

# 四氧嘧啶腹腔注射致小鼠糖尿病模型因素考察

黄桂红, 邓航, 李江, 付翔, 罗昱澜, 邹勇  
桂林医学院附属医院药剂科, 广西桂林 541001

**[摘要]** 目的:探讨四氧嘧啶腹腔注射制备小鼠糖尿病模型的影响因素。方法:通过腹腔注射四氧嘧啶,研究小鼠性别、体质量、给药剂量、给药次数及不同溶媒等因素对糖尿病小鼠造模成功率、死亡率及血糖的影响。结果:雄性小鼠较雌性小鼠更适合造糖尿病小鼠模型;给药剂量对造模成功率影响较大,随剂量的增加,小鼠成模率及死亡率均增高;缓冲液作溶媒成模率较生理盐水成模率高。结论:选择禁食12 h的小鼠,以四氧嘧啶185 mg/kg缓冲液一次性腹腔注射成模率较高,且糖尿病模型稳定性较好。

**[关键词]** 小鼠;四氧嘧啶;糖尿病模型;血糖

**[中图分类号]** R332

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** 1673-7210(2012)01(a)-015-03

## Studies on the factors affecting for establishing diabetic model in mice by intraperitoneal injection of Alloxan

HUANG Guihong, DENG Hang, LI Jiang, FU Xiang, LUO Yulan, ZOU Yong

Department of Pharmacy, Affiliated Hospital of Guilin Medical College, Guangxi Zhuang Autonomous Region, Guilin 541001, China

**[Abstract] Objective:** To investigate the factors affecting for establishing diabetic model in mice by intraperitoneal injection of Alloxan. **Methods:** The effects of the gender, body weight of mice, the dose, times of administration and different solvents were observed in order to evaluate the model successful rate, mortality and fasting blood glucose by intraperitoneal injection of Alloxan in mice. **Results:** The experiment results showed that the male was more suitable for being induced diabetic model than the female. The dose was the main factor. The model successful rate and the mortality were increasing with the increasing of dose. The solution of Alloxan in buffer was more available than that in physiological saline to induce diabetic mice. **Conclusion:** A better diabetic mice model can be gained by intraperitoneal injection of Alloxan with 185 mg/kg once after being fasted twelve hours. The diabetic model in mice are more stabile.

**[Key words]** Mice; Alloxan; Diabetic models; Serum glucose

随着糖尿病发病率逐年增加,治疗糖尿病的药物研究随之增多。在糖尿病研究中,实验性糖尿病动物模型成功建立与否是研究成败的关键<sup>[1]</sup>。这不仅对研究糖尿病的病因和发病机制有重要意义,而且对于筛选降血糖药以及研究此类药物的作用机制有着直接的影响。因此,建立理想的糖尿病动物模型已成为人类对治疗糖尿病药物医学研究的重要课题<sup>[2]</sup>。糖尿病动物模型很多,包括化学药物(四氧嘧啶、链脲佐菌素)致糖尿病模型、催肥致糖尿病动物模型、中西医结合方法(高脂、高脂+链脲佐菌素)致糖尿病动物模型等。目前使用最多的是通过腹腔注射或静脉注射化学物质(四氧嘧啶、链脲佐菌素)两种途径获得<sup>[3]</sup>。本文就四氧嘧啶腹腔注射致小鼠糖尿病模型的影响因素及实验条件进行探讨,了解四氧嘧啶在不同条件致糖尿病模型的稳定性,以获取最佳造模实验条件,现报道如下:

### 1 仪器与试剂

#### 1.1 实验动物

昆明种小白鼠(SPF级),雌雄兼用。由桂林医学院实验动物中心提供,合格证号为SCXK桂2007-0001号。

**[基金项目]** 广西卫生厅计划项目(项目编号:Z2010270)。

**[作者简介]** 黄桂红(1972-),女,广西桂林人,壮族,硕士研究生,硕士生导师,现任桂林医学院附属医院副主任药师,主要从事中药抗糖尿病及抗哮喘研究。

#### 1.2 仪器与试剂

紫外分光光度计(英国Biochrom,型号:libra S32PC);高速离心机(德国ABBOTT LABORATORIES,型号:D-37520);上海电子天平(上海精科天平厂,型号:FA2004)。

四氧嘧啶(美国sigma公司生产);葡萄糖试剂盒(温州东瓯津玛生物科技有限公司,批号:200912001);生理盐水(安徽双鹤药业有限责任公司,批号:10032030);柠檬酸(广东汕头市西陇化工厂,批号:0511142);柠檬酸钠(广东汕头市西陇化工厂,批号:0511142)。

#### 1.3 统计学处理

采用统计软件SPSS 15.0对实验数据进行分析,计量资料数据以均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,采用方差分析,多组间两两比较采用LSD-*t*检验。计数资料以率表示,采用 $\chi^2$ 检验。以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

### 2 方法与结果

#### 2.1 溶媒对小鼠糖尿病模型制备的影响

取健康小鼠60只,雌雄各半,适应性喂养3 d后,随机分成两组,即1组和2组,每组各30只。小鼠禁食不禁水12 h,采取2%四氧嘧啶(185 mg/kg)一次性腹腔注射,其中,1组四氧嘧啶用冰生理盐水配制,2组四氧嘧啶用pH 4.5的柠檬酸/柠檬酸钠缓冲液配制,均避光,现用现配,冰浴保存。3 d后,禁食不禁水12 h,眼内眦取血,测空腹血糖值(fasting

blood glucose, FGB), FGB 高于 11.1 mmol/L 者确定为造模成功, 计算各组成模率, 观察 7 d, 统计各组小鼠死亡情况, 计算死亡率。不同溶媒对造模的影响结果显示, 不同的溶媒溶解四氧嘧啶对造模有一定的影响。用缓冲液作溶媒比用生理盐水作溶媒的成模率明显增高, 差异有高度统计学意义 ( $P < 0.01$ ), 且成模后血糖值较稳定。见表 1。

表 1 不同溶媒小鼠造模结果比较 ( $\bar{x} \pm s, n=30$ )

组别	溶媒	造模前血糖值	造模后血糖	成模数	成模率	造模死亡率
		(mmol/L)	值(mmol/L)	量(只)	(%)	(%)
1组	生理盐水	5.78±2.04	13.76±5.52 <sup>*</sup>	6	20.00	0
2组	缓冲液	6.07±2.46	46.36±8.22 <sup>ab</sup>	22 <sup>a</sup>	73.33 <sup>a</sup>	13.33 <sup>a</sup>

注: 与造模前血糖比较, <sup>\*</sup> $P < 0.01$ ; 与 1 组比较, <sup>a</sup> $P < 0.01$

### 2.2 造模剂量对小鼠糖尿病模型制备的影响

取健康小鼠 120 只, 雌雄各半, 适应性喂养 3 d 后, 随机均分为 6 组, 即对照组、1 组、2 组、3 组、4 组和 5 组, 每组各 20 只。小鼠禁食不禁水 12 h, 其中, 对照组一次性腹腔注射缓冲液, 剂量为 10 ml/kg, 1~5 组采取一次性腹腔注射 2% 四氧嘧啶 (四氧嘧啶溶于 0.1 mol/L, pH 4.5 的柠檬酸/柠檬酸钠缓冲液现配, 避光, 冰浴保存), 给药剂量分别为 180、185、190、195、200 mg/kg。3 d 后, 禁食不禁水 12 h, 眼内眦取血, 测空腹血糖值, 计算每组成模率, 观察 7 d, 统计各组小鼠死亡情况, 计算死亡率。不同剂量对造模的影响结果显示, 当给药剂量为 180 mg/kg 时, 小鼠死亡率较低, 但与给药剂量 185 mg/kg 的组比较成模率低。随着四氧嘧啶注射剂量的增加, 小鼠成模率降低, 因为死亡率增高。结果显示, 当给药剂量为 185 mg/kg 时, 其成模率可达 76.67%, 且死亡率较低, 可见 185 mg/kg 为比较合适的造模剂量。见表 2。

表 2 不同剂量四氧嘧啶小鼠造模结果比较 ( $\bar{x} \pm s, n=20$ )

组别	给药剂量 (mg/kg)	造模前血糖	造模后血糖值	成模数	成模率	造模死亡率
		值(mmol/L)	(mmol/L)	量(只)	(%)	率(%)
对照组	-	5.23±1.12	7.53±3.41 <sup>abcd</sup>	0	0 <sup>abcd</sup>	0 <sup>abcd</sup>
1组	180	5.93±2.14	41.6±11.18 <sup>*</sup>	10	53.33 <sup>*Bcd</sup>	9.12 <sup>*Bcd</sup>
2组	185	6.31±2.25	46.24±12.38 <sup>c</sup>	15	76.67 <sup>*Acd</sup>	13.33 <sup>*Acd</sup>
3组	190	6.15±2.67	38.39±13.38 <sup>hd</sup>	7	36.67 <sup>ab</sup>	43.33 <sup>abd</sup>
4组	195	6.07±3.17	48.37±5.69 <sup>c</sup>	6	33.33 <sup>ab</sup>	67.67 <sup>abc</sup>
5组	200	5.96±3.16	56.78±13.91 <sup>abcd</sup>	4	23.33 <sup>abc</sup>	76.67 <sup>abcd</sup>

注: 与对照组比较, <sup>\*</sup> $P < 0.01$ ; 与 1 组比较, <sup>a</sup> $P < 0.01$ , <sup>b</sup> $P < 0.05$ ; 与 2 组比较, <sup>b</sup> $P < 0.01$ , <sup>c</sup> $P < 0.05$ ; 与 3 组比较, <sup>c</sup> $P < 0.01$ , <sup>d</sup> $P < 0.05$ ; 与 4 组比较, <sup>d</sup> $P < 0.01$ , <sup>e</sup> $P < 0.05$ ; “-”表示无数据

### 2.3 造模次数对小鼠糖尿病模型制备的影响

取健康小鼠 60 只, 随机分为 A、B、C、D 4 组。适应性喂养 3 d 后, 小鼠禁食不禁水 12 h, A 组在第 1 天一次性腹腔注射 2% 四氧嘧啶 180 mg/kg (以生理盐水做溶媒现配, 避光, 冰浴保存); B 组分别在第 1 天及第 3 天各注射一次, 共 2 次; C 组分别在第 1 天、第 3 天及第 6 天各注射一次, 共 3 次; D 组为对照组, 腹腔注射生理盐水 10 ml/kg。注射完后 72 h, 禁食不禁水 12 h, 眼内眦取血, 测空腹血糖值, 计算每组成模率, 观察 7 d, 统计各组小鼠死亡情况, 计算死亡率。造模次数对造模的影响结果显示, 在生理盐水做溶媒的条件下, 造模次

数增加, 各组小鼠成模率比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 而死亡率增大, 其中 C 组较 A 组和 B 组死亡率均有所上升, 差异均有统计学意义 (均  $P < 0.05$ )。小鼠死亡原因可能是多次给药, 使四氧嘧啶在小鼠体内蓄积, 毒性增加, 造成胰岛细胞及肝肾损害加大, 从而导致小鼠死亡率增高。由此可见, 通过追加造模剂量不能增加小鼠的成模率, 反而增大小鼠的死亡率, 故利用四氧嘧啶腹腔注射造小鼠糖尿病模型最好采取一次性腹腔注射。见表 3。

表 3 造模次数对小鼠造模结果的比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	数量 (只)	造模后血糖值	成模数量	成模率	造模死亡率
		(mmol/L)	(只)	(%)	(%)
A组	15	14.17±2.54 <sup>*</sup>	5	33.33 <sup>*</sup>	0
B组	15	11.77±7.92 <sup>*</sup>	6	40.00 <sup>*</sup>	13.33
C组	15	20.22±5.68 <sup>ab</sup>	5	33.33 <sup>*</sup>	26.67 <sup>ab</sup>
D组	15	5.38±2.11 <sup>ab</sup>	0	0	0

注: 与 D 组比较, <sup>\*</sup> $P < 0.05$ ; 与 A 组比较, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ; 与 B 组比较, <sup>b</sup> $P < 0.05$

### 2.4 性别对小鼠糖尿病模型制备的影响

取健康小鼠 40 只, 雌雄各半, 适应性喂养 3 d 后, 随机分成两组, 即雌性组和雄性组, 每组各 20 只。小鼠禁食不禁水 12 h, 两组均采取一次性腹腔注射 2% 四氧嘧啶 185 mg/kg (四氧嘧啶溶于 0.1 mol/L, pH 4.5 的柠檬酸/柠檬酸钠缓冲液中, 现配, 避光, 冰浴保存)。3 d 后, 禁食不禁水 12 h, 眼内眦取血, 测空腹血糖值, 计算各组成模率, 观察 7 d, 统计各组小鼠死亡情况, 计算死亡率。小鼠性别对造模的影响结果显示, 小鼠性别对造模有一定的影响。两组间小鼠成模率及死亡率差异均有统计学意义 (均  $P < 0.05$ ), 其中雄性小鼠比雌性小鼠成模率高, 且死亡率比雌性小鼠低。可能是因为雌性小鼠生理原因或由于其体质量较雄性小鼠轻, 导致其对高血糖的耐受力差, 死亡率增高, 故选择雄性小鼠造模较合适。见表 4。

表 4 不同性别对小鼠造模结果比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	数量 (只)	造模后血糖值	成模数量	成模率	造模死亡率
		(mmol/L)	(只)	(%)	(%)
雄性组	20	40.24±12.38	14	70.00	10.00
雌性组	20	52.57±13.98 <sup>*</sup>	8	40.00 <sup>*</sup>	25.00 <sup>*</sup>

注: 与雄性组比较, <sup>\*</sup> $P < 0.05$

### 2.5 体质量对小鼠糖尿病模型制备的影响

取健康小鼠 40 只, 雄性, 适应性喂养 3 d 后, 按体质量分为两组, 即 18~25 g 组和 28~35 g 组, 每组各 20 只。小鼠禁食不禁水 12 h, 两组均一次性腹腔注射 2% 四氧嘧啶 185 mg/kg (四氧嘧啶溶于 0.1 mol/L, pH 4.5 的柠檬酸/柠檬酸钠缓冲液中, 现配, 避光, 冰浴保存)。3 d 后, 禁食不禁水 12 h, 眼内眦取血, 测空腹血糖值, 计算各组成模率, 观察 7 d, 统计各组小鼠死亡情况, 计算死亡率。小鼠体质量对造模条件的影响结果显示, 体质量较大的小鼠成模率较体质量较轻的小鼠低, 死亡率高, 两组间比较, 差异均有统计学意义 (均  $P < 0.05$ )。一般来说体质量较大的小鼠周龄较长, 对高血糖的耐受力较差, 因而死亡率较高, 而体质量较轻的小鼠周龄较小, 对高血糖的耐受力相对较强些, 提示在实验中宜选择体质量在 18~

表5 不同体质量小鼠造模结果比较(n=20)

组别	体质量( $\bar{x}\pm s$ ,g)	造模前血糖值( $\bar{x}\pm s$ ,mmol/L)	造模后血糖值( $\bar{x}\pm s$ ,mmol/L)	成模数量(只)	成模率(%)	造模死亡率(%)
28~35 g 组	31.00±3.76	6.11±2.14	50.48±13.98*	10	50.00	40.00
18~25 g 组	23.20±1.42	5.78±3.01	42.03±11.24*	14	70.00 <sup>a</sup>	15.00 <sup>a</sup>

注:与造模前血糖值比较,\* $P<0.01$ ;与28~35 g组比较,<sup>a</sup> $P<0.05$

25 g 的小鼠较合适。见表5。

### 3 讨论

四氧嘧啶(Alloxan)是一种有效的致高血糖模型的化学药物,其作用机制是利用四氧嘧啶选择性破坏胰岛 $\beta$ 细胞,使胰岛素分泌不足而引起高血糖模型。但研究者普遍反映造模的成功率不高,存在小剂量无效、大剂量致死的现象,且四氧嘧啶致糖尿病模型的稳定性受许多因素影响,如给药剂量、溶媒、造模次数、体质量等,如不能很好地控制这些因素,就会造成动物死亡率、转阴率升高,以致模型的成功率降低,影响实验结果的可靠性<sup>[4]</sup>。

本实验选择了多种因素来探讨四氧嘧啶致糖尿病小鼠模型的影响。实验证明,四氧嘧啶由于水溶性不稳定,应现配现用,且避光保存在0~4℃环境中,在30 min内注射完,不同溶媒造模的成模率不同,其中以缓冲液做为溶媒可提高糖尿病小鼠的成模率,这可能是因为缓冲液有利于药物的溶解,减少四氧嘧啶的氧化分解,从而使进入体内的有效药量增多,另缓冲液还有助于四氧嘧啶在体内的吸收,使成模率提高。

造模剂量的大小一直是小鼠造模的关键问题,在本实验中,造模剂量为185 mg/kg时,成模率最高,死亡率较低,当造模剂量不断增高,小鼠成模后血糖也越高,造模死亡率升高,且生存质量较低,这与四氧嘧啶的毒性有关,因此剂量并非越大越好,本实验提示小鼠腹腔注射四氧嘧啶造模剂量以185 mg/kg为适宜,且造模以一次性腹腔注射较好,追加给药并不能使小鼠成模率增加,反而使小鼠死亡率增加,这与文献报道的最佳给药剂量200 mg/kg不太一致<sup>[5]</sup>。

小鼠的性别及体质量同样对造模有一定的影响。实验中发现雄性小鼠成模率高于雌性小鼠,这与文献报道的一致<sup>[6]</sup>。可能由于雌性小鼠耐受力较雄性小鼠差,因此造模后死亡率较雄性高。另外,体质量较大的小鼠较体质量轻的小鼠造模成模率低,死亡率高,可能是因为小鼠体质量大时其周龄相对较大,身体功能相对衰退,对四氧嘧啶耐受力下降,从而易导致小鼠死亡。

因此,经过筛选,本研究认为,选用雄性,体质量在18~25 g小鼠,禁食不禁水12 h,2%四氧嘧啶(用pH 4.5的柠檬酸/柠檬酸钠缓冲液对现配,避光、冰浴保存)以185 mg/kg造模剂量一次性腹腔注射,小鼠成模率最好,且稳定性高,值得推广应用。

### [参考文献]

- [1] 崔明明,王三艳,周美娥.建立四氧嘧啶糖尿病小鼠模型的研究[J].现代中西医结合杂志,2007,16(30):4431-4432.
- [2] 黄桂红,陈薇,罗昱澜.链脲佐菌素稳定性对诱导糖尿病小鼠模型的影响[J].华夏医学,2009,22(2):201-203.
- [3] 徐叔云,卞如濂,陈修.药理实验方法学[M].2版.北京:人民卫生出版社,1994:1274-1275.
- [4] 陈建国,梅松,付颖,等.四氧嘧啶致小鼠高血糖模型的研究[J].卫生毒理学杂志,2004,18(2):98-100.
- [5] 樊志奇,杨勇,容蓉,等.四氧嘧啶制备糖尿病小鼠模型的影响因素研究[J].时珍国医国药,2010,21(8):1948-1949.
- [6] 杨明华,杨苏蓓,柴可夫,等.四氧嘧啶致小鼠糖尿病造模条件优化及稳定性考察[J].中药药理与临床,2007,23(5):213-216.

(收稿日期:2011-08-18)

### · 编读往来 ·

## 学术类期刊论文的质量要求

1 创新性 报道医药卫生科技领域中的原始性创新成果,包括提出新发现、新思路、新认识、新理论;或修正、补充、否定已有理论;或提出具有重要学术探讨价值的新问题;或在研究方法上有较大突破,或有较高学术价值,代表学科发展前沿、趋势和方向;或提出具有超前思维和重要科学依据的预测、预见和展望等。

2 科学性 反映本学科学术水平和发展动向,理论依据充分,方法先进,设计科学,数据准确,结果正确,结论可靠。实验研究设计符合随机、对照、重复三原则和统计学要求及其他各种有关规范、标准。临床科研设计符合多中心、大样本、随机对照的原则。在逐步实行临床试验注册制度后,相关临床试验应经过注册。

3 导向性 充分利用自身作为信息源的优势,为促进医学科研工作自主创新、加速医学成果诞生、保障人民群众健康等发挥导向作用。

4 实用性 注重理论与实践、当前与长远、应用与储备、学科发展与新学科增长点相结合;注重高新技术和基础性研究转化为现实生产力。