论著

DOI:10.16016/j.1000-5404.201409075

S-雌马酚改善高糖培养条件下INS-1细胞胰岛素分泌功能的研究

王 丽,陈 卡,刘 凯,高燕翔,糜漫天 (400038 重庆,第三军医大学军事预防医学院营养与食品卫生学教研室,重庆市营养与食品安全重点实验室,重庆市医学营养研究中心)

[摘要] **目的** 研究大豆甙元活性代谢产物S-雌马酚(S-equol,S-Eq)对高糖培养条件下大鼠胰岛素瘤(INS-1)细胞胰岛素分泌功能的影响。**方法** 采用26.2 mmol/L葡萄糖(高糖组,H)及葡萄糖分别与不同浓度S-Eq(0.1、1、10、100 μmol/L S-Eq+H组)干预INS-1细胞24 h,另设未干预的INS-1细胞为对照组(C)。采用CCK-8检测细胞活力,ELISA法测定葡萄糖刺激胰岛素分泌(GSIS)功能,TUNEL法联合Annexin V-FITC/PI流式细胞术检测细胞凋亡,Real-time PCR和Western blot分别检测前胰岛素原(preproinsulin, PPI)、葡萄糖转运蛋白2(glucose transporter 2, Glut2)、线粒体阴离子载体解偶联蛋白2(uncoupling protein 2, UCP2) mRNA及蛋白表达。**结果** S-Eq能显著增加高糖培养条件下INS-1细胞活力($P<0.05$),其中1 μmol/L S-Eq效果最为明显。GSIS检测发现,与对照组比较,高糖处理后INS-1细胞胰岛素分泌显著降低,而S-Eq能显著增加高糖处理的INS-1细胞的胰岛素分泌($P<0.05$)。同时,0.1、1、10 μmol/L S-Eq均能明显减少高糖培养条件下INS-1细胞凋亡,上调PPI mRNA、Glut2 mRNA和Glut2蛋白表达,而显著抑制UCP2 mRNA及其蛋白的表达($P<0.05$)。**结论** S-Eq可有效改善高糖培养条件下INS-1细胞胰岛素分泌功能,可能与抑制细胞凋亡,调节Glut2和UCP2表达有关。

[关键词] S-雌马酚;INS-1细胞;葡萄糖刺激胰岛素分泌;葡萄糖转运蛋白2;解偶联蛋白2
[中图法分类号] R-332; R151.2; R335.6 [文献标志码] A

S-equol ameliorates insulin secretion of INS-1 cells cultured in high glucose

Wang Li, Chen Ka, Liu Kai, Gao Yanxiang, Mi Mantian (Research Center for Nutrition and Food Safety, Chongqing Key Laboratory of Nutrition and Food Safety, Chongqing Center of Medical Nutrition, College of Military Preventive Medicine, Third Military Medical University, Chongqing, 400038, China)

[**Abstract**] **Objective** To investigate the effect of S-equol (S-Eq), the active metabolite of daidzein, on the insulin secretion disorder induced by high glucose in rat insulinoma cell line INS-1. **Methods** INS-1 cells were treated with 26.2 mmol/L glucose in the absence or presence of different concentrations (0.1, 1, 10 and 100 μmol/L) of S-Eq for 24 h. In this way, the cells were divided into 6 groups: control group (C), high glucose group (H), 0.1 μmol/L S-Eq + high glucose group (0.1 μmol/L S-Eq + H), 1 μmol/L S-Eq + high glucose group (1 μmol/L S-Eq + H), 10 μmol/L S-Eq + high glucose group (10 μmol/L S-Eq + H), and 100 μmol/L S-Eq + high glucose group (100 μmol/L S-Eq + H). The cell viability was examined by CCK-8 assay, and the glucose-stimulated insulin secretion (GSIS) was tested with ELISA. INS-1 cell apoptosis was detected by TUNEL assay and Annexin V-FITC/PI flow cytometry. The mRNA expression of preproinsulin (PPI), glucose transporter 2 (Glut2), and uncoupling protein 2 (UCP2) was tested by real-time PCR while the expression of Glut2 and UCP2 proteins was tested by Western blotting. **Results** S-Eq significantly increased the cell vitality of INS-1 cells stimulated by high glucose, and 1 μmol/L S-Eq had the most obvious effect ($P<0.05$). The insulin secretion of INS-1 cells was significantly reduced by high glucose treatment, but S-Eq could remarkably increase insulin secretion in high glucose-treated INS-1

[基金项目] 国家自然科学基金(81102128)
[通信作者] 陈 卡,电话:(023)68752535,E-mail:chen_ka@sina.com
糜漫天,电话:(023)68752305,E-mail:mimt@sina.com
[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20141224.1610.001.html (2014-12-02)

cells ($P<0.05$). Meanwhile, 0.1, 1 and 10 μmol/L of S-Eq reduced the apoptosis of high glucose-treated INS-1 cells, increased the expressions of PPI mRNA, Glut2 mRNA and protein, and significantly inhibited the expression of UCP2 at mRNA and protein levels ($P<0.05$). **Conclusion** S-Eq can alleviate high glucose-induced insulin secretion disorder in INS-1 cells through inhibiting apoptosis and regulating the expressions of Glut2 and UCP2.

[**Key words**] S-equol; INS-1 cells; glucose-stimulated insulin secretion; glucose transporter 2; uncoupling protein 2

Supported by the National Natural Science Foundation of China (81102128). Corresponding author: Chen Ka, Tel: 86-23-68752535, E-mail: chen_ka@sina.com; Mi Mantian, Tel: 86-23-68752305, E-mail: mimt@sina.com

随着人口老龄化及人们生活方式的改变,糖尿病特别是2型糖尿病(type 2 diabetic mellitus, T2DM)发病率快速上升,已成为全球最严重的公共卫生问题之一。T2DM的病因及病理机制极为复杂,目前尚未完全阐明。目前,针对T2DM发病的两大因素胰岛素抵抗和胰岛素分泌缺陷研发的药物,大多存在诸多不良反应,因此不断寻找和开辟糖尿病防治的新途径具有重要意义。

流行病学研究证实,膳食中大豆异黄酮(soy isoflavones, SI)的摄入量与糖尿病发病率呈显著负相关[1-2]。体内研究表明SI干预可有效降低血糖、糖化血红蛋白,升高胰岛素/胰高血糖素比值,促进葡萄糖摄取和利用[3-5],从而有效改善糖尿病症状。而国外学者多认为SI的生物利用度和生物学活性主要由雌马酚(equol, Eq)来实现[6-7]。Eq是大豆黄素在体内通过生物转化产生的代谢产物[8],存在S、R两种异构体,而体内代谢产物均为S型。既往研究发现,Eq干预可促进前脂肪细胞葡萄糖摄取[3],增强高糖培养HepG2细胞胰岛素敏感性[9],均提示Eq是SI抗糖尿病的重要因子。然而,关于S-雌马酚(S-equol, S-Eq)抗糖尿病的作用机制尤其是对胰岛素分泌的作用的研究,国内外报道甚少。本研究利用体外培养大鼠胰岛素瘤(INS-1)细胞株,采用高糖刺激建立体外胰岛细胞损伤模型,探讨S-Eq对胰岛素分泌及其调节因子葡萄糖转运蛋白2(glucose transporter 2, Glut2)与线粒体阴离子载体解偶联蛋白2(uncoupling protein 2, UCP2)表达的影响,以期深入揭示S-Eq健康生物学效应。

1 材料与方法

1.1 细胞株与试剂

INS-1细胞、RPMI1640、胎牛血清(北京协和细胞资源中心),0.05% Trypsin-EDTA(Gibco公司),分析纯的葡萄糖(广东省化学试剂工程技术研究中心),S-Eq(上海大赛璐药物手性技术有限公司),CCK-8(同仁化工DOJINDO),Biozol提取液、大鼠胰岛素酶联免疫分析,RT-PCR试剂盒、SYBR Green Ⅰ Real-time PCR试剂盒(杭州博日公司),Glut2抗体(Santa Cruz公司),UCP2抗体(Abcam),实时荧光定量PCR引物(北京赛百盛基因技术有限公司),ECL化学发光试剂盒(碧云天生物技术有限公司),In Situ Cell Death POD凋亡检测试剂盒(Roche公司),Annexin V-FITC细胞凋亡检测试剂盒(上海贝博生物)。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养及实验分组 将INS-1细胞培养于含10%胎牛血清(FBS)的RPMI1640培养液中,在37 ℃、5% CO_2、饱和湿度条件下培养。待细胞融合至80%~90%,倒掉培养基,用PBS缓冲液洗2次,0.05% Trypsin-EDTA消化细胞后,按1∶3比例传代,取对数生长期的细胞用于后续实验,高糖处理采用26.2 mmol/L葡萄糖孵育。INS-1细胞株培养后分为5组:对照组(control, C);高糖组(high glucose, H);0.1 μmol/L S-Eq+高糖组(0.1 μmol/L S-Eq+H);1 μmol/L S-Eq+高糖组(1 μmol/L S-Eq+H);10 μmol/L S-Eq+高糖组(10 μmol/L S-Eq+H);100 μmol/L S-Eq+高糖组(100 μmol/L S-Eq+H)。

1.2.2 CCK-8检测细胞活力 0.05%胰酶消化细胞后,用RPMI1640培养液制备单个细胞悬液,按每孔细胞浓度为2×10^4/mL接种于96孔培养板,每孔体积为150 μL,每组6个平行。在37 ℃、5% CO_2、饱和湿度条件的培养箱中培养24 h后,按1.2.1中所述分组进行处理,培养24 h后,弃掉孔内培养上清液,每孔加入16.7 μL CCK-8溶液,37 ℃孵箱继续培养4 h,用酶标仪检测光密度值[D(450)值],细胞活力=实验组D(450)值/对照组D(450)值×100%。

1.2.3 ELISA检测葡萄糖刺激胰岛素分泌(glucose-stimulated insulin secretion, GSIS) INS-1细胞接种于96孔板内培养贴壁,每组6个平行,分组培养24 h后,PBS清洗2次后,加入含2% FBS无葡萄糖的KRBH液孵育30 min,弃上清,再加入含5 mmol/L或25 mmol/L葡萄糖的KRBH液刺激1 h后取上清,采用大鼠胰岛素酶联免疫分析(ELISA)检测胰岛素含量。

1.2.4 TUNEL检测细胞凋亡 细胞爬片,分组培养24 h后,盖玻片上细胞经4%多聚甲醛室温固定1 h后,按照试剂盒说明书操作,DAPI显色剂染细胞核,然

后用激光共聚焦扫描显微镜观察照相。

1.2.5 Annexin V-FITC 流式细胞仪检测细胞凋亡

INS-1 细胞接种于 6 孔板内培养贴壁，分组培养 24 h 后，收集细胞培养上清及培养细胞于离心管中，1 000 r/min 离心 5 min 后，用 0.2 mL binding buffer 重悬细胞沉淀，加入 2.5 μL Annexin V-FITC 试剂混匀后，加入 5 μL 碘化丙啶，混匀。避光、室温条件下孵育 15 min 后，流式细胞仪测定细胞凋亡率。

1.2.6 Real-time PCR 检测前胰岛素原(preproinsulin，PPI)、Glut2 与 UCP2 mRNA 表达 INS-1 细胞接种于 6 孔板内培养贴壁，分组培养 24 h 后，Biozol 提取各组细胞总 RNA，核酸蛋白分析仪测定 $D(260)/D(280)$ 及总 RNA 浓度。各组分别取 3 μg 总 RNA，按常规方法逆转录为 cDNA。以 MYIQ-实时荧光定量 PCR 仪进行 qPCR 反应，检测内参基因(β-actin、GAPDH)及目的基因 PPI、Glut2 和 UCP2 mRNA 的标准曲线和溶解曲线，同时观察 qPCR 反应的特异性和扩增效率。以 IQ 5.0 软件对实验结果进行分析，以各组目的基因表达水平与内参照基因表达水平几何平均的比值为该基因校正表达水平。引物序列见表 1。

表 1 各基因引物序列及产物大小

基因	引物序列	产物大小(bp)
PPI	正义链：5′-GTGTGGGGAACGTGGTTTCT-3′	118
	反义链：5′-TGCCAAGGTCTGAAGATCCC-3′	
Glut2	正义链：5′-GGCACTGATGCTGCATGTGGCT-3′	145
	反义链：5′-AGAGAACGTCGCCCTGCCTT-3′	
UCP2	正义链：5′-ACTTCACTTCTGCCTTCGGG-3′	233
	反义链：5′-GTGCCTCCCGGGATTCATAG-3′	
β-actin	正义链：5′-ACCAACTGGGACGATATGGAGAAGA-3′	324
	反义链：5′-ACGACCAGAGGCATACAGGGACAA-3′	
GAPDH	正义链：5′-TGCACCACCAACTGCTTAG-3′	616
	反义链：5′-GATGCAGGGATGATGTTC-3′	

1.2.7 Western blot 检测 Glut2、UCP2 蛋白表达

INS-1 细胞接种于 6 孔板内培养贴壁，分组培养 24 h 后，收集各组细胞，加蛋白裂解液冰上裂解 30 min，4 ℃，12 000 r/min 离心 5 min 离心，取上清液。用 BSA 蛋白标准曲线法测定蛋白含量，各组分别取 40 μg 蛋白于 120 V、12% SDS-PAGE 胶中电泳分离，湿转至 PVDF 膜，5% 脱脂奶粉室温封闭 2 h，加入 1∶500 稀释一抗，4 ℃孵育过夜，次日 TBST 漂洗后加入 1∶10 000 稀释二抗，室温孵育 2 h 后 ECL 显色。以 β-actin 蛋白为内参，用 Quantity One 软件对条带进行灰度值定量分析。

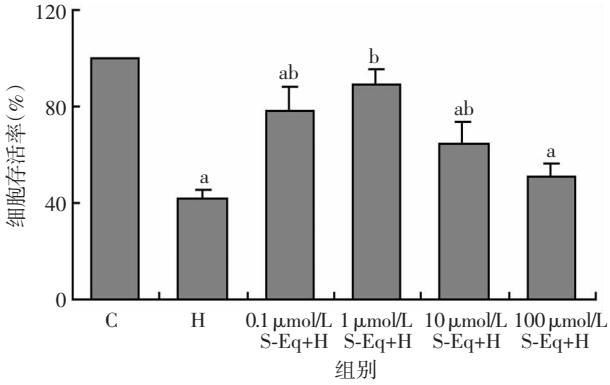
1.3 统计学分析

计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示，采用 SPSS 13.0 统计软件对多组间数据进行单因素方差分析。

2 结果

2.1 S-Eq 对高糖培养 INS-1 细胞活力的影响

CCK-8 检测细胞活力(图 1)发现，高糖处理后细胞活力下降到 42.04%($P<0.05$)，而 S-Eq 处理后 INS-1 细胞活力增强，其中 0.1、1、10 μmol/L S-Eq + H 组细胞增殖活力均显著高于高糖组($P<0.05$)，而 100 μmol/L S-Eq + H 组细胞增殖活力无明显增加($P>0.05$)。



a：$P<0.05$，与 C 组比较；b：$P<0.05$，与 H 组比较

图 1 CCK-8 法检测 S-Eq 对高糖培养 INS-1 细胞增殖活力的影响

2.2 S-Eq 对高糖培养 INS-1 细胞 GSIS 的影响

与 C 组比较，H 组 INS-1 细胞基础胰岛素分泌(BIS)与 GSIS 均显著降低($P<0.05$，图 2)。与 H 组 BIS 比较，0.1、1 μmol/L S-Eq 能显著促进 INS-1 胰岛细胞基础分泌($P<0.05$)，其中 1 μmol/L S-Eq 作用最为显著；10、100 μmol/L S-Eq 对 BIS 则无明显作用。与 H 组 GSIS 比较，0.1、1、10 μmol/L S-Eq 均能显著提高 INS-1 细胞的 GSIS 能力($P<0.05$)，1 μmol/L S-Eq 作用仍最为显著。进一步检测 PPI mRNA 的表达，与 C 组相比，H 组 PPI mRNA 的表达显著降低；与 H 组相比，0.1、1、10 μmol/L S-Eq + H 组 PPI mRNA 的表达明显上调($P<0.05$)，而 100 μmol/L S-Eq + H 组 PPI mRNA 的表达差异无统计学意义($P>0.05$)。

2.3 S-Eq 对高糖诱导的 INS-1 细胞凋亡的影响

TUNEL 法检测正常胰岛细胞核均呈蓝色荧光，凋亡细胞呈蓝绿色荧光。如图 3 所示，C 组细胞核呈蓝色，少见凋亡，H 组中部分胰岛细胞核缩小，呈蓝绿色，而 S-Eq 组与 H 组相比，细胞核中蓝绿色表达明显减少，表明 INS-1 细胞凋亡降低。进一步采用 Annexin V-FITC/PI 流式细胞仪检测发现(图 4)，与 C 组比较，高糖处理后，INS-1 细胞凋亡率显著增加($P<0.05$)。与 H 组相比，S-Eq 干预后细胞凋亡率显著下降($P<$

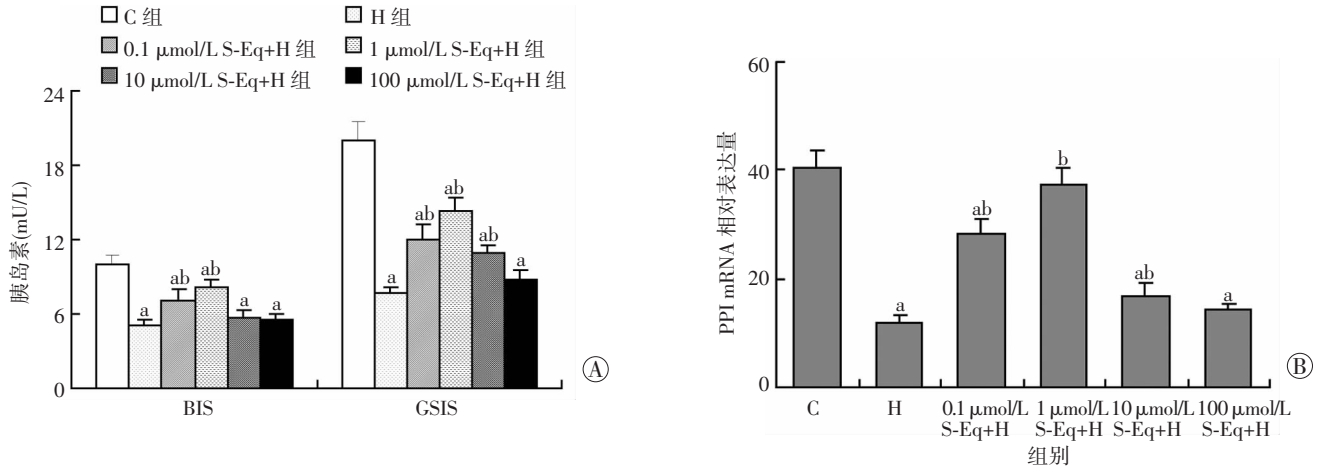
0.05)。

2.4 S-Eq 对高糖诱导的 INS-1 细胞 Glut2、UCP2 mRNA 的影响

高糖与 S-Eq 处理细胞后,Real-time PCR 法检测 Glut2、UCP2 mRNA 的表达发现(图 5),与 C 组比较,H 组 Glut2 mRNA 表达显著下降,0.1、1、10 μmol/L S-Eq + H 组 Glut2 mRNA 表达显著上调($P<0.05$)。同时,H 组 UCP2 mRNA 表达较 C 组显著上调,而 0.1、1、10 μmol/L S-Eq + H 组 UCP2 mRNA 较 H 组显著下降($P<0.05$)。

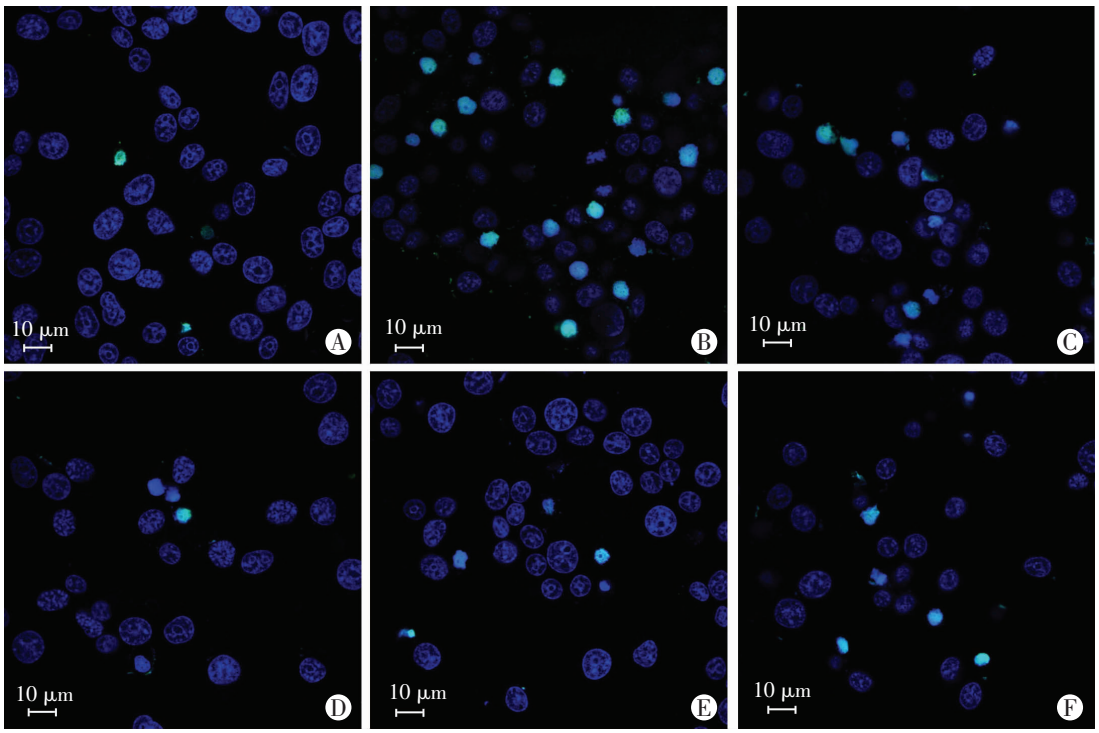
2.5 S-Eq 对高糖诱导的 INS-1 细胞 Glut2、UCP2 蛋白表达的影响

如图 6 所示,Western blot 检测发现,与 C 组比较,高糖处理组 Glut2 表达显著下降,UCP2 表达显著上升($P<0.05$)。与 H 组比较,0.1、1 μmol/L 和 10 μmol/L S-Eq 均能显著增加 Glut2 蛋白表达($P<0.05$),100 μmol/L S-Eq 作用并不明显,而各组 S-Eq 处理后 UCP2 表达均明显降低($P<0.05$)。



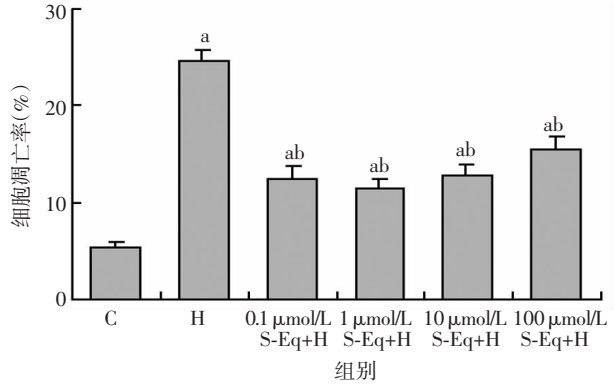
A:ELISA 检测葡萄糖刺激胰岛素分泌量;B: Real-time PCR 检测 PPI mRNA 表达　a:$P<0.05$,与 C 组比较;b:$P<0.05$,与 H 组比较

图 2　S-Eq 对高糖培养 INS-1 细胞胰岛素分泌的影响



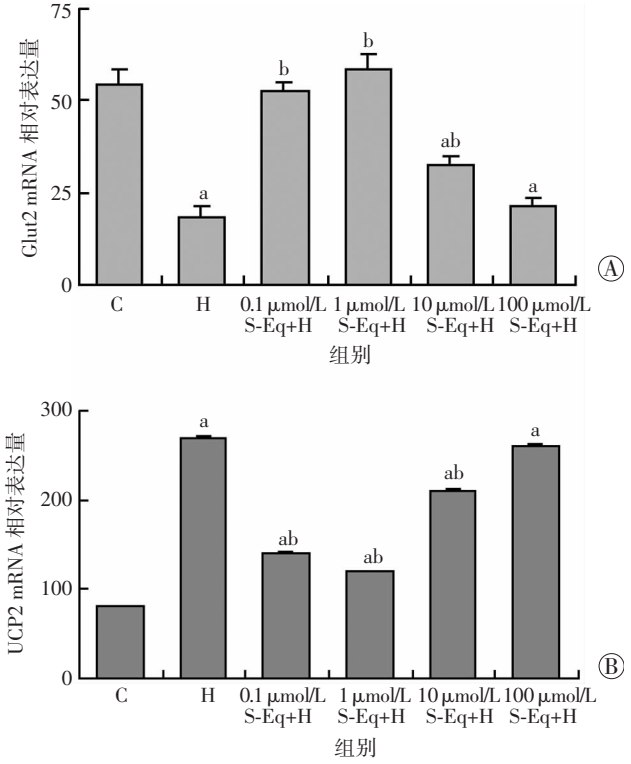
A:C 组;B:H 组;C:0.1 μmol/L S-Eq + H 组;D:1 μmol/L S-Eq + H 组;E:10 μmol/L S-Eq + H 组;F:100 μmol/L S-Eq + H 组

图 3　TUNEL 检测 S-Eq 对高糖诱导的 INS-1 细胞凋亡的影响



a:$P<0.05$,与C组比较;b:$P<0.05$,与H组比较

图4 流式细胞仪检测各组INS-1细胞的凋亡率



a:$P<0.05$,与C组比较;b:$P<0.05$,与H组比较

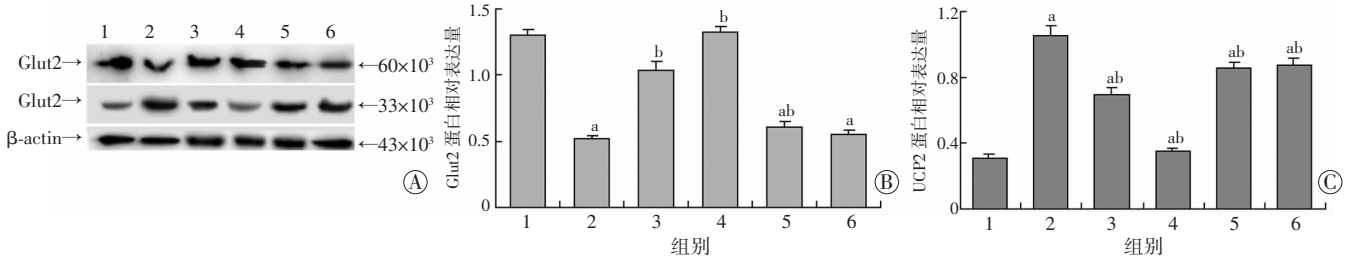
图5 S-Eq对高糖培养INS-1细胞Glut2(A)和UCP2(B) mRNA表达的影响

3 讨论

胰岛β细胞功能受损和胰岛素抵抗是T2DM发生、发展的主要病理机制,而胰岛素分泌功能障碍是胰岛β细胞功能受损的主要表现形式之一。高糖刺激胰岛素分泌量是衡量胰岛β细胞功能的一个重要指标。研究发现长期高血糖可导致胰岛细胞功能受损,胰岛素分泌能力下降,并且这种作用呈剂量和时间依赖性[10]。本研究利用高糖培养诱导INS-1细胞受损,发现H组INS-1葡萄糖刺激胰岛素分泌量较对照组显著降低,而S-Eq干预后能显著改善高糖诱导INS-1细胞胰岛素分泌。PPI mRNA表达量在一定程度上反映了胰岛素合成水平,本研究也发现0.1、1、10 μmol/L S-Eq可明显上调高糖条件下INS-1细胞中PPI mRNA的表达。以上研究结果均提示S-Eq能显著改善高糖诱导INS-1细胞胰岛素分泌。

胰岛β细胞凋亡是胰岛素分泌功能障碍的重要原因。以往研究发现,Eq是大豆黄素在体内通过生物转化产生具有较稳定化学结构的植物化合物,能够清除自由基,降低DNA链断裂,抑制氧化应激损伤及细胞凋亡[11]。本研究发现,高糖培养INS-1细胞活力明显降低,细胞凋亡率显著增加,而S-Eq能显著增加高糖条件下INS-1细胞增殖活力,抑制细胞凋亡。因此,本实验提示S-Eq改善高糖培养条件下GSIS功能可能是通过增强INS-1细胞活力,降低细胞凋亡来实现。

Glut2是一类介导葡萄糖摄取的膜蛋白,是胰岛素分泌偶联机制中的重要成员,提高Glut2表达有助于改善T2DM分泌功能障碍。生理条件下,葡萄糖可经Glut2转运进入细胞内,该蛋白与葡萄糖激酶共同形成葡萄糖感受器,调节胰岛素的合成与分泌[12-13]。而机体内长期高血糖水平可抑制胰岛β细胞Glut2基因的表达,减少细胞膜上的Glut2数目,从而导致血中葡萄糖主动转运受阻,进一步引起胰岛素分泌减少。已有研究报道新西兰肥胖小鼠[14]以及Zuker肥胖糖尿病大鼠[15]在内的多种糖尿病动物模型中,胰岛β细



1:C组;2:H组;3:0.1 μmol/L S-Eq+H组;4:1 μmol/L S-Eq+H组;5:10 μmol/L S-Eq+H组;6:100 μmol/L S-Eq+H组

A:Western blot检测结果;B、C:蛋白相对表达量 a:$P<0.05$,与C组比较;b:$P<0.05$,与H组比较

图6 S-Eq对高糖培养INS-1细胞Glut2和UCP2蛋白表达的影响

胞 Glut2 的表达减少。本研究采用高糖处理 INS-1 细胞后,Real-time PCR 与 Western blot 结果均表明 Glut2 表达下调,而 S-Eq 可抑制高糖诱导 β 细胞 Glut2 的减少,也提示 S-Eq 改善高糖诱导胰岛素分泌功能障碍可能与其上调 Glut2 的表达有关。

UCP2 是存在于线粒体内膜、与机体能量代谢和产热过程密切相关的一类脂肪酸阴离子转运载体,是胰岛素分泌的另一重要调节因子。以往研究发现高糖可引起胰岛细胞 UCP2 表达增加,胰岛细胞 GSIS 受损[16-18]。本研究发现与对照组比较,高糖处理组 UCP2 mRNA 与蛋白表达显著上调,S-Eq 能显著下调高糖诱导的 UCP2 表达,说明 S-Eq 改善胰岛细胞分泌与 UCP2 表达调控密切相关。

本研究通过体外细胞模型,发现 S-Eq 能显著抑制高糖诱导的 INS-1 细胞的损伤和胰岛素分泌障碍,可能与减少 INS-1 胰岛细胞凋亡及 UCP2 表达,提高 Glut2 的表达有关。后续研究中,我们将利用原代培养的胰岛细胞,以及离体的糖尿病大鼠胰岛,同时结合特异的 siRNA 沉默 UCP2 或 Glut2,进一步明确 S-Eq 改善胰岛细胞分泌功能的具体分子机制。本研究结果对于深入揭示 Eq 在糖尿病防治中的健康保护效应提供了新的理论依据,具有重要的实用价值。

参考文献:

[1] Nanri A, Mizoue T, Takahashi Y, *et al*. Soy product and isoflavone intakes are associated with a lower risk of type 2 diabetes in overweight Japanese women[J]. J Nutr, 2010, 140(3): 580-586.

[2] Valsecchi A E, Franchi S, Panerai A E, *et al*. The soy isoflavone genistein reverses oxidative and inflammatory state, neuropathic pain, neurotrophic and vasculature deficits in diabetes mouse model[J]. Eur J Pharmacol, 2011, 650(2/3): 694-702.

[3] Cho K W, Lee O H, Banz W J, *et al*. Daidzein and the daidzein metabolite, equol, enhance adipocyte differentiation and PPARγ transcriptional activity[J]. J Nutr Biochem, 2010, 21(9): 841-847.

[4] Zhang Y B, Li L N, Zhao X Y, *et al*. Effect of soy isoflavone crude extract supplementation on high fat diet-induced insulin resistance in ovariectomized rats[J]. Biomed Environ Sci, 2014, 27(1): 49-51.

[5] Ferguson J F, Ryan M F, Gibney E R, *et al*. Dietary isoflavone intake is associated with evoked responses to inflammatory cardiometabolic stimuli and improved glucose homeostasis in healthy volunteers[J]. Nutr Metab Cardiovasc Dis, 2014, 24(9): 996-1003.

[6] Virk-Baker M K, Barnes S, Krontiras H, *et al*. S-(-)equol producing status not associated with breast cancer risk among low isoflavone-consuming US postmenopausal women undergoing a physician-recommended breast biopsy[J]. Nutr Res, 2014, 34(2): 116-125.

[7] Brown N M, Galandi S L, Summer S S, *et al*. S-(-)equol production is developmentally regulated and related to early diet composition[J]. Nutr Res, 2014, 34(5): 401-409.

[8] Setchell K D, Clerici C. Equol: history, chemistry, and formation[J]. J Nutr, 2010, 140(7): 1355S-1362S.

[9] 刘凯, 陈卡, 周蕊, 等. S-Equol 对高糖培养 HepG2 细胞胰岛素敏感性及 IRS-1 表达的影响[J]. 现代生物医学进展, 2013, 13(7): 1210-1213.

[10] 陈莹晖, 李裕明, 林松挺, 等. 高糖诱导氧化应激对胰岛细胞功能的影响[J]. 海南医学院学报, 2012, 18(1): 12-14.

[11] 王萌, 任国峰. 雌马酚健康效应的研究进展[J]. 卫生研究, 2012, 41(5): 874-876.

[12] Marin-Juez R, Rovira M, Crespo D, *et al*. GLUT2-mediated glucose uptake and availability are required for embryonic brain development in zebrafish[J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2014, [Epub ahead of print].

[13] Al-Haggar M, Sakamoto O, Shaltout A, *et al*. Mutation analysis of the GLUT2 gene in three unrelated Egyptian families with Fanconi-Bickel syndrome: revisited gene atlas for renumbering[J]. Clin Exp Nephrol, 2012, 16(4): 604-610.

[14] Chankiewitz E, Peschke D, Herberg L, *et al*. Did the gradual loss of GLUT2 cause a shift to diabetic disorders in the New Zealand obese mouse (NZO/Hl)?[J]. Exp Clin Endocrinol Diabetes, 2006, 114(5): 262-269.

[15] Kiraly M A, Bates H E, Kaniuk N A, *et al*. Swim training prevents hyperglycemia in ZDF rats: mechanisms involved in the partial maintenance of beta-cell function[J]. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2008, 294(2): E271-E283.

[16] Brand M D, Parker N, Affourtit C, *et al*. Mitochondrial uncoupling protein 2 in pancreatic beta-cells[J]. Diabetes Obes Metab, 2010, 12 Suppl 2: 134-140.

[17] Affourtit C, Jastroch M, Brand M D. Uncoupling protein-2 attenuates glucose-stimulated insulin secretion in INS-1E insulinoma cells by lowering mitochondrial reactive oxygen species[J]. Free Radic Biol Med, 2011, 50(5): 609-616.

[18] Lee S C, Robson-Doucette C A, Wheeler M B. Uncoupling protein 2 regulates reactive oxygen species formation in islets and influences susceptibility to diabetogenic action of streptozotocin[J]. J Endocrinol, 2009, 203(1): 33-43.

(**收稿**:2014-09-11;**修回**:2014-10-14)

(编辑 吴培红)