皮化生成 β 细胞的现象，此外还有 β 细胞肥大及脱颗粒，这种变化与自发性糖尿病 Yellow KK 小鼠的胰岛所见相似^(8~9)，其发生机制尚须进一步探讨。

本实验选用实验室常用的雌性大鼠，注射 SZ 后，除加喂高热量食物及单个动物饲养外，不需要其它特殊饲养条件，喂养 2 个月基本可形成上述模型。为了进一步诱发某些并发症，可延长实验时间至 4 个月或更长。此种动物模型的葡萄糖代谢，脂肪代谢的动态变化，靶细胞胰岛素受体的变化以及药物的影响等，目前正在观察中。我们认为，这种模型可用于探讨糖尿病与肥胖的关系，糖尿病的某些并发症及降血糖药的药理作用等研究。

致谢 赵德育、潘延、李合成同志参加病理形态工作

参 考 文 献

1. 冯仁丰. 用葡萄糖氧化酶—过氧化物酶试剂测血清葡萄糖. 上海医学 1980;(12):43.
2. 李健高. 血清甘油三酯测定(二). 分溶抽提, 乙酰丙酮显色法. 上海市医学化学研究所主编. 临床生化检验(上册). 第 1 版. 上海科学技术出版社, 1979:175.
3. 郭春祥等. 血清胆固醇测定(五). 邻苯二甲醛直接显色法. 同上 1979;182~183.
4. 李立群. 血清游离脂肪酸测定(一). 一次提取比色法. 同上 1979:169~170.
5. Cohen AM, et al. Experimental models of diabetes. In: Sipple HL, et al. eds. *Sugars in Nutrition*. New York: Academic press, 1974:483~511.
6. Inoue S, et al. Obesity and diabetes—a possible experimental model of maturity-onset-type diabetes. *Int J Obesity* 1982; 6 (suppl 1):27.
7. Kramer JW, et al. Proceedings of a task force on animal appropriate for studying diabetes mellitus and its complications. *Diabetes* 1982;31 (suppl 1):1
8. Shino A, et al. Morphological observation on pancreatic islets of spontaneous diabetic mice, "Yellow KK". *Endocrinol Jpn* 1970;17:459.
9. Iwatsuka H, et al. General survey of diabetic features of Yellow KK mice. *Ibid* 1970;17:23.

AN EXPERIMENTAL RAT MODEL OF OBESITY AND DIABETES

XIE Ming-Zhi, LIU Hai-Fan, ZHANG Ling-Yun, SHEN Zhu-Fang and CHEN Qi-Ming

(*Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing*)

ABSTRACT Female rats were given a low dose of streptozotocin (25~30 mg/kg, iv) followed by a high sucrose-fat diet containing 52% sucrose, 22% fat, 18% protein and 4.8 cal./g chow. After being fed for 8 or 18 weeks, these rats showed more marked gain in body weight and accumulation of fat in adipose tissue as compared to those of the control group. Fatty liver, high serum triglyceride and cholesterol levels, and significant impairment of glucose tolerance and insulin resistance were also observed in the experimental group. Furthermore, microscopic examination of the pancreatic islets revealed hypertrophy and degranulation of beta cells, as well as transformation of acinar cells into beta cells at the end of 18 weeks' feeding. Diffuse intercapillary glomerulosclerosis of the kidney, a typical complication of diabetes was also observed.

It appears that there are many similarities between this animal model and the human non-insulin-dependent diabetes mellitus (NIDDM) of the obesity type. We presume that this model may be used as a tool, not only for the study of the relationship between diabetes and obesity and some complications of diabetes, but also for the study of the pharmacological effects of some hypoglycemic agents.

Key words } Obesity; } Diabetes; Experimental rat model; } Streptozotocin; } High sucrose-fat diet

1985, 20(10): 801-806