

诱导性代谢综合征动物模型研究进展

张敏¹,迟秀娥²,薛妍¹,张宏颖¹,刘艳丽¹,王秀萍³,薛志忠³,曹慧娟¹,李继安¹

(1. 华北理工大学中医学院,河北唐山 063210;2. 沧州中西医结合医院内分泌糖尿病科,河北沧州 061000;3. 河北省农林科学院滨海农业研究所,河北唐山 063210)

[摘要]代谢综合征(metabolism syndrome,MS)及其相关并发症严重威胁人类健康,因而构建MS动物模型阐明其发病机制、开展中西医治疗研究具有重要意义。目前,MS动物模型主要采用遗传动物或外界因素诱导两类方法建立,其中诱导性模型应用最为广泛。诱导方法主要有药物诱导、饮食诱导及药物联合饮食诱导3种方式,由于动物种属特异性及诱导方式的不同,模型动物表现有所差异。为了更科学、规范地选择MS模型复制方法,对近年来MS动物模型的诱导方法、模型复制标准及各自的病理机制进行简要论述。

[关键词]代谢综合征;动物模型;病理机制

[中图分类号]R364.2 **[DOI]**10.3969/j.issn.2095-7246.2019.04.025

代谢综合征(metabolism syndrome,MS)包含肥胖、高血压、糖代谢异常、血脂紊乱、高胰岛素血症等多种心血管病危险因素,是多种代谢疾病的聚合体。目前,MS的病理机制尚未清楚,西医治疗多局限于对症治疗,中医治疗则具有整体调节、辨证论治的特点。构建与人类MS特征类似的动物模型,选择合理的模型复制成功的标准,对于探究其病理机制及干预药物的基础研究尤为关键。目前MS动物模型的构建主要有两类方法,一是选择遗传动物模型,二是对动物进行基因修饰、饮食和(或)药物及外科干预诱导等措施。这两类方法各有利弊,显然模仿人类高能量饮食及静坐少动等不良生活方式复制模型更能体现人类MS的病理特征。

1 实验动物

目前常用的啮齿类动物主要有Wistar大鼠、Sprague-Dawley(SD)大鼠、C57BL/6小鼠、仓鼠、家兔、Gottingen小猪等,其中Wistar大鼠及SD大鼠最多见。由于品系不同的动物具有差异性遗传基因,故其生理病理特点表现各异,如张克交等^[1]实验研究表明,谷氨酸钠诱导MS模型具有种属差异性,小鼠血脂升高水平较大鼠更明显,因而实验研究时需根据实验目的灵活选用动物。

2 诱导模型

目前诱导MS动物模型的方法主要有单纯饮食诱导、药物诱导及饮食加药物诱导3种模式。饮食诱导的饲料成分主要包括高脂、高糖、高盐三类,化

学诱导的药物种类包括链脲佐菌素(streptozoxin,STZ)、糖皮质激素(如地塞米松)及抗精神病类药物(如奥氮平等)。以上各方法通过不同途径引起代谢异常,最终导致MS的发生。

2.1 单纯饮食诱导

2.1.1 高脂饮食 国内外多项研究表明,高脂饮食能有效地促进血糖升高、胰岛素抵抗、血脂异常等的发生,并随摄食脂肪的增加呈剂量依赖性^[2]。其机制可能在于摄入大量的脂肪后导致体内脂肪酸及三酰甘油(triglyceride,TG)等升高,导致胰岛素抵抗或(和)胰岛素敏感性降低,而大量游离脂肪酸亦对胰岛β细胞产生脂毒性。文献研究表明,高脂饮食使用含20%~60%脂肪的饮食作为能量来源,应用动物脂肪和ω-6/ω-9脂肪酸为基础的能量含量超过40%的半净化饮食方法会导致肥胖和胰岛素抵抗,而食用鱼油的动物不会发生这些疾病^[3]。董明等^[4]用近交系清洁级3周龄C57b/6L小鼠给予高脂饮食纯化饲料(脂肪占总热量的58%,碳水化合物占25.5%,蛋白占16.4%)诱导MS动物模型,连续喂养10周成功构建了高脂饮食喂养肥胖小鼠模型,其中模型组小鼠先后表现出肥胖、糖耐量降低及血脂紊乱。刘伟等^[5]利用普通饲料加鸡蛋黄、花生形成的高脂饲料喂养SD大鼠32周,成功构建具有肥胖、高血压、血脂异常特征的营养性MS大鼠模型。此类模型复制方法具有操作简单、稳定性高、可重复性强的特点。

2.1.2 高脂高盐饮食 大量动物模型复制实验表明,单纯高脂饮食不易形成稳定的高血压模型,而高盐饲料可成功诱导出盐敏感度高血压模型。目前研究认为,高盐饮食导致高血压的主要机制包括离子转运改变(如钠钙交换增加)和肾脏排钠功能异常致

基金项目:河北省农林科学院财政项目(F18R18001)

作者简介:张敏(1993-),女,硕士研究生

通信作者:李继安(1962-),男,博士,主任医师,教授,lnyy@

vip.sina.com

水钠潴留等。国外一项研究表明,高盐饮食可使交感神经系统兴奋,增加氧化应激和炎症细胞因子的产生,亦可通过激活肾素、血管紧张素、醛固酮系统,增加肾素血管紧张素Ⅱ产生,引起钠水潴留,造成各种病理改变,使血压升高^[6]。卢文艺等^[7]根据前期研究,以高脂高盐饮食(基础饲料占50%,猪油占25%,蔗糖占15%,NaCl占10%)喂养Wistar大鼠12周成功诱导具有肥胖及胰岛素抵抗等特征的MS大鼠模型。

2.1.3 高糖饮食 目前单纯高糖饮食诱导MS动物模型主要采用高糖饮食或高糖饮水两种方式,涉及的糖类主要成分为不同形态的果糖,包括游离态果糖及结合态果糖(蔗糖)。目前针对高糖诱导MS潜在机制的研究主要是影响糖脂代谢及肠道菌群两大方面。果糖经胃肠道通过果糖特异性转运子及葡萄糖转运蛋白2吸收、扩散入血,经过三羧酸循环迅速代谢,从而生成乳酸及葡萄糖、肝糖原、肌糖原等,也可通过磷酸果糖激酶干扰糖酵解过程。由于果糖代谢具有无限速酶且不依赖胰岛素的特点,大量果糖迅速代谢产生大量中间产物,部分可转化为脂肪酸,脂肪酸增加可导致增加氧化应激、异常脂质堆积,造成一定程度的肝损害,进而造成肥胖、血脂紊乱、糖耐量异常和胰岛素抵抗等。DI LUCCIA等^[8]研究表明,肠道微生物直接参与果糖饮食诱导MS的过程。PANG等^[9]采用高糖饲料(糖类占77%,蛋白质占16%,脂质占6%)喂养雄性SD大鼠6周后,大鼠的收缩压、胰岛素、TG均明显升高,但未出现高血糖症。孟文静^[10]分别采用30%蔗糖溶液、40%蔗糖溶液、50%蔗糖溶液喂养SD大鼠18周,发现以上每个浓度溶液均可使SD大鼠的血糖、血脂及尿酸出现代谢紊乱;又分别以30%蔗糖溶液、40%蔗糖溶液喂养Wistar大鼠,8周后便成功构建MS大鼠模型。两次实验结果均表明,30%蔗糖溶液尤宜构建肥胖型MS模型。MAMIKUTTY等^[11]采用18只雄性Wistar大鼠饲喂20%果糖饮水(fructose drinking water,FDW)和25%FDW 8周构建FDW的MS模型,结果提示两种浓度FDW均可造成血压、血脂及血糖异常升高,并且20%FDW诱导肥胖型MS大鼠模型效果最好。以上研究表明,单纯喂养高糖饲料不易形成高血糖,但单一地给予高糖饮水可在较短时间内成功复制MS模型。

2.1.4 高脂高糖饮食 高脂高糖饲料是在高脂的基础上加入高糖,或是高糖饮食,或是高糖饮水,添加的高糖主要为果糖及蔗糖,其作用机制可能是高

糖及高脂诱导MS的结合。多项实验研究表明,在其他饲料喂养的前提下添加高糖成分,可诱导大鼠出现全身胰岛素抵抗,并可在一定程度上缩短模型复制成功时间。姜楠等^[12]用高脂饲料(普通饲料占70%,蔗糖占10%,猪油占7%,食盐占5%,胆固醇占1%,牛胆酸钠占1%,蛋黄粉占6%)联合饮用质量浓度200g/L的蔗糖水连续饲养雄性Wistar大鼠12周,成功构建了糖代谢异常MS模型。谢丽丽等^[13]采用15%果糖水配合高脂饮食(普通饲料占78.8%,猪油占10%,蛋黄粉占10%,胆固醇占1%,胆盐占0.2%)饲养SD大鼠10周后,MS模型复制的成功率为73.3%(11/15),证明此诱导方式可在较短时间建立MS动物模型。孟文静^[10]将SD大鼠分别给予一号高脂高糖饲料(包含猪油23%,蔗糖21%等)及二号高脂高糖饲料(含猪油21%、蔗糖41%等)喂养17周后,两模型组均出现糖脂代谢紊乱,但未出现肥胖。研究者考虑是因为饲料中糖脂含量过高使大鼠食欲下降,进食量减少,故体重未升高。虽然此研究结果与以上实验结果相矛盾,但也提示在运用高脂高糖饮食诱导MS动物模型时,注意控制糖脂成分的比例。

2.1.5 高脂高盐高糖饮食 研究表明,此类饮食方式可致日热量摄入过高,而过多的能量以脂肪形式储存体内可引起肥胖。积累的脂肪会增加游离脂肪酸的产生,导致氧化应激的增加,导致脂肪因子分泌失调,产生大量炎症因子,或降低脂联素等有益因子水平,干扰胰岛素信号传导,导致糖脂代谢紊乱、血压升高等。朱黄泽等^[14]采用高脂高糖高盐饲料(含猪油10%、白砂糖10%、食用盐5%等)喂养SD大鼠4周以诱导MS模型。马育轩等^[15]将健康雄性SD大鼠给予高脂高糖高盐饲料(含猪油15%、蔗糖15%、食盐5%等)饲喂20周,成功构建肥胖型MS大鼠模型。以上饲料中添加的盐含量均为5%,而添加的脂肪虽都是猪油,但其占饲料比例各不相同,糖的种类及比例也各异,这可能是影响模型复制成功时间的重要因素。

2.2 药物诱导 研究表明,STZ可特异性作用于胰岛β细胞,部分甚至可完全损害胰岛结构,造成胰腺内分泌功能障碍,从而使机体出现糖脂代谢紊乱,最终导致高血糖和胰岛素抵抗的发生^[16]。糖皮质激素可通过多种机制导致MS的发生,主要包括以下几个方面:①促进脂肪细胞生成,增加脂肪分解及蛋白质的分解,产生游离脂肪酸及游离氨基酸,最终导致肥胖及胰岛素抵抗等产生。②使肝糖原增生增加,升高血糖水平。③与肾脏受体的非特异性结合

导致钠水潴留、钾排泄及血浆容积增加,导致血压升高。抗精神病药物诱导的MS的机制尚未明确,但大量研究表明,抗精神病药物既可通过降低瘦素水平、增加食欲等途径导致糖脂代谢紊乱、体质量增加,亦可通过阻断肾上腺素 α_1 受体,引起血管收缩而致血压升高,从而导致MS^[17]。目前单一应用药物诱导MS动物模型的方法虽不普遍,但不乏采用此类方法的研究者。刘紫君等^[18]通过在成熟脂肪细胞增殖培养基中加入 $1\ \mu\text{mol/L}$ 地塞米松,96 h后成功构建胰岛素抵抗模型。研究表明,若在乳鼠出生1周内皮下注射高剂量谷氨酸钠,可破坏其下丘脑摄食中枢,进而引起内分泌代谢紊乱,最终导致模型鼠成年后表现出MS相关体征^[19]。张克交等^[1]采用新生大鼠、小鼠皮下注射 $3\ \text{mg/L}$ 谷氨酸钠的方法均能成功构建MS模型。该类模型复制方法具有简便易行的特点,但此模型与人类MS发生的病理特征存在一定差距,故单一应用化学诱导存在一定局限性。

2.3 饮食联合药物诱导 这种诱导方式具有模型复制时间短、模型较稳定等特点,是目前应用最为普遍的一种模型复制方法,并且多选择联用STZ构建模型。理论上以上各种饮食诱导方式均可联合应用STZ腹腔注射复制模型。研究表明,若实验动物一次性大剂量注射STZ,其24 h后即可出现稳定的高血糖,但高剂量STZ可能过度破坏胰岛 β 细胞而构建的模型具有1型糖尿病特征,故复制模型时要控制STZ的剂量。目前STZ腹腔注射的方式主要有单次大量注射及多次小剂量注射两种。王保伟等^[20]在高脂饲料(含猪油 $150\ \text{g/kg}$ 、豆油 $30\ \text{g/kg}$ 、酪蛋白 $200\ \text{g/kg}$ 等)喂养雄性Wistar大鼠4周后,分别给予模型组 20 、 30 、 $60\ \text{mg/kg}$ STZ腹腔注射以构建糖尿病大鼠模型,最终模型复制成功率分别为 40% 、 80% 、 25% ,由此表明STZ的剂量影响模型复制成功率。王娟等^[21]采用高脂高糖饲料(含白糖 20% 、猪油 15% 、蛋黄 10% 、食盐 5% 等)喂养Wistar大鼠11周后予以STZ溶液($35\ \text{mg/kg}$)腹腔内一次性注射,成功构建MS大鼠模型。虽目前选择联用STZ腹腔注射者居多,亦有应用其他药物诱导动物模型的研究者。王玉勤等^[22]采用高脂饲料喂养SD大鼠5周联合隔日肌肉注射地塞米松磷酸钠注射液7次(剂量为 $1\ \text{mg/kg}$),复制胰岛素抵抗伴脂代谢紊乱模型。

3 模型复制成功的鉴定

MS的临床诊断标准尚未统一,目前普遍意见认为,在腹围超过正常,高总胆固醇(total cholesterol-

ol,TC)、TG、低高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein cholesterol, HDL-C)、高血压和血糖异常5项指标中,符合任意3个或以上指标则可诊断为MS^[23],但评价MS模型是否成功的具体标准尚未达成共识。姜楠等^[12]评判模型复制成功的标准是高血糖为必备条件,以下条件满足3项或以上,具体包括:①肥胖大鼠体质量较对照组均数升高 20% ;②模型复制前血压超过大鼠收缩压均数的 $1/6$;③血糖超过 $7.99\ \text{mmol/L}$;④TC超过 $0.8\ \text{mmol/L}$,HDL-C低于 $0.57\ \text{mmol/L}$;⑤胰岛素抵抗指数超过 1.05 。谢丽丽等^[13]用果糖高脂饮食诱导MS模型时,判定模型复制成功的方法是以对照组各指标均值 ± 2 倍标准差为标准,在模型组中心性肥胖大于此标准基础上,满足空腹血糖升高、TG升高、HDL-C降低三者中2项即可。马育轩等^[15]评价MS大鼠模型复制成功的标准,除了具备肥胖特征,还应符合TG水平升高、HDL-C水平降低、高血压及胰岛素敏感指数升高4项标准中任意2项。梁毓源等^[24]通过实验研究认为,高果糖饲料喂养后,若模型动物的血压、血糖及TG水平明显高于对照组,则MS模型复制成功。苏祖清等^[25]构建MS大鼠模型时,以模型组胰岛素敏感指数小于正常组胰岛素敏感指数均数1个标准差为模型复制成功。

本研究未全面收集文献中提及的MS模型复制成功标准,但从以上多种评判标准中可以看出,模型复制成功的标准是指肥胖、血脂异常、高血糖、高血压及胰岛素抵抗相关指标异常。其中评价肥胖的指标主要是体质量;评价血脂异常主要涉及TG、TC、LDL-C及HDL-C;评价胰岛素抵抗的指标包括胰岛素水平、胰岛素抵抗指数、胰岛素敏感指数等。

4 总结

在应用动物实验研究MS相关病理机制及药物对MS干预作用过程中,首要考虑的问题就是能否成功复制模型。在进行模型复制方案设计过程中,需要考虑动物的选择、饲养环境、模型复制方法、模型评价标准等诸多问题,如何选择合适的实验方案是研究成功的基石。外科手术干预的方式难于体现MS的发病过程,故而应用极少。基因修饰方法由于技术要求严格、成本高等一系列因素,限制了其大规模使用。目前应用最为广泛的模型复制方法是构建诱导性动物模型,其涉及的方法多种多样,主要包括单纯饲料喂养、饲料喂养结合高糖饮水或者喂养结合化学诱导3种方法。显然,以上模型复制方法各有优缺点,如饮食诱导与人类不健康的生活方式类似,却存在模型复制时间长、成本相对较高的缺

点,而饮食联合药物诱导的方法缺点不明显,且有模型性状相对稳定的优点。另外,由于种属特异性,模型复制成功时动物表现的特征也有所偏向,故应根据实验研究目的有指向性地设计模型复制方案。

参考文献:

- [1] 张克交,丁臻雍,邓佳丽,等. 胡椒碱对谷氨酸钠诱导代谢综合征的干预作用[J]. 中华中医药学刊,2018,36(9):2185-2187.
- [2] WONG S K, CHIN K Y, SUHAIMI F H, et al. Animal models of metabolic syndrome: a review[J]. *Nutrition & metabolism*,2016,13(1):65.
- [3] BUETTNER R, SCHÖLMERICH J, BOLLHEIMER L C. High-fat diets: modeling the metabolic disorders of human obesity in rodents[J]. *Obesity*,2007,15(4):798-808.
- [4] 董明,刘东,梁运海,等. 高脂饮食喂养肥胖模型小鼠的构建:分析营养因素和代谢综合征的关系[J]. 中国组织工程研究,2015,19(40):6542-6546.
- [5] 刘伟,李鸿雁,颜克松,等. 代谢综合征大鼠模型的建立[J]. 中国畜牧兽医,2015,42(5):1218-1221.
- [6] MAJID D S, PRIETO M C, NAVAR L G. Salt-sensitive hypertension: perspectives on intrarenal mechanisms[J]. *Curr Hypertens Rev*,2015,11(1):38-48.
- [7] 卢文艺,刘莲,黄蔚,等. 加味苓桂术甘汤对代谢综合征大鼠抗氧化作用及脂联素表达的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2016,22(10):97-101.
- [8] DI LUCCIA B, CRESCENZO R, MAZZOLI A, et al. Rescue of fructose-induced metabolic syndrome by antibiotics or faecal transplantation in a rat model of obesity[J]. *PLoS One*,2015,10(8): e0134893.
- [9] PANG X, ZHAO J, ZHANG W, et al. Antihypertensive effect of total flavones extracted from seed residues of *Hippophae rhamnoides* L. in sucrose-fed rats[J]. *Journal of Ethnopharmacology*,2008,117(2):325-331.
- [10] 孟文静. 饮食诱导代谢综合征大鼠模型的初步研究[D]. 昆明:云南中医学院,2014.
- [11] MAMIKUTTY N, THENT Z C, SAPRI S R, et al. The establishment of metabolic syndrome model by induction of fructose drinking water in male Wistar rats[J]. *Biomed Res Int*,2014;263897[2019-02-18]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25045660> DOI: 10. 1155/2014/263897.
- [12] 姜楠,蒲纪,张冰冰,等. 补益方剂反证糖代谢异常代谢综合征大鼠中医证型的研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2015,21(12):95-98.
- [13] 谢丽丽,崔慧娟,陈苏,等. 果糖高脂饮食诱导建立代谢综合征大鼠模型[J]. 蚌埠医学院学报,2018,43(10):1351-1354.
- [14] 朱黄泽,奚学军. 黄芪散对代谢综合征模型大鼠胰岛素抵抗的干预作用[J]. 浙江中医杂志,2017,52(11):848-849.
- [15] 马育轩,于国强,张洪财,等. 针刺配合黄连温胆汤加减对代谢综合征大鼠胰岛素抵抗及脂肪细胞因子的影响[J]. 中医药信息,2017,34(2):71-74.
- [16] NODA K, NAKAO S, ZANDI S, et al. Retinopathy in a novel model of metabolic syndrome and type 2 diabetes: new insight on the inflammatory paradigm[J]. *The FASEB Journal*,2014,28(5):2038-2046.
- [17] 戴文青,赵世华,孙红立,等. 非典型抗精神病药物所致代谢综合征患者的研究进展[J]. 中国民康医学,2017,29(5):43-44,59.
- [18] 刘紫君,韩宇博,彭鹏,等. 黄连温胆汤含药血清改善小鼠脂肪细胞胰岛素抵抗的机制探讨[J]. 山东医药,2018,58(30):14-18.
- [19] 王雅婷. 钨酸钠对谷氨酸钠诱导的代谢综合征小鼠的改善作用及其机制研究[D]. 石家庄:河北医科大学,2015.
- [20] 王保伟,李颖,刘晓红,等. 高脂饲料喂养时间及链脉佐菌素剂量对实验型2型糖尿病大鼠造模的影响[J]. 卫生研究,2011,40(1):99-102,106.
- [21] 王娟,谢萍. 菊粉通过激活 AMPK 改善代谢综合征大鼠胰岛素抵抗研究[J]. 辽宁中医药大学学报,2018,20(5):34-37.
- [22] 王玉勤,谢剑,刘永林,等. 六黄合剂对胰岛素抵抗大鼠脂代谢的影响[J]. 中国冶金工业医学杂志,2018,35(3):346-347.
- [23] MONGRAW-CHAFFIN M, FOSTER M C, KALYANI R R, et al. Obesity severity and duration are associated with incident metabolic syndrome: evidence against metabolically healthy obesity from the multi-ethnic study of atherosclerosis[J]. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*,2016,101(11):4117-4124.
- [24] 梁毓源,张旭升,黄战军,等. 麝香保心丸对代谢综合征大鼠模型血清炎症因子的影响[J]. 中国民族民间医药,2018,27(22):29-30,53.
- [25] 苏祖清,曾科学,孙朝跃,等. 白术挥发油对代谢综合征大鼠糖脂代谢的影响[J]. 亚太传统医药,2018,14(10):4-7.

(收稿日期:2019-03-27;编辑:曹健)