维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号:0253-3626(2006)02-0186-04

抗氧化剂丙丁酚对 STZ 导致的糖尿病小鼠胰岛 β 细胞功能的影响

叶秀兰,张素华

(重庆医科大学附属第一医院内分泌科,重庆 400016)

【摘 要】目的:观察抗氧化剂丙丁酚对 STZ 导致的糖尿病小鼠胰岛 β 细胞功能的影响。方法:分正常对照组,正常对照治疗组,糖尿病组,糖尿病治疗组。用 1%的丙丁酚加入标准的小鼠饲料中,进行预防性干预,小鼠腹腔注射 STZ 后在不同时间测空腹血糖、血浆胰岛素,做腹腔葡萄糖耐量试验,取胰腺标本作病理切片。结果:丙丁酚干预组 0w、1w、2w、3w 小鼠空腹血糖均较糖尿病组明显降低,且有显著性差异;3w 时丙丁酚干预组腹腔葡萄糖耐量试验显示空腹及葡萄糖注射后 0.5h、1h、2h 其血糖均较糖尿病组降低,且有显著性差异($P<0.05$ 或 0.01)。3w 时糖尿病预防给药组空腹血清胰岛素水平较糖尿病组明显升高($P<0.01$)。结论:抗氧化剂丙丁酚有降低 STZ 导致的糖尿病小鼠的空腹血糖及改善糖耐量的作用;抗氧化剂丙丁酚通过保护 STZ 导致的糖尿病小鼠胰岛 β 细胞功能而降低血糖的作用。

【关键词】糖尿病;丙丁酚;β 细胞功能;链脲佐菌素

【中国图书分类法分类号】R587.1 【文献标识码】A 【收稿日期】2005-06-07

Effect of probucol on pancreatic β-cells in STZ-induced diabetes mice

YE Xiulan, et al

(*Department of Endocrinology, the First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To study the effect of probucol on pancreatic β-cells in STZ-induced diabetes mice. *Methods:* The mice were randomly divided into four groups with ten mice in each group. The first group was given standard food (C group), The second group given standard food and 1% probucol (C + T group). The third group given standard food and treated with multiple low-dose of STZ (D group), and the forth group given standard food, 1% probucol as well as treated with multiple low-dose of STZ (D + T group). The preventive intervention was undertaken with standard diet mixed with 1% probucol in Kunming mice. At different time after STZ was injected intraperitoneally, fasting blood glucose was measured. Serum insulin and glucose tolerance test was done. The pancreatic pathological cbanges were investigated under light microscope. *Results:* The fasting blood glucose at 0,1,2,3 weeks in D+C group was lower than that in D group ($P<0.05$ or $P<0.01$). At 3 weeks in D+C group glucose tolerance was significantly improved ($P<0.05$ or 0.01) and compared with the D group, serum fasting insulin in D+C group was increased ($P<0.01$). *Conclusion*: Probucol could reduce fasting blood glucose and improve glucose tolerance by protection of pancreatic β-cells in STZ-induced diabetes mice.

【Key words】Diabetes mellitus ;Probucol; Beta cells; Streptozotocin

2型糖尿病的发病机制主要为胰岛素抵抗及 β 细胞功能受损两方面,目前认为只有胰岛素抵抗不足以引发糖尿病,而须同时有 β 细胞功能受损,胰岛素抵抗为始动因子,β 细胞功能异常为决定因子。随着人们对胰岛 β 细胞功能受损在糖尿病的发生发展过程中所起的重要作用认识的深入,在糖尿病的治疗过程中采取了一些保护胰岛 β 细胞功能的措施,如胰岛素的强化治疗。但目前尚没有直接针对保护胰岛 β 细胞的治疗。近来的研究认为胰岛 β 细胞是一个氧化应激易受损害的器官,与 2 型糖尿病的 β 细胞的功能进行性减退有关,高糖毒性及脂毒性在 2 型糖尿病的发生发展过程中均起到了重要的作用,高糖毒性及脂毒性均与氧化应激有关,氧化应激可引起 β 细胞凋亡及抑制胰岛素合成。这些结果为抗氧化剂治疗糖尿病提供了理论基础,抗氧化剂治疗可能成为 2 型糖尿病的重要治疗方法之一。丙丁酚(Pb)是一种抗氧化剂,作为

作者介绍:叶秀兰(1964-),副主任医师,博士生,主要研究方向:糖尿病。

维普资讯 http://www.cqvip.com

降脂药在临床中使用，研究其对胰岛 β 细胞功能的保护作用有其实际的意义。

1 材料与方法

1.1 动物

雄性昆明小鼠 40 只（由重庆医科大学实验动物中心提供），6 周龄。小鼠由专人单笼饲养，明暗周期 12h，自由取食和饮水，房间温度保持在 25℃左右，湿度在 50%左右。

1.2 分组

适应性喂养 1w 后进行分组，正常对照组（C），正常对照治疗组（C+T），糖尿病组（D），糖尿病治疗组（D+T），每组 20 只。

1.3 观察指标及测定方法

用 1%的丙丁酚加入标准的小鼠饲料中，用于喂养正常对照治疗组和糖尿病治疗组，标准的小鼠饲料用于喂养正常对照组和糖尿病组，适应性喂养 1w 后采用 0.1mmol/L 枸橼缓冲液配成的 0.5%链脲佐菌素（STZ）溶液，以 50mg/kg 体重单次腹腔注射 STZ，每天上午 1 次，连续 5 天，于注射后的 0w、1w、2w、3w 空腹取小鼠尾部血测血糖，3w 后尾静脉测胰岛素，室温下 2 000r/min 离心 5min，分离血清，于 -20℃保存备用。用 1.11mmol/L 葡萄糖按 2g/kg 做腹腔葡萄糖耐量试验，尾部滴血测 0h、0.5h、1h、2h 血糖，断头处死，剖腹取胰腺标本，取标本置于 4%多聚甲醛中固定，待做病理切片。丙丁酚由山东齐鲁制药厂提供，批号：0108001，国药准字：H 10980054，0.5g/ 片。采用美国 lifescan 公司 one-Touch Ⅱ型血糖仪测血糖。空腹血清胰岛素（FINS）测定采用放射免疫分析法。HE 染色观察胰岛形态变化。

1.4 统计学处理

应用 SPSS10.0 统计软件做数据处理分析。计量资料以均数 ± 标准差表示（$\bar{x} \pm s$），组间比较用 t 检验，$P<0.05$ 有显著性差异。

2 结 果

2.1 丙丁酚对糖尿病小鼠不同时间空腹血糖的影响

糖尿病组的空腹血糖在最后一次 STZ 注射完后 0w 已较对照组显著升高（$P<0.05$），第 1w、第 2w 及第 3w 血糖进一步升高，与正常对照组相比有显著性差异（$P<0.01$ 及 $P<0.05$）。糖尿病预防给药组与糖尿病组相比在 0w 的时候血糖已降低，且有显著性差异（$P<0.05$），第 1w、第 2w 及第 3w 血糖虽然未完全降低到正常，但仍较对照组显著降低（$P<0.01$），而正常治疗组与正常组相比血糖无显著性差异。

2.2 丙丁酚对 STZ 注射 3w 后腹腔注射葡萄糖耐量试验的影响

糖尿病组的腹腔注射葡萄糖耐量试验显示，空腹及葡萄糖注射后 0.5h、1h、2h 其血糖均较正常对照组升高，且有显著性差异（$P<0.01$）；糖尿病预防给药组与糖尿病组相比空腹及葡萄糖注射后 0.5h、1h、2h 其血糖均较糖尿病组降低，且有显著性差异（$P<0.05$ 或 $P<0.01$），而正常治疗组与正常组相

表 1 丙丁酚干预后不同时间空腹血糖的影响

分组	例数	0 w (mol/L)	1 w (mol/L)	2 w (mol/L)	3 w (mol/L)
C	10	8.26±0.59	8.47±0.49	8.21±0.69	8.33±0.59
C+T	10	8.28±0.77	8.58±0.69	8.71±0.59	8.49±0.90
D	10	11.74±0.6$^{\triangle\#}$	17.68±1.34$^{\triangle\triangle\#\#}$	18.94±1.55$^{\triangle\triangle\#\#}$	19.79±1.61$^{\triangle\triangle\#\#}$
D+T	10	9.32±0.57*	10.23±0.61**	11.45±0.62$^{\triangle}$**	12.67±0.72$^{\triangle}$**

注：所有值用 $\bar{x} \pm s$ 表示。与对照组相比$^{\triangle}$表示 $P<0.05$，$^{\triangle\triangle}$表示 $P<0.01$；与 STZ 组相比 * 表示 $P<0.05$，** 表示 $P<0.01$；与对照组治疗组相比 # 表示 $P<0.05$，## 表示 $P<0.01$；0w、1w、2w 及 3w 是最后 1 次 STZ 注射后的时间。

表 2 丙丁酚对 STZ 注射 3w 后腹腔注射葡萄糖耐量试验的影响

分组	例数	0 h (mmol/L)	0.5 h (mmol/L)	1 h (mmol/L)	2 h (mmol/L)
C	10	8.33±0.59	11.92±0.73	9.65±0.53	8.40±0.72
C+T	10	8.49±0.90	11.67±0.89	9.76±0.72	8.84±0.81
D	10	19.79±1.61$^{\triangle\triangle\#\#}$	26.76±2.74$^{\triangle\triangle\#\#}$	24.23±3.01$^{\triangle\triangle\#\#}$	23.27±4.88$^{\triangle\triangle\#\#}$
D+T	10	12.67±0.72*	17.57±1.35**	15.73±1.35**	14.46±0.73**

注：所有值用 $\bar{x} \pm s$ 表示。与对照组相比$^{\triangle}$表示 $P<0.05$，$^{\triangle\triangle}$表示 $P<0.01$；与 STZ 组相比 * 表示 $P<0.05$，** 表示 $P<0.01$；与对照组治疗组相比 # 表示 $P<0.05$，## 表示 $P<0.01$。

维普资讯 http://www.cqvip.com

比血糖无显著性差异。

2.3 丙丁酚对 STZ 注射后 3w 空腹血清胰岛素水平的影响

结果显示糖尿病组的空腹血清胰岛素水平均较正常对照组降低，且有显著性差异（$P<0.01$）；糖尿病预防给药组空腹血清胰岛素水平较糖尿病组明显升高，且有显著性差异（$P<0.01$），而正常治疗组与正常组相比血清胰岛素水平均较正常对照组无显著性差异。

2.4 丙丁酚对胰岛形态的影响

表 3 丙丁酚对 STZ 注射后 3w 空腹胰岛素的影响

分组	例数	INS(mIU/L)
C	10	36.34±5.48
C+T	10	36.29±5.33
D	10	13.32±3.02△△##
D+T	10	25.78±4.36**

注：所有值用表 $x\pm s$ 示

△△表示 $P<0.05$，△△表示 $P<0.01$

与 STZ 组相比 * 表示 $P<0.05$，** 表示 $P<0.01$

#与对照组治疗组相比 * 表示 $P<0.05$，## 表示 $P<0.01$

HE染色后，显微镜下观察发现在 STZ 处理后 3w，糖尿病组胰岛数目减少，部分胰岛细胞周围仍可见侵润的炎性细胞，胰岛细胞数目减少。丙丁酚糖尿病预防治药组，胰岛 β 细胞数目较糖尿病组明显增加，但未发现胰岛周围出现炎性细胞。正常



图 1 正常对照组小鼠胰岛 HE 染色(10×10)

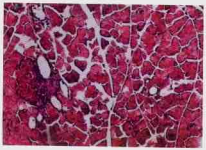


图 12 糖尿病组小鼠胰岛 HE 染色(10×10)

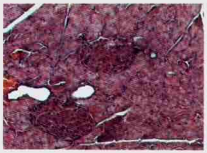


图 3 糖尿病预防给药组小鼠胰岛 HE 染色(10×10)

对照组胰岛数目较多，胰岛呈卵圆形，胰岛较大，胰岛边界清晰，无侵润的炎性细胞，胰岛 β 细胞数目较多。

3 讨 论

本研究用丙丁酚干预性的治疗 STZ 导致的糖尿病小鼠，观察其对胰岛 β 细胞功能的影响，结果显示丙丁酚有减低 STZ 导致的糖尿病小鼠的空腹血糖的作用，该作用从 0w 一直持续到第 3w，还有改善糖耐量的作用，说明丙丁酚有改善 STZ 导致的 DM 小鼠血糖的作用。造成 DM 的两大主要机制一方面是胰岛素抵抗，另一方面是 β 细胞功能受损，而我们选择昆明小鼠无遗传性 IR，我们未喂养高脂饮食，均喂养标准小鼠饮食，因此，不存在组织对胰岛素敏感性的差别。而该研究还显示丙丁酚干预组的血清胰岛素水平较糖尿病组明显增加，且有显著性差异，说明丙丁酚有增加血清胰岛素的水平，保护 STZ 导致的糖尿病小鼠胰岛 β 细胞功能损害，改善糖耐量，与 Gorogawa 等[1]研究结果一致。提示丙丁酚降低 STZ 导致的糖尿病小鼠的血糖是通过保护胰岛 β 细胞功能所致。

本研究还显示多次小剂量 STZ 腹腔注射小鼠 5 次后的第 1 天，空腹血糖已开始升高，虽然血糖增高的程度未达到糖尿病的标准，但已较正常对照组明显增加，且有显著性差异，与 O' Brien 等[2]的结果吻合。本结果显示丙丁酚干预组在 STZ 注射小鼠后的第 1 天血糖已较对照组明显减低，提示抗氧化剂丙丁酚有预防性的降低多次小剂量 STZ 导致的糖尿病小鼠的血糖的作用。O' Brien 等[2]研究显示因此多次小剂量 STZ 注射导致的糖尿病小鼠在早期主要是 STZ 对 β 细胞的直接毒性作用导致的细胞凋亡所致。STZ 通过产生自由基导致胰岛 β 细胞的毒性作用，从而导致细胞内 DNA 链的断裂[3]，DNA 链

维普资讯 http://www.cqvip.com

的断裂可诱导细胞凋亡，Martens 等[4]用 β 细胞进行试验，其结果显示，ROS 可导致 β 细胞凋亡。丙丁酚为一种抗氧化剂，推测其预防性的降低 STZ 导致的糖尿病小鼠血糖的作用可能为与对抗 STZ 导致的氧化应激有关，通过对抗氧化应激而降低胰岛 β 细胞的凋亡。

本研究结果显示，在最后 1 次 STZ 注射后 1w、2w 和 3w，空腹血糖较 0w 时有更明显的增高，达到了糖尿病的诊断标准，根据 O′ Brien 等[2]的研究报道，在多次小剂量的 STZ 注射后的第 3 天胰岛出现炎性细胞的侵润，因此在最后一次 STZ 注射后 1w、2w 和 3w 的高血糖除与 STZ 直接的细胞毒性作用外，更主要与 STZ 导致的炎症损伤所致。而炎症损伤与氧自由 NO、H_2O_2、O_2 有关[5,6]。由此可见，多次小剂量的 STZ 注射导致的糖尿病其胰岛 β 细胞的免疫性损害与氧化应激有关。经过抗氧化剂丙丁酚的干预治疗后，在最后一次 STZ 注射后 1w、2w 和 3w，空腹血糖均较糖尿病组明显下降，其第 3w 进行的腹腔葡萄糖耐量试验其糖耐量较糖尿病组明显改善及血清胰岛素水平也明显升高。提示抗氧化剂丙丁酚除能对抗 STZ 直接导致的胰岛 β 细胞损伤外，也可对抗 STZ 导致的免疫炎性反应所致的胰岛 β 细胞损害，从而保护胰岛 β 细胞功能。

目前研究认为，不仅 1 型糖尿病的发病与炎性反应有关，而且 2 型糖尿病的发病也与炎症过程有密切的关系，细胞因子作为炎症过程重要的调节因子与 2 型糖尿病的关系日益受到重视。因此推测抗氧化剂丙丁酚保护 STZ 导致的糖尿病小鼠胰岛 β 细胞功能的作用不仅对 1 型糖尿病的防治而且对 2 型糖尿病的防治有同样有意义。

该研究结果显示糖尿病组从 STZ 注射后的 0w 到 3w 均存在高血糖，而丙丁酚干预组的小鼠血糖较糖尿病组明显下降，除丙丁酚有对抗 STZ 导致的胰岛 β 细胞损伤外，可能还有对抗高血糖对胰岛 β 细胞损伤的作用有关。Gorogawa 等[1]的研究结果已证实丙丁酚有保护高血糖对 2 型糖尿病 db/db 小鼠的对胰岛 β 细胞的高葡萄糖毒性。说明抗氧化剂丙丁酚有对抗高血糖对胰岛 β 细胞的高葡萄糖毒性而降低血糖。

本研究显示丙丁酚有预防性保护 STZ 导致的糖尿病小鼠胰岛 β 细胞的功能的作用，有研究显示在 STZ 注射 ADA 大鼠后的几天用 1%丙丁酚治疗 4w 以及在 STZ 注射 ADA 大鼠后的 6w 开始用 1%丙丁酚治疗 8w，均显示丙丁酚能明显降低血糖，改善葡萄糖刺激的胰岛素分泌[7]，该研究说明丙丁酚同样有治疗性的保护 STZ 导致的糖尿病大鼠胰岛 β 细胞功能的作用。

综上所述，本研究结果表明：抗氧化剂丙丁酚有降低 STZ 导致的糖尿病小鼠的空腹血糖及改善糖耐量的作用；抗氧化剂丙丁酚通过保护 STZ 导致的糖尿病小鼠的胰岛 β 细胞功能而降低血糖的作用。

糖尿病的危害在于其导致的并发症，并发症有微血管病变及大血管病变，微血管病变与高血糖引起的氧化应激有关，大血管病变与动脉粥样硬化有关，2 型糖尿病常常伴有胰岛素抵抗。胰岛素抵抗、糖耐量异常及糖尿病这 3 种状况均与心血管的危险因素的增加有关，而且这 3 种状况均伴随着氧化应激，近来 Antonio Ceriello 等[8]提出了氧化应激作为联系胰岛素抵抗与胰岛 β 细胞功能损害与血管内皮损害的病理机制，最终导致糖尿病及心血管疾病。因此抗氧化剂治疗糖尿病的研究对糖尿病、糖尿病的并发症及心血管疾病的防治均有重要的意义。大量的研究证明丙丁酚有抗动脉粥样硬化的作用，国内研究已表明丙丁酚有抑制高密度脂蛋白(HDL)的氧化作用，推测通过减少 HDL 的氧化是丙丁酚抑制动脉粥样硬化的机制之一[9]。而 2 型糖尿病常常并发大血管病变，因此丙丁酚不仅有保护胰岛 β 细胞的作用，而且对糖尿病的并发症也有有益的作用。

（第一作者现工作单位：贵州省人民医院内分泌科。）

参 考 文 献

[1] 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.

[2] O′ Brien BA, Harmon BV, Cameron DP, et al. Beta-cell apoptosis is responsible for the development of IDDM in the multiple low-dose streptozotocin model [J]. J Pathol, 1996;178(2):176-181.

[3] Okamoto H. Molecular basis of experimental diabetes: degeneration oncogenesis and regeneration of pancreatic B-cells of islets of Langerhans [J]. Bio Essays, 1985;2:15-21.

[4] Martens GA, Cai Y, Hinke S, et al. Glucose suppresses su-

（下转第 214 页）

维普资讯 http://www.cqvip.com

非专业组受试者右侧半球处理加工英语单词任务时其感兴趣区激活体素百分数,提示右侧半球执行英语任务作业机制可能与英语熟练程度相关[15]。

对于双语记忆表征,Potter[16]于 80 年代提出语言表征的层级模型,即单词联想模型和概念中介模型。单词联想模型认为在进行跨语言加工时,两种语言中的词汇可以通过词汇通路进行直接转换,不必通过概念的中介。概念中介模型则认为两种语言中的词汇均通过概念进行转换。随着第二语言熟练程度的提高,双语者的记忆表征有一个从单词联想模型发展到概念中介模型的过程。专业组受试者长期多机会接触第二语言,记忆表征可能更多借助概念中介模型,其语义提取过程更为简捷通达,因而更多依靠右侧半球机制。以上仅属推测,尚待进一步探讨。

本实验以声觉为刺激形式,由于样本含量较少,某些实验变量难于控制,fMRI 正处于发展成熟阶段,人类语言认知活动高度复杂多样,所得结论尚需进一步验证。将来可以扩大样本含量,改善试验设计,控制实验变量,并结合其它现代科技手段,进一步探索人类认知世界的奥秘。

参 考 文 献

[1] Wada J, Rasmussen T. Intracarotid injection of sodium amytal for the lateralization of cerebral speech dominance; experimental and clinical observations [J]. J Neurosurg, 1960;17:266-282.

[2] 张学军,刘买利,叶朝辉. 脑功能磁共振成像研究进展[J]. 中国神经科学杂志,2001;17:270-273.

[3] 张忠林, 沈天真, 陈星荣. 脑血氧水平依赖性功能 MR 成像研究与进展[J].国外医学临床放射学分册,2001;24:65-69.

[4] Belliveau JW, Kennedy DN, Mckinstry RC, et al. Functional mapping of the human visual cortex by magnetic resonance imaging[J]. Science, 1991;254(5032):716-719.

[5] 唐竹吾. 中枢神经系统解剖学[M]. 上海:上海科学出版社,1986;229-262.

[6] 郭念峰,匡培梓. 语言与思维.见:韩济生.神经科学纲要[M]. 北京: 北京医科大学 中国协和医科大学联合出版社,1993;737-747.

[7] 李恩中, 翁旭初, 韩 璎, 等. 语言与音乐刺激下脑功能活动的 MR 功能成像研究 [J]. 中华放射学杂志,1999;33:311-315.

[8] Fiez JA, Perersen SE. Neuroimaging studies of word reading [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1998;95:914-921.

[9] Herbster AN, Mintun MA, Nebes RD, et al. Regional cerebral blood flow during word and non-word reading [J]. Human brain map, 1997;5:84-92.

[10] Petersen SE, Fox PT, Snyder AZ, et al. Activation of extrastriate and frontal cortical areas by visual words and word-like stimuli [J]. Science, 1990;249:1041-1044.

[11] Zatorre R J, Evans A C, Meyer E, et al.Lateralization of phonetic and pitch processing in speech perception [J]. Science, 1992;256:846-849.

[12] Pillai JJ, Araque JM, Allison JD, et al. Functional MRI study of semantic and phonological language processing in bilingual subjects:preliminary findings[J]. Neuroimage, 2003;19(3):565-576.

[13] Paulesu E, Frith CD, Frackowiak RSJ. The neural correlates of the verbal component of working memory [J]. Nature, 1993;362: 342-345.

[14] Salmon E, Vander LM, Collette F, et al. Regional brain activity during working memory tasks[J]. Brain, 1996;119: 1617-1625.

[15] Ding Guosheng, Perry Conrad, Peng Danling, et al. Neural mechanisms underlying semantic and orthographic processing in Chinese-English bilinguals [J]. Neuroport, 2003;14 (12):1557-1562.

[16] Potter MC, So KF, Eckardt B, et al. Lexical and conceptual representation in beginning and more proficient bilinguals [J]. J Verb Learn and Verb behav, 1984;23: 23-38.

(上接第 189 页)

peroxide generation in metabolically responsive pancreatic beta cells [J]. J Biol Chem, 2005;17.

[5] Trembleau S, Germann T, Gately M, et al. The role of IL-12 in the induction of organ-spicific autoimmune diseasa[J]. Immunology Today, 1995;16:383-387.

[6] Rabinovitach AImmunoregulatary and cytockin imbalances in the pathogenesis of IDDM [J]. Diabetes, 1994;43:613-619.

[7] 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.

[8] Antonio Ceriello, Enrico Motz. Is Oxidative Stress the Pathogenic Mechanism Underlying Insulin Resistance, Diabetes, and Cardiovascular Disease? The Common Soil Hypothesis Revisited [J] . Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology, 2004;24:816.

[9] 胡厚源,陈运贞. HDL 的体外氧化及丙丁酚的抗氧化作用[J]. 重庆医科大学学报, 2000;25:253-255.