

滇西亚种树鼩血糖生理指标、胰岛素的测定及其初步分析

杨理伟¹⁾, 李进涛^{2, 3)}, 李 丽⁴⁾, 角建林²⁾, 刘梦思⁵⁾, 郑永仁⁶⁾

(1) 大理学院附属医院, 云南 大理 671000; 2) 昆明医科大学实验动物学部, 云南 昆明 650500; 3) 扬州大学兽医学院, 江苏 扬州 225009; 4) 云南省肿瘤医院, 云南 昆明 650052; 5) 昆明医科大学, 云南 昆明 650031; 6) 云南中医学院实验中心, 云南 昆明 650500)

[摘要] **目的** 为建立和评价人类糖尿病树鼩动物模型奠定生理学基础. **方法** 滇西亚种树鼩 20 只, 雌雄各半. 禁食 12 h 后, 非麻醉状态下心脏采血 1.0~1.5 mL, 其中 0.5 mL 装入 EDTA-K2 抗凝管颠倒充分混匀后用于糖化血红蛋白的测定, 0.8~1.0 mL 用于制备血清进行血清葡萄糖、果糖胺、胰岛素的测定. 测定采用 Roche cobas c311 全自动生化分析仪, 并用 SPSS 统计软件对测定的数据统计分析. **结果** 滇西亚种树鼩雌雄间糖化血红蛋白、胰岛素比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 其余的指标差异无统计学意义 ($P > 0.05$). 滇西亚种树鼩雌雄合并、雌性和雄性血糖生理指标、胰岛素与人的参考值比较得出: 树鼩血清葡萄糖在人的参考值范围内, 果糖胺、胰岛素、糖化血红蛋白均低于人的参考值. **结论** 滇西亚种树鼩葡萄糖、果糖胺、糖化血红蛋白、胰岛素不仅可作为人类糖尿病树鼩动物模型的评价指标, 也可作为判断树鼩正常生理的依据.

[关键词] 滇西亚种树鼩; 血糖生理指标; 胰岛素; 测定; 分析

[中图分类号] Q954.55 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 2095-610X (2014) 03-0009-04

Measurement and Analysis of Physiological Indices of Blood Glucose and Insulin in *Tupaia belangeri chinensis*

YANG Li-wei¹⁾, LI Jin-tao^{2,3)}, LI Li⁴⁾, JIAO Jian-lin²⁾, LIU Meng-si⁵⁾, ZHENG Yong-ren⁶⁾

(1) Affiliated Hospital of Dali University, Dali Yunnan 671000; 2) Laboratory Animal Department of Kunming Medical University, Kunming Yunnan 650500; 3) Veterinary Medicine Department of Yangzhou University, Yangzhou Jiangsu 225009; 4) Yunnan Provincial Tumor Hospital, Kunming Yunnan 650052; 5) Kunming Medical University, Kunming Yunnan 650031; 6) Experimental Center of Yunnan University of Traditional Chinese Medicine, Kunming Yunnan 650500, China)

[Abstract] **Objective** The aim of this study was to lay the physiological foundation for establishing and evaluating the tree shrew (*Tupaia belangeri chinensis*) model of human diabetes. **Methods** Twenty tree shrews (half males and half females) were fasted for 12 h. Then, 1.0-1.5 mL blood collection from each heart was performed without narcotism, of which 0.5 mL blood was placed in a EDTA-K2 anticoagulant tube and completely mixed for determination of glycosylated hemoglobin, and 0.8-1.0 mL blood was used to prepare serum for determinations of glucose, fructosamine and insulin. The Roche cobas c311 automatic biochemical analyzer was used to measure these indicators, and the data were analyzed by using SPSS statistical software. **Results** There were significant differences in glycosylated hemoglobin and insulin between female and male tree shrews ($P < 0.05$), while no significant differences in other indicators ($P > 0.05$). Compared the values of physiological indicators of blood glucose and insulin in the total, male and female tree shrews with the reference values of human, the serum glucose values of tree shrews was in the reference value range of human, while the fructosamine, insulin and

[基金项目] 国家科技支撑计划项目 (2009BAI83B02); 云南省科技厅应用基础研究基金资助项目 (2012FB155); 云南省科技厅应用基础研究联合专项基金资助项目 (2012FB022)

[作者简介] 杨理伟 (1965~), 男, 云南大理州人, 医学学士, 主治医师, 主要从事消化内科研究工作.

[通讯作者] 郑永仁. E-mail: 847255170@qq.com.

glycated hemoglobin values of tree shrews were lower than the reference values of human. **Conclusion** The values of glucose, fructosamine, glycosylated hemoglobin and insulin in *Tupaia belangeri chinensis* are not only used to be the evaluation index of tree shrew model of human diabetes, but also can be used as a criterion for normal physiology of tree shrew

[**Key words**] *Tupaia belangeri chinensis*; Glucose physiological indicators; Insulin; Measurement; Analysis

糖尿病是由于胰岛素分泌及(或)胰岛素作用缺陷引起的以血糖升高为特征的代谢病. 糖尿病患者常伴有脂肪、蛋白质代谢异常, 长期高血糖可引起多种器官, 尤其是眼、心、血管、肾、神经损害或器官功能不全或衰竭. 世界卫生组织将糖尿病分为四种类型: 1 型糖尿病、2 型糖尿病、其他类型糖尿病和妊娠期糖尿病, 不同类型的糖尿病都会导致胰腺中的 β 细胞不能产生足量的胰岛素以降低血糖的浓度, 导致高血糖症的发生. 1 型糖尿病一般是由于自体免疫系统破坏产生胰岛素的 β 细胞导致的; 2 型糖尿病是由于组织细胞的胰岛素抵抗、 β 细胞功能衰退或其他多种原因引起的^[1]. 树鼯 (*Tupaia belangeri* 或 *Tree shrew*) 在国际上通俗地称之为树仙 (*Tupaia glis*), 是一种形似松鼠的小型哺乳动物. 树鼯作为一种新型的实验动物, 随着其基因组测序的完成, 研究人员利用树鼯全基因组序列与其他物种的系统发育关系分析比较, 证实了树鼯与灵长类亲缘关系最为接近^[2,3]. 因此, 本文对与灵长类亲缘关系最为接近滇西亚种树鼯葡萄糖、果糖胺、糖化血红蛋白、胰岛素生理指标进行测定, 不仅丰富了树鼯的基础生理数据, 而且为建立人类糖尿病树鼯动物模型评价提供参考.

1 材料和方法

1.1 实验树鼯

滇西亚种树鼯 20 只, 雌雄各半, 体重为 100 ~ 140 g 之间, 饲养时间为 6 ~ 10 月龄, 由昆明医科大学实验动物学部提供. 生产许可证: SCXK (滇) K2013-0002, 使用许可证: SYXK (滇) 2011-0004.

1.2 饲养条件

普通级树鼯饲养房, 温度: 22℃ ~ 25℃, 相对湿度 45% ~ 60% 左右, 每天人工光照 12 h 和定时清理粪尿 1 次.

1.3 饲料

树鼯全价颗粒料由昆明医科大学实验动物学部提供, 生产许可证: SCXK (滇) 2011-0005.

1.4 血样的采集

禁食 12 h 后, 非麻醉状态下心脏采血 1.0 ~ 1.5 mL, 平均采血时间为 15 ~ 30 s. 其中 0.5 mL 装入 EDTA-K2 抗凝管颠倒充分混匀后用于糖化血红蛋白的测定, 0.8 ~ 1.0 mL 用于制备血清进行血清葡萄糖、果糖胺、胰岛素的测定.

1.5 样本检测仪器及试剂

Roche cobas c311 全自动生化分析仪对树鼯全血和血清进行分析测定, 检测试剂为原装配套试剂.

1.6 样本检测方法

采用 Roche cobas c311 全自动生化分析仪对树鼯全血和血清进行分析测定, 严格按其标准操作程序 (SOP) 操作.

1.7 统计学分析

用 SPSS 软件包分析数据, 各项数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 参考值范围的计算方法则根据数据是否正态分布决定, 若正态分布进一步计算平均值、标准差和 95%CI (confidence interval, 置信区间). 统计判断: 正态分布数据采用 *t* 检验, 非正态分布数据采用秩和检验.

2 结果

滇西亚种树鼯雌雄间糖化血红蛋白、胰岛素比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 葡萄糖、果糖胺差异无统计学意义 ($P > 0.05$).

滇西亚种树鼯血糖、胰岛素与人的参考值比较 (表 1) 得出: 树鼯血清葡萄糖 (87.24 ~ 127.36 mg/dL) 在人的参考值范围内 (73.98 ~ 154.62 mg/dL), 果糖胺 (146.61 ~ 175.79 $\mu\text{mol/L}$)、胰岛素 (1.39 ~ 2.53 $\mu\text{U/mL}$)、糖化血红蛋白 (3.84 ~ 4.15) 分别低于人的参考值 (205 ~ 285 $\mu\text{mol/L}$)、(2.6 ~ 24.9 $\mu\text{U/mL}$)、(4.8 ~ 5.9).

3 讨论

2013 年 11 月 14 日“世界糖尿病日”指出目前全球 2.85 亿人患有糖尿病, 国际糖尿病联合会预计如果目前的增长速度不加以控制, 到 2030 年

表1 滇西亚种树鼩血糖生理指标、胰岛素测定值与人的参考值比较 ($\bar{x} \pm s$)Tab. 1 Comparison of the physiological indices of blood glucose, insulin measured results of *Tupaia belangeri chinensis* with the reference values of human ($\bar{x} \pm s$)

项 目	雌雄合并 (n=20)		雌性 (n=10)		雄性 (n=10)		人参考值
	$\bar{x} \pm s$	95%CI	$\bar{x} \pm s$	95%CI	$\bar{x} \pm s$	95%CI	
葡萄糖GLU (mg/dL)	107.3 ± 45.3	87.3 ~ 127.4	107.8 ± 55.2	68.3 ~ 147.2	105.0 ± 36.4	79.0 ~ 131.0	74.0 ~ 154.6
果糖胺FRA ($\mu\text{mol/L}$)	161.2 ± 31.2	146.6 ~ 175.8 ↓	158.4 ± 17.6	145.8 ~ 171.0 ↓	164.0 ± 41.5	134.3 ~ 193.7 ↓	205 ~ 285
糖化血红蛋白 HbA1c(%)	4.0 ± 0.3	3.8 ~ 4.2 ↓	4.2 ± 0.4*	3.9 ~ 4.4 ↓	3.8 ± 0.2*	3.7 ~ 4.0 ↓	NGSP4.8 ~ 5.9
胰岛素INS ($\mu\text{U/mL}$)	2.0 ± 1.2	1.4 ~ 2.5 ↓	1.4 ± 1.4*	0.4 ~ 2.5 ↓	2.5 ± 0.7*	2.0 ~ 3.0 ↓	2.6 ~ 24.9

注: *为测定项目指标雌雄相比差异有统计学意义 ($P < 0.05$), ↓分别表示树鼩测定结果低于人参考值下限; 未做任何标识的树鼩测定结果在人参考值范围内。

患病总人数将超过 4.35 亿人, 并且糖尿病年轻化发病率的日趋明显. 据初步统计, 中国目前糖尿病患者数高达 1.14 亿, 且仍在高速增长中. 因此建立与灵长类亲缘关系最为接近的树鼩糖尿病动物模型对于研究人类糖尿病的早期诊治和预防、糖尿病治疗新药的研发于利用是非常有必要的.

虽然目前已经建立了大鼠、小鼠、羊、兔、犬、小型猪等糖尿病动物模型^[4-6], 但由于种属差别, 以上所提及的实验动物糖尿病模型只能部分反映人糖尿病的临床症状和发病机理. 非人灵长类动物如猕猴、食蟹猴等也自发或链脲佐菌素诱导建立人类糖尿病动物模型^[7-9], 但由于猕猴、食蟹猴本身的价值成本较高、饲养成本较高、繁殖率低等因素在一定程度上也限制了其在建立人类糖尿病动物模型中的使用. 随着树鼩基因组测序的完成, 研究证实了树鼩与灵长类亲缘关系最为接近. 因此, 体型小、繁殖快、易捕捉和饲养、养殖成本低、进化程度高的树鼩^[10], 有望成为建立人类疾病动物模型首选灵长类动物.

糖尿病临床实验室检查的主要内容有血糖、尿糖、尿酮体、糖化血红蛋白 (HbA1c)、糖化血清蛋白、血清胰岛素、口服葡萄糖耐量试验、C 肽水平、血脂、免疫指标 [包括胰岛细胞抗体 (ICA), 胰岛素自身抗体 (IAA) 和谷氨酸脱羧酶 (GAD) 抗体]、尿白蛋白排泄量等. 血糖必须保持一定的水平才能维持动物机体内各器官和组织的需要, 机体内血糖是受到胰岛素和胰高血糖素调节的^[11]. 果糖胺的浓度与血糖水平成正相关, 并相对保持稳定. 果糖胺的测定不受血糖的影响, 是评价糖尿病控制情况的一个良好指标. 果糖胺可以反映糖尿病患者检测前 1 ~ 3 周内的平均血糖

水平. 从一定程度上弥补了糖化血红蛋白不能反映较短时期内血糖浓度变化的不足. 果糖胺不受每次进食的影响, 所以不能用来直接指导每日胰岛素及口服降糖药的用量^[12-14]. 糖化血红蛋白是机体血液中红细胞内的血红蛋白与血糖结合不可逆反应的产物, 并与血糖浓度成正比, 且能保持 4 个月左右, 糖化血红蛋白测试通常可以反映糖尿病患者近 12 周左右的血糖控制情况^[15]. 血糖、糖代谢以及调节糖代谢的相关激素的测定, 可以诊断或协助诊断机体糖代谢紊乱的相关疾病. 树鼩的尿糖、尿酮体、血脂已发表在另外的研究论文中. 因此建立树鼩糖尿病动物模型还必须进一步完善树鼩的口服葡萄糖耐量试验、糖化血清蛋白、C 肽水平、免疫指标等生理指标的测定. 中国科学院昆明动物所已用链脲佐菌素诱导建立树鼩 2 型糖尿病动物模型进行了初步的探索研究^[16], 为建立成熟、稳定的树鼩糖尿病动物模型奠定了前期的研究基础.

[参考文献]

- [1] 侯治富. 实验诊断学[M]. 北京: 高等教育出版社, 2011:12-16.
- [2] 许凌, 范宇, 蒋学龙, 等. 树鼩进化分类地位的分子证据[J]. 动物学研究, 2013, 34(2):70-76.
- [3] YU FAN, ZHIYONG HUANG, CHANGCHANG CAO, et al. Genome of the Chinese tree shrew[J]. Nature communication, 2013, 4:1 426.
- [4] 牟道华, 谭正杯. II 型糖尿病动物模型研究进展[J]. 四川生理科学杂志, 2010, 32(4):172-174.
- [5] 万莉, 王旻晋, 杨秋, 等. 实验性 2 型糖尿病兔模型的建立及其血清物质变化研究 [J]. 现代检验医学杂志,

- 2011,26(2):55-58.
- [6] 王月婷,王宗保. 小型猪糖尿病模型研究进展[J]. 中国比较医学杂志,2011,21(12):70-73.
- [7] 梁斌,吴晓云. 非人灵长类糖尿病动物模型研究进展[J]. 动物学研究,2011,32(1):91-96.
- [8] 朱华,徐艳峰,刘颖,等. 链脲佐菌素诱导糖尿病恒河猴胰岛细胞数量的变化[J]. 中国比较医学杂志,2012,22(12):1-5.
- [9] KYLIE KAVANAGH, DAVID M, FLYNN, CHRIS NELSON, et al. Characterization and validation of a streptozotocin-Induced diabetes model in the vervet monkey [J]. *J Pharmacol Toxicol Methods*. 2011, 63(3): 296-303.
- [10] 彭燕章,叶智彰,邹如金,等. 树鼩生物学[M]. 昆明:云南科技出版社,1991:91-117.
- [11] YOKO OZAWA, TOSHIHIDE KURIHARA, MARIKO SASAKI, et al. Neural degeneration in the retina of the streptozotocin-induced type 1 diabetes model [J]. *Experimental Diabetes Research*, 2011, 11:108-328.
- [12] KRITIKA KACHAPATI, DAVID E, ADAMS, et al. The B10 Idd9.3 locus mediates accumulation of functionally superior CD137pos T regulatory cells in the NOD Type 1 diabetes model [J]. *J Immunol*, 2012, 189(10): 5 001-5 015.
- [13] ANIL K, BIDANI, MARIA PICKEN, et al. Spontaneously reduced BP load in the rat streptozotocin-induced diabetes model: potential pathogenetic relevance [J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2007, 292(2): F647-F654.
- [14] TIE-JUN SHI, MING-DONG ZHANG, HUGO ZEBERY, et al. Coenzyme Q10 prevents peripheral neuropathy and attenuates neuron loss in the db/db mouse, a type 2 diabetes model [J]. *PNAS*, 2013, 110(2): 690-695.
- [15] JONATHAN LOU S, ESGUERRA, CAROLINE BOLMESON, et al. Differential glucose-regulation of microRNAs in pancreatic islets of non-obese type 2 diabetes model go-to-kakizaki Rat [J]. *PLOS ONE*, 2011, 6(4): e1 8613.
- [16] 吴晓云,李昀海,常青,等. 链脲佐菌素诱导树鼩2型糖尿病[J]. 动物学研究,2013,34(2):108-115.
(2014-01-24 收稿)

(上接第8页)

- [J]. *创新医学*, 2011, 27(2): 221-225.
- [12] 王超,王国林. 神经生长因子前体的研究进展[J]. *国际麻醉学与复苏杂志*, 2007, 28(4): 353-359.
- [13] 樊拥军,许健. 神经营养因子前体蛋白功能的研究进展[J]. *细胞生物学杂志*, 2008, 30(4): 425-430.
- [14] BARDE Y A, EDGER D, THOENEN H. Purification of a new neurotrophic factor from mammalian brain [J]. *EMBOJ*, 1982, 1(5): 549-553.
- [15] HENDERSON C E. Role of neurotrophic factors in neuronal development [J]. *Curr Opin Neuro*, 1996, 6(1): 64-70.
- [16] ROHE M, HARTL D, FJORBACK A N, et al. SORLA-mediated trafficking of TrkB enhances the response of neurons to BDNF [J]. *PLoS One*, 2013, 8(8): e72 164.
(2014-02-10 收稿)