维普资讯 http://www.cqvip.com

(2) 81-85 R363.13

三碘甲腺原氨酸（T_3）对大鼠胰岛体外培养时胰岛素分泌的影响

第一医院人工细胞研究室 李佐强
Claes Hellerstrom*

A 提 要 本文检测了离体大鼠胰岛在1.54或15.4μmol/L T_3浓度下体外培养5天后葡萄糖诱发胰岛素分泌水平。结果表明，当培养液内葡萄糖浓度为11.1与22.0mmo 1/L时，葡萄糖诱发急相或慢相胰岛素释放，T_3(1.54μmol/L)处理组胰岛与对照组比较均显著降低。提示高糖情况下，T_3对葡萄糖诱发离体胰岛胰岛素分泌有直接的延迟性抑制作用，而胰岛内胰岛素含量改变可能是导致葡萄糖诱发胰岛素分泌减低的重要因素之一。

关键词 胰岛；三碘甲腺原氨酸；胰岛素释放；胰岛素含量 病理生理学，大鼠
中图分类号 R318

由于甲状腺激素分泌过多，以致机体胃肠道对葡萄糖吸收增加，且糖原分解代谢加速及胰岛素降解加快，其结果导致血糖升高、葡萄糖耐量降低[1]。然而，甲状腺激素分泌过多状态时糖耐量发生异常的确切机理目前尚未完全阐明，虽有研究表明，甲状腺素(T_4)可被胰岛细胞脱碘而形成三碘甲腺原氨酸(T_3)，而且胰岛细胞浆膜、线粒体和核内均含有特殊的T_3受体[2]，但对甲状腺激素尤其T_3在胰岛β细胞胰岛素分泌机制中能否发挥直接的生理效应则了解甚少。为了探讨甲状腺激素分泌过多状态时胰岛素分泌的病理生理学改变特性，故本文观察不同T_3浓度下离体大鼠胰岛体外培养5天后急相或慢相胰岛素分

*瑞典 Uppsala 大学医学细胞生物系

Determination of Lomefloxacin In Serum And Urine By Reversed-phase HPLC

Yang Jian. et al
Dept. of Infectious Disease, The First Hospital

A Reversed-phase HPLC was described for the separation and determination of lomefloxacin in serum and urine. Samples were analysed on an ODS column (7μ, 250×4.6mm) with a mobile phase of methand-0.008M phosphate buffer-0.5M tetrabuty lammonium bromide (25 : 75 : 4. v/v/v), using fluorescence detection at λ ex 280nm and λ em 455nm. The detection limit was 0.06μg/ml. Good linearity was obtained in the concentration range from 0.125 to 8μg/ml with the correlation coefficient $r=0.9999$. The average recovery was 75.8%-80.9% and the differences within and between days were 2.87%, 2.94% respectively.

KEY WORDS HPLC; Lomefloxacin

维普资讯 http://www.cqvip.com

泌变化情况，以评价 T_3 对葡萄糖诱发胰岛素释放敏感性的作用影响。

1 材料和方法

1.1 试剂 RPMI 1640 培养液，英国 Flow 实验中心产品。粗制型胶原酶与牛白蛋白，德国 Boehringer 公司产品。T_3 及标准鲑精液 DNA，美国 Sigma 公司产品。标准小鼠胰岛素，125I 标记胰岛素及抗牛胰岛素血清，丹麦 Novo 公司产品。

1.2 动物 雄性 Sprague－Dawley 大鼠，体重 307～413g，瑞典 Uppsala 大学 BMC 提供。

1.3 胰岛分离和培养 采用胶原酶消化胰腺技术分离获得胰岛。将 150～180 个胰岛放入 50mm 大小培养皿中，皿内含 5ml 培养基，其中包括 RPMI 1640 培养液 4.5ml，灭活小牛血清 0.5ml，青霉素 10 万 u／L，链霉素及 L－谷酰胺各 0.1g／L，葡萄糖 5.5mmol／L，37℃、5%CO_2 条件下培养 48h。此后，挑出 100 个胰岛置于新鲜培养基内，除葡萄糖浓度分别为 5.5、11.1 与 22.2mmol／L 之外，其余成份同上，且同时加入 T_3 1.54 或 15.4μmol／L)，而对照组(T_3 0μmol／L) 则增加 20ul 0.05mol／L NaOH。37℃、5%CO_2 条件下培养 5 天，开始 24h 更换培养液，以后每 48h 换一次，并收集培养液－20℃保存，以放免法作培养液内胰岛素含量测定。

1.4 胰岛素释放试验 培养 5 天后，用移液管吸出 10 个胰岛，放入含 0.25ml PH7.4 碳酸盐缓冲液试管，缓冲液主要由 2g／L 牛白蛋白与 1.67mmo 1／L 葡萄糖等组成，37℃振荡孵育 60min；更换缓冲液，并改葡萄糖为 16.7mmo 1／L，再孵育 60min，留取标本－20℃保存，以放免法测定葡萄糖诱发胰岛素释放。每个培养皿需挑出 30 个胰岛进行本试验，而胰岛素释放量则取三次的平均值。

1.5 胰岛 DNA 含量与胰岛素含量 释放试验结束，用冷 Hank' S 液将 30 个胰岛洗涤三遍，然后放入含 0.2ml 重蒸水试管，以超声波粉碎器搅碎胰岛制备成组织匀浆。取 50μl (双份) 胰岛组织匀浆，以荧光法测定胰岛 DNA 含量。另取 50μl 组织匀浆，放入含 0.125ml 0.18mol／L 盐酸——乙醇溶液试管，4℃过液，取 5μl (双份) 提取液，以放免法作胰岛内胰岛素含量测定。

2 结 果

在不同浓度葡萄糖条件下培养 5 天后，胰岛在培养液中分泌的胰岛素含量，无论 T_3 处理组抑或对照组均处于较稳定状态。但培养第二个与第三个 48h 后，当葡萄糖浓度为 11.1mmol／L 时，T_3 处理组(1.54μmol／L) 胰岛分泌于培养液中胰岛素含量与对照组相比较，均有显著差异(表 1)。除此之外，各葡萄糖浓度 T_3 处理组与对照组之间差异均无

表 1 T_3 对大鼠胰岛在培养液中胰岛素分泌的影响($n=9$, $\bar{x}\pm s$)

葡萄糖 (mmol／L)	T_3 (μmol／L)	培养液中胰岛素含量(ng／每个胰岛)		
		第一个 24h	第二个 48h	第三个 48h
5.5	0	2.4±0.5	2.4±0.6	2.1±0.3
	1.54	2.5±0.7	2.2±0.3	2.9±0.4
	15.4	2.6±0.6	3.9±0.7	3.9±0.9
11.1	0	10.0±1.2	11.8±1.3	12.8±1.8
	1.54	7.8±1.0	6.7±1.3*	7.1±1.1*
	15.4	13.2±3.6	18.2±5.9	12.2±2.3
22.2	0	11.9±1.3	15.1±1.9	20.1±2.6
	1.54	11.4±1.4	10.8±1.6	16.9±2.0
	15.4	18.4±5.1	21.5±3.1	23.6±6.1

注，*$P<0.02$，与葡萄糖浓度相同对照组(T_3 0μmol／L) 比较，n 为培养皿数

维普资讯 http://www.cqvip.com

显著性($P>0.05$)。

如表2所示，除葡萄糖浓度5.5mmol／L外，当培养液内葡萄糖浓度为11.1或22.2mmol／L时，无论低渗糖(1.67mmol／L)或高渗糖(16.7mmol／L)刺激胰岛素释放量，T_3处理组(1.54μmol／L)胰岛较对照组均为显著降低，统计学处理有意义。然而，各葡萄糖浓度T_3处理组(15.4μmol／L)低渗糖或高渗糖刺激胰岛素释放，与对照组比较，均无显著差异($P>0.05$)。

表2　T_3对葡萄糖诱发胰岛素释放的影响($n=8.\ \bar{x}\pm s$)

葡萄糖 (mmol／L)	T_3 (μmol／L)	胰岛素释放(ng／10胰岛 60min)	
		1.67mmol／L 葡萄糖	16.7mmol／L 葡萄糖
5.5	0	1.0±0.1	2.9±0.9
	1.54	0.8±0.1	1.9±0.6
	15.4	1.3±0.2	2.9±0.8
11.1	0	2.3±0.5	12.3±1.9
	1.54	0.8±0.1*	2.4±0.3***
	15.4	1.8±0.2	10.1±1.6
22.2	0	5.1±1.9	24.7±3.5
	1.54	1.3±0.1*	11.9±1.8**
	15.4	2.6±0.7	18.5±3.5

注：*$P<0.05$，**$P<0.01$，***$P<0.001$，与葡萄糖浓度相同对照组比较。

培养结束后，各葡萄糖浓度T_3处理组胰岛DNA含量与对照组相比均无显著差异($P>0.05$)。胰岛内胰岛素含量，除葡萄糖浓度为22.2mmol／L外，其余葡萄糖浓度T_3处理组(1.54μmol／L)较对照组均显著降低($P<0.05$，$P<0.01$)。但各葡萄糖浓度T_3处理组(15.4μmol／L)胰岛素含量与对照组比较均无显著差异(表3)

表3　T_3对大鼠胰岛DNA含量($n=7.\ \bar{x}\pm s$)与胰岛素含量($n=8.\ \bar{x}\pm s$)的影响

葡萄糖 (mmol／L)	T_3 (μmol／L)	DNA含量 (ng／10胰岛)	胰岛素含量 (ng／10胰岛)
5.5	0	193±20	425±40
	1.54	171±11	293±39*
	15.4	203±10	340±55
11.1	0	223±24	633±74
	1.54	168±10	365±95**
	15.4	214±22	703±119
22.2	0	205±29	450±84
	1.54	174±13	342±22
	15.4	211±29	520±78

注：*<0.05，**$P<0.01$，与葡萄糖浓度相同对照组比较

维普资讯 http://www.cqvip.com

3 讨 论

本文实验结果表明，T_3可降低离体大鼠胰岛体外培养时葡萄糖诱发胰岛素分泌，但该影响作用则显示胰岛细胞外葡萄糖及T_3波度依赖。当培养液中葡萄糖浓度为11.1与22.2mmol／L时，无论低糖或高糖刺激胰岛素急相释放，$T_3$1.54μmol／L浓度处理组胰岛较对照组降低50～80%左右，说明T_3并无增加胰岛细胞对葡萄糖刺激分泌反应的敏感性；相反，T_3对葡萄糖诱发胰岛素分泌起着直接抑制作用。因此，这种直接影响作用也可解释高甲状腺激素状态时葡萄糖诱发胰岛素分泌为何受到抑制的原因[1,3]。本文结果与Cortizo等报告相似[2]，但与Yamamoto等报道不一[4]，可能因为实验使用的T_3及葡萄糖浓度差异所致。

本组资料显示，培养第二或第三个48小时后，胰岛细胞外葡萄糖浓度为11.1mmol／L时，T_3(1.54μmol／L)处理组胰岛于培养液中分泌的胰岛素含量仅为对照组55%左右，说明T_3不但对胰岛细胞胰岛素分泌功能发挥直接的抑制作用，而且该作用还趋于长时间延迟状态。

T_3若要产生其代谢作用，首先须与胰岛细胞核、浆膜或线粒体的特殊受体结合，已经证实T_3受体是一种非组蛋白染色质结合蛋白。有报告分离的大鼠胰岛具有两种类型的T_3结合位点，即高或低亲和结合点。在胰岛细胞外葡萄糖浓度为3.3或16.6mmol／L、T_3浓度为10^{-7}～10^{-9}mol／L时，T_3与其特殊受体的结合力最高，但随着T_3浓度增加到10^{-6}mol／L时，受体结合力则为零[2]。本文结果亦表明，T_3浓度增加10倍后，不管培养液中葡萄糖浓度如何变化，其对葡萄糖诱发胰岛素急相或慢相释放均无明显的直接影响作用，说明胰岛细胞T_3受体的亲和力变化与影响葡萄糖诱发分泌反应所需的T_3浓度密切有关。

甲状腺激素影响胰岛细胞分泌功能的机理尚不完全清楚。但认为甲状腺激素可能借助其局部代谢以及与胰岛细胞特殊受体的相互作用对胰岛素分泌起着直接地调节作用。有报道T_3可以引起胰岛B细胞超微结构水平改变，从而影响胰岛素分泌功能[2]。本组资料说明，T_3可使分离的大鼠胰岛内胰岛素含量明显减低，表明T_3可能干扰胰岛β细胞储备功能，以致削弱胰岛素分泌反应的敏感性。但T_3对胰岛DNA复制无明显影响。Swenne等曾报告类似结果[5～7]。虽葡萄糖诱发胰岛素分泌的机制颇为复杂，但糖酵解代谢途径乃是胰岛细胞利用葡萄糖极其重要途径，并控制胰岛素分泌活动[8]。采用T_3灌注离体大鼠胰腺发现，葡萄糖诱发胰岛素晚相释放明显抑制，但于灌注液中增加丙酮酸可使胰岛素释放恢复正常，提示甲状腺激素可能干扰胰岛细胞的糖酵解代谢[1]。由于葡萄糖诱发胰岛素分泌是一个耗能反应，因此T_3是否可能抑制葡萄糖激酶活性，削弱胰岛细胞葡萄糖氧化磷酸化代谢活动，因而一方面阻遏葡萄糖进入细胞内，另方面致使代谢反应中能量形成减少，结果导致岛素分泌降低，有关这些尚待进一步探讨研究。

参 考 文 献

1. Lenzen S. et al. Endocrin Reviews 1984;5:411
2. Cortizo AM. et al. Acta Endocrinol 1987;116.66
3. Varnum B. et al. Horm Metabol Res 1985;17:383
4. Yamamoto T. et al. Endocrinol Japan 1987;34:605
5. Swenne I. et al. Diabetes 1985;34:803
6. Boschero AC. et sl. Brazilian J Med Biol Res 1989;22:1015
7. Awouters P. et al. Disbetes Research 1985.2:105
8. Meglasson MD. et al. Am J Physiol 1984;246:E1

(收稿日期 94－07－02)

维普资讯 http://www.cqvip.com

第20卷 第2期 重庆医科大学学报 Vol. 20 No. 2
1995 ACTA UNIVERSITATIS SCIENTIAE MEDICINAE CHONGQING 1995

③ 85-89 R692.405 R730.5

高能冲击波对人体肿瘤细胞损伤作用的研究

第一医院泌尿外科 王 明 何梓铭

A 提 要 高能冲击波(HESW)处理人体膀胱移行细胞癌(TCC)和人体胃腺癌细胞株(SGC－7901)后，发现两肿瘤细胞线粒体肿胀扩张，嵴扭曲变形，粗面内质网扩张脱颗粒；TCC之核染色质溶解，严重者核膜破裂，核内容物外溢。本组用电镜图象的立体定量法研究了不同条件冲击波与肿瘤细胞损伤程度的关系，结果显示HESW电压越高，肿瘤细胞受损越重，相同条件冲击波处理后TCC比SGC－7901受损更为显著。本实验表明HESW主要损伤肿瘤细胞重要的细胞器如线粒体、内质网等，干扰其代谢和功能，从而抑制其生长；HESW能量大小与肿瘤受损程度有关；HESW对不同肿瘤细胞的敏感性不同。

关键词 碎石术；肿瘤细胞；细胞毒性 高能冲击波，线粒体，内质网
中图分类号 R730.5

近年来国内外作者相继报道了高能冲击波(HESW)能在体内外杀伤各种类型的肿瘤细胞，但其作用部位和作用环节目前仍不太清楚[1,2,3,4]。为了解HESW对肿瘤细胞的作用部位和环节，本组以人体膀胱移行细胞癌(TCC)和人体胃腺癌细胞株(SGC－7901)为对象，观察了HESW对这些细胞损伤的超微结构改变。还用电镜图象的立体定量方法研

EFFECT OF TRIIODOTHYRONINE (T3) ON INSULIN SECRETION FROM CULTURED RAT PANCREATIC ISLETS IN VITRO

Li Zuoqiang. et al
Artificial Cells Research Laboratory. The First Hospital

The levels of insulin secretion from isolated rat pancreatic islets maintained in culture for 5 days in the presence of 1.54 or 15.4μmol/L T3 concentration were measured. Comparing with the control islets. both acute and chronic phases of glucose－induced insulin release from the islets treated with T3 (1.54umol/L) were significantly decreased at 11.1 or 22.2mmol/L glucose concentration in the culture medium. It suggested that T3 had a delay affect on the inhibition of glucose－induced insulin secretion from the isolated pancreatic islets under condition of a high extracellular concentration of glucose. and the change of insulin content in the islets may contribute to the alterations of glucose－induced insulin secretion in the presence of T3

KEY WORDS Pancreatic islets: Triiodothyronine: Insulin release: Insulin content