

王璐,张锐虎,王晨阳,等. 中国仓鼠自发性2型糖尿病基础代谢特征及相关基因的表达差异[J]. 中国实验动物学报, 2019, 27(4): 508 - 515.

Wang L, Zhang RH, Wang CY, et al. Characteristics of basal metabolism and expression of related genes in spontaneous type 2 diabetic Chinese hamster [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2019, 27(4): 508 - 515.

Doi: 10.3969/j.issn.1005-4847.2019.04.013

中国仓鼠自发性2型糖尿病基础代谢特征及相关基因的表达差异

王璐^{1,2}, 张锐虎^{1,2}, 王晨阳^{1,2}, 余婧婧^{1,2}, 宋国华^{1,2}, 王春芳^{1,2}, 陈朝阳^{1,2*}

(1. 山西医科大学实验动物中心, 太原 030000; 2. 山西省实验动物与人类疾病动物模型重点实验室, 太原 030000)

【摘要】 目的 探究自发性2型糖尿病中国仓鼠糖脂代谢、体成分、昼夜运动及新陈代谢等基础代谢特征和相关基因在骨骼肌、肝中的表达情况。**方法** 根据中国仓鼠空腹血糖(FBG)和餐后血糖(PBG)值,选取对照组(FBG ≤ 4.5 mmol/L 且 PBG < 6.0 mmol/L)与糖尿病组(FBG ≥ 6.0 mmol/L 且 PBG > 7.0 mmol/L),测定动物体重、血糖、血脂、血清胰岛素含量及糖耐量,分析动物体成分、昼夜运动及新陈代谢特征,检测相关基因葡萄糖转运蛋白4(glucose transporter 4, *Glut4*)和过氧化物酶体增殖激活受体- γ (peroxisome proliferative activated receptor- γ , *Pparg*)在骨骼肌和肝中的表达情况。**结果** 与对照组相比,中国仓鼠糖尿病组血糖、血脂含量增加,血清胰岛素含量和胰岛素抵抗指数(homeostasis model assessment of insulin resistance, HOMA-IR)增大,体脂率降低,摄食量和白天活动量增加,热量消耗增大。PPARG在肝和骨骼肌中的mRNA和蛋白表达水平显著增加;GLUT4在骨骼肌中的mRNA和蛋白表达水平显著降低。**结论** 自发性2型糖尿病中国仓鼠属于糖脂代谢异常,能产生胰岛素抵抗的非肥胖型2型糖尿病动物模型,GLUT4的下调可能与骨骼肌中异常的糖代谢及胰岛素抵抗有关,而上调的PPARG可能有利于机体胰岛素抵抗状态的缓解。

【关键词】 中国仓鼠; 2型糖尿病; 新陈代谢; 过氧化物酶体增殖激活受体- γ ; 葡萄糖转运蛋白4

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2019)04-0508-08

Characteristics of basal metabolism and expression of related genes in spontaneous type 2 diabetic Chinese hamster

WANG Lu^{1,2}, ZHANG Ruihu^{1,2}, WANG Chenyang^{1,2}, YU Jingjing^{1,2}, SONG Guohua^{1,2},
WANG Chunfang^{1,2}, CHEN Zhaoyang^{1,2*}

(1. Laboratory Animal Center of Shanxi Medical University, Taiyuan 030000, China;

2. Shanxi Key Laboratory of Experimental Animal Science and Animal Model of Human Diseases, Taiyuan 030000)

Corresponding author: CHEN Zhaoyang. Email: ccytcn@163.com

【Abstract】 Objective To explore the basic metabolic characteristics and expression of related genes in the skeletal muscle and liver of Chinese hamsters with spontaneous type 2 diabetes, including glucose and lipid metabolism, body composition, diurnal movement, metabolism, and the expression of relevant genes. **Methods** We regarded the

【基金项目】 山西省自然科学基金(201801D21208); 山西省实验动物资源共享服务平台建设(201605D121019); 山西省回国留学人员科研资助项目(2015-054)。

Funded by Natural Science Foundation of Shanxi Province (201801D21208), Construction of Sharing Service Platform for Experimental Animal Resources of Shanxi Province (201605D121019) and Research Subsidy Project for Returned Overseas Chinese Scholars, Shanxi Province (2015-054).

【作者简介】 王璐(1994—), 女, 硕士研究生, 研究方向: 人类疾病动物模型。Email: deerxlu@163.com

【通信作者】 陈朝阳(1972—), 男, 教授, 研究方向: 人类疾病动物模型。Email: ccytcn@163.com

Chinese hamster with fasting blood glucose (FBG) higher than 6.0 mmol/L and post-prandial blood glucose (PBG) higher than 7.0 mmol/L as diabetic based on the mean and 95% frequency distribution values of FBG and PBG. 12 hamsters at the age of 48 weeks in diabetic and control groups, each group was half male and female. Animal weight, blood glucose, blood lipid, serum insulin content, and glucose tolerance were measured. Animal body composition, diurnal movement, and metabolic characteristics were analyzed by InAlyzer Dual Energy X-ray Animal Body Composition Analysis System, High-throughput Behavior Analysis System, and Open Circuit Calorimetric Metabolic System, respectively. The expression of diabetes-related genes *Glut4* and *Pparg* in skeletal muscle and liver were measured by Real-time PCR and Western blotting. **Results** In the diabetic group, blood glucose and lipid, serum insulin, food intake, daytime activity, and heat consumption were significantly increased, while the percentage of body fat was significantly decreased. Compared with the control group, the mRNA and protein expressions of PPARG in the liver and skeletal muscle were significantly increased, and the mRNA and protein expressions of GLUT4 in skeletal muscle were significantly decreased in diabetic hamsters. **Conclusions** This type 2 diabetic Chinese hamster model exhibits non-obese, abnormal glucose and lipid metabolism, and insulin resistance. The down-regulation of GLUT4 may be related to abnormal glucose metabolism and insulin resistance in skeletal muscle, while the up-regulated PPARG may alleviate insulin resistance in the liver.

【**Keywords**】 Chinese hamsters; type 2 diabetes; metabolism; PPARG; GLUT4

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

中国仓鼠最早由 Meier 和 Yerganign 报道该群体近亲繁殖可自发产生糖尿病^[1]。山医群体近交系中国仓鼠通过选择性繁殖培育,发现其空腹血糖 (FBG) 中轻度升高,且存在胰岛素抵抗 (IR) 现象,符合糖尿病的发病特征^[2]。2 型糖尿病 (T2DM) 的发病基础主要涉及 IR 和胰岛素分泌缺乏,由 IR 引起的糖代谢紊乱会造成脂代谢异常,形成糖脂代谢恶性循环,损伤胰腺组织,影响胰岛素分泌^[3-4]。IR 与脂肪分泌的细胞因子,如瘦素、脂联素等有密切的联系^[5]。过氧化物酶体增殖体激活受体 (PPARs) 是脂肪细胞因子主要的调控子,其中 PPARs 主要参与脂肪组织中脂质摄取和脂肪形成相关基因的转录激活,*Pparg* 基因突变可引发 IR^[6]。IR 表现为外周组织 (尤其是骨骼肌、脂肪组织) 对葡萄糖摄取减少及肝葡萄糖输出作用减弱,使 T2DM 患者维持高血糖状态^[5]。跨膜糖蛋白家族 (GLUTs) 参与细胞内葡萄糖的摄取与输出,其中葡萄糖转运蛋白 4 (GLUT4) 与胰岛素敏感性关联较大,是胰岛素介导信号传导中的关键蛋白^[7]。

本研究通过测定山医群体近交系中国仓鼠 FBG、餐后血糖 (PBG)、胰岛素含量、糖脂代谢、昼夜运动及新陈代谢情况,检测糖尿病相关基因 *Glut4* 和 *Pparg* 在骨骼肌、肝中的 mRNA 及蛋白表达情况,探究山医群体近交系中国仓鼠的基本代谢特征,为该品系动物 T2DM 分子发病机制的研究提供一定的基础,有助于进一步全面了解其发病特征。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

清洁级山医群体近交系中国仓鼠,10~12 月龄,雌雄各半,由山西医科大学实验动物中心提供【SCXK(晋)2015-0001】,饲养于屏障环境(SYXK【晋】2015-0001),自由摄食饮水,饲料符合国家标准(GB14924.6-2001)《实验动物地鼠配合饲料》的要求。实验操作严格遵守山西医科大学实验动物管理委员会规程(IACUC2018-016)。

1.1.2 试剂与仪器

血液生化指标试剂盒(美国 Sysmex 公司);鼠 ELISA 试剂盒(美国 Millipore 公司);糖化血红蛋白(HbA1c)试剂盒(中国南京建成公司);ACCU-CHEK 活力血糖仪(德国 Roche Diagnostics GmbH 公司);全自动生化仪(日本 Hitachi 公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 模型建立

从 3 月龄开始,每月一次测定 FBG 和 PBG。根据 FBG 和 PBG 的均值与 95% 频数分布值,将 FBG ≤ 4.5 mmol/L 且 PBG < 6.0 mmol/L 的鼠作为对照组,FBG ≥ 6.0 mmol/L 且 PBG > 7.0 mmol/L 的鼠作为糖尿病组。每组 12 只,雌雄各半。

1.2.2 体重测定

从 1 月龄开始,每月称量一次体重并记录。在第 3,6,9,12 月龄测量体长(鼻尖到肛门的长度),计算体重指数(BMI) = 体重(g)/体长平方(cm^2)。

体重和血糖值稳定后,选择 12 月龄中国仓鼠进行代谢指标检测。

1.2.3 口服葡萄糖耐量试验(OGTT)

动物禁食 12 h,以 10 g/kg 体重的葡萄糖灌胃,测定灌胃开始后 0、30、60 和 120 min 时的血糖值。同时,在灌胃后 0、15、30 和 60 min 时,眼眶静脉丛取血(200 μL),4℃ 恒温离心(2500 r/min,20 min)取上清,测定胰岛素含量。根据梯形积分法计算曲线下面积(AUC)^[8]。

1.2.4 生化指标及胰岛素含量的测定

动物禁食 12 h,眼眶静脉丛取血,4℃ 恒温离心(2500 r/min,20 min)取上清,测定生化指标和血清胰岛素(FINS)含量,计算 HOMA-IR = (FBG × FINS)/22.5^[9]。

1.2.5 HbA1c 含量的测定

动物禁食 12 h,眼眶静脉丛取血(100 μL),置于含 EDTA 的抗凝管中,测定血液 HbA1c 百分比含量。

1.2.6 体成分监测

动物以 50 mg/kg 体重腹腔注射戊巴比妥钠(美国 Sigma 公司)麻醉,以趴卧姿势于 InAlyzer 双能 X 射线动物体成分检测仪(韩国 Medikors 公司)内,进行体成分分析,包括体重、脂肪、肌肉和骨矿物质含量,骨密度值及脂肪占组织百分比。

1.2.7 运动监测

动物放入高通量行为分析笼(荷兰 Noldus 公司),1 只/笼,设置相关测量参数,对中国仓鼠运动路程和运动速度进行 24 h(12 h/12 h 昼夜交替)测量。

1.2.8 新陈代谢监测

动物放入开路热量测定代谢笼(美国 Columbus Instruments 公司),1 只/笼,设置相关测量参数,对中国仓鼠呼吸交换率、能量消耗,摄食量及饮水量等进行 24 h(12 h/12 h 昼夜交替)测量。

1.2.9 基因 mRNA 检测

使用 Trizol(Takara 公司,日本)法提取中国仓鼠骨骼肌和肝的总 RNA,以其为模板,通过 PrimeScript™ RT Master Mix(Perfect Real-Time)试剂盒(Takara 公司,日本)反转录合成 cDNA。使用 SYBR® Premix Ex Taq™ II(Tli RNaseH Plus)试剂盒(Takara 公司,日本),在 StepOnePlus 实时荧光定量 PCR 仪(Applied Biosystems,美国)上进行 PCR 扩增。引物根据 GenBank 中国仓鼠 *β-Actin*、*Glut4* 和

Pparg 序列,用 Primer Premier 5 设计,由 TAKARA 大连宝生物公司合成,具体引物序列见表 1。

实时荧光定量 PCR 反应条件(两步法):95℃ 预变性 30 s,1 个循环;95℃ 5 s,60℃ 30 s,40 个循环。

表 1 引物序列及相应的碱基数大小

Table 1 Primer sequences with corresponding base numbers		
基因 Genes	引物序列(5'-3') Primers (5'-3')	碱基数(bp) Size (bp)
<i>β-Actin</i>	F:5'-AGCCATGTACGTAGCCATCC-3'	20
	R:5'-ACCCTCATAGATGGGCACAG-3'	20
<i>Glut4</i>	F:5'-ATCCCACAAGGCACTCTCACTAC-3'	23
	R:5'-GCCAGCATAGCCCTTTTCC-3'	19
<i>Pparg</i>	F:5'-GGAGCCTAAGTTTGAGTTTGCTGTG-3'	25
	R:5'-TGCAGCAGGTTGTCTTGGATG-3'	21

1.2.10 蛋白含量测定

使用博士德生物蛋白提取试剂盒提取中国仓鼠骨骼肌和肝组织中的总蛋白,BCA 法测定蛋白浓度。样品上样量为 50 μg,10% SDS-PAGE 凝胶电泳分离,转至 NC 膜,5%脱脂奶粉室温封闭 1 h,一抗 *β-actin*(1:1000, Bioworld)、*GLUT4*(1:1000, Boster)和 *PPARG*(1:1000, ABclonal)4℃ 过夜,洗膜,二抗(anti-mouse IgG,1:4000, Bostser)室温孵育 1 h,洗膜,使用 ECL 发光液,化学发光成像系统仪(G:Box Chemi XX9,英国)显影,分析蛋白条带。

1.3 统计学分析

采用软件 SPSS 17.0 进行数据处理,结果均表示为均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$),组间比较采用 *t* 检验,组内比较采用单因素方差分析,以 *P* < 0.05 为具有统计学意义。

2 结果

2.1 体重及 BMI 变化

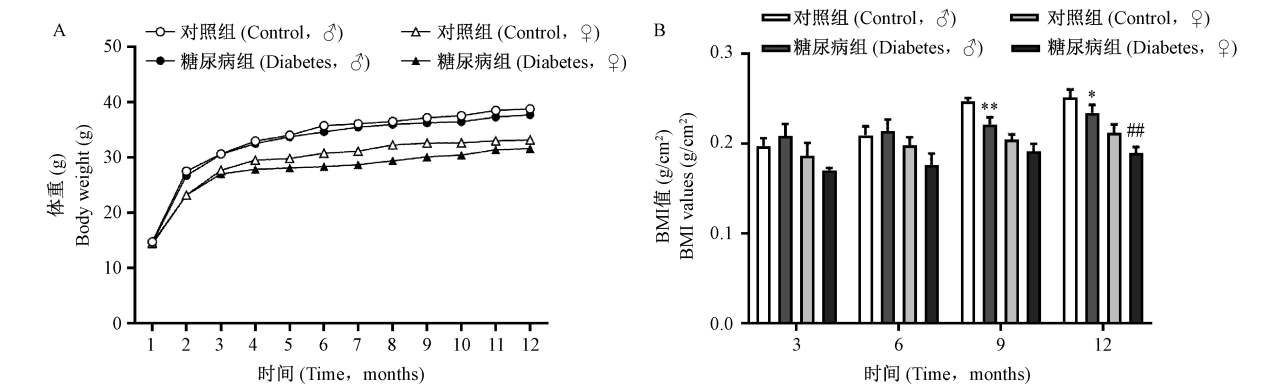
中国仓鼠体重随饲养时间的延长而逐渐增加(图 1A),1~2 月龄期间,雄性体重增长速度大于雌性。同月龄相比,对照组与糖尿病组的体重变化在相同性别间无显著差异(图 1A)。BMI 值比较发现,雄性 BMI 值高于雌性,9 月龄时,雄性糖尿病组 BMI 值显著低于对照组,而雌性糖尿病组与对照组间无显著差异(图 1B)。12 月龄时,同性别相比,糖尿病组 BMI 值显著低于对照组(图 1B)。

2.2 中国仓鼠糖尿病鼠的代谢特征

中国仓鼠糖尿病血液相关代谢指标如表 2 所

示,与对照组相比,糖尿病组 FBG、PBG、TG、胰岛素和 HOMA-IR 值明显升高,血清 TC 含量有一定程度的增加,但无统计学差异。HbA1c 作为高血

糖的标记物,糖尿病组中的含量约为对照组的 1.3 倍。这些结果表明糖尿病仓鼠存在 IR 和一定的代谢异常。



注:与对照组雄性相比,**P* < 0.05,***P* < 0.01。与对照组雌性相比,##*P* < 0.01。
图 1 中国仓鼠对照组与糖尿病组体重和 BMI 值变化
Note. Compared with the male hamsters in control group,**P* < 0.05,***P* < 0.01. Compared with the female hamsters in control group,##*P* < 0.01.

Figure 1 Changes in body weight and BMI of the Chinese hamsters in control and diabetes groups

表 2 中国仓鼠对照组与糖尿病组相关代谢指标($\bar{x} \pm s$)

组别 Groups	空腹血糖 (mmol/L) FBG	餐后血糖 (mmol/L) PBG	总胆固醇 (mmol/L) TC	甘油三酯 (mmol/L) TG	糖化血红 蛋白(%) HbA1c	胰岛素 (μU/mL) Insulin	胰岛素抵抗指数 HOMA-IR
对照组 Control	3.96 ± 0.16	5.81 ± 0.42	4.29 ± 0.54	1.84 ± 0.65	6.57 ± 1.12	36.25 ± 8.27	6.31 ± 1.29
糖尿病组 Diabetes	6.90 ± 0.37***	7.85 ± 0.63**	4.58 ± 0.55	2.66 ± 0.62***	9.16 ± 1.46***	52.15 ± 13.05*	14.78 ± 3.51***

注:与对照组相比,**P* < 0.05,***P* < 0.01,****P* < 0.001。
Note. Compared with the control group,**P* < 0.05,***P* < 0.01,****P* < 0.001.

2.3 OGTT 实验和胰岛素含量

中国仓鼠 OGTT 实验结果如图 2A 所示,灌服葡萄糖 30 min,糖尿病鼠的血糖值与对照组相比大幅升高(图 2A),30 min 后对照组的血糖值逐渐下降并在 120 min 时接近正常水平,而糖尿病组在 120 min 时仍维持在较高水平,最终使糖尿病组 AUC 增加了 40%(图 2B),说明糖尿病鼠葡萄糖代谢已受损。

OGTT 过程中血清胰岛素变化趋势如图 2C 所示,在 0~15 min,对照组和糖尿病组血清胰岛素水平均逐渐升高,30 min 时,对照组胰岛素含量开始下降而糖尿病组仍在升高,最终使糖尿病组 AUC 明显增加(图 2D),表明糖尿病仓鼠对葡萄糖刺激的胰岛素分泌系统存在一定的缺陷。

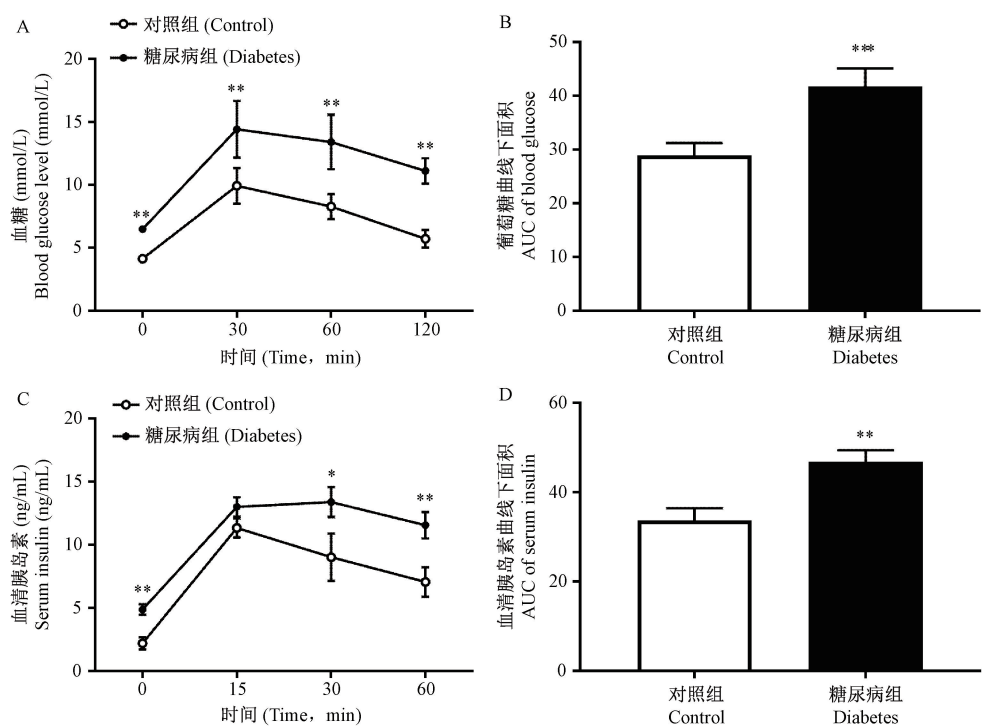
2.4 体成分含量

中国仓鼠体成分结果如表 3 所示,与对照组相比,糖尿病组脂肪含量及脂肪/组织百分比显著降

低,脂肪/组织百分比约下降 37%,相反,肌肉含量百分比明显高于对照组,说明该模型为非肥胖型糖尿病动物模型。此外,骨矿物质含量、骨面积和骨体积,糖尿病组略高于对照组,但无统计学差异。

2.5 运动及呼吸代谢分析

中国仓鼠昼夜运动变化如表 4 所示,同组昼夜间活动量差异显著,且夜晚运动路程长。与对照组相比,糖尿病组白天活动量明显增加(*P* < 0.05),夜晚活动量略有减少,但未达到统计学差异。饮水量,对照组夜晚明显多于白天(*P* < 0.001),糖尿病组夜晚比白天多,但无统计学差异。同组间摄食量夜晚明显多于白天,且与对照组相比,糖尿病组白天摄食量显著增加,约为对照组的 3.5 倍。糖尿病组 RER 值夜晚明显低于对照组(*P* < 0.05)。热量消耗,同组间白天比夜晚少,与对照组相比,糖尿病组夜晚热量消耗明显增加。



注:与对照组相比, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ 。

图 2 中国仓鼠对照组和糖尿病组 OGTT 实验及胰岛素含量结果

Note. Compared with the control group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$.

Figure 2 Oral glucose tolerance test (OGTT) and insulin secretion of the Chinese hamsters in control and diabetes groups

表 3 中国仓鼠对照组与糖尿病组体成分含量 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Body composition of the Chinese hamsters in control and diabetes groups ($\bar{x} \pm s$)

组别 Groups	脂肪含量 百分比 (%) Percentage of body fat mass (%)	肌肉含量 百分比 (%) Percentage of body lean mass (%)	骨矿物质含量 百分比 (%) Percentage of bone mineral content (%)	脂肪/组织 百分比 (%) Fat/tissue ratio (%)	骨密度 (g/cm ²) Bone mineral density (BMD, g/cm ²)	骨面积 (cm ²) Bone area (cm ²)	骨体积 (cm ³) Bone volume (cm ³)
对照组 Control	19.39 ± 0.82	78.13 ± 1.11	2.86 ± 0.25	19.93 ± 0.84	0.92 ± 0.01	10.05 ± 0.79	0.52 ± 0.04
糖尿病组 Diabetes	12.28 ± 1.49***	84.67 ± 1.23***	2.99 ± 0.39	12.67 ± 1.50***	0.86 ± 0.05	11.02 ± 0.99	0.61 ± 0.08

注:与对照组相比, *** $P < 0.001$ 。

Note. Compared with the control group, *** $P < 0.001$.

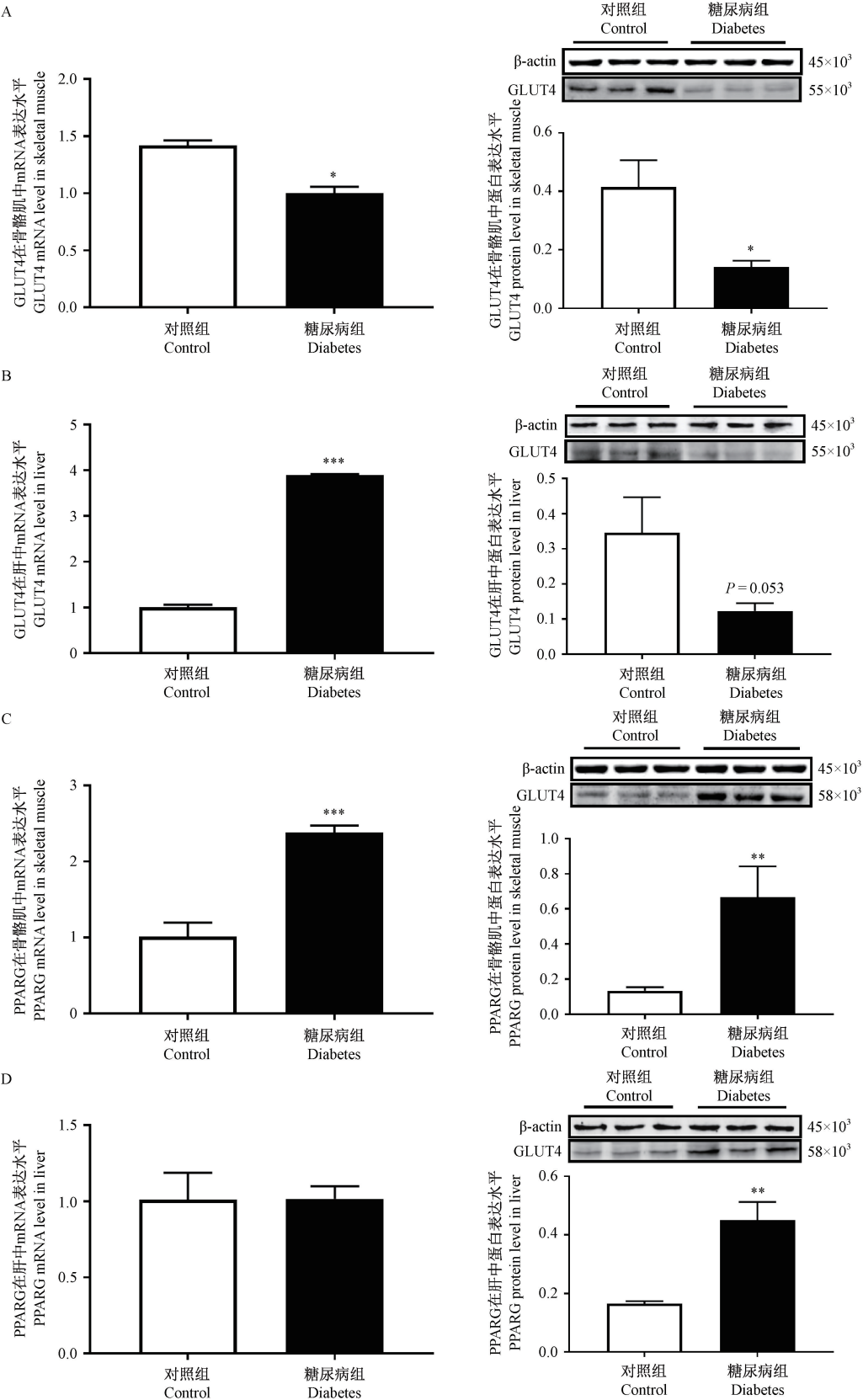
2.6 候选基因的表达

中国仓鼠糖尿病组 GLUT4 在不同组织中的表达不同,骨骼肌中 GLUT4 在 mRNA 和蛋白表达水平明显降低(图 3A);肝中, GLUT4 在 mRNA 水平表达增加,而在蛋白水平有下降的趋势,但无统计学意义($P=0.053$,图 3B)。此外,与对照组相比,糖尿病组 PPARG 在骨骼肌 mRNA 和蛋白水平(图 3C),以及肝蛋白水平(图 3D)的表达均明显增加。

3 讨论

T2DM 是一种复杂的代谢性疾病,常伴随着糖脂代谢、呼吸代谢及身体组分等一系列异常变化。

近交系中国仓鼠具有自发性糖尿病倾向,FBG 和 PBG 呈中度增高,糖耐量曲线下面积增大,糖耐量受损。糖耐量受损被认为是人类 T2DM 发生的先兆^[10],机体由葡萄糖耐受不良发展为糖尿病的过程,与胰岛素分泌不足或胰岛素对葡萄糖的敏感性有关^[11]。糖尿病仓鼠血清胰岛素含量和 HOMA-IR 值增大,存在胰岛素抵抗,在糖耐量过程中胰岛素分泌异常,葡萄糖摄入 30 min 后血清胰岛素含量仍在增加,而对照组胰岛素含量已经开始下降。这些结果表明糖尿病鼠产生胰岛素抵抗可能是由胰岛素敏感性下降引起,体内持续的高血糖状态导致胰岛 B 细胞过度刺激,最终影响机体糖代谢。



注:与对照组相比, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ 。

图 3 中国仓鼠对照组和糖尿病组中 GLUT4 和 PPARG 在骨骼肌和肝中的表达

Note. Compared with the control group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$.

Figure 3 Expression of GLUT4 and PPARG in the skeletal muscle and liver tissues of Chinese hamsters in control and diabetes groups

表 4 中国仓鼠对照组与糖尿病组的运动和呼吸代谢水平(白天 12 h/夜晚 12 h)($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Exercise and respiratory metabolism levels of the Chinese hamsters in control and diabetes groups (Day 12 h/Night 12 h) ($\bar{x} \pm s$)

组别 Groups		运动路程(m) Distance (m)	运动速度(cm/s) Velocity (cm/s)	摄食量(g/天) Food intake (g/day)	饮水量(mL/天) Water intake (mL/day)	呼吸交换率(RER) Respiratory exchange rate (RER)	热量消耗 (kcal/min) Heat consumption (kcal/min)
对照组 Control	白天 Day	286.67 ± 55.83	1.06 ± 0.21	0.525 ± 0.286	0.157 ± 0.089	0.987 ± 0.054	0.035 ± 0.002
	夜晚 Night	524.12 ± 44.81 ^{***}	1.36 ± 0.093	2.911 ± 0.736 [*]	1.726 ± 0.109 ^{***}	1.025 ± 0.074	0.048 ± 0.003 ^{**}
糖尿病组 Diabetes	白天 Day	361.07 ± 30.73 [*]	1.07 ± 0.096	1.963 ± 0.160 ^{**}	0.167 ± 0.117	0.942 ± 0.061	0.049 ± 0.002 ^{**}
	夜晚 Night	466.34 ± 45.83 [#]	1.32 ± 0.19	4.187 ± 0.468 [#]	2.624 ± 0.436	0.929 ± 0.098 ^a	0.057 ± 0.003 ^a

注:与对照组白天相比,^{*} $P < 0.05$,^{**} $P < 0.01$,^{***} $P < 0.001$ 。与模型组白天相比,[#] $P < 0.01$ 。与对照组夜晚相比,^a $P < 0.05$ 。
Note. Compared with the control group during the day, ^{*} $P < 0.05$, ^{**} $P < 0.01$, ^{***} $P < 0.001$. Compared with the diabetic group during the day, [#] $P < 0.01$. Compared with the control group during the night, ^a $P < 0.05$.

体重和能量代谢的生理调节是小型哺乳动物应对环境变化的主要策略,对增强适应能力,提高生存机会具有重要意义^[12-13]。中国仓鼠体重随饲养时间的延长而逐渐增加,12月龄时,同性别间糖尿病组与对照组的体重无显著差异,BMI值降低,体脂率下降,说明中国仓鼠属于非肥胖型糖尿病动物模型。现有的糖尿病动物模型中,GK大鼠^[14]为非肥胖型,而NSY小鼠^[15]、TH小鼠^[16]及长爪沙鼠^[17]均存在一定程度的肥胖,暗示不同动物在应对环境变化时,体重调节策略和脂质代谢机制存在一定的差异。动物机体自身具备各自的脂代谢系统,血浆中的脂类含量是临床了解患者脂类代谢是否正常的重要指标^[18]。中国仓鼠糖尿病组空腹血清TG和TC含量增加,脂质代谢发生异常。Roden等^[19]报道,健康个体静脉注射甘油三酯乳剂可降低肌肉糖原合成和葡萄糖摄取速率。因此,严重高甘油三酯血症可能先于高血糖的发生,从而促进中国仓鼠自发性糖尿病的发生。

机体常用的供能方式为糖代谢供能和脂肪氧化供能,RER值可以间接反应机体的供能物质,RER值越接近1,主要通过利用碳水化合物供能,越接近0.7,以脂肪氧化供能为主^[20]。对照组中国仓鼠夜晚RER>1,摄食量、饮水量、运动量和热量消耗明显高于白天,可能夜晚进食阶段机体利用碳水化合物合成脂肪或夜晚剧烈运动消耗能量。糖尿病组昼夜RER值降低,且夜晚RER值显著低于对照组,表明动物部分供能方式由碳水化合物供能转向脂肪氧化供能,结果可能会造成机体脂质过氧化物的增加。卢镜宇等^[21]研究发现,高脂饮食诱发T2DM大鼠可致RER降低,偏向于依靠脂肪氧化提供能量,与本研究结果一致。

啮齿动物有昼伏夜出的生物规律,本研究发现,中国仓鼠昼夜间活动量差异显著,且夜晚运动路程长。与对照组相比,糖尿病组白天活动量明显增加,夜晚活动量略有减少,说明仓鼠的高血糖状态会对生物的活动规律产生一定的影响。此外,糖尿病组摄食量增加,热量消耗增大,但体脂率较低。Shi等^[22]研究发现,黑线仓鼠在低温环境脂肪含量下降,但摄食量增加,说明动物能量摄取并不总是与肥胖的发展呈正相关。可能是糖尿病动物试图通过增加运动和热量消耗来平衡过多的能量摄入和过高的血糖对机体带来的不利影响,具体机制有待进一步研究。

为进一步探索中国地鼠T2DM表型的分子代谢特征,我们测定了肝和骨骼肌中PPARG和GLUT4的mRNA和蛋白表达情况。PPARG是脂肪细胞分化、脂质和碳水化合物代谢的关键调控因子,可增加靶组织对胰岛素的敏感性^[23]。糖尿病鼠中,PPARG在肝和骨骼肌中的表达显著增加。Anandharajan等^[24]研究发现,PPARG可增强胰岛素的敏感性,促进GLUT4的表达,增强对葡萄糖的摄取。糖尿病鼠中,GLUT4在骨骼肌中表达显著降低,但在肝中蛋白表达无明显差异。正常条件下,GLUT4储存于细胞内的特化小泡中^[25]。当餐后血糖升高时,胰岛素信号转导激活,GLUT4转移至质膜,完成葡萄糖转运,降低血糖浓度^[11,25]。这些结果表明机体为适应高血糖、胰岛素抵抗等环境,不同组织中存在自我调控,骨骼肌中可能由于GLUT4的表达降低导致机体产生胰岛素抵抗,肝中高水平的PPARG有助于提高胰岛素的敏感性,适度减缓胰岛素抵抗。

综上所述,山医群体近交系中国仓鼠FBG、PBG中轻度增高,糖脂代谢异常,存在胰岛素抵抗,体脂

率降低,属于非肥胖型自发性糖尿病模型。其糖代谢异常及胰岛素抵抗的产生可能与骨骼肌 GLUT4 表达降低有关,而肝中 PPARC 表达的增加,可以适度缓解机体的胰岛素抵抗,有助于维持正常生活,但具体的作用机制仍需进一步探索。

参 考 文 献(References)

- [1] Meier H, Yerganian G. Spontaneous diabetes mellitus in the Chinese hamster (*Cricetulus griseus*). II. Findings in the offspring of diabetic parents [J]. *Diabetes*, 1961, 10: 12-18.
- [2] 王济, 薄家璐. 山医群体中国地鼠自发的遗传性糖尿病模型 [J]. 中国病理生理杂志, 1988, 4(5): 262-266.
Wang J, Bo JL. Spontaneous hereditary diabetes mellitus in the Shanyi colony of Chinese hamster [J]. *Chin J Pathophys*, 1988, 4(5): 262-266.
- [3] Lu SY, Qi SD, Zhao Y, et al. Type 2 diabetes mellitus non-genetic Rhesus monkey model induced by high fat and high sucrose diet [J]. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*, 2015, 123(1): 19-26.
- [4] De Rosa S, Arcidiacono B, Chiefari E, et al. Type 2 diabetes mellitus and cardiovascular disease: genetic and epigenetic links [J]. *Front Endocrinol*, 2018, 9:2.
- [5] 施平, 何珂, 胡蕴, 等. 脂肪因子在胰岛素抵抗中的作用 [J]. 中国医药导报, 2014, 11(26): 167-169.
Shi P, He K, Hu Y, et al. Effect of adipocytokines in insulin resistance [J]. *Chin Med Herald*, 2014, 11(26): 167-169.
- [6] 陈永熙, 王伟铭, 周同, 等. PPAR- γ 作用及其相关信号转导途径 [J]. 细胞生物学杂志, 2006, 28(3): 382-386.
Chen YX, Wang WM, Zhou T, et al. Function of PPAR- γ and related signaling pathways [J]. *Chin J Cell Biol*, 2006, 28(3): 382-386.
- [7] Miura T, Suzuki W, Ishihara E, et al. Impairment of insulin-stimulated GLUT4 translocation in skeletal muscle and adipose tissue in the Tsumura Suzuki obese diabetic mouse: a new genetic animal model of type 2 diabetes [J]. *Eur J Endocrinol*, 2001, 145(6): 785-790.
- [8] Andrikopoulos S, Blair AR, Deluca N, et al. Evaluating the glucose tolerance test in mice [J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2008, 295(6): E1323-1332.
- [9] 马毅超, 潘永明, 陈亮, 等. 胰岛素抵抗动脉粥样硬化小型猪模型的研究 [J]. 中国比较医学杂志, 2014, 24(1): 12-17.
Ma YC, Pan YM, Chen L, et al. The research of the insulin resistance atherosclerosis model of mini-swine [J]. *Chin J Comp Med*, 2014, 24(1): 12-17.
- [10] Kahn SE, Hull RL, Utzschneider KM. Mechanisms linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes [J]. *Nature*, 2006, 444(7121): 840-846.
- [11] Kim JH, Stewart TP, Soltanl-Bejnood M, et al. Phenotypic characterization of polygenic type 2 diabetes in TALLYHO/JngJ mice [J]. *J Endocrinol*, 2006, 191(2): 437-446.
- [12] 高文荣, 曹能, 朱万龙, 等. 冷驯化对中缅树鼩褐色脂肪组织适应性产热的影响 [J]. 中国实验动物学报, 2015, 23(6): 567-572.
Gao WR, Cao N, Zhu WL, et al. Adaptive thermogenesis of the brown adipose tissue in tree shrews (*Tupaia belangeri*) during cold acclimation [J]. *Acta Lab Anim Sci Sin*, 2015, 23(6): 567-572.
- [13] 赵志军, 曹静, 陈可新. 黑线仓鼠体重和能量代谢的季节性变化 [J]. 兽类学报, 2014, 34(2): 149-157.
Zhao ZJ, Cao J, Chen KX. Seasonal changes in body mass and energy budget in striped hamsters [J]. *Acta Theriol Sin*, 2014, 34(2): 149-157.
- [14] Kimura K, Toyota T, Kakizaki M, et al. Impaired insulin secretion in the spontaneous diabetes rats [J]. *Tohoku J Exp Med*, 1982, 137(4): 453-459.
- [15] Ueda H, Ikegami H, Yamato E, et al. The NSY mouse: a new animal model of spontaneous NIDDM with moderate obesity [J]. *Diabetologia*, 1995, 38(5): 503-508.
- [16] Kim JH, Saxton AM. The TALLYHO mouse as a model of human type 2 diabetes [J]. *Methods Mol Biol*, 2012, 933: 75-87.
- [17] Boquist L. Obesity and pancreatic islet hyperplasia in the Mongolian gerbil [J]. *Diabetologia*, 1972, 8(4): 274-282.
- [18] 黄丽霞, 赵焱, 汪庆安, 等. 宁夏回族及汉族超重、肥胖人群甘油三酯及甘油三酯与高密度脂蛋白胆固醇的比值和胰岛素抵抗的关系 [J]. 中国糖尿病杂志, 2017, 25(7): 582-586.
Huang LX, Zhao Y, Wang QA, et al. Relationship between triglyceride or ratio of triglyceride to HDL-C and insulin resistance in Hui and Han population with overweight and obesity of Ningxia [J]. *Chin J Diabetes*, 2017, 25(7): 582-586.
- [19] Roden M, Price TB, Perseghin G, et al. Mechanism of free fatty acid-induced insulin resistance in humans [J]. *J Clin Invest*, 1996, 97(12): 2859-2865.
- [20] Nakagata T, Yamada Y, Naito H. Energy expenditure, recovery oxygen consumption, and substrate oxidation during and after body weight resistance exercise with slow movement compared to treadmill walking [J]. *Physiol Int*, 2018, 105(4): 371-385.
- [21] 卢镜宇, 李秀, 商可心, 等. II 型糖尿病大鼠模型的建立及其活体代谢的改变 [J]. 上海畜牧兽医通讯, 2018, 218(4): 6-9.
Lu JY, Li X, Shang KX, et al. Establishment and the change of metabolism in type II diabetes rats model [J]. *Shanghai Anim Husb Vet News*, 2018, 218(4): 6-9.
- [22] Shi LL, Fan WJ, Zhang JY, et al. The roles of metabolic thermogenesis in body fat regulation in striped hamsters fed high-fat diet at different temperatures [J]. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*, 2017, 212: 35-44.
- [23] Raj R, Bhatti JS, Bhadada SK, et al. Association of polymorphisms of peroxisome proliferator activated receptors in early and late onset of type 2 diabetes mellitus [J]. *Diabetes Metab Syndr*, 2017, 11 Suppl 1: S287-S293.
- [24] Anandharajan R, Pathmanathan K, Shankernarayanan NP, et al. Upregulation of Glut-4 and PPAR gamma by an isoflavone from *Pterocarpus marsupium* on L6 myotubes: a possible mechanism of action [J]. *J Ethnopharmacol*, 2005, 97(2): 253-260.
- [25] Zhou X, Shentu P. Spatiotemporal regulators for insulin-stimulated GLUT4 vesicle exocytosis [J]. *J Diabetes Res*, 2017, 2017: 1683678.