

孙立亚,刘北,奚悦. 通过链脲佐菌素诱导建立糖尿病骨质疏松大鼠模型的实验研究进展 [J]. 中国实验动物学报, 2022, 30(7): 1003-1012.

Sun LY, Liu B, Xi Y. Progress in experimental research on establishment of a diabetic osteoporosis rat model induced by streptozotocin [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2022, 30(7): 1003-1012.

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2022.07.017

通过链脲佐菌素诱导建立糖尿病骨质疏松大鼠模型的实验研究进展

孙立亚¹, 刘北¹, 奚悦^{2*}

(1. 辽宁中医药大学, 沈阳 110847; 2. 锦州医科大学附属第三医院, 辽宁 锦州 121001)

【摘要】 糖尿病骨质疏松症(diabetic osteoporosis, DOP)是由糖尿病(diabetes mellitus, DM)诱发的慢性骨代谢疾病,其特征为骨量减少、骨脆性增加、强度降低以及易于发生骨折等。为更好地探索糖尿病骨质疏松发病机制,并为其治疗研究提供依据,建立出能够模拟人类糖尿病骨质疏松病理学的动物模型具有重要价值。通过链脲佐菌素(streptozotocin, STZ)诱导建立糖尿病骨质疏松动物模型的方式具有操作简单、用时短、成模率高、稳定性相对较高等优势,本文从动物选择、饲料喂养、链脲佐菌素的应用、造模方法、成模标准及检测指标等方面进行综述,希望能够为更加深入研究糖尿病骨质疏松致病机制提供基础和依据。

【关键词】 链脲佐菌素;糖尿病骨质疏松症;大鼠模型;研究进展

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847 (2022) 07-1003-10

Progress in experimental research on establishment of a diabetic osteoporosis rat model induced by streptozotocin

SUN Liya¹, LIU Bei¹, XI Yue^{2*}

(1. Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110847, China. 2. the Third Affiliated Hospital of Jinzhou Medical University, Jinzhou 121001)

Corresponding author: XI Yue. E-mail:xiyue-ln@163.com

【Abstract】 Diabetic osteoporosis (DOP) is a chronic bone metabolic disease induced by diabetes mellitus, which is characterized by a decreased bone mass, increased bone fragility, decreased strength, and fracture tendency. To better explore the pathogenesis of DOP and develop treatments, it is important to establish an animal model that mimics the pathology of human DOP. The method of establishing a DOP animal model induced by streptozotocin has the advantages of simple operation, short time, high molding rate and relatively high stability. This article reviews animal selection, feeding, streptozotocin application, modeling method, modeling criteria, and testing indexes to provide a basis for more in-depth research of DOP pathogenesis.

【Keywords】 streptozotocin; diabetic osteoporosis; rat model; research advances

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

糖尿病(diabetes mellitus, DM)是一种以高血糖为特征的常见病,在世界范围内发病率较高。预计

到2030年,世界人口约为85亿,而全球糖尿病患病率将达到9%^[1],这意味着大约有7.65亿人患有糖

[作者简介] 孙立亚(1996—),女,在读硕士研究生,研究方向:糖尿病骨代谢疾病的中西医结合临床与基础研究。

Email:952762386@qq.com

[通信作者] 奚悦(1973—),女,博士,教授,主任医师,研究方向:糖尿病及其并发症的中西医结合治疗。Email:xiyue-ln@163.com

尿病。与非糖尿病人群相比,这些人的死亡率有所增加,例如,冠心病死亡率增加了 28%^[2]。糖尿病骨质疏松症(diabetic osteoporosis, DOP)是其严重并发症之一,临床多表现为疼痛、相应部位功能活动障碍、畸形、甚至骨折等,患者生命质量大大降低^[3]。Oei 等^[4]发现 DM 患者的骨折发生率比非 DM 患者高 47% ~ 62%。因此建立稳定、简便、高效的 DOP 动物模型是寻找治疗 DOP 新药的重要保证。目前 DOP 建模的方法有三种,分别是诱导型、自发型和转基因/基因敲除型^[5],其中链脲佐菌素(streptozotocin, STZ)诱导型因其相对便宜、高效、简便而被经常运用,然而,STZ 致糖尿病也是多因素的,取决于各种实际方面,如动物种类、性别、年龄、STZ 的稳定性、给药途径和剂量等^[6]。下面就 STZ 诱导建立 DOP 大鼠模型的方法及相关研究进展进行综述,旨在为科研及临床相关研究提供进一步的指导。

1 动物选择及饲料喂养

斑马鱼^[7]、羊^[8]、兔^[9]、猪^[10]、大鼠^[11]、小鼠^[12]等是常用于制作骨质疏松模型的动物,由于大鼠与人类骨骼的病理生理相似且比较经济、重复检验度高,所以多采用大鼠制作 DOP 动物模型^[13],SD 和 Wistar 大鼠应用最广。STZ 易受雌激素干扰^[14],雄性的胰岛 β 细胞比雌性更容易受到 STZ 诱导的细胞毒性,对胰岛细胞毒素更加敏感,且选用雄性大鼠制备模型的成模率明显高于雌性大鼠,此外雄性大鼠可排除雌激素这一因素对疾病的干扰,因此雄性动物更受欢迎^[15]。在制备 DOP 模型时,为提高成模率,部分选择雌性大鼠的研究者为排除雌激素干扰,还会对大鼠去卵巢^[16-19]。大鼠寿命一般为 2~3 年,在 3 月龄达到性成熟,6 月龄达到骨成熟,17 月龄以后进入老年时期。因 1 型糖尿病骨质疏松症(type 1 diabetic osteoporosis, T1DOP)多发生于青少年,故多选择小于 3 月龄大鼠制作模型,2 型糖尿病骨质疏松(type 2 diabetic osteoporosis, T2DOP)模型大鼠多选用 3 月龄及以后的。

高糖和高脂是糖尿病发病因素,高糖高脂饲料可模拟人肥胖、胰岛素抵抗和/或糖耐量不足等状态,实验员在通过 STZ 诱导建立 T2DOP 模型时,先将大鼠或小鼠适应性喂养 1 周,再予高糖高脂或者高脂饲料喂养以诱导胰岛素抵抗,为注射 STZ 作前期准备。高糖高脂饲料未有统一的配制方法及材料组成。目前主要有两类,一种是在普通饲料的基

础上添加一定比例的动物油、糖、胆固醇、胆酸盐等,成分比例多为 10% ~ 20% 猪油、10% ~ 20% 蔗糖、1.5% ~ 5% 胆固醇、0.4% ~ 1% 胆酸盐、60% ~ 80% 普通饲料、5% ~ 10% 其他^[20-21]。另一种为纯化饲料,其细分了各组分营养物质的配比,配方明确规范,但价格昂贵。除了种类,各高脂饲料的脂肪比也不同,通常认为脂肪供能比 30% ~ 50% 为高脂饮食,而大于 50% 被认为是极高脂肪饮食^[22]。王继等^[23]发现高脂饲养的时间对建立糖尿病大鼠模型的特征有较大影响,喂养时间的长短和胰岛素抵抗程度、血脂异常程度正相关,和 STZ 用量负相关,但需根据饲料脂肪比、动物生命周期、慢性并发症的发展及后续实验具体情况来确定具体时间,建议 4 ~ 12 周为宜^[24]。

2 STZ 的应用

STZ 是一种广谱抗生素,本质是一种氨基葡萄糖一亚硝基脲,能通过 GLUT2 葡萄糖转运蛋白进入细胞内。在用于诱发糖尿病的几种可用化学物质中,STZ 最适合在动物中模拟人类糖尿病。在 STZ 诱导的糖尿病中观察到的结构、功能和生化变化类似于人类糖尿病中通常出现的变化。因此,STZ 诱导的糖尿病代表了一种临床相关模型,用于研究实验动物中糖尿病的发病机制和相关并发症^[25]。其引发糖尿病的机制与一氧化氮与亚硝化应激、乌头酸酶抑制、活性氧与氧化应激、DNA 烷基化、O-GlcNA 酶抑制、高血糖状态和葡萄糖代谢途径、炎症和细胞存活途径、NAD⁺/ATP 耗竭和过度刺激的 DNA 修复机制等有关^[26]。其致糖尿病特性表现为选择性破坏 β 细胞、胰岛素缺乏、高血糖、多饮和多尿,与人类糖尿病相似^[27]。

目前相关实验研究所用的 STZ 品牌多为 Sigma,纯度 $\geq 98\%$,对于其他品牌、纯度以及不同品牌、纯度 STZ 对成模效果的具体影响需要我们进一步研究。既往报道称^[28],STZ 应储存在 -20°C 以防止降解,称重后,装有 STZ 样品的微量离心管必须用铝箔覆盖以避光。由于 STZ 在溶液中不稳定,即使在酸性 pH 值下,也只能在即将注射前将其混入柠檬酸盐缓冲液中。STZ 溶液应在溶解后 5 min 内新鲜制备并注入,因为 15 ~ 20 min 内它在柠檬酸盐缓冲液中分解。

STZ 的给药途径可决定糖尿病诱导程度,酶对 STZ 的降解和肠道的强酸性环境限制了其通过口服途径给药,可以通过尾静脉、腹腔、皮下将 STZ 注射到大鼠体内。Takeda 等^[29]选用尾静脉注射 STZ 来

造模,黎娅等^[30]、Tay 等^[31]研究发现尾静脉注射 STZ 比腹腔注射有更好的稳定性,且更直观,可以避免腹腔注射时药物进入皮下、肠道,降低大鼠死亡率增加的风险。此外,黄波等^[32]发现尾静脉注射成模率远大于腹腔注射,推测可能与药物的吸收利用更直接有关。然而,张汝学等^[33]、沈亚非等^[34]研究证实两种方式的成模率相差不大。由于尾静脉注射药物利用率高,对剂量的准确性要求较高,且尾静脉较细,不易操作,易造成药物损耗,不易控制速度,皮下注射需要药物剂量较大,故多选用腹腔注射给药。

因禁食可增加胰岛细胞对 STZ 的敏感性,与不禁食组相比糖尿病成模率更高^[35],所以,研究人员在注射 STZ 之前将大鼠禁食,但具体的禁食时间 4~24 h 不等^[36-38]。叶桐江等^[39]通过实验观察不同禁食时间(12、16、20、24 h)对建立 1 型糖尿病大鼠模型的影响,结果显示禁食 20 h 大鼠成模率最高,死亡率较低,为最佳禁食时间。Furman 等^[28]认为,在注射 STZ 之前大鼠应禁食 6~8 h。STZ 给药可能导致大量 β 细胞的快速破坏和肝糖原存储的消耗,进而导致释放到血液中的胰岛素增加和短暂的低血糖,如果不予干预,可能会使动物致命,此时可通过在 STZ 施用后 48 h 内向动物施用 10% 蔗糖溶液来避免这种情况^[40]。

STZ 的剂量和给药次数是其致糖尿病作用程度的决定因素。在注射时,通常分为大剂量单次、小剂量多次、小剂量单次。其中大剂量单次,如一次性腹腔注射 STZ 60 mg/kg,则直接损伤胰岛 β 细胞,更倾向于 T1DOP 的表型特点^[41],主要用于 T1DM 的药物实验,小剂量多次主要用于胰岛坏死及增殖机制的研究^[42],和前者相比,能更好的模拟 T1DM 的发病过程,使死亡率降低,但工作量和总误差大,造模周期较长^[43]。小剂量单次注射 STZ 如 35 mg/kg,常应用在给大鼠喂养高糖高脂饮食之后,辅助部分破坏胰岛 β 细胞,使机体失去足够的代偿能力,更接近于 T2DOP 模型^[44]。然而,剂量也因种间差异而变化。在较低剂量时,可能不会诱发理想的糖尿病,高剂量时,可能会引起动物死亡。因此,STZ 的剂量应根据个体动物的体重进行优化,以获得令人满意的糖尿病模型,并且没有显著的死亡率。

综上,通过 STZ 诱导建立 DOP 模型在实验开始前一定要做好充分的准备工作,注意 STZ 的作用功效、储存方法、给药方式、给药剂量、禁食时间等,建立出适合自己实验的模型。

3 造模方法、成模标准及检测指标

3.1 1 型糖尿病骨质疏松模型

何佳等^[45]选用体重(230 ± 10)g 的 8 周龄雌性 SD 大鼠,适应性饲养 1 周后,模型组采用单次左下空腹腹腔注射 STZ 60 mg/kg 建立 T1DOP 动物模型。造模 72 h 后,大鼠尾静脉取血,当随机血糖 ≥ 16.7 mmol/L,并出现多饮多食多尿症状时,符合糖尿病诊断标准,判定为糖尿病大鼠。造模成功 8 周后处死大鼠,收集血清检测碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)活力,对胰腺和股骨组织进行病理学观察,并对股骨组织进行形态计量学测定。结果与正常组大鼠相比,模型组血糖、进食量与饮水量明显升高,而体重显著降低,胰岛细胞形状不规则、边界模糊、体积缩小,股骨骨小梁稀疏,出现不同程度的断层,骨小梁厚度及面积百分率显著降低、间距显著增加,血清中 ALP 活力极显著上升。该模型符合 T1DOP 成模动物诊断标准。证明腹腔一次性快速注射 STZ 60 mg/kg 8 周后可成功构建 T1DOP 动物模型。

张丽媛等^[46]选取体重(201 ± 20)g 的 3 月龄雄性 SD 大鼠,常规饲料喂养 1 周,第 1 周末禁食 12 h 后,进行腹腔注射 STZ 60 mg/kg,注射部位选择在下腹部后 1/3 处避开中部膀胱。造模 72 h 后,以随机血糖 ≥ 17.6 mmol/L 作为成模标准。分别于造模成功后 1、4、8、12、16 周各随机选取 6 只糖尿病模型大鼠和周龄相匹配的 6 只对照组大鼠麻醉处死,检测指标。从血糖、体重、骨密度(bone mineral density, BMD)、骨组织形态计量学(骨小梁面积、骨小梁厚度、骨小梁数量及骨小梁分离度)证实该方法可以成功制备 T1DOP 大鼠模型。在第 4~8 周模型骨质疏松相关指标变化最快,此方法成模率高,模型稳定。

An 等^[47]选用 8 周龄雄性 SD 大鼠,禁食不禁水后对大鼠腹腔注射 STZ 60 mg/kg 体重。糖尿病的诊断是基于空腹血糖 > 11.1 mmol/L。在注射 STZ 后 3 周,收集血液、尿液、股骨和胫骨。测定葡萄糖、胰岛素、Ca、P、抗酒石酸酸性磷酸酶 5b(tartrate-resistant acid phosphatase-5b, TRACP-5b)、组织蛋白酶 K 和骨钙素(osteocalcin, OC)的浓度以及脱氧吡啶啉的水平。对股骨进行生化分析和组织学分析。结果显示,与正常组比较,糖尿病大鼠体重、股骨和胫骨的重量降低,血清 Ca 和 P 水平存在显著差异,OC 水平显著降低;相反,TRACP-5b、组织蛋白酶 K 和尿脱氧吡啶啉的活性水平显著增加。糖尿病大

鼠的 BMD 和骨矿物质含量 (BMC) 显著降低。胫骨近端的干细胞具有更多的 TRAP 阳性细胞。骨小梁厚度和破骨细胞数量显著减少。该实验证实了注射 STZ 后 3 周 DOP 模型即可成立。

综上, T1DOP 动物模型在制备过程中通常不需要进食高糖高脂饲料, 适应性喂养一周后直接选用腹腔单次注射大剂量 STZ 60 mg/kg 使其胰岛细胞破坏的方法复制模型, 此方法目前证实最快 3 周即可造模成功, 可根据血糖升高, 进食量、饮水量、尿量增多, 体重减轻, 骨重降低, 血清 Ca、P、OC 水平降低, TRACP-5b、组织蛋白酶 K 和尿脱氧吡啶啉增加, ALP 活力极上升, TRAP 阳性细胞增多, 胰腺、股骨组织病理结构损伤, BMD、BMC 降低, 骨组织形态计量学参数如骨小梁面积、数量减少, 厚度降低, 分离度增加等指标变化来评价模型效果。未来需进一步研究出建立 T1DOP 模型的最佳造模方法, 确定最适 STZ 剂量及成模金标准, 建立出一套用来评价模型稳定性、安全性、高效性的评价体系。

3.2 2 型糖尿病骨质疏松模型

研究发现, 高糖、高脂饮食可以在不改变胰岛素受体亲和力的情况下导致胰岛素受体总体减少^[48], 诱导出糖尿病患者前期的肥胖、胰岛素抵抗和/或葡萄糖耐受不良状态, 低剂量 STZ 可以特异性地损伤少量胰岛细胞^[28,49]。高糖高脂肪饮食联合低剂量 STZ 诱导的糖尿病大鼠模型是 2 型糖尿病的常见模型, 也是区别 1 型或 2 型糖尿病的关键点, 具有经济、高效、稳定等特点。近年来, 许多学者利用该模型研究了 T2DOP, 发现糖尿病大鼠出现了骨代谢异常和严重的骨质流失。

张燕等^[50]选用体重 (200 ± 24) g 的雄性 SD 大鼠, 模型组高糖高脂饲料 (10% 猪油、20% 蔗糖、2% 胆固醇、1% 胆酸钠、67% 普通饲料) 喂养 5 周后禁食 12 h, 一次性左下腹腔注射 STZ 35 mg/kg, 72 h 后测随机血糖 ≥ 16.7 mmol/L 为造模成功。造模 4 周后检测糖脂代谢和骨代谢相关指标, 结果显示与正常对照组比较, 糖尿病组大鼠体质量下降、空腹血糖明显升高, 并呈持续状态; 血胆固醇、三酰甘油、ALP、空腹胰岛素、胰岛素抵抗指数明显升高, 胰岛素敏感指数下降; 血清 P、Ca、OC、I 型胶原交联 C 末端肽与正常组比较无显著性差异; 骨小梁稀疏、变细, 数量减少, 间隙增大, 连续性破坏, 常见游离断增多; 骨密度明显下降。说明高糖高脂喂养 5 周基础上联合小剂量 STZ 35 mg/kg 在造模后 4 周可以诱导 T2DOP 大鼠模型。该模型具有高糖、高脂、胰岛素抵抗及骨密度下降, 骨形态学检查呈骨吸收

增加改变的特点。

唐辉等^[51]选择体重 (238 ± 12) g 的 7 周龄雄性 SD 大鼠, 模型组采用高脂高糖饲料 (配方不明) 喂养 4 周, 按 35 mg/kg 一次性腹腔注射 STZ 诱导 T2DOP 模型。于 STZ 注射后 3、7、10、14 d、21 d 测量模型组大鼠空腹血糖, 连续 3 次测得空腹血糖均 ≥ 16.7 mmol/L, 则为糖尿病造模成功。8 周后取材发现与对照组大鼠比较, 模型组大鼠在注射 STZ 后, 体重呈现出先下降、后稍回升的趋势; 大鼠表现出多饮、多尿、多食等糖尿病症状; 空腹血糖明显升高, 并呈持续状态; 胰岛细胞明显稀疏; 股骨组织学切片可见骨小梁稀疏; 胫骨 Micro-CT 扫描及三维重建显示大鼠骨体积分数及骨小梁数量显著降低, 骨小梁分离度显著升高, 出现明显骨质疏松影像。说明, 7 周龄雄性 SD 大鼠在高糖高脂饲料喂养 4 周基础上, 联合采用小剂量 STZ (35 mg/kg), 可以成功建立 T2DOP 大鼠模型。造模后 8 周从形态学、组织学、影像学等几方面可以确定 DOP 模型的建立。

Guo 等^[52]在研究葛根素是否通过 HDAC1/HDAC3 信号通路抑制炎症和细胞凋亡减轻 STZ 诱导的大鼠骨质疏松症时, 选用体重 180 ~ 190 g, 7 ~ 8 周龄雄性 SD 大鼠。驯化 1 周后, 给予糖尿病组和葛根素治疗组大鼠喂饲高脂饮食 (脂肪比 45%) 诱导胰岛素抵抗, 共 4 周。4 周后, 连续 2 d 腹腔注射 STZ 35 mg/kg 体重, 建立 2 型糖尿病模型。注射 STZ 后, 大鼠接受溶剂对照组或葛根素治疗 14 周。每周测量体重。检测糖代谢及骨生成和骨吸收指标。使用微型计算机断层扫描 (μCT) 评估左股骨或右股骨远端骨小梁结构, 进行 BMD 的测量。结果显示 STZ 处理的大鼠血糖、胰岛素水平增加, 体重、BALP 和 OPG 下降, TRACP-5b 和 β-CTX 水平升高, BMD 下降, 降低了骨体积/组织体积和骨小梁数量, 上调了小梁分离度和结构模型指数, 表明此法造模模型复制成功。

Yang 等^[53]研究土贝母苷甲对 2 型糖尿病诱导的骨丢失的影响时, 选用体重 (100 ± 20) g 的 4 周龄雄性无特异性病原体 SD 大鼠, 模型大鼠接受高糖高脂饮食 (配方不明) 5 周。禁食 12 h 后, 大鼠腹腔注射 35 mg/kg 的 STZ。一周后, 当空腹血糖水平 ≥ 11.1 mmol/L 时, 确认为糖尿病大鼠。接下来给药 6 周, 治疗 6 周后, 收集其胫骨进行显微 CT 分析、苏木精-伊红染色等, 结果显示与正常组比较模型组大鼠骨体积/组织体积和骨小梁数量、骨小梁厚度降低, 骨小梁分离度上升。

Ying 等^[54]研究杨梅素对 STZ 诱导的 DOP 大鼠

的骨保护作用,选用体重 180 ~ 190 g 的雌性 Wistar 大鼠,适应性喂养 1 周,模型组大鼠喂高糖高脂饲料(脂肪比 45%)4 周,大鼠腹腔注射 STZ 35 mg/kg 体重,连续 2 d,建立 2 型糖尿病模型。72 h 后测定随机血糖,高于 16.7 mmol/L 为糖尿病模型。造模成功后,给予安慰剂对照或杨梅素治疗 12 周。每周检测静脉血糖,确保血糖水平在 16.7 mmol/L 以上。给药 12 周后,评估血清生化指标、股骨微结构和组织学变化。结果显示糖尿病组大鼠体重下降,血糖升高,BMD 下降,血清 ALP 和 OC 明显降低,骨小梁体积分数、数目和厚度均低于对照组,结构模型指数和骨小梁间距均高于对照组。苏木精-伊红染色显示股骨小梁断裂,数量减少。Wang 等^[55]在研究水飞蓟宾对 STZ 所致大鼠 DOP 的保护作用时采取了同样的造模办法,包括大鼠的品种、体重,高糖高脂饲料脂肪比、STZ 注射前喂养时间、STZ 的剂量、注射次数、成模标准、成模时间等均一样。

Lu 等^[56]选用体重 180 ~ 230 g 的雄性 SD 大鼠,适应性喂养 1 周,模型组高脂饲料(37% kcal 脂肪、46% kcal 碳水化合物、17% kcal 蛋白质和 4.40 kcal/g 食物)喂养 4 周后腹腔注射 35 mg/kg 体重 STZ 诱导 T2DM。STZ 注射 72 h 后,禁食 8 h,收集尾静脉血以测空腹血糖和空腹胰岛素。口服灌胃 50%葡萄糖水溶液后,进行口服葡萄糖耐量试验(OGTT)。空腹血糖超过 11.1 mmol/L 为糖尿病模型造模成功。8 周后,将大鼠的股骨、胫骨和血液收集供进一步分析。结果显示,与正常组比较,糖尿病大鼠出现糖耐量异常、胰岛素抵抗,体重、BMD、BMC、OC 和骨 ALP 显著降低,空腹血糖、TRACP-5b、肿瘤坏死因子- α 、白细胞介素-6 以及脂肪细胞和破骨细胞的数量上升/增多,骨体积/组织体积、骨小梁数量下降,小梁分离度和结构模型指数显著增加。证明此法造模糖尿病大鼠出现骨代谢异常和严重的骨质流失。

柳辰玥^[20]选用体重(180 $\pm$ 20)g 的 Wistar 大鼠适应性喂养 7 d 后,模型组予高糖高脂饲料(20%蔗糖,2.5%胆固醇,10%猪油,1%胆酸钠,66.5%基础饲料)饲养。10 周后,大鼠禁食不禁水 12 h,模型组按 20 mg/kg 体重腹腔注射 1% STZ 柠檬酸缓冲液。注射 STZ 7 d 后,尾静脉取血测空腹血糖,选血糖值 $\geq$ 12 mmol/L 且血清骨转换指标(IGF-1、TRAP)与正常对照组大鼠相比有显著统计学差异的大鼠作为 DOP 模型大鼠。12 周后,与对照组比较,模型组大鼠空腹血糖、AUC 升高,血清 OC、IGF-1、OPG/

RANKL 含量显著降低,ALP、TRAP 含量显著升高。Micro-CT 示大鼠皮质骨面积比、皮质骨厚度、骨小梁面积比显著降低。股骨生物力学显示股骨的最大载荷、弹性模量和弯曲强度均显著降低。苏木精-伊红染色示模型组大鼠股骨头部位骨小梁结构紊乱、变细、断裂、松散。说明模型构建成功。

许建国等^[21]、Zhang 等^[57]在基于 Wnt 及 NF- κ B 信号通路研究补肾健脾活血汤对 DOP 大鼠作用机制时选择体重 210 ~ 260 g 的 3 月龄 SPF 级雄性 Wistar 大鼠,适应性喂养 1 周后,随机抽取 10 只作为正常对照组,给予常规饲料饲养。余 45 只大鼠给予高糖高脂饲料(常规饲料中加入 20%蔗糖、15%熟猪油、2.5%胆固醇、1.0%胆酸盐)喂养 8 周,禁食不禁水 12 h 后,左下腹腔给予 STZ 30 mg/kg 注射。腹腔注射 STZ 1 周后取尾血,以血糖值 $\geq$ 7.8 mmol/L 且伴有胰岛素抵抗为 2 型糖尿病造模标准。糖尿病大鼠成模后与正常对照组大鼠继续普通饮食喂养 20 周,采用双能 X 线骨密度仪对正常对照组及余符合 2 型糖尿病诊断标准的大鼠股骨 BMD 进行测定。取骨密度小于正常对照组大鼠平均 BMD2.5 个标准差的作为 T2DOP 模型大鼠。成模 12 周后采用血生化分析仪及双能 X 线骨密度测量仪检测指标。结果显示模型组大鼠空腹血糖、胰岛素、P、ALP 水平升高、Ca 无差异,胰岛素抵抗增强,股骨近端 BMD 下降。

综上,研究人员在选择高糖高脂饮食联合 STZ 建立 T2DOP 模型时,高糖高脂饲料配方中脂肪比(40% ~ 60%)、组成中是否含有蔗糖、注射 STZ 之前高糖高脂饲料的持续时间(4 ~ 10 周)、STZ 的剂量、给药次数,糖尿病、糖尿病骨质疏松成模标准检测指标等存在差异,STZ 剂量多选用 35 mg/kg,小剂量单次或者 2 次,糖尿病成模标准主要看血糖、胰岛素水平,多饮多食多尿症状,通常多为注射 STZ 后 3 d 或 7 d 空腹血糖 $\geq$ 11.1 mmol/L 或随机血糖 $\geq$ 16.7 mmol/L,成模后评价糖尿病骨质疏松模型的指标和方式有体重、血糖、胰岛素、OGTT 水平,骨生成(ALP、BALP、OC、OPG)和骨吸收(TRACP、 β -CTX)耦联中的分子变化、骨密度、骨组织生物力学相关指标(最大载荷、弹性模量和弯曲强度)、股骨、胰腺组织病理形态、骨组织形态计量学参数(骨体积/组织体积、骨小梁数量、厚度、分离度、结构模指数)等。发现与 1 型糖尿病骨质疏松模型相比在造模过程中最大的区别为 STZ 的给药剂量以及注射 STZ 之前是否喂食高糖高脂饲料。具体见表 1。

表 1 通过链脲佐菌素诱导建立糖尿病骨质疏松大鼠模型的实验研究

Table 1 Experimental study on establishment of diabetic osteoporosis rat model induced by streptozotocin

类型 Type	动物 Animal	高脂高糖饮食 High-fat/ high-sugar diet	链脲佐菌素 STZ	DM 成模标准 Molding standard of DM	DOP 成模时间和指标选取 Modeling time and index selection of DOP
1 型 ^[45] Type 1 ^[45]	雌性 SD 大鼠, 8 周龄, (230 ± 10) g Female SD rats, 8 weeks old, (230 ± 10) g	0 周 0 week	单次腹腔注射 60 mg/kg A single intraperitoneal injection of 60 mg/kg	链脲佐菌素 链脲佐菌素注射 72 h 后随机血糖 ≥ 16.7 mmol/L + 多饮、多食、多尿症状 72 h after STZ injection, random blood glucose ≥ 16.7 mmol/L + symptoms of polydipsia, polyphagia, and polyuria	8 周 血糖、饮水量、进食量、体重、碱性磷酸酶活力、胰腺、股骨组织病理学 8 weeks Blood glucose, water intake, food intake, body weight, ALP activity, histopathology of pancreas and femur
1 型 ^[46] Type 1 ^[46]	雄性 SD 大鼠, 3 月龄, (201 ± 20) g Male SD rats, 3 months old, (201 ± 20) g	0 周 0 week	单次腹腔注射 60 mg/kg A single intraperitoneal injection of 60 mg/kg	链脲佐菌素注射 72 h 后随机血糖 ≥ 17.6 mmol/L 72 h after STZ injection, blood glucose ≥ 17.6 mmol/L	4 ~ 8 周 血糖、体重、骨密度、骨组织形态计量学(骨小梁面积、厚度、数目及分离度) 4 ~ 8 weeks Blood glucose, body weight, BMD, bone histomorphometry (trabecular bone area, thickness, number and separation)
1 型 ^[47] Type 1 ^[47]	雄性 SD 大鼠, 8 周龄 Male SD rats, 8 weeks old	0 周 0 week	单次腹腔注射 60 mg/kg A single intraperitoneal injection of 60 mg/kg	空腹血糖 > 11.1 mmol/L Fasting blood glucose > 11.1 mmol/L	3 周 葡萄糖、胰岛素、钙、磷 抗酒石酸性磷酸酶 5b、组织蛋白酶 K、骨钙素、脱氧吡啶啉、体重、骨重、骨密度、骨矿物质含量、骨组织学分析 3 weeks Glucose, insulin, Ca, P, TRACP-5b, cathepsin K, OC, deoxypyridinoline, body weight, bone weight, BMD, BMC, bone histological analysis
2 型 ^[50] Type 2 ^[50]	雄性 SD 大鼠, (200 ± 24) g Male SD rats, (200 ± 24) g	5 周, — 5 weeks, —	单次腹腔注射 35 mg/kg A single intraperitoneal injection of 35 mg/kg	链脲佐菌素注射 72 h 后随机血糖 ≥ 16.7 mmol/L 72 h after STZ injection, random blood glucose ≥ 16.7 mmol/L	4 周 体重、胆固醇、三酰甘油、空腹血糖、空腹胰岛素、血钙、血磷、碱性磷酸酶、骨钙素、I 型胶原交联 C 末端肽、骨密度、股骨病理学 4 weeks Body weight, cholesterol, triacylglycerol, fasting blood glucose, fasting insulin, blood Ca, P, ALP, OC, type I collagen cross-linked C-terminal peptide, BMD, femoral pathology
2 型 ^[51] Type 2 ^[51]	雄性 SD 大鼠, 7 周龄, (238 ± 12) g Male SD rats, 7 weeks old, (238 ± 12) g	4 周, — 4 weeks, —	单次腹腔注射 35 mg/kg A single intraperitoneal injection of 35 mg/kg	链脲佐菌素注射后 3 d, 7 d, 10 d, 14 d, 21 d 连续 3 次空腹血糖 ≥ 16.7 mmol/L 3 d, 7 d, 10 d, 14 d, 21 d after STZ injection, fasting blood glucose ≥ 16.7 mmol/L for 3 consecutive times	4 ~ 8 周 饮水量、进食量、尿量、体重、空腹血糖、胰腺、股骨组织病理学、股骨影像学 4 ~ 8 weeks Water intake, food intake, urine output, body weight, fasting blood glucose, histopathology of pancreas and femur, femoral imaging
2 型 ^[52] Type 2 ^[52]	雄性 SD 大鼠, 7 ~ 8 周龄, 180 ~ 190 g Male SD rats, 7 ~ 8 weeks old, 180 ~ 190 g	4 周, 45% 脂肪比 4 weeks, fat ratio 45%	连续 2 d 腹腔注射 35 mg/kg Intraperitoneal injection of 35 mg/kg for two consecutive days	—	14 周 血糖、胰岛素、体重、骨特异性碱性磷酸酶、骨保护素、抗酒石酸性磷酸酶 5b、I 型胶原羧基端肽 β 特殊序列、骨密度、骨体积/组织体积、骨小梁数量、分离度和结构模型指数 14 weeks Blood glucose, insulin, body weight, BALP, OPG, TRACP-5b, β-CTX, BMD, bone volume/tissue volume, trabecular number, trabecular separation and trabecular structural model index

续表 1

类型 Type	动物 Animal	高脂高糖饮食 High-fat/ high-sugar diet	链脲佐菌素 STZ	DM 成模标准 Molding standard of DM	DOP 成模时间和指标选取 Modeling time and index selection of DOP
2 型 ^[53] Type 2 ^[53]	雄性 SD 大鼠, 4 周龄, (100 ± 20) g Male SD rats, 4 weeks old, (100 ± 20) g	5 周, — 5 weeks, —	单次腹腔注射 35 mg/kg A single intraperitoneal injection of 35 mg/kg	链脲佐菌素注射 1 周后, 空腹血糖 ≥ 11.1 mmol/L One week after STZ injection, fasting blood glucose ≥ 11.1 mmol/L	6 周 胫骨病理学、影像学分析骨体积/组织 体积、骨小梁数量、厚度、分离度和结 构模型指数 6 weeks Tibial pathology, imaging analysis of bone volume/tissue volume, trabecular number, trabecular thickness, trabecular separation, trabecular structural model index
2 型 ^[54-55] Type 2 ^[54-55]	雌性 Wistar 大 鼠, 180~190 g Female Wistar rats, 180~190 g	4 周, 45% 脂 肪比 4 weeks, fat ratio 45%	连续 2 d 腹腔 注射 35 mg/kg Intraperitoneal injection of 35 mg/kg for two consecutive days	链脲佐菌素注射 72 h 随机血糖 ≥ 16.7 mmol/L 72 h after STZ injection, random blood glucose ≥ 16.7 mmol/L	12 周 体重、血糖、BMD、血清 ALP 和骨钙素、 股骨影像学病理学分析骨小梁 12 weeks Body weight, blood glucose, BMD, serum ALP and osteocalcin, femoral imaging pathological analysis of trabecular bone
2 型 ^[56] Type 2 ^[56]	雄性 SD 大鼠, 180~230 g Male SD rats, 180~230 g	4 周, 37% 千 卡脂肪 4 weeks, 37% kcal fat	单次腹腔注射 35 mg/kg A single intraperitoneal injection of 35 mg/kg	链脲佐菌素注射 72 h 空腹血糖 ≥ 11.1 mmol/L 72 h after STZ injection, fasting blood glucose ≥ 11.1 mmol/L	8 周 血糖、葡萄糖耐量试验、胰岛素、体重、 骨密度、骨矿物质含量、血清骨钙素和 骨碱性磷酸酶、炎症因子、骨小梁骨体 积/组织体积、骨小梁数量、分离度和 结构模型指数 8 weeks Blood glucose, OGTT, insulin, body weight, BMD, BMC, serum osteocalcin and bone ALP, inflammatory factors, trabecular bone volume/tissue volume, trabecular number, trabecular separation, trabecular structural model index
2 型 ^[20] Type 2 ^[20]	Wistar 大 鼠, (180 ± 20) g Wistar rats, (180 ± 20) g	10 周, — 10 weeks, —	单次腹腔注射 20 mg/kg A single intraperitoneal injection of 20 mg/kg	链脲佐菌素注射 7 d 后空腹血糖 ≥ 12 mmol/L, IGF-1、TRAP 与对 照组大鼠相比, 有显著统计学差异 Seven days after STZ injection, fasting blood glucose ≥ 12 mmol/L, compared with control rats, IGF-1 and TRAP have significant statistical differences	12 周 空腹血糖、药时曲线下面积、血清骨 钙素、胰岛素样生长因子-1、骨保护 素/核因子 κB 受体活化因子配体、碱 性磷酸酶、抗酒石酸酸性磷酸酶、骨组 织影像学、生物力学、病理学 12 weeks Fasting blood glucose, AUC, serum OC, IGF-1, OPG/RANKL, ALP, TRAP, bone tissue imaging, biomechanics, pathology
2 型 ^[21-57] Type 2 ^[21-57]	雄性 Wistar 大 鼠, 3 月龄, 210 ~ 260 g Male Wistar rats, 3 months old, 210 ~ 260 g	8 周, — 8 weeks, —	单次腹腔注射 30 mg/kg A single intraperitoneal injection of 30 mg/kg	链脲佐菌素注射 7 d 后血糖 ≥ 7.8 mmol/L 且伴有胰岛素抵抗, 继续 普通饮食喂养 20 周, 骨密度小于 正常对照组大鼠平均骨密度 2.5 个标准差 After 7 days of STZ injection, blood glucose was ≥ 7.8 mmol/L and accompanied by insulin resistance. After 20 weeks of normal diet feeding, the BMD was less than the average BMD of the normal control group by 2.5 standard deviations.	12 周 大鼠空腹血糖、胰岛素、磷、碱性磷酸 酶、钙、胰岛素抵抗指数、骨密度 12 weeks Fasting blood glucose, insulin, P, ALP, Ca, insulin resistance index, BMD

注: —: 脂肪比不明。

Note. —. Fat ratio unknown.

4 小结

以上实验性研究充分证实,STZ 诱导建立 DOP 大鼠模型的方法与大鼠的性别、年龄、是否喂食高糖高脂饲料以及高糖高脂饲料的配方、脂肪比、喂养时间,STZ 的品牌、纯度、储存配制方式、给药途径、给药剂量、给药次数、给药前是否禁食、禁食时间长短等众多因素密切相关,成模标准、检测指标多样,发病机制尚未完全阐明,国际上尚未有统一、系统、规范的制备 DOP 模型的推荐剂量和标准。因此,需要我们根据研究目的、实验要求,通过预实验来确定最佳条件,在实验过程中,严格要求,规范操作,避免人为因素影响实验结果。此外,此种方法造模也存在骨组织病理改变、微结构损伤发生较慢,不能很准确的还原其病理过程和发病机制等局限,因此未来需要我们更加注重能够研究出模拟 DOP 的发病机制和过程,协同多基因和环境因素的模式,更好的为 DOP 的防治研究提供基础。

参 考 文 献(References)

- [1] Wou C, Unwin N, Huang Y, et al. Implications of the growing burden of diabetes for premature cardiovascular disease mortality and the attainment of the Sustainable Development Goal target 3.4 [J]. Cardiovasc Diagn Ther, 2019, 9(2): 140-149.
- [2] de Souza RJ, Mente A, Maroleanu A, et al. Intake of saturated and trans unsaturated fatty acids and risk of all cause mortality, cardiovascular disease, and type 2 diabetes: systematic review and meta-analysis of observational studies [J]. BMJ, 2015, 351: 3978.
- [3] Schwartz AV, Pavo I, Alam J, et al. Teriparatide in patients with osteoporosis and type 2 diabetes [J]. Bone, 2016, 91: 152-158.
- [4] Oei L, Zillikens MC, Dehghan A, et al. High bone mineral density and fracture risk in type 2 diabetes as skeletal complications of inadequate glucose control: the Rotterdam Study [J]. Diabetes Care, 2013, 36(6): 1619-1628.
- [5] 梁燕龙, 杜敏群, 赖文秀, 等. 2 型糖尿病性骨质疏松的鼠类模型的研究进展 [J]. 中国骨质疏松杂志, 2016, 22(9): 1164-1167.
Liang YL, Du MQ, Lai WX, et al. Research progress in the rodent model of type 2 diabetic osteoporosis [J]. Chin J Osteoporos, 2016, 22(9): 1164-1167.
- [6] Koulmanda M, Qipo A, Chebrolu S, et al. The effect of low versus high dose of streptozotocin in cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*) [J]. Am J Transplant, 2003, 3(3): 267-272.
- [7] 曹语珈, 王凯, 王子丽, 等. 多花黄精多糖对斑马鱼 2 型糖尿病合并骨质疏松症模型的药效学研究 [J]. 中草药, 2021, 52(21): 6545-6551.
- Cao YJ, Wang K, Wang ZL, et al. Pharmacodynamics study of polysaccharide from *Polygonatum cyrtoneuma* on zebrafish model with type 2 diabetic and osteoporosis [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2021, 52(21): 6545-6551.
- [8] Coelho CA, Bordelo JP, Camassa JA, et al. Evaluation of hematology, general serum biochemistry, bone turnover markers and bone marrow cytology in a glucocorticoid treated ovariectomized sheep model for osteoporosis research [J]. An Acad Bras Cienc, 2020, 92(4): e20200435.
- [9] 侍方, 倪磊. 粉防己碱靶向 TNF- α 介导 PI3K/Akt/NF- κ B 信号通路抑制骨质疏松症的作用研究 [J]. 解放军医药杂志, 2021, 33(9): 6-10.
Shi F, Ni L. A effect study of tetrandrine in inhibition of osteoporosis by targeting TNF- α -mediated PI3K/Akt/NF- κ B signaling pathway [J]. Med Pharm J Chin PLA, 2021, 33(9): 6-10.
- [10] 张梦丹, 罗俊崇, 黎晓雯, 等. 中药复方制剂对大鼠和母猪骨质疏松症的防治效果试验 [J]. 动物医学进展, 2019, 40(6): 64-68.
Zhang MD, Luo JC, Li XW, et al. Effect of prevention and treatment on osteoporosis in rats and pigs with Chinese herbal compound [J]. Prog Vet Med, 2019, 40(6): 64-68.
- [11] Qi SS, Shao ML, Sun Z, et al. Chondroitin sulfate alleviates diabetic osteoporosis and repairs bone microstructure via anti-oxidation, anti-inflammation, and regulating bone metabolism [J]. Front Endocrinol (Lausanne), 2021, 12: 759843.
- [12] Cao Y, Han X, Wang Z, et al. TLR4 knockout ameliorates streptozotocin-induced osteoporosis in a mouse model of diabetes [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2021, 546: 185-191.
- [13] 张奕奋, 耿倚云, 段莉, 等. 构建骨质疏松动物模型研究进展 [J]. 生物骨科材料与临床研究, 2021, 18(2): 62-66.
Zhang YF, Geng YY, Duan L, et al. Development of the establishment of animal models of osteoporosis [J]. Orthop Biomech Mater Clin Study, 2021, 18(2): 62-66.
- [14] Kang HS, Yang H, Ahn C, et al. Effects of xenoestrogens on streptozotocin-induced diabetic mice [J]. J Physiol Pharmacol, 2014, 65(2): 273-282.
- [15] Kautzky-willer A, Harreiter J, Pacini G. Sex and gender differences in risk, pathophysiology and complications of type 2 diabetes mellitus [J]. Endocrine Reviews, 2016, 37(3): 278-316.
- [16] Liu B, Feng W, Hasegawa T, et al. Type 1 diabetes mellitus induced low bone turnover in ovariectomized rats [J]. Histol Histopathol, 2019, 34(1): 57-67.
- [17] Wang X, Mi Y, He W, et al. Down-regulation of miR-340-5p promoted osteogenic differentiation through regulation of runt-related transcription factor-2 (RUNX2) in MC3T3-E1 cells [J]. Bioengineered, 2021, 12(1): 1126-1137.
- [18] Wen B, Zhao L, Zhao H, et al. Liraglutide exerts a bone-protective effect in ovariectomized rats with streptozotocin-induced diabetes by inhibiting osteoclastogenesis [J]. Exp Ther Med, 2018, 15(6): 5077-5083.

- [19] Zhang Z, Ren H, Shen G, et al. IGF-1R/ β -catenin signaling axis is implicated in streptozotocin exacerbating bone impairment in ovariectomized rats [J]. *Climacteric*, 2021, 24(2): 179–186.
- [20] 柳辰玥. 基于 AGEs/RAGE/Nox4/NF- κ B 和 TRPV6/CaBP-28k/VDR 通路探讨桑叶对 DOP 大鼠作用机制 [D]. 北京: 北京中医药大学; 2018.
- Liu CY. To investigate the mechanism of mulberry leaf on DOP rats based on AGEs/RAGE/Nox4/NF- κ B and TRPV6/CaBP-28k/VDR pathways [D]. Beijing: Beijing University of Chinese Medicine; 2018.
- [21] 许建国. 基于 Wnt 及 NF- κ B 信号通路探讨补肾健脾活血汤对糖尿病骨质疏松大鼠作用机制的研究 [D]. 济南: 山东中医药大学; 2015.
- Xu JG. The research of the mechanism of Bushen Jianpi Huoxue Decoction in the diabetic osteoporosis rats based on the NF-kappa B and Wnt signaling pathways [D]. Jinan: Shandong University of Traditional Chinese Medicine; 2015.
- [22] 黎娅, 吴穹, 马晓雨, 等. 高脂饮食和链脲佐菌素建立 2 型糖尿病大鼠模型的影响因素 [J]. 菏泽医学专科学校学报, 2020, 32(1): 91–93.
- Li Y, Wu Q, Ma XY, et al. Influencing factors of high-fat diet and streptozotocin in establishing type 2 diabetic rat model [J]. *J Heze Med Coll*, 2020, 32(1): 91–93.
- [23] 王继, 杨中亚, 张龙. 高脂饲养联合链脲佐菌素注射建立 2 型糖尿病大鼠模型的骨骼肌特征分析 [J]. 实验动物科学, 2020, 37(4): 39–43.
- Wang J, Yang ZY, Zhang L. Analysis of skeletal muscle characteristics of type 2 diabetic rats induced by hyperlipidemic feeding combined with streptozotocin injection [J]. *Lab Anim Sci*, 2020, 37(4): 39–43.
- [24] 林燕超, 吴佩文, 林东. 链脲佐菌素诱导 SD 大鼠糖尿病模型的影响因素 [J]. 中国社区医师, 2017, 33(35): 7–8, 11.
- Lin YC, Wu PW, Lin D. Influencing factors of streptozotocin induced diabetes mellitus in SD rats [J]. *Chin Community Dr*, 2017, 33(35): 7–8, 11.
- [25] Eleazu CO, Eleazu KC, Chukwuma S, et al. Review of the mechanism of cell death resulting from streptozotocin challenge in experimental animals, its practical use and potential risk to humans [J]. *J Diabetes Metab Disord*, 2013, 12(1): 60.
- [26] Goyal SN, Reddy NM, Patil KR, et al. Challenges and issues with streptozotocin-induced diabetes-A clinically relevant animal model to understand the diabetes pathogenesis and evaluate therapeutics [J]. *Chem Biol Interact*, 2016, 244: 49–63.
- [27] Wu KK, Huan Y. Streptozotocin-induced diabetic models in mice and rats [J]. *Curr Protoc Pharmacol*, 2008, 5: 47.
- [28] Furman BL. Streptozotocin-induced diabetic models in mice and rats [J]. *Curr Protoc*, 2021, 1(4): e78.
- [29] Takeda S, Saito M, Sakai S, et al. Eldecalcitol, an active vitamin D₃ derivative, prevents trabecular bone loss and bone fragility in type I diabetic model rats [J]. *Calcif Tissue Int*, 2017, 101(4): 433–444.
- [30] 黎娅, 范培云, 马晓雨, 等. 长期稳定的 SD 大鼠 2 型糖尿病模型制备方法 [J]. 中国实验动物学报, 2020, 28(3): 364–369.
- Li Y, Fan PY, Ma XY, et al. A long-term and stable method for the preparation of a type 2 diabetes Sprague-Dawley rat model [J]. *Acta Lab Anim Sci Sin*, 2020, 28(3): 364–369.
- [31] Tay YC, Wang Y, Kairaitis L, et al. Can murine diabetic nephropathy be separated from superimposed acute renal failure? [J]. *Kidney Int*, 2005, 68(1): 391–398.
- [32] 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.
- Huang B, Liu XZ, Pang DB. Study on diabetic model in rats induced by streptozotocin in different ways [J]. *Jinzhou Med Univ*, 2003, 24(1): 19–21.
- [33] 张汝学, 贾正平, 李茂星, 等. 实验性 2 型糖尿病大鼠模型的建立和评价(Ⅲ、Ⅳ)—血脂水平和血浆糖代谢相关激素的变化 [J]. 西北国防医学杂志, 2008, 29(6): 401–404.
- Zhang RX, Jia ZP, Li MX, et al. Establishment and evaluation of type 2 diabetic rat model(Ⅲ、Ⅳ)—the changes of plasma lipids level and hormone levels related to glucose metabolism [J]. *Med J National Defending Forces Northwest Chin*, 2008, 29(6): 401–404.
- [34] 沈亚非, 徐焱成. 链脲佐菌素诱导实验性糖尿病大鼠模型建立的研究 [J]. 实用诊断与治疗杂志, 2005, 19(2): 79–80.
- Shen YF, Xu YC. Study on experimental diabetes animal model in rats induced by streptozotocin [J]. *J Pract Diagn Ther*, 2005, 19(2): 79–80.
- [35] 黄琛, 顾志峰, 曹晓蕾, 等. 1 型糖尿病大鼠模型建立及稳定性研究 [J]. 现代检验医学杂志, 2007, 22(3): 49–51.
- Huang C, Gu ZF, Cao XL, et al. Establishment and stability of type I diabetic rat model [J]. *J Mod Lab Med*, 2007, 22(3): 49–51.
- [36] Guo XX, Wang Y, Wang K, et al. Stability of a type 2 diabetes rat model induced by high-fat diet feeding with low-dose streptozotocin injection [J]. *J Zhejiang Univ Sci B*, 2018, 19(7): 559–569.
- [37] 汪群红, 何贤君, 胡敏, 等. 黄连和葛根联合抗糖尿病的药效学研究 [J]. 中华中医药学刊, 2019, 37(3): 676–679.
- Wang QH, He XJ, Hu M, et al. Pharmacodynamic study of combination of rhizoma coptidis and *Radix puerariae* on diabetes [J]. *Chin Arch Tradit Chin Med*, 2019, 37(3): 676–679.
- [38] 邓戈, 韩博. 苣荬菜水煎液对糖尿病大鼠的降血糖作用及其机制 [J]. 中国现代应用药学, 2020, 37(2): 155–160.
- Deng G, Han B. Hypoglycemic effect and mechanism of endive decoction on diabetic rats [J]. *Chin J Mod Appl Pharm*, 2020, 37(2): 155–160.
- [39] 叶桐江, 郑博文, 赵琳, 等. 链脲佐菌素诱导 1 型糖尿病大鼠模型的最佳禁食时间与最优剂量 [J]. 兰州大学学报(医学版), 2019, 45(2): 52–55.
- Ye TJ, Zheng BW, Zhao L, et al. Optimal fasting time and dose

- of streptozotocin-induced diabetic rat model [J]. J Lanzhou Univ (Med Sci), 2019, 45(2): 52-55.
- [40] Ramzy MM, El-Sheikh AAK, Kamel MY, et al. Mechanism of testicular protection of carvedilol in streptozotocin-induced diabetic rats [J]. Indian J Pharmacol, 2014, 46(2): 161-165.
- [41] Rivoira M, Rodríguez V, Picotto G, et al. Naringin prevents bone loss in a rat model of type 1 Diabetes mellitus [J]. Arch Biochem Biophys, 2018, 637: 56-63.
- [42] 陈昕涛, 王敏君, 严文韬, 等. 1 型糖尿病动物模型和干细胞治疗的研究进展 [J]. 癌变·畸变·突变, 2019, 31(4): 327-330.
- Chen XT, Wang MJ, Yan WT, et al. Research progress of animal model and stem cell therapy for type 1 diabetes mellitus [J]. Carcinog Teratog Mutagen, 2019, 31(4): 327-330.
- [43] 韩旭, 王璇, 余芝, 等. STZ 制备糖尿病大鼠模型影响因素的研究进展 [J]. 中国实验动物学报, 2020, 28(5): 716-725.
- Han X, Wang X, Yu Z, et al. Research progress on factors influencing streptozotocin-induced diabetic rat models [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2020, 28(5): 716-725.
- [44] Zhang ZD, Ren H, Wang WX, et al. IGF-1R/ β -catenin signaling axis is involved in type 2 diabetic osteoporosis [J]. J Zhejiang Univ Sci B, 2019, 20(10): 838-848.
- [45] 何佳, 祁珊珊, 郑红星, 等. 链脲佐菌素诱导 SD 大鼠 1 型糖尿病性骨质疏松模型的建立 [J]. 中国骨质疏松杂志, 2019, 25(12): 1716-1720.
- He J, Qi SS, Zheng HX, et al. Establishment of type 1 diabetic osteoporosis model induced by streptozotocin in SD rats [J]. Chin J Osteoporos, 2019, 25(12): 1716-1720.
- [46] 张丽媛, 纳青青, 吴天秀, 等. 1 型糖尿病骨质疏松大鼠模型的建立及评价 [J]. 中国骨质疏松杂志, 2016, 22(5): 532-535.
- Zhang LY, Na QQ, Wu TX, et al. Establishment and evaluation of rat type I diabetes and osteoporosis model [J]. Chin J Osteoporos, 2016, 22(5): 532-535.
- [47] An Y, Zhang H, Wang C, et al. Activation of ROS/MAPKs/NF- κ B/NLRP3 and inhibition of efferocytosis in osteoclast-mediated diabetic osteoporosis [J]. FASEB J, 2019, 33(11): 12515-12527.
- [48] Grundleger ML, Thenen SW. Decreased insulin binding, glucose transport, and glucose metabolism in soleus muscle of rats fed a high fat diet [J]. Diabetes, 1982, 31(3): 232-237.
- [49] Skovsø S. Modeling type 2 diabetes in rats using high fat diet and streptozotocin [J]. J Diabetes Investig, 2014, 5(4): 349-358.
- [50] 张燕, 杨秋萍, 赵燕, 等. 2 型糖尿病大鼠骨质疏松模型的建立 [J]. 中国组织工程研究, 2016, 20(40): 6041-6047.
- Zhang Y, Yang QP, Zhao Y, et al. Establishing a rat model of type 2 diabetes; its bone metabolism level [J]. Chin J Tissue Eng Res, 2016, 20(40): 6041-6047.
- [51] 唐辉, 姚志浩, 罗道文, 等. 高脂高糖饮食结合链脲佐菌素建立 2 型糖尿病性骨质疏松症大鼠模型 [J]. 中国组织工程研究, 2021, 25(8): 1207-1211.
- Tang H, Yao ZH, Luo DW, et al. High fat and high sugar diet combined with streptozotocin to establish a rat model of type 2 diabetic osteoporosis [J]. Chin J Tissue Eng Res, 2021, 25(8): 1207-1211.
- [52] Guo CJ, Xie JJ, Hong RH, et al. Puerarin alleviates streptozotocin (STZ)-induced osteoporosis in rats through suppressing inflammation and apoptosis via HDAC1/HDAC3 signaling [J]. Biomed Pharmacother, 2019, 115: 108570.
- [53] Yang M, Xie J, Lei X, et al. Tuberousin I suppresses diabetes-induced bone loss in rats, osteoclast formation, and RANKL-induced nuclear factor- κ B pathway [J]. Int Immunopharmacol, 2020, 80: 106202.
- [54] Ying X, Chen X, Wang T, et al. Possible osteoprotective effects of myricetin in STZ induced diabetic osteoporosis in rats [J]. Eur J Pharmacol, 2020, 866: 172805.
- [55] Wang T, Cai L, Wang Y, et al. The protective effects of silibinin in the treatment of streptozotocin-induced diabetic osteoporosis in rats [J]. Biomed Pharmacother, 2017, 89: 681-688.
- [56] Lu R, Zheng Z, Yin Y, et al. Genistein prevents bone loss in type 2 diabetic rats induced by streptozotocin [J]. Food Nutr Res, 2020, 9: 64.
- [57] Zhang Y, Liu M, Li H, et al. Traditional Chinese medicine Bushen-Jianpi-Huoxue Decoction prevents diabetic osteoporosis in rats via Wnt and nuclear factor- κ B signaling pathways [J]. Int J Rheum Dis, 2017, 20(8): 941-948.

[收稿日期] 2022-05-10