文章编号:1000-5404(2010)23-2497-06

论著

PRMT1-ADMA-DDAH1代谢轴在糖尿病大鼠胰腺中的表达及普罗布考的干预影响

王南楠,刘东方,林海玲,刘继红,梅 希 (400010 重庆,重庆医科大学附属第二医院内分泌科)

【摘要】 目的 观察PRMT1-ADMA-DDAH1代谢轴在糖尿病大鼠胰腺中的表达,及普罗布考对其表达和胰岛功能的影响。方法 将30只雄性SD大鼠分为正常对照组(C组,$n=10$)、糖尿病组(D组,$n=10$)、糖尿病普罗布考干预组(P组,$n=10$)。用高脂高糖喂养联合腹腔注射链脲佐菌素(STZ)建立糖尿病大鼠模型,干预组以普罗布考500 mg/(kg·d)灌胃。药物干预8周后收集3组大鼠胰腺组织,ELISA法检测ADMA的浓度,用RT-PCR检测PRMT1、DDAH1 mRNA的表达,Western blot观察PRMT1蛋白的表达,免疫组化法观察胰岛素和PRMT1的表达;同时采集3组大鼠的血液标本,测定胰岛功能指标空腹血糖(FBG)、空腹血胰岛素(FINS)及氧化应激指标丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)的水平。结果 C、D、P组大鼠胰腺组织中ADMA的浓度分别为(464.50±53.83)、(1 255.34±188.00)、(891.72±52.10)μmol/L,D组、P组明显高于C组($P<0.01$),P组显著低于D组($P<0.01$);D组和P组大鼠的PRMT1 mRNA表达明显高于C组($P<0.01$)、但P组明显低于D组($P<0.01$),与C组相比,D、P组大鼠DDAH1的mRNA表达明显降低($P<0.01$),与D组相比,P组中DDAH1的mRNA表达明显升高($P<0.01$);Western blot和免疫组化的结果显示,D组与P组的PRMT1蛋白表达明显高于C组($P<0.01$);而P组又明显低于D组($P<0.01$)。结论 糖尿病状态下,大鼠胰腺组织的PRMT1-ADMA-DDAH1代谢轴中PRMT1的表达升高,DDAH1的表达降低,导致ADMA的浓度升高,加剧氧化应激,使胰岛功能下降。而普罗布考通过其抗氧化作用,可以在一定程度上调节糖尿病状态下胰腺的PRMT1-ADMA-DDAH1代谢轴的表达,从而抑制氧化应激,改善胰岛功能。

【关键词】 非对称性二甲基精氨酸;蛋白质精氨酸甲基转移酶1;二甲基精氨酸二甲胺水解酶1;糖尿病;普罗布考
【中图法分类号】 R394.2;R587.102;R977.15 【文献标志码】 A

Expression of pancreatic PRMT1-ADMA-DDAH1 axis in rats with type 2 diabetics and intervention effect of probucol on its expression

Wang Nannan, Liu Dongfang, Lin Hailing, Liu Jihong, Mei Xi (Department of Endocrinology, Second Affiliated Hospital, Chongqing Medical University, Chongqing, 400010, China)

【Abstract】 Objective To study the expression of pancreatic PRMT1-ADMA-DDAH1 axis in rats with diabetics, and the effect of probucol on its expression and function of pancreatic islets. Methods Thirty rats were divided into control group, diabetes group, and probucol group, 10 rats in each group. A diabetic rat model was established by intra-peritoneal injection with streptozotocin (STZ) and breeding with high fat and glucose. Rats in probucol group were lavaged with probucol at 500 mg/(kg·d). Pancreatic tissues were collected from the 3 groups 8 weeks after drug intervention. ADMA level in pancreas was measured by ELISA. Expression of PRMT1 and DDAH1 mRNA was detected by RT-PCR. Expression of PRMT1 protein in pancreas was detected by Western blotting. Expression of insulin and PRMT1 in pancreas was detected by immunohistochemistry (IHC). Levels of FBG, FINS, MDA, SOD, and CAT in blood samples were measured. Results The ADMA level was 464.50±53.83, 1 255.34±188.00, and 891.72±52.10 μmol/L, respectively, in the 3 groups, which was higher in diabetes and probucol groups than in control group, and lower in probucol group than in diabetes group ($P<0.01$). The expression level of PRMT1 mRNA was significantly higher in diabetes and probucol groups than in control group ($P<0.01$). Western blotting and IHC showed that the expression level of DDAH1 in pancreatic PRMT1-ADMA-DDAH1 axis was higher in diabetes group than in control group and significantly lower in probucol group than in diabetes group ($P<0.01$). Conclusion PRMT1 is highly expressed while DDAH1 is lowly expressed in pancreatic PRMT1-ADMA-DDAH1 axis of patients with diabetes, leading to increased ADMA concentrations, oxidative stress and decreased function of pancreatic islets. Probucol

【通信作者】 刘东方,电话:(023)63693087,E-mail:Ldf023023@yahoo.com

can regulate the expression of pancreatic PRMT1-ADMA-DDAH1 axis, thus inhibiting oxidative stress and improving the function of pancreatic islets.

[Key words] asymmetric dimethy1 arginine; protein-arginine methyl transferase1; dimethylarginine dimethylaminohydrolase1; diabetes mellitus; probucol

Corresponding author: Liu Dongfang, Tel: 86-23-63693087, E-mail: Ldf023023@yahoo.com

糖尿病是一种多因素参与发病的疾病,其中氧化应激被公认为是糖尿病及其并发症发病机制中的重要因素。目前大量研究表明,非对称性二甲基精氨酸(asymmetric dimethylarginine, ADMA)参与了氧化应激[1,2],在2型糖尿病、高血压、高脂血症等与氧化应激有关的疾病的动物模型和人群中均发现其升高[3,4],被认为是糖尿病发病中的危险因子。分子水平的研究显示,蛋白质精氨酸甲基转移酶1(protein-arginine methyl transferase 1, PRMT1)催化生成了85%的ADMA,另一方面,70%的ADMA又被二甲基精氨酸二甲胺水解酶1(dimethylarginine dimethylaminohydrolase 1, DDAH1)水解,是影响ADMA代谢的主要蛋白,三者形成1条PRMT1-ADMA-DDAH1代谢轴[5],任何原因导致的PRMT1升高、DDAH1降低,都可能引起ADMA的堆积,加剧氧化应激。但是目前为止,尚少国内外文献就PRMT1-ADMA-DDAH1代谢轴在2型糖尿病大鼠胰腺组织中的表达进行报道。我们了解到,普罗布考作为降脂药上市以来,已明确其具有很强的抗氧化作用[6]。因此本实验旨在观察PRMT1-ADMA-DDAH1代谢轴在2型糖尿病大鼠胰腺组织中的表达,以及普罗布考的干预是否影响该代谢轴,从而保护胰岛功能。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 30只清洁级近交系SD大鼠,雄性,7周龄,体质量(160±10)g,购于重庆医科大学实验动物中心。饲养于标准环境,自由进水进食,12 h光照周期。

1.1.2 试剂 普通饲料(重庆医科大学实验动物中心),胆固醇、胆酸盐(加拿大Bio Basic Inc公司),链脲佐菌素(STZ)(美国Sigma公司),普罗布考(齐鲁制药有限公司),葡萄糖测定试剂盒(浙江东瓯生物工程有限公司),胰岛素测定试剂盒(北京原子高科核技术应用股份有限公司),丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)测定试剂盒(南京建成生物工程研究所),大鼠非对称性二甲基精氨酸(ADMA)ELISA试剂盒(上海西唐生物科技有限公司),Trizol(美国Invitrogen公司),RT-PCR试剂盒、DNA marker及引物(日本TaKaRa公司),PCR MasterMix(北京天根生化科技有限公司),兔抗大鼠蛋白质精氨酸甲基转移酶1(PRMT1)多克隆抗体(美国Cell Signaling公司),蛋白质marker(加拿大Fermentas公司),兔抗大鼠胰岛素(INS)多克隆抗体(北京博奥森生物技术有限公司),免疫组化试剂盒(北京中杉金桥生物技术有限公司)。

1.1.3 仪器 低温离心机(德国HERMLE公司),酶标仪(澳大利亚Tecan公司),紫外分光光度计及核酸蛋白分析仪(英国Amersham Biosciences公司),PCR扩增仪及GelDos2000凝胶成像系统(美国Bio-Rad公司),倒置显微镜(德国Leica公司)。

1.2 方法

1.2.1 动物分组 大鼠适应性饲养1周后,用随机数字表法分为正常对照组(C组,10只)和实验组(B组,20只)。

1.2.2 建模 C组给予普通饲料,B组给予高糖、高脂饲料(由15%蔗糖、15%猪油、1%胆固醇、0.5%胆酸盐、68.5%普通饲料配制而成)。分别喂养4周后,将STZ溶于pH 4.2的浓度为0.1 mol/L的柠檬酸缓冲液中,配制成10 mg/ml的STZ溶液(冰浴配制,现配现用)。称大鼠体质量后,B组腹腔注射STZ溶液(注射量为30 mg/kg),C组腹腔内注射相应体积的柠檬酸缓冲液,2组大鼠同前喂养1周后,经尾静脉采血测空腹血糖(FBG)。以空腹血糖大于正常对照组大鼠血糖均值+3倍标准差为标准[7],判定B组2型糖尿病大鼠模型是否建立成功。将B组用随机数字表法分为糖尿病组(D组,10只)和糖尿病普罗布考干预组(P组,10只),P组以普罗布考500 mg/(kg·d)灌胃[8],C、D组则给予相同体积的蒸馏水。给药8周后将大鼠隔夜禁食称体质量,乙醚麻醉,自下腔静脉取血,测空腹血糖、空腹胰岛素、血清丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)含量,并取胰腺组织分为4份,1份于4%多聚甲醛中固定以备做免疫组化用,另3份用经DEPC处理过的锡箔纸和EP管收集后置于液氮中进行RT-PCR、Western blot及ELISA检测。

1.2.3 检测项目和方法

1.2.3.1 生化指标的检测 空腹血糖用葡萄糖氧化酶法检测,空腹血胰岛素水平采用酶联免疫吸附法检测,MDA、SOD、CAT含量按说明书用化学比色法测定其光密度值后计算浓度。

1.2.3.2 ELISA 用ELISA测定各组大鼠胰腺组织中ADMA的浓度。将50 mg胰腺组织加入适量0.5 ml PBS匀浆后,取上清液,按照说明书检测其光密度值,制作标准曲线后计算出浓度。

1.2.3.3 RT-PCR 用RT-PCR检测胰腺组织中PRMT1及DDAH的mRNA表达。从液氮中取出胰腺组织放入经DEPC处理过的玻璃匀浆器中,加入Trizol研磨,提取总RNA,用核酸蛋白仪测定其纯度和浓度。按RT-PCR试剂盒说明书将RNA逆转录成cDNA按照PCR MasterMix说明书进行PCR扩增:PRMT1上游引物5′-GAGTTCACCCGATGCCACAAG-3′,下游引物5′-TCCGGTAGTCGGTGGAACAAG-3′,扩增产物大小为238 bp,退火温度57 ℃;DDAH1上游引物5′-CTGCCTGACTGCGTGT-TCGTG-3′,下游引物5′-TCAGCACCTCGTTGATTTGTCC-3′,扩增产物大小长度为245 bp,退火温度52 ℃;内参β-actin上游引物

5′-GAGAGGGAAATCGTGCGTGAC-3′,下游引物 5′-CATCTGCTGGAAGGTGGACA-3′,扩增的产物大小为 452 bp,退火温度 57 ℃。取产物 5 μl,按常规步骤用 2% 琼脂糖凝胶电泳,用 Bio-Rad GelDoc2000 凝胶成像系统进行图片拍摄,用 Quantity One 软件进行光密度值分析。

1.2.3.4　蛋白质印迹　用 Western blot 检测胰腺组织中 PRMT1 的蛋白含量。将胰腺组织加入蛋白裂解液中置于冰上匀浆,提取总蛋白,并用 BCA 法测定蛋白的浓度。按照常规方法将蛋白样品进行 SDS-PAGE 凝胶电泳,将凝胶中的蛋白转至 PVDF 膜,孵目的一抗,4 ℃,过夜,用 PBST 洗膜后,孵二抗,再次洗膜后,加入 ECL 发光试剂,放入 Bio-Rad 成像系统采集图像,用 Quantity One 软件进行光密度值。

1.2.3.5　免疫组化　用免疫组化观察胰腺组织切片中胰岛素及 PRMT1 的表达。常规脱蜡,进行抗原热修复后按说明书行一抗 37 ℃孵育 2 h,4 ℃,过夜,标记二抗,DAB 显色后苏木精复染,脱水,中性树脂封片,光镜下观察,细胞内出现棕黄色颗粒为阳性表达。用图像分析软件 Image Pro Plus 5.0 测定每组平均光密度值。

1.3　统计学处理

所有数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。应用 SPSS 17.0 统计软件处理数据,经正态检验及方差齐性检验,对非正态分布计量资料经自然对数转换后再进行分析,多组间比较采用单因素方差分析。

2　结果

2.1　各组大鼠生化指标结果的比较

经葡萄糖氧化酶法检测显示:与 C 组相比,D 组及 P 组大鼠 FBG 水平明显升高($P<0.01$),且符合我们的成模标准,与 D 组相比,P 组 FBG 水平虽较低但无统计学意义($P=0.624$);经酶联免疫吸附法检测显示:与 C 组相比,D 组及 P 组大鼠 FINS 水平明显降低($P<0.01$),与 D 组相比,P 组 FINS 明显升高($P<0.01$)。通过化学比色法测定显示:与 C 组相比,D 组血浆 MDA 水平明显升高($P<0.01$),P 组血浆 MDA 水平较 C 组升高($P<0.05$),较 D 组明显降低($P<0.01$);与 C 组相比,D 组及 P 组大鼠血浆 SOD 和 CAT 水平明显升高($P<0.01$),与 D 组相比,P 组的血浆 SOD 水平明显升高($P<0.01$),CAT 水平升高($P<0.05$,表 1)。

表 1　各组大鼠生化指标测定结果比较($n=10$,$\bar{x} \pm s$)

组别	FBG(mmol/L)	FINS(μU/ml)	MDA(mmol/L)	SOD(U/ml)	CAT(U/ml)
C 组	5.91 ±0.90	15.57 ±1.63	2.42 ±0.26	187.08 ±5.35	35.11 ±3.22
D 组	10.58 ±1.80[a]	11.15 ±1.48[a]	3.73 ±0.56[a]	166.88 ±4.89[a]	28.08 ±1.63[a]
P 组	9.58 ±1.48[a]	13.37 ±0.81[ac]	2.84 ±0.13[bc]	175.20 ±2.01[ac]	30.85 ±1.22[ad]

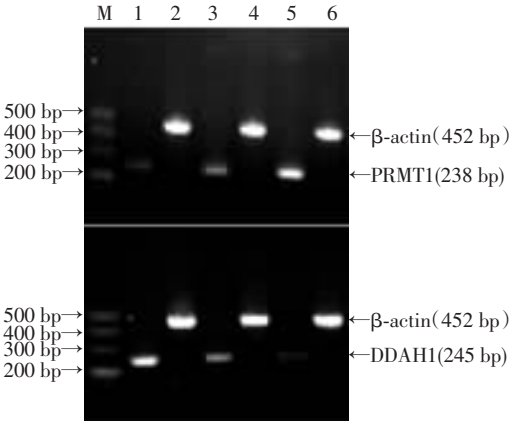
a:$P<0.01$,b:$P<0.05$,与 C 组比较;c:$P<0.01$,d:$P<0.05$,与 D 组比较

2.2　各组大鼠胰腺组织中 ADMA 浓度的比较

通过 ELISA 法测得:C、D、P 组大鼠胰腺组织中 ADMA 的浓度分别为(464.50 ±53.83)、(1 255.34 ±188.00)、(891.72 ±52.10)μmol/L。与 C 组相比,D 组及 P 组大鼠胰腺组织中 ADMA 的浓度明显升高($P<0.01$)。与 D 组相比,P 组的 ADMA 浓度明显降低($P<0.01$)。

2.3　各组大鼠胰腺组织中 PRMT1 及 DDAH1 mRNA 的表达

RT-PCR 检测显示:与 C 组相比,D 组及 P 组大鼠胰腺组织中 PRMT1 的 mRNA 表达明显升高($P<0.01$),与 D 组相比,P 组中 PRMT1 的 mRNA 表达明显降低($P<0.01$)。与 C 组相比,D 组及 P 组大鼠胰腺组织中 DDAH1 的 mRNA 表达明显降低($P<0.01$),与 D 组相比,P 组中 DDAH1 的 mRNA 表达明显升高($P<0.01$,图 1)。



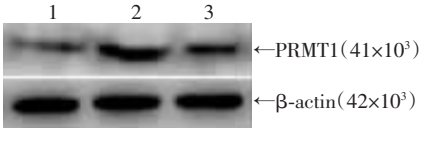
A:PRMT1 和 DDAH1 的 RT-PCR 产物凝胶电泳结果　M:DNA 标准;1、3、5:分别为 C、P、D 组的 PRMT1 和 DDAH1 产物;2、4、6:分别为 C、P、D 组的 β-actin 的产物

B:半定量分析结果　a:$P<0.01$,与 C 组比较;b:$P<0.01$,与 D 组比较

图 1　各组大鼠胰腺组织中 PRMT1 及 DDAH1 的 mRNA 表达

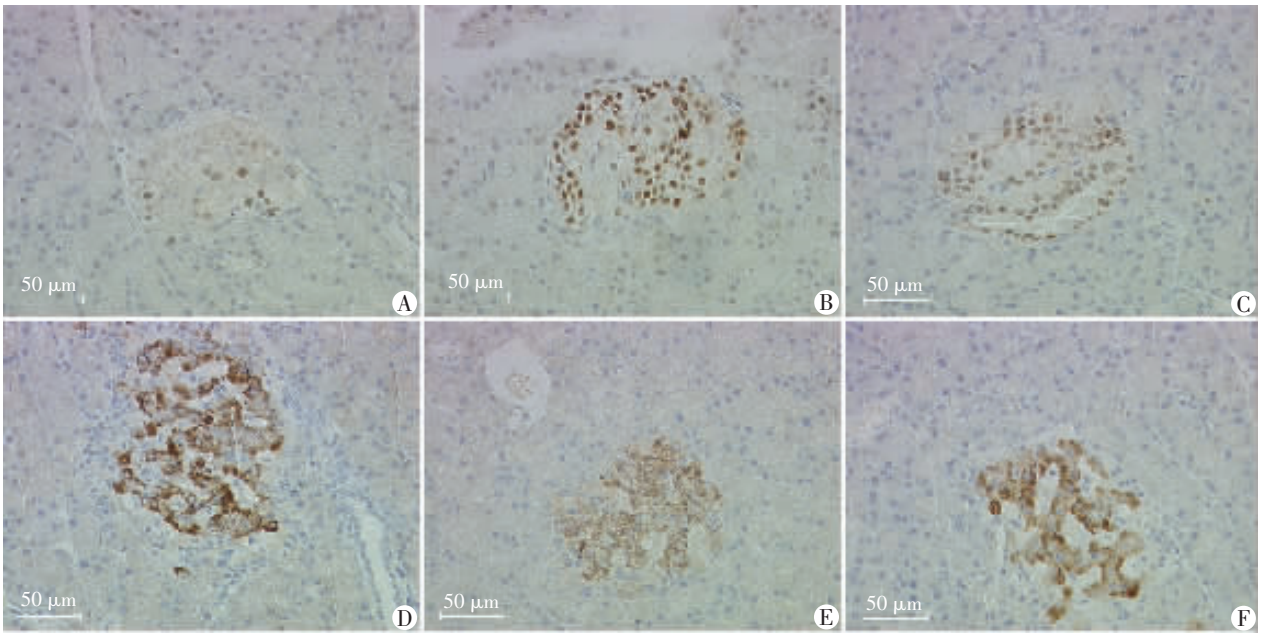
2.4　各组大鼠胰腺组织中 PRMT1 蛋白表达水平的比较

Western blot 法检测结果显示,C 组、D 组和 P 组的蛋白表达水平分别为(0.245 ±0.002)、(0.541 ±0.014)、(0.348 ±0.011)。与 C 组相比,D 组及 P 组大鼠胰腺组织中 PRMT1 蛋白表达水平明显升高($P<0.01$)。与 D 组相比,P 组中 PRMT1 蛋白表达水平明显降低($P<0.01$,图 2)。



1:C 组　2:D 组　3:P 组

图 2　Western blot 检测各组大鼠胰腺组织中 PRMT1 蛋白的表达

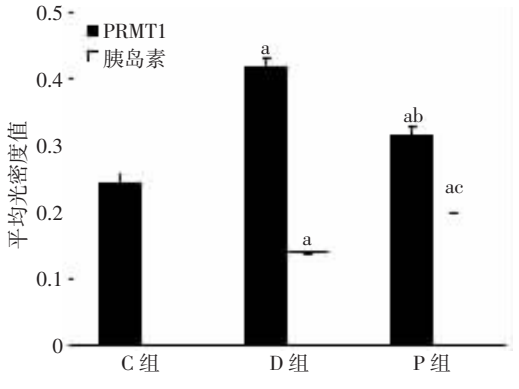


A～C：C、D、P组大鼠胰腺组织中PRMT1免疫组化观察；D～F：C、D、P组大鼠胰腺组织中胰岛素免疫组化观察

图3 各组大鼠胰腺组织免疫组化染色观察 (S-P)

2.5 各组大鼠胰腺免疫组化分析结果

免疫组化结果显示：在检测PRMT1表达的结果中，C组大鼠胰岛内可见少量阳性细胞，D组大鼠胰岛内有大量阳性细胞，P组大鼠胰岛内也可见部分阳性细胞，介于C、D组之间(图3A～C)。用图像分析软件测得的平均光密度值，C组明显低于D组、P组($P<0.01$)，而与D组相比，P组明显降低($P<0.01$)。在胰岛素表达的免疫组化图片中，C组大鼠胰岛内可见大量阳性细胞，D组大鼠胰岛内有少量阳性细胞，P组大鼠胰岛内也可见部分阳性细胞，介于C组、D组之间(图3D～F)。用图像分析软件测得的平均光密度值，C组较D、P组明显增高($P<0.01$)，而P组与D组相比，光密度值的升高也有统计学意义($P<0.05$，图4)。



a：$P<0.01$，与C组比较；b：$P<0.01$，c：$P<0.05$，与D组比较

图4 3组大鼠胰腺组织中PRMT1和胰岛素的免疫组化分析结果

3 讨论

氧化应激是指机体在遇到各种有害刺激时，自由基的产生和抗氧化防御之间严重失衡，从而导致组织损伤。氧化应激中主要的自由基为活性氧(reactive oxygen species，ROS)，包括超氧阴离子($O_2^-\cdot$)、羟自由基($\cdot OH$)、过氧化氢(H_2O_2)等，其通过损伤胰岛β细胞和降低外周组织对胰岛素的敏感性[9]，从而导致糖尿病的发生，同样大量的研究也证实2型糖尿病动物模型及人群中血清ROS的含量是升高的。本研究中使用的2型糖尿病大鼠模型就是通过注射STZ，增加ROS的产生和抑制自由基防御系统，损伤胰岛β细胞，诱导糖尿病的发生[10]。

ADMA作为一种内源性的一氧化氮合成酶(nitric oxide synthase，NOS)抑制剂而为研究者们所熟知。近期的一些研究显示，ADMA主要通过使NOS解偶联增加ROS的含量，从而参加了氧化应激[11-13]。大量研究表明，在2型糖尿病的大鼠血浆和2型糖尿病患者的血液中ADMA水平较正常组均明显升高[3,14]，而在2型糖尿病并发肾病的患者血浆中ADMA的水平也同样升高[15,16]。这些研究表明，ADMA的水平与糖尿病及其并发症的发生、发展密切相关。目前国内外文献尚少见报道2型糖尿病大鼠胰腺组织的ADMA水平，在我们的研究中，使用ELISA法测定2型糖尿病大鼠模型中胰腺组织的ADMA水平，结果显示D组水平明显高于C组，这也与其他研究者的血液标本研究结果一致。而且我们也发现氧化应激标志物MDA的血浆含量D组明显高于C组，而氧化应激防御系统的指标SOD、CAT的血浆含量明显低于C组，D组大鼠的胰岛功能指标FBG水平高于C组，FINS水平低于C组，与ADMA的水平变化一致。以上结果证实，ADMA水平

的升高增强了氧化应激的水平和损伤了胰岛功能，参与了糖尿病及其并发症的发生、发展。

ADMA 是在人体细胞内发生的蛋白质修饰过程中由甲基化所生成的产物，参与这种甲基化的一类酶叫做蛋白质精氨酸甲基转移酶（PRMTs），其中主要由 PRMT1 参与催化 ADMA 生成，约有 85% 的 ADMA 由 PRMT1 催化生成；另一方面，ADMA 主要通过二甲基精氨酸二甲胺水解酶（DDAHs）水解排出体外，其中 DDAH1 负责水解 70% 以上的 ADMA，所以被认为 ADMA 主要由 DDAH1 代谢[5]。故 ADMA 的水平主要由 PRMT1、DDAH1 的表达和活性来调节，从而形成一条 PRMT1-ADMA-DDAH1 代谢轴。任何原因引起的 PRMT1 活性和表达增高以及 DDAH 减低都可以导致 ADMA 升高。本研究表明，糖尿病大鼠胰腺组织中 ADMA 的升高是由 PRMT1 的升高和 DDAH1 的降低共同导致。近期研究显示，在这条代谢轴两端的 PRMT1 和 DDAH1 对氧化还原反应具有敏感性[17]，也就是说，ROS 可以使 PRMT1 的表达上调或活性增强，或使 DDAH1 的表达下调或活性减弱，导致 ADMA 的生成增加、代谢减弱，造成 ADMA 的蓄积，加剧氧化应激，生成更多的 ROS，最终形成恶性循环。值得我们注意的是，有研究显示，体内 ADMA 的水平主要通过 PRMT1 的活性或者 DDAH1 的活性调节，与其蛋白表达无关，疾病状态中，其蛋白表达水平不改变[3,18]，但是又有另一些研究显示 ADMA 的水平与 PRMT1 和 DDAH1 的蛋白表达相关，如 Onozato 等[19] 的研究显示，在 2 型糖尿病大鼠的血清及肾脏组织中 PRMT1 和 DDAH1 的蛋白是异常表达的，ADMA 的水平与 PRMT1 或者 DDAH1 的蛋白表达相关。我们的研究从基因和蛋白水平证实 PRMT1 在糖尿病大鼠胰岛是升高的，而 DDAH1 的水平是降低的。免疫组化的结果也同样显示，PRMT1 在 D 组胰岛细胞中的表达是升高的，证实 ADMA 的水平与 PRMT1 及 DDAH1 的表达相关。

普罗布考作为降脂药上市以来，其抗氧化作用逐渐被研究者们发现，主要表现在清除氧自由基，降低 ROS 水平。国内外研究显示，在 STZ 诱导的 2 型糖尿病小鼠模型中，普罗布考通过减轻氧化应激，抑制胰岛 β 细胞的凋亡，保护胰腺的功能[8,20]。我们的实验也显示，ELISA 法测得 P 组的 ADMA 浓度虽未达到 C 组水平，但明显低于 D 组；而在基因和蛋白表达方面，P 组的 PRMT1 水平明显也低于 D 组，DDAH1 的表达明显高于 D 组；氧化应激指标 MDA 的血浆含量，P 组同样明显低于 D 组，而 SOD、CAT 含量较 D 组明显升高；在胰岛功能方面，P 组大鼠的空腹血胰岛素水平较 D 组升高，不过 P 组空腹血糖水平较 D 组有所减低，但无统计学意义（$P=0.624$）。以上结果证实，普罗布考的确能调节 PRMT1-ADMA-DDAH1 轴的代谢，从而降低氧化应激，有助于改善胰岛功能。

然而我们也在实验中观察到给予普罗布考对降低血糖水平的影响并不充分，这在其他一些研究中也有报道[21,22]。我们考虑这可能是因为造模后，血糖长期停留在一个较高的水平，葡萄糖毒性损伤 B 细胞功能并使 B 细胞减少[23]，胰岛素抵抗的情况没有改善，因此削弱了普罗布考对血糖的影响。我们的研究中，普罗布考的治疗不能使大鼠空腹血糖正常化，这表明普罗布考修复胰岛细胞损害的作用还是有限的，胰岛素抵抗没有充分改善。

总的来说，我们的实验证实了在糖尿病状态下，氧化应激存在于胰腺组织中，胰腺组织的氧化应激反应中的 PRMT1-ADMA-DDAH1 代谢轴表达异常，PRMT1 的表达升高，DDAH1 的表达降低，导致 ADMA 的浓度升高，加剧氧化应激，使胰岛功能下降。而普罗布考通过其抗氧化作用，可以在一定程度上调节糖尿病状态下胰腺的 PRMT1-ADMA-DDAH1 代谢轴的表达，从而抑制氧化应激，改善胰岛功能。当然，由于本研究样本量较小，在将来还需要进一步的动物和临床试验。

参考文献：

[1] Jia S J, Jiang D J, Hu C P, *et al*. Lysophosphatidylcholine-induced elevation of asymmetric dimethylarginine level by the NADPH oxidase pathway in endothelial cells[J]. Vascul Pharmacol, 2006, 44(3): 143 - 148.

[2] Jacobi J, Maas R, Cordasic N, *et al*. Role of asymmetric dimethylarginine for angiotensin Ⅱ-induced target organ damage in mice[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2008, 294(2): H1058 - H1066.

[3] Lin K Y, Ito A, Asagami T, *et al*. Impaired nitric oxide synthase pathway in diabetes mellitus: role of asymmetric dimethylarginine and dimethylarginine dimethylaminohydrolase [J]. Circulation, 2002, 106(8): 987 - 992.

[4] Pope A J, Karuppiah K, Cardounel A J. Role of the PRMT-DDAH-ADMA axis in the regulation of endothelial nitric oxide production[J]. Pharmacol Res, 2009, 60(6): 461 - 465.

[5] 钱荣，谈艳，汪宗宝，等. 不同运动强度下糖尿病大鼠骨骼肌胰岛素受体 mRNA 表达及氧化应激变化[J]. 第三军医大学学报，2010，32(9)：926 - 929.

[6] 徐鑫，刘东方，周厚地，等. 8 羟基脱氧鸟苷在 2 型糖尿病大鼠肾脏的表达及 Probucol 的影响[J]. 重庆医科大学学报，2009，34(10)：1358 - 1361.

[7] 双卫兵，王东文，高宏飞，等. 自由基在 2 型糖尿病大鼠膀胱逼尿肌损伤的作用与意义[J]. 第三军医大学学报，2009，31(19)：1824 - 1827.

[8] 周厚地，刘东方，徐鑫，等. 硝基酪氨酸在糖尿病大鼠胰岛中的表达及普罗布考的干预作用[J]. 中国糖尿病杂志，2009，17(12)：946 - 949.

[9] Maritim A C, Sanders R A, Watkins J B 3rd. Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: a review[J]. J Biochem Mol Toxicol, 2003, 17(1): 24 - 38.

[10] 舒毅，钟历勇. 氧化应激与糖尿病[J]. 东南大学学报：医学版，2005，24(1)：64 - 67.

[11] Wells S M, Holian A. Asymmetric dimethylarginine induces oxidative

and nitrosative stress in murine lung epithelial cells[J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2007, 36(5): 520-528.

[12] Yang Z C, Wang K S, Wu Y, *et al*. Asymmetric dimethylarginine impairs glucose utilization *via* ROS/TLR4 pathway in adipocytes: an effect prevented by vitamin E[J]. Cell Physiol Biochem, 2009, 24(1/2): 115-124.

[13] Jiang D J, Jia S J, Dai Z, *et al*. Asymmetric dimethylarginine induces apoptosis *via* p38 MAPK/caspase-3-dependent signaling pathway in endothelial cells[J]. J Mol Cell Cardiol, 2006, 40(4): 529-539.

[14] Yasuda S, Miyazaki S, Kanda M, *et al*. Intensive treatment of risk factors in patients with type-2 diabetes mellitus is associated with improvement of endothelial function coupled with a reduction in the levels of plasma asymmetric dimethylarginine and endogenous inhibitor of nitric oxide synthase[J]. Eur Heart J, 2006, 27(10): 1159-1165.

[15] Yonem A, Duran C, Unal M, *et al*. Plasma apelin and asymmetric dimethylarginine levels in type 2 diabetic patients with diabetic retinopathy[J]. Diabetes Res Clin Pract, 2009, 84(3): 219-223.

[16] Hanai K, Babazono T, Nyumura I, *et al*. Asymmetric dimethylarginine is closely associated with the development and progression of nephropathy in patients with type 2 diabetes[J]. Nephrol Dial Transplant, 2009, 24(6): 1884-1888.

[17] Munzel T, Daiber A, Ullrich V, *et al*. Vascular consequences of endothelial nitric oxide synthase uncoupling for the activity and expression of the soluble guanylyl cyclase and the cGMP-dependent protein kinase[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2005, 25(8): 1551-1557.

[18] Iwasaki H. Impaired PRMT1 activity in the liver and pancreas of type 2 diabetic Goto Kakizaki rats[J]. Life Sci, 2009, 85(3/4): 161-166.

[19] Onozato M L, Tojo A, Leiper J, *et al*. Expression of NG, NG-dimethylarginine dimethylaminohydrolase and protein arginine N-methyltransferase isoforms in the diabetic rat kidney: effects of angiotensin Ⅱ receptor blockers[J]. Diabetes, 2008, 57(1): 172-180.

[20] Merat S, Malekzadeh R, Sohrabi M R, *et al*. Probucol in the treatment of non-alcoholic steatohepatitis: a double-blind randomized controlled study[J]. J Hepatol, 2003, 38(4): 414-418.

[21] Gorogawa S, Kajimoto Y, Umayahara Y, *et al*. Probucol preserves pancreatic beta-cell function through reduction of oxidative stress in type 2 diabetes[J]. Diabetes Res Clin Pract, 2002, 57(1): 1-10.

[22] Takatori A, Ohta E, Inenaga T, *et al*. Protective effects of probucol treatment on pancreatic beta-cell function of SZ-induced diabetic APA hamsters[J]. Exp Anim, 2003, 52(4): 317-327.

[23] Tang C, Han P, Oprescu A I, *et al*. Evidence for a role of superoxide generation in glucose-induced beta-cell dysfunction *in vivo*[J]. Diabetes, 2007, 56(11): 2722-2731.

(收稿 2010-07-10 修回 2010-08-18)

(编辑 王 红)

(上接2482页)

表1 不同健康水平的性知识获取途径[例(%)]

性知识获取途径	高健康组(n=137)	中间组(n=576)	低健康组(n=131)
网络	89(65.0)	345(59.9)	78(59.5)
广播	31(22.6)	172(29.9)	45(34.4)
影视	101(73.7)	448(77.8)	92(70.2)
教师	27(19.7)[a]	149(25.9)[a]	46(35.1)[a]
父母	18(13.1)[b]	65(11.3)[b]	38(29.0)[b]
朋友	108(78.8)	427(74.1)	99(75.6)
医师	22(16.1)[b]	69(12.0)[b]	31(23.7)[b]
报刊杂志	101(73.7)	459(79.7)	95(72.5)
医学书籍	96(70.1)[b]	366(63.5)[b]	65(49.6)[b]
文艺书籍	40(29.2)[a]	175(30.4)[a]	56(42.7)[a]
色情读物	39(28.5)	142(24.8)	35(26.7)
其他	32(23.4)	97(17.0)	28(21.4)

3 讨论

在大学生最常采取的性知识获取途径上,本研究与以往研究[5,6]基本保持一致:媒体是他们最常采取的方式。而本研究中第1层次中出现了朋友,这可能有两方面原因:①青年期大学生支持系统中,父母、教师的权威性、依赖性减弱,朋友是他们最易依赖的社会支持。②性这个敏感话题成为朋友间可以交流讨论的话题。教师、父母两个性知识获取途径排位靠后,可能是因为:①教师、父母对性话题仍旧敏感。②教师、父母本身并没有储备相当的性知识。

教师、父母、医师、文艺书籍这4个途径上的选择百分比,低健康组都要比中间组和高健康组高。只有在医学书籍这个途径上的选择百分比,高健康组和中间组要比低健康组高。这5种途径,除了文艺书籍外,其余4种途径都是大多数研究者所认为的较"官方"、较"正当"的性知识获取途径。从父母这个途径来说,国外的研究已经证明,亲子之间的性话题沟通能够促进青少年的安全性行为、影响青少年的性态度[7]、增加青少年正确的性知识。出现上述情况只能说明由于种种条件限制,这些"正当"途径还没有发挥它们应有的功效。比如教师、父母自身的性态度不合理,或者他们没有足够的性知识储备。而从医学书籍当中获取的性知识,其科学性要比从其他途径更能得到保证。我们认为,正是科学的知识获得,保证了更健康的性心理。但是也应考虑到,医学书籍所涉及的并不是性知识的全部。低健康组的大学生未必就是缺少医学书籍里面的性知识,他们同样可能因为性心理、性道德等知识的欠缺而出现心理问题。因此,构建一个大学生迫切需要全面而科学的性知识体系。

参考文献:

[1] 王兵, 蔡敏, 衡艳林. 不同专业大学生性知识调查的对比分析[J]. 中国性科学,2005, 14(9): 28-29,31.

[2] 潘绥铭,杨蕊. 性爱十年:全国大学生性行为的追踪调查[M]. 北京:社会科学文献出版社, 2004: 95-98.

[3] 孙小林, 陈贵岭,姜善华,等. 大学生性知识来源与性健康教育现状分析[J]. 中北大学学报,2005, 21(1): 82-83.

[4] 骆一, 郑涌. 青春期性心理健康的初步研究[J]. 心理科学,2006, 29(3): 661-664,657.

[5] 李浩初, 余冰. 大学生性知识性教育途径调查[J]. 青年研究, 2003,(10): 39-44.

[6] 彭晓辉. 性科学概论[M]. 北京:科学出版社, 2002: 108-202.

[7] Jaccard J, Dodge T, Dittus P. Maternal discussions about pregnancy and adolescents, attitudes toward pregnancy[J]. J Adolesc Health, 2003, 33(2): 84-87.

(收稿 2010-08-31 修回 2010-10-25)

(编辑 张 维)