论 著 文章编号:0253-3626(2008)12-1467-04

# 链脲佐菌素未致高血糖大鼠腹腔葡萄糖耐量试验的动态观察

文晓红[1,4],沈成义[2],雷 军[3],杨正伟[4],王亚平[1]
(1. 重庆医科大学基础医学院组织与胚胎学教研室,重庆 400016;2. 川北医学院病理生理研究室;
3. 川北医学院药物研究所;4. 川北医学院形态定量研究室,南充 637007)

【摘 要】目的:研究链脲佐菌素(Streptozotocin,STZ)未致高血糖大鼠的糖耐量有无异常。方法:10~12 周龄 SD 雄性大鼠随机分为 2 组:实验组,腹腔内注射 30 mg/kg(小剂量组)或 60 mg/kg(大剂量组)的 STZ;对照组,腹腔内注射等量酸性缓冲液。注射后 1~12 周对 STZ 未致高血糖大鼠(空腹血糖 <10 mmol/L)进行腹腔葡萄糖耐量试验(Intraperitoneal glucose tolerance test,IPGTT)。结果:小剂量组大鼠的血糖或 IPGTT 与对照组相比均无显著性差异;大剂量组未致高血糖大鼠在 STZ 注射后有 2/9~3/5 的大鼠的 IPGTT 异常,即 50%葡萄糖腹腔内注射(2 g/kg)后 120 min 的空腹血糖值大于相应对照组的所有动物的该值,且≥10 mmol/L。结论:小剂量 STZ 未导致大鼠高血糖,且 IPGTT 无异常,而大剂量 STZ 未致高血糖大鼠的糖耐量减退。

【关键词】大鼠;糖尿病;链脲佐菌素;血糖;腹腔葡萄糖耐量试验
【中国图书分类法分类号】R383.3 【文献标识码】A 【收稿日期】2008-01-07

# Dynamic observation on the intraperitoneal glucose tolerance test in the non-hyperglycemic rats treated with streptozotocin

*WEN Xiao-hong, et al*
(*Department of Histology and Embryology, School of Basic Medical Sciences, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To study whether the glucose tolerance was impaired in the non-hyperglycemic rats treated with streptozotocin (STZ). *Methods*: Male SD rats, aged 10~12 weeks, were divided into two groups: experimental group, with an intraperitoneal injection of 30 mg/kg (low dose) or 60 mg/kg (high dose) STZ; control group, with injection of equal dose acidified saline. 1~12 weeks after injection, the intraperitoneal glucose tolerance test (IPGTT) was performed in the non-hyperglycemic rats (fasting blood glucose <10 mmol/L) treated with STZ. *Results*: There was no significant difference in the fasting blood glucose or IPGTT between the control and the low dose groups. 2/9~3/5 of the non-hyperglycemic rats treated with high dose STZ had abnormal IPGTT, i.e, at 120 min after intraperitoneal injection of 50% glucose (2 g/kg), the fasting blood glucose levels were higher than those in all the animals in the corresponding control group, and ≥10 mmol/L. *Conclusion*: Low dose STZ did not induce hyperglycemia or abnormal IPGTT in all rats, and the non-hyperglycemic rats treated with high dose STZ had an impaired glucose tolerance.

【Key words】 Rats; Diabetic mellitus; Streptozotocin; Blood glucose; Intraperitoneal glucose tolerance test

目前可采用链脲佐菌素(Streptozotocin,STZ)、四氧嘧啶、自发性糖尿病和转基因动物等来建立 1 型和 2 型糖尿病的动物模型,但较多使用 STZ[1]。有关小剂量的 STZ 一次性注射后血糖、糖耐量等的变化报道不一,且缺乏长期追踪报道的数据[2-8]。用大剂量的 STZ 一次性注射后,达成模标准的动物一般用于 1 型糖尿病的研究[9-12],而未成模动物却很少有人问津。虽然未成模动物血糖未达成模标准,但其糖耐量是否有异常,是否可用于建立其它模型,还值得探讨。本文拟对小剂量和大剂量 STZ 未致高血糖大鼠连续检测 12 周的腹腔葡萄糖耐量试验。

作者介绍:文晓红(1967- ),女,硕士,
研究方向:糖尿病动物模型。
通讯作者:王亚平,男,教授,E-mail:pwang@public.cta.cq.cn;
杨正伟,男,教授,E-mail:zwgang@nsmc.edu.cn。
基金项目:四川省科技攻关项目(04SG022-024);四川省青年科技基金(04ZQ026-025)。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验动物

10~12 周龄普通级雄性 SD(Sprague-Dawley)大鼠,体重 280~320 g,分组分笼喂养,自由摄食及水。动物及大鼠标准颗粒饲料由四川省医学科学院四川省人民医院实验动物研究所提供,动物在川北医学院药物研究所的动物室饲养。

### 1.2 药物注射与测定指标

动物分组与药物注射:动物分 2 批进行实验。第 1 批大鼠 69 只,随机分为对照组 25 只,小剂量组 44 只;第 2 批大

鼠 46 只，随机分为对照组 10 只，大剂量组 36 只。将 STZ（由瑞士 ALEXIS 公司供应，中国晶美生物工程有限公司成都分公司代理）临用前以 0.1 mol/L（pH 4.2）的枸橼酸－枸橼酸钠缓冲液溶解。在不禁食、不禁水的条件下，小剂量组按 30 mg/kg 体重的剂量一次性腹腔内注射 STZ；大剂量组先按剂量 0.6 mg/kg 腹腔内注射 STZ（该剂量是由于秤量错误所致误用），2 周后再按剂量 60 mg/kg 腹腔内注射 1 次 STZ；对照组一次性腹腔内注射等量安慰剂：0.1 mol/L（pH 4.2）的枸橼酸－枸橼酸钠缓冲液。注射后不同时间检测以下指标。

体重测定：在注射 STZ（30 或 60 mg/kg）或缓冲液后的第 7、14、28、42 d（第 1 批动物不包括该时间点）、56 d 和 84 d，上午 8 点先给部分动物撤食、撤水，10 点给余下的动物撤食、撤水；下午 3 点开始给上午 8 点撤食、撤水的动物测体重，5 点给上午 10 点撤食、撤水的动物测体重。

空腹血糖：给动物测体重（见上述）后，立即剪尾取血，用美国强生 ONE TOUCH SureStep 微血糖测量仪及配套的稳步医院用血糖试纸（LifeScan Inc./1000 Gibraltar Dr. Milpitas, CA95035-6321, USA）测血糖。

腹腔葡萄糖耐量试验（Intraperitoneal glucose tolerance test, IPGTT）：在注射 STZ 或缓冲液后的第 14、28、42 d（第 1 批动物不包括该时间点）、56 d 和 84 d，如上测量体重及空腹血糖后，从小剂量组轮流抽取 5~10 只动物，从对照组轮流抽取 4~5 只动物，并从大剂量组抽取所有未致高血糖动物（5~11 只），腹腔内注射葡萄糖（浓度 50%，注射量 2 g/kg 体重），30、60、120 min 后如上所述测量血糖。如果葡萄糖注射后 120 min 的血糖值大于相应对照组的所有动物的该值，且≥10 mmol/L，我们就定义 IPGTT 为异常。[所谓“未致高血糖动物”，本实验中我们指的是注射 STZ 后空腹血糖 <10 mmol/L 的动物。该试验标准的确定是出于以下考虑：本实验中，对照组所有动物各次空腹血糖测量值皆在 4.1~7.0 mmol/L 的范围内（除 1 个动物的 1 次测量值达 8.5 mmol/L 外），有研究报道正常大鼠空腹血糖范围为 3.2~8.1 mmol/L[13]，有作者认为糖尿病大鼠的成模标准多定义为 11.1~16.7 mmoL [1]或 >16.65 mmol/L[9]。因此，注射 STZ 或四氧嘧啶后空腹血糖 <10 mmol/L 的动物，以往的研究都不会被用作糖尿病成模动物。本实验定义“未致高血糖动物”就是要研究这些血糖不是很高的动物。]

1.3 数据处理

表格内数据及文内部分数据以均值 ± 标准差（$\bar{x} \pm s$）表示。组间均值比较采用 $t$ 检验，$P \leq 0.05$ 为有显著性差异。

## 2 结 果

### 2.1 小剂量 STZ 注射后血糖及 IPGTT 变化

与对照组相比，小剂量 STZ 注射后动物体重或血糖均无显著性改变（表 1），IPGTT 也无显著性变化（表 2）。

### 2.2 大剂量 STZ 注射后血糖及 IPGTT 变化

大剂量 STZ 用药后各时间点空腹血糖的波动范围为 3.4~27.8 mmol/L，对照组各时间点的波动范围为 4.1~8.5 mmol/L。STZ 未致高血糖组与对照组的空腹血糖相比在用药后各天均无显著性差异，但 STZ 未致高血糖组的体重显著减少了平均 13%~26%（表 3）。与 STZ 未致高血糖组相比，STZ 高血糖组在用药后各天的空腹血糖显著增加了平均 252%~296%，而体重（用药后第 42 d 除外）显著减少了平均 13%~37%（表 3）。

STZ 未致高血糖组在用药后各天分别有 2/9、5/11、4/9、3/7 和 3/5 的动物 IPGTT 异常：腹腔内注射葡萄糖后 120 min 的血糖≥10 mmol/L（最高达 27.3 mmol/L）；而在对照组，只有在用药（安慰剂）后 84 d 有 2 只动物在注射葡萄糖后 120 min 的血糖≥10 mmol/L（最高为 13 mmol/L）（表 4）。

## 3 讨 论

在用 STZ 建立糖尿病大鼠模型的研究中，有关小剂量的 STZ 一次性注射后大鼠血糖、糖耐量等的变化报道不一，且缺乏长期追踪报道的数据。有研究表明，给 Wistar 大鼠隐静脉注射小剂量 STZ（25 mg/kg）后24 h 和 7 d，血糖轻度升高，葡萄糖耐量试

**表 1 小剂量组的体重、血糖结果（$\bar{x} \pm s$）**

| 时间 | 对照组 | | 小剂量组 | |
|---|---|---|---|---|
| | 体重（g） | 血糖（mmol/L） | 体重（g） | 血糖（mmol/L） |
| 注射前 | 309 ± 28（$n$=25） | 5.4 ± 0.3 | 303 ± 23（$n$=44） | 5.3 ± 0.5 |
| 7 d | 343 ± 34（$n$=10） | 5.7 ± 0.4 | 342 ± 29（$n$=10） | 5.4 ± 0.2 |
| 14 d | 371 ± 37（$n$=15） | 5.8 ± 0.5 | 364 ± 26（$n$=34） | 5.9 ± 0.8 |
| 28 d | 414 ± 42（$n$=15） | 5.5 ± 0.6 | 404 ± 31（$n$=34） | 5.4 ± 0.6 |
| 56 d | 481 ± 53（$n$=15） | 5.5 ± 0.6 | 471 ± 36（$n$=34） | 5.5 ± 1.1 |
| 84 d | 477 ± 57（$n$=15） | 5.6 ± 0.6 | 472 ± 45（$n$=34） | 5.8 ± 0.8 |

注：该表为安慰剂（对照组）和小剂量（30 mg/kg）STZ（小剂量组）腹腔内注射前及注射后各天的体重及血糖结果

表 2　小剂量组的腹腔葡萄糖耐量试验结果

| 时间 | 组别 | 血糖(mmol/L) | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | 空腹 | 30 min | 60 min | 120 min |
| 14 d | 对照组($n$=5) | 5.6 ± 0.4 | 9.2 ± 2.1 | 7.0 ± 0.7 | 5.8 ± 0.6 |
| | 小剂量组($n$=10) | 5.8 ± 0.4 | 8.9 ± 1.3 | 7.2 ± 0.5 | 6.2 ± 0.4 |
| 28 d | 对照组($n$=10) | 5.4 ± 0.7 | 10.0 ± 1.3 | 6.9 ± 0.6 | 5.6 ± 0.8 |
| | 小剂量组($n$=10) | 5.5 ± 0.6 | 12.7 ± 2.3* | 8.3 ± 1.7* | 6.5 ± 1.0* |
| 56 d | 对照组($n$=10) | 5.5 ± 0.7 | 13.2 ± 4.0 | 8.5 ± 2.7 | 6.3 ± 1.2 |
| | 小剂量组($n$=9) | 5.9 ± 1.9 | 12.6 ± 3.6 | 7.8 ± 0.9 | 5.9 ± 0.6 |
| 84 d | 对照组($n$=5) | 6.0 ± 0.7 | 13.9 ± 3.2 | 9.7 ± 2.4 | 6.2 ± 1.5 |
| | 小剂量组($n$=6) | 5.3 ± 1.0 | 13.4 ± 2.9 | 11.4 ± 2.5 | 8.2 ± 1.7** |

注：该表为安慰剂（对照组）和小剂量（30 mg/kg）STZ（小剂量组）注射后各天（时间），在腹腔内注射葡萄糖前（空腹）及注射葡萄糖后 30、60 和 120 min 的血糖结果（$\bar{x} \pm s$）。*$P$<0.05（与同一时间点的对照组相比，$t$ 检验）。**该时间点的该组动物中，有 1 只动物的血糖值 =11.5 mmol/L

表 3　大剂量组的体重及血糖结果（$\bar{x} \pm s$）

| 时间 | 对照组 | | 未致高血糖组 | | 高血糖组 | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 体重(g) | 血糖(mmol/L) | 体重(g) | 血糖(mmol/L) | 体重(g) | 血糖(mmol/L) |
| 注射前 | 415 ± 39($n$=10) | 5.5 ± 0.8 | 388 ± 42($n$=36)** | 5.5 ± 0.5* | | |
| 7 d | 429 ± 40($n$=10)* | 5.5 ± 0.5 | 364 ± 53($n$=10) | 5.4 ± 1.4 | 317 ± 52($n$=19)* | 19.5 ± 3.2* |
| 14 d | 456 ± 41($n$=10)* | 5.5 ± 0.4 | 397 ± 53($n$=9) | 6.2 ± 1.7 | 320 ± 45($n$=16)* | 21.8 ± 3.9* |
| 28 d | 503 ± 51($n$=10)* | 5.9 ± 0.5 | 381 ± 85($n$=11) | 5.4 ± 1.7 | 289 ± 40($n$=11)* | 21.3 ± 3.9* |
| 42 d | 524 ± 44($n$=10)* | 5.5 ± 0.4 | 388 ± 122($n$=9) | 5.6 ± 0.9 | 307 ± 52($n$=12) | 22.2 ± 4.3* |
| 56 d | 559 ± 43($n$=10)* | 5.9 ± 1.0 | 468 ± 68($n$=7) | 5.9 ± 1.3 | 295 ± 49($n$=14)* | 23.0 ± 3.5* |
| 84 d | 612 ± 55($n$=9)* | 4.8 ± 0.4 | 494 ± 77($n$=6) | 5.9 ± 1.3 | 310 ± 61($n$=12)[a] | 21.2 ± 3.6* |

注：该表为安慰剂（对照组）和大剂量（60 mg/kg）STZ 注射前及注射后各天的体重及空腹血糖结果（$\bar{x} \pm s$）。STZ 未致高血糖组空腹血糖 <10 mmol/L，高血糖组 10 mmol/L。**$P$<0.05（对照组与未致高血糖组的体重或血糖相比，或未致高血糖组与高血糖组的体重或血糖相比，$t$ 检验）。*未致高血糖组与高血糖组总和起来计算的结果

表 4　大剂量 STZ 未致高血糖组腹腔葡萄糖耐量试验结果

| 时间 | 组别 | 血糖(mmol/L) | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | 空腹 | 30 min | 60 min | 120 min |
| 14 d | 对照组($n$=5) | 5.3 ± 0.3 | 9.6 ± 3.5 | 6.9 ± 0.5 | 6.3 ± 0.5 |
| | 未致高血糖组($n$=9) | 6.2 ± 1.7 | 12.3 ± 7.6 | 10.9 ± 8.7 | 9.3 ± 6.8(2, 12.2~26.5) |
| 28 d | 对照组($n$=5) | 5.7 ± 0.6 | 13.2 ± 6.3 | 6.8 ± 0.8 | 5.8 ± 0.5 |
| | 未致高血糖组($n$=11) | 5.4 ± 1.7 | 16.8 ± 7.6 | 13.4 ± 7.8 | 11.9 ± 7.2 a (5, 10.6~24.3) |
| 42 d | 对照组($n$=5) | 5.6 ± 0.2 | 12.9 ± 3.9 | 8.1 ± 1.2 | 7.9 ± 1.1 |
| | 未致高血糖组($n$=9) | 5.6 ± 0.9 | 12.6 ± 5.0 | 12.0 ± 7.4 | 11.4 ± 6.6(4, 10~27.3) |
| 56 d | 对照组($n$=5) | 5.7 ± 0.5 | 12.4 ± 4.6 | 7.2 ± 1.0 | 7.3 ± 0.8 |
| | 未致高血糖组($n$=7) | 5.9 ± 1.3 | 14.0 ± 3.3 | 11.3 ± 5.2* | 11.2 ± 6.5(3, 12.3~24.2) |
| 84 d | 对照组($n$=4) | 5.1 ± 0.2 | 13.5 ± 4.2 | 11.6 ± 1.4 | 10.2 ± 2.0(2, 10.2~13) |
| | 未致高血糖组($n$=5) | 5.5 ± 0.8 | 12.8 ± 8.3 | 12.8 ± 6.8 | 9.8 ± 4.9(3, 10.6~16.6) |

注：该表为安慰剂（对照组）和大剂量 STZ 未致高血糖组（空腹血糖 <10 mmol/L）注射后各天（时间），在腹腔内注射葡萄糖前（空腹）及注射葡萄糖后 30、60 和 120 min 的血糖结果（$\bar{x} \pm s$）。*$P$<0.05（与同一时间点的对照组相比，$t$ 检验）。120 min 时间点数据后面括号内的 3 个数据，分别表示血糖值≥10 mmol/L 的动物个数及其血糖值范围

验在 30 min 和 60 min 时间点的血糖升高，与正常对照组相比有显著性差异[2]。还有研究报道，SD 或 Wistar 大鼠尾静脉注射 STZ(25 mg/kg)后 2 周，血糖未改变但部分动物糖耐量异常[3,4]。Wistar 大鼠尾静脉注射 STZ(30 mg/kg)4 d 后，全部大鼠血糖 >15 mmol/L[5]；2~3 周后，20 只大鼠中有 15 只糖耐量异常[6]。SD 大鼠尾静脉注射 STZ(15 mg/kg)后 2 d 至 6 月，血糖始终在正常范围内[7]。Wistar 大鼠腹腔注射 STZ(25 mg/kg)4 周后，血糖总的来讲无明显改变[8]。

我们的研究表明，SD 大鼠腹腔内注射小剂量(30 mg/kg)STZ 后 1~12 周，空腹血糖既未显著升高，也未见腹腔葡萄糖耐量试验异常(与对照组相比)。与以往的研究相比，本文更加系统地研究了小剂量(30 mg/kg)STZ 注射后的空腹血糖及 IPGTT 的变化，观测时间长达 12 周(注射 STZ 后)。小剂量 STZ 一次性注射后血糖、糖耐量变化报道不一的原因，我们推测与给药时间(空腹或非空腹时[9])、途径(静脉或腹腔内注射[14])以及动物种属、大小、饲养条件等有关。

在用 STZ 建立 1 型糖尿病大鼠模型的研究中，一般选择大剂量 STZ 一次性注射后血糖达成模标准的动物[9~12]，未成模动物却很少被研究。我们特别针对这些动物进行较系统的糖耐量研究，这是本文的新颖之处。我们对大剂量(60 mg/kg)STZ 注射后 2~12 周未致高血糖大鼠的糖耐量研究显示，大剂量 STZ 未致高血糖大鼠的 IPGTT 异常，说明这些大鼠的胰岛 B 细胞功能受到部分破坏，虽然未引起高血糖，但已导致糖耐量减退。

鉴于胰岛素抵抗与胰岛 B 细胞功能受损是 2 型糖尿病发病机制中的两个重要因素[15]，有不少研究先以小剂量(例如 25~30 mg/kg)STZ 损伤大鼠胰岛 B 细胞，2~3 周后造成糖耐量异常，然后喂以高糖高脂肪饲料诱发动物血脂升高、血胰岛素升高及胰岛素受体结合力降低，从而建立类似人类 2 型糖尿病的动物模型[3,6]。在用这种方法建立 2 型糖尿病动物模型的研究中，需要血糖不高但糖耐量有异常的动物。以往的研究已显示，小剂量 STZ 用药后糖耐量是否异常的变异较大(上述)，因此结合运用小剂量 STZ 来建立 2 型糖尿病模型的效率、可靠性或一致性问题还值得进一步探讨。而本文的研究显示，大剂量 STZ 未致高血糖大鼠在注射 STZ 后 2 周已有明显的糖耐量异常。故我们认为，如果用大剂量 STZ 未致高血糖大鼠，并配合高糖高脂饲料，来建立 2 型糖尿病的动物模型，不仅在造模上可能更可靠、快速，而且还可将未达到 1 型糖尿病动物模型成模标准的动物利用起来，从而节约研究费用。对这一方法的确立尚需进一步的研究和探讨。

另外，我们的实验还显示，与对照组相比，大剂量 STZ 未致高血糖大鼠的体重有显著降低，见表 3。这也许是因为 STZ 对其他细胞或胰腺外器官可能也有直接或间接的毒性作用，也许是因为这些动物的糖耐量异常，见表 4。其确切原因值得进一步研究。

(致谢：衷心感谢川北医学院形态定量研究室的张仁东、代小思、赵国宇、郭涛老师以及川北医学院 2004 级临床医学系的曾玲、汪海波、刘旭同学协助本文每次实验的体重及血糖测定。)

## 参 考 文 献

[1] 黄 松.糖尿病动物模型研究现状及进展[J]. 广西医学，2002，24(1)：46-48.

[2] Junod A，Lambert A E，Stauffacher W，et al. Diabetogenic action of streptozotocin：relationship of dose to metabolic response[J]. J Clin Invest，1969，48(11)：2129-2139.

[3] 刘永玉，毛 良，莫启忠.实验性 NIDDM 大鼠模型[J].中华内分泌代谢杂志，1990，8(2)：115-116.

[4] 刘欣秋，雷 鸣. 尾静脉注射不同剂量链脲佐菌素对大鼠血糖的影响[J]. 黑龙江医药科学，2001，24(2)：8.

[5] Biessels G J，Braun K P，de Graaf R A，et al. Cerebral metabolism in streptozotocin-diabetic rats：an in vivo magnetic resonance spectroscopy study[J]. Diabetologia，2001，44(3)：346-353.

[6] 王艳荣，钱荣立，马晓伟.实验性糖尿病大鼠肝糖原合成酶活性的改变[J]. 北京医科大学学报，1998，30(1)：46-48.

[7] 张芳林，李 果，刘优萍，等.2 型糖尿病大鼠模型的建立及其糖代谢特征分析[J]. 中国实验动物学报，2002，10(1)：16-20.

[8] 郭啸华，刘志红，李 恒，等.实验性 2 型糖尿病大鼠模型的建立[J]. 肾脏病与透析移植杂志，2000，9(4)：351-355.

[9] 于德民，吴 锐，尹 潍，等.实验性链脲佐菌素糖尿病动物模型的研究[J]. 中国糖尿病杂志，1995，3(2)：105-109.

[10] 张 静，吴靖芳，郑慧娥，等. 链脲佐菌素致大鼠糖尿病模型的实验研究[J]. 河北北方学院学报(医学版)，2006，23(4)：6-8.

[11] 赵凌云.实验性链脲佐菌素糖尿病[J]. 中国病理生理杂志，1989，5(1)：59-62.

[12] 刘学政，羊惠君，李瑞祥.实验性链脲佐菌素糖尿病动物模型的建立与研究[J]. 四川解剖学杂志，1996，4(3)：169-174.

[13] 张芳林，张阆珍.超生理剂量地塞米松对大鼠胰岛细胞的影响[J]. 中华内分秘代谢杂志，2000，16(5)：323-324.

[14] 黄 波，刘学政，庞东渤.不同途径注射链脲佐菌素致大鼠糖尿病模型的研究[J]. 锦州医学院学报，2003，24(1)：19-21.

[15] Polonsky K，Sturis J，Bell GI. Seminars in Medicine of the Beth Israel Hospital，Boston. Non-insulin-dependent diabetes mellitus - a genetically programmed failure of the beta cell to compensate for insulin resistance[J]. N Engl J Med，1996，334(12)：777-783.

(责任编辑：冉明会)