维普资讯 http://www.cqvip.com

203-206

第22卷 第3期 重庆医科大学学报 Vol.22 No.3
1997 ACTA UNIVERSITATIS SCIENTIAE MEDICINAE CHONGQING 1997

链佐霉素糖尿病大鼠胰岛损伤及牛磺酸对损伤保护的病理形态免疫组化研究*

基础医学院 生理教研室 张 能** 方海立
病理教研室 张 徽 李园园
重庆市第五人民医院卫校 张志勇

提 要 本文应用胰岛素、胰升血糖素和生长抑素抗血清，通过免疫组化染色对STZ诱导的糖尿病大鼠(Ⅰ对照组)以及用牛磺酸对其进行防治(Ⅱ防治组和Ⅲ治疗组)后胰岛的病理形态进行观察。结果：Ⅱ和Ⅲ组较Ⅰ组胰岛B细胞变性坏死程度明显减轻，且B细胞表达胰岛素呈阳性的胰岛分别占44.6%和34.9%，均较Ⅰ组23.3%增高，Ⅱ和Ⅰ组之间有显著差异($P<0.05$)。三个组均见部分胰岛表达升血糖素的A细胞发生明显增生。胰岛D细胞未见病理改变。我们的结果提示STZ对胰岛B细胞具有直接的损伤作用；A细胞的增生可能与STZ有关，并参与了升高血糖效应。牛磺酸对STZ造成胰岛B细胞的损伤具有比较明显修复作用。

关键词 糖尿病；胰岛；牛磺酸；免疫组织化学 胰岛损伤 链佐霉素
中图分类号 R587.102 R978.12

牛磺酸(Taurine)具有高度的细胞保护作用[1]，对链佐菌素(Streptozotocin,STZ)等引起动物糖尿病时的血糖升高有抑制效应[2]。我们观察到牛磺酸能够反转由白细胞介素-1β所引起的大鼠离体胰岛细胞胰岛素分泌的抑制效应[3]。STZ糖尿病动物模型已广泛应用于胰岛素依赖性糖尿病研究，对其作用机理有不少文献报道，但少见对其免疫组化方面的研究资料。本实验在STZ诱导实验性糖尿病大鼠模型上用胰岛素、胰升血糖素和生长抑素抗血清，通过免疫组化观察胰岛的病理形态改变及牛磺酸对STZ引起的胰岛损伤的影响，并从病理形态学上进一步探讨牛磺酸对胰岛细胞的保护作用。

1 材料与方法

1.1 动物模型的建立和分组 体重150-200g雄性Wistar成年大鼠35只(由本校实验动物中心提供)，其中30只随机分成：Ⅰ(对照组)、Ⅱ(防治组)、Ⅲ(治疗组)组，其中防治组给予牛磺酸灌胃(7g/kg/d)连续服用7天，对照组和治疗组则给予同体积生理盐水灌胃。5天后，三个组分别腹腔注射STZ(60mg/kg体重，0.1mol/L柠檬酸缓冲液配制，pH5.0)。48h后测血糖浓度，以血糖浓度高于注射前70%以上为糖尿病鼠，其余予以淘汰，不计入资料统计范围。治疗组与防治组口服牛磺酸，对照组则继续口服生理盐水。另5只动物作空白对照。

1.2 免疫组化染色 注射STZ后第10天，断头处死动物取出胰腺，用10%中性福尔马林液固定，常规脱水，石蜡包埋，5μm连续切片，每例均做HE染色及S-P免疫组化染色。第一抗体及工作浓度：胰岛素抗血清为单抗1:10；胰升血糖素抗血清为多抗，工作液；生长抑素抗血清为多抗1:100。以上血清及S-P试剂盒均购于北京中山生物试剂公司，为Sigma公司产品。实验中以正常Wistar大鼠胰腺组织中的胰岛为阳性对照，PBS液代替一抗作为阴性对照。

1.3 免疫组化染色结果判断标准和计数 以正常大鼠胰岛A、B和D细胞分别表达胰升血糖素、胰岛素和生长抑素作为阳性反应的对照，反应强度低于正常对照者为弱阳性，无阳性反应则为阴性。每例均以整个组织切片中所有胰岛进行计数观察，观察计数采用双盲法。

1.4 统计学处理 本实验采用组间比较设计，结果用χ^2检验作统计处理。

2 结果

* 四川省卫生厅资助课题(川卫科教(95)043号)
** 男，1945-04月生，副教授

维普资讯 http://www.cqvip.com

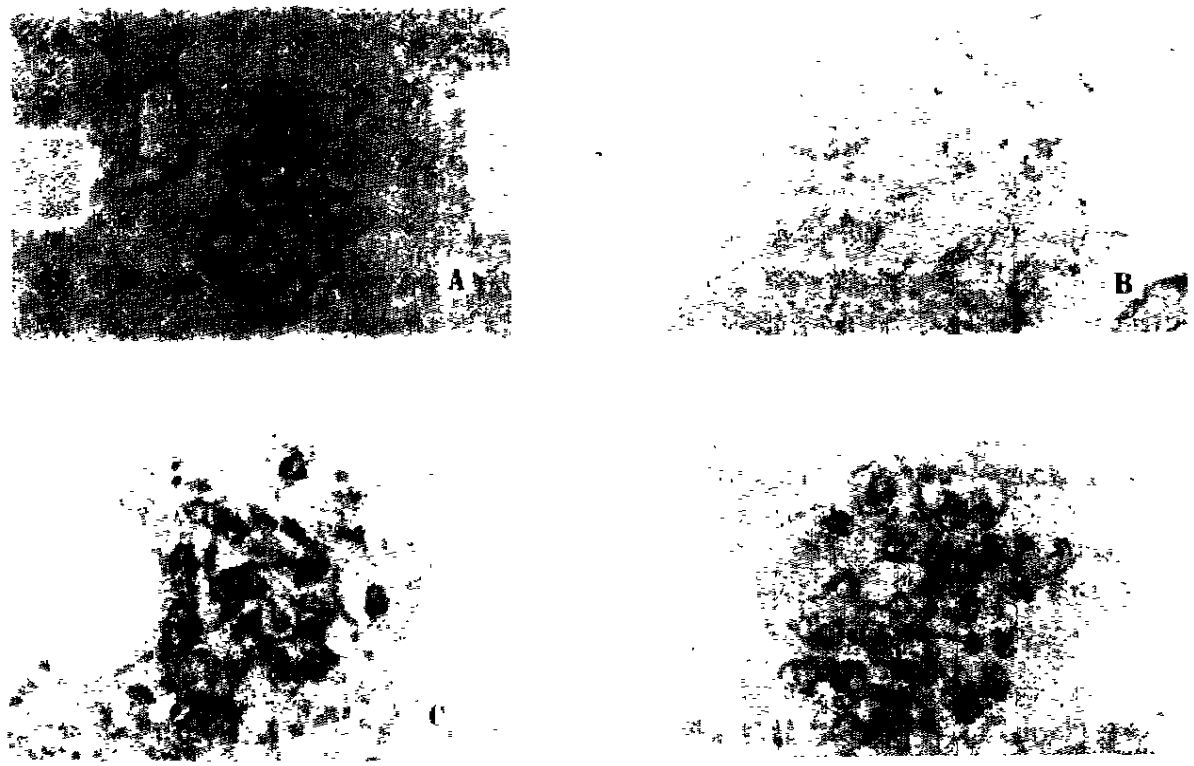


图1 胰岛素免疫组化染色
A、正常大鼠胰岛B细胞表达胰岛素均呈阳性(×200)
B、对照组胰岛B细胞表达胰岛素明显减弱，呈弱阳性(×400)
C与D、防治组和治疗组胰岛多数B细胞呈阳性表达，少许为弱阳性(×400)

2.1 HE染色光镜观察

对照组中胰岛B细胞均出现程度不一的空泡变性，细胞体积增大，胞浆疏松淡染，呈空网状，且部分细胞发生核溶解及核固缩坏死。防治组和治疗组见部分胰岛内B细胞出现程度不一的空泡变性和少许细胞发生坏死，但变性坏死程度较对照组显著减轻。三个组中A细胞位于胰岛周边部，细胞体积较B细胞稍小，核卵圆形，染色质细，细胞境界不清，未见明显的变性改变。三个组中在部分胰岛周边部见A细胞密集成带状或小团状，并较正常大鼠增多。

2.2 免疫组化染色

2.2.1 胰岛素检测 正常大鼠和三个组中表达胰岛素的B细胞均位于胰岛中央大部。对照组、防治组和治疗组中呈阳性表达的胰岛百分率分别为23.3%、44.6%和34.9%，呈弱阳性表达的胰岛百分率分别为72.6%，55.4%和64.3%。在对照组还见3个胰岛内整个B细胞完全呈阴性反应(图1)。结果见表1。实验结果经统计学分析，防治组和对照组之间有显著差异($P<0.05$)，治疗组和对照组之间未见统计学差异($0.05<P<0.1$)。

图1 胰岛B细胞表达胰岛素免疫组化染色结果

分 组	例数n	胰岛个数	表达胰岛素的胰岛个数		
			阳性	弱阳性	阴性
对照组	7	73	17	53	3
防治组	6	47	21	26	0
治疗组	9	126	44	81	1

2.2.2 胰升血糖素检测 正常大鼠和三个组中表达胰升血糖素的A细胞位于胰岛周边部，三个组中多数样本内A细胞表达胰升血糖素反应强弱与

维普资讯 http://www.cqvip.com

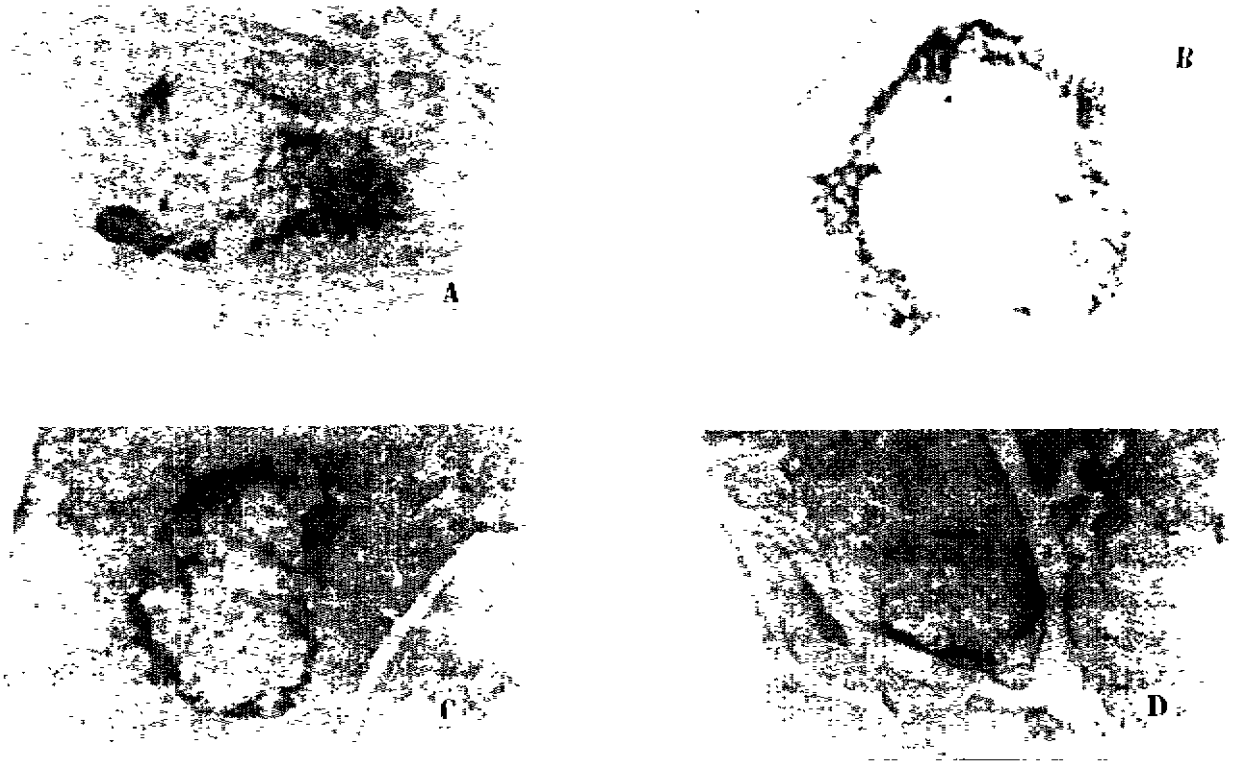


图2 胰升血糖素免疫化染色(×200)
A、正常大鼠胰岛，表达胰升血糖素的A细胞位于胰岛周边，细胞数量较少
B、对照组胰岛表达胰升血糖素的A细胞呈宽带状分布于周边，数量显著增多
C、防治组，表达情况与B基本一致(×400)
D、治疗组表达胰升血糖素的A细胞位于胰岛周边，呈小灶状，细胞数量增多

阳性对照组基本相同，但部分胰岛内A细胞数量明显多于正常大鼠胰岛内A细胞的数量(图2)。三个组之间未进行计量比较观察。

2.2.3 生长抑素的检测 正常大鼠和三个组中表达生长抑素的D细胞在胰岛内数量少，呈散在分布，表达生长抑素的阳性强弱无明显差别。

3 讨论

3.1 STZ对胰岛的影响

据文献报道，STZ对B细胞具有直接的损伤作用[4,5,8]，B细胞的损伤导致胰岛素产生和分泌减少，引起血糖升高，从而导致糖尿病的发生。造成B细胞损伤的具体机理尚不完全清楚，一些实验结果显示STZ对B细胞的细胞毒性作用与细胞内自由基代谢异常、抗自由基防御机制受损(SOD水平低下)，自由基含量升高有关[7]。本实验结果显示STZ诱导的糖尿病大鼠模型胰岛B细胞发生空泡变性，细胞内颗粒减少，胞浆疏松呈空网状，且部分细胞发生核固缩或核溶解性坏死，与Arison等[4]和Junod等[5]的观察结果一致。我们用免疫组化检测显示糖尿病大鼠72.6%的胰岛表达胰岛素呈弱阳性，甚至少数胰岛呈阴性反应。实验结果提示STZ对胰岛B细胞具有直接损伤作用和抑制胰岛素合成的作用，导致血中胰岛素水平降低和血糖升高(有关胰岛素及血糖的变化，我们作另篇报道)。值得注意的是，本实验还观察到糖尿病大鼠胰岛中位于周边部的A细胞，细胞形态较完整，而且部分胰岛中出现A细胞数量增多，胰升血糖素的表达比正常大鼠明显增强，与姬秋和等[8]所观察到的有A细胞增生的结果类似。我们推测，A细胞增生所产生胰升血糖素量的异常增加，可直接刺激或通过旁分泌方式刺激B细胞的分泌，在这

维普资讯 http://www.cqvip.com

种持续的较正常过强的刺激作用下，最终可导致部份B细胞合成与释放胰岛素耗竭。本实验结果提示，在STZ糖尿病模型中，A细胞增生可能也参与了升高血糖效应。

本实验用生长抑素抗血清通过免疫组化方法对胰岛内D细胞进行标记观察，见糖尿病大鼠胰岛内D细胞数量较少，呈散在分布，其细胞数量和表达生长抑素的强弱同正常大鼠无明显变化。表明STZ对胰岛D细胞无明显损伤作用。

3.2 牛磺酸是细胞内含量非常丰富的β－自由氨基酸，是维持细胞自稳态的重要物质。据文献报道，它具有抗指酯过氧化、减少自由基形成和增加自由基清除、稳定细胞膜的作用[9,10,11]。Goodman[11]在STZ诱导的实验性糖尿病动物中，预防性应用牛磺酸后，发现能明显降低动物的血糖水平。本实验室过去的工作中，在与IL－1β共同培养20h的离体胰岛细胞内加入牛磺酸继续培养24h后，能明显反转由IL－1β引起的胰岛素分泌抑制的效应[8]。本实验在STZ诱导的糖尿病大鼠用牛磺酸进行防治后，防治组和治疗组胰岛B细胞变性坏死程度明显较对照组减轻，免疫组化染色显示防治组和治疗组B细胞表达胰岛素呈阳性的胰岛分别占44.6%和34.9%，均较对照组(23.3%)增高，并且防治组与对照组比较具有显著差异($P<0.05$)。结果提示，牛磺酸对抗STZ造成的胰岛B细胞损伤主要表现为其对损伤细胞的修复作用。

参 考 文 献

1. 刘庆德，等.国外医学.生理病理学与临床分册 1991;11:3
2. Tokunaga F.et al. Biochem Parmacol 1979;28:2807
3. 张 能，等.中国糖尿病杂志 1996;4:31
4. Arison RN,et al.Diabetes 1967;16:51
5. Junod A,et al.Proc Soc Exp Biol Med 1967;126:201
6. 于德民，等.中国糖尿病杂志 1995;3:105
7. 赵 明，等.中国糖尿病杂志 1995;3:44
8. 姬秋和，等.中华内分泌代谢杂志 1996;12:31
9. 李兆萍，等.北京医科大学学报 1990;22:208
10. 陈岳祥，等.第四军医大学学报 1992;13:221
11. Goodman HO,at el. Biochem Med Metab Biol 1990;43(1):1

(收稿日期1997－04－16)

An immunohistochemical studing of pathological morphology about streptozotocin induced damage and taurine effect to pancreatic islets in wistar rat

Zhang Neng, et al

Department of Physiology,College of Basic Medical Sciences

Pathological morphology of pancreatic islets in streptozotocin induced rats(Ⅰ,control group) and taurine prevention and treatment diabetic rats(include Ⅱ,prevention and treatment group, Ⅲ,treatment group)was investigated by immunohistochemical method using insulin,glucogan and somatostatin antisera.The results showed that the degree of degeneration and necrosis weakened obviously for the pancreatic B-cells in Ⅱ and Ⅲcompared with Ⅰ,the pancreatic islets of positive staining for insulin antiserum were 44.6% and 34.9% respectively,which was higher than that(23.3%)in Ⅰ,and signoficant difference between Ⅱand Ⅰ($P<0.05$)was observed.Among all the three groups,hyperlasia was seen in the pancreatic A-cells,but no pathologic change demostrated in the pancreatic D-cells.The results indicate that streptozotocin can cause the direct damage to the B-cells and taurine has repairing effect against the damage of the pancreatic B-cells by streptozotocin.Hyperplasia of the A-cells my be ralated to administered streptozotocin and involved in hyperglycemia in Wistar rats.

KEY WORDS Diabets;Panereatic islets;Taurine;Immunohistochemistry