

胰岛 α 细胞量在糖尿病发展过程中的变化及其机制^{*}

李如江¹, 邱曙东², 田 宏², 周生伟¹

1. 潍坊医学院 山东省重点学科 人体解剖与组织胚胎学实验室(潍坊 261053);

2. 西安交通大学医学院 人体解剖与组织胚胎学系 环境与疾病相关基因教育部重点实验室(西安 710061)

【摘要】 目的 探讨胰岛 α 细胞量随糖尿病发展的变化及其机制。**方法** 以多次低剂量链脲菌素诱导形成糖尿病小鼠,在糖尿病第4、12、20周时将其放血处死,并设同龄正常对照组。以Glucagon与Ki67,或BrdU、或Cleaved-Caspase 3、或TUNEL的免疫荧光双标检测胰岛 α 细胞量的变化、 α 细胞的增生和凋亡;以Glucagon、Neurogenin 3与MafA免疫荧光三标及Western blot检测胰岛 α 细胞的新生。**结果** 糖尿病发展期间胰岛 α 细胞量逐渐增加,与正常对照比较差异有统计学意义($P<0.05$);期间胰岛 α 细胞并未发生明显增生和凋亡,但胰岛内出现了许多Neurogenin 3阳性细胞及Glucagon、Neurogenin 3、MafA共阳性细胞。**结论** 在糖尿病发展过程中胰岛 α 细胞量不断增加,其机制与 α 细胞新生密切相关。

【关键词】 糖尿病 胰岛 α 细胞 胰岛 β 细胞 新生 小鼠

The Change of α Cell Mass and Its Mechanism with Diabetic Progress LI Ru-jiang¹, QIU Shu-dong², TIAN Hong², ZHOU Sheng-wei¹. 1. Department of Anatomy and Histo-Embryology, Laboratory of Key Discipline of Shangdong, Weifang Medical University, Weifang 261053, China; 2. Key Laboratory of Environment and Genes Related to Disease, Ministry of Education, Department of Anatomy and Histo-Embryology, Medical College of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710061, China

【Abstract】 Objective To explore the change of α cell mass and its mechanism with diabetic progress. **Methods** Diabetic mice were killed by exsanguinations after 4, 12 and 20 weeks of diabetes, respectively. Indirect double immunofluorescences for Insulin/Ki67, or BrdU, Cleaved-Caspase 3, TUNEL were used to evaluate pancreatic α cell mass, regeneration and apoptosis of α cells. Indirect triple immunofluorescences for Glucagon/Neurogenin 3/MafA and Western blot analysis for Neurogenin 3 were used to determine neogenesis of pancreatic α cells. **Results** Pancreatic α cell mass was gradually increased with diabetic progress. It was significantly different from that of controls. There weren't any proliferation and apoptosis of α cell during diabetes, however, many Neurogenin 3⁺ cells appeared in the pancreatic islets of diabetic mice, and most of them were co-stained with MafA and Glucagon. **Conclusion** Pancreatic α cell mass is gradually increased with diabetic progress. It seems to be strongly associated with neogenesis of pancreatic α cells.

【Key words】 Diabetes mellitus Pancreatic α cell Pancreatic β cell Neogenesis Mouse

糖尿病(包括1型和2型)是胰岛素分泌不足、高血糖素分泌过剩所致的内分泌代谢性疾病。到目前为止,糖尿病的发生、发展机制尚未完全弄清,对糖尿病的治疗亦无根治措施。

胰岛素主要由胰岛 β 细胞合成分泌,胰高血糖素(glucagon)则主要由胰岛 α 细胞形成释放。但目前,对糖尿病的研究往往集中于胰岛 β 细胞,对胰岛 α 细胞则研究甚少,致使糖尿病期间胰岛 α 细胞量的变化及其机制尚不明确^[1, 2]。为此,本实验以糖尿病鼠为研究对象,用免疫荧光双标/多标、TUNEL、Western blot等方法,研究糖尿病发展过程中胰岛 α 细胞量的变化,并揭示其变化的内在机

制,以期对糖尿病的治疗提供新的线索。

1 材料与方法

1.1 实验动物与主要试剂

雄性C57BL/6J小鼠(4月龄,西安交通大学医学院动物中心提供),链脲菌素(STZ, Sigma), 5-溴脱氧尿嘧啶核苷(BrdU, Sigma), 小鼠抗Glucagon抗体(Sigma), 小鼠抗BrdU抗体(Santa Cruz), 兔抗Glucagon抗体(武汉博士德), 兔抗Ki67抗体(Labvision), 兔抗Cleaved-Caspase 3抗体(Cell Signaling), 兔抗MafA抗体(Bethyl), 兔抗Neurogenin 3抗体(Santa Cruz), 羊抗Neurogenin 3抗体(Santa Cruz), TRITC-驴抗兔IgG、TRITC-驴抗小鼠IgG、FITC-驴抗小鼠IgG、FITC-驴抗兔IgG、AMCA-驴抗羊IgG(Jackson), 辣根过氧化物

^{*} 山东省自然科学基金(No. 2009ZR019FB)和山东省高等学校科技计划项目(No. J12LK05)资助

酶标记山羊抗兔 IgG (Santa Cruz), DeadEnd™ Fluorometric TUNEL System (Sigma)。

1.2 模型制备与分组

首先选取 50 只小鼠造糖尿病模型。用 pH4.2 的枸橼酸盐缓冲液溶解 STZ,以 STZ 40 mg/(kg · d)连续 5 d 对小鼠腹腔注射。断尾取血,以血糖仪测血糖,连续 3 d 血糖大于 16.7 mmol/L 者定为糖尿病鼠,造模第 3 d 定为糖尿病第 1 d。于糖尿病第 4、12、20、28 和 36 周时,以血糖仪检测每只小鼠血糖,分析 STZ 鼠血糖变化规律。另选取 30 只小鼠造糖尿病模型,将糖尿病第 4、12、20 周处死鼠分别归为 DW4、DW12 和 DW20 组,每组 10 只。另外,取 C57BL/6J 同龄鼠 (仅腹腔注射枸橼酸盐缓冲液)作为正常对照组,并将第 4、12、20 周对照鼠分别归为 CW4、CW12 和 CW20 组,每组 10 只。在处死前 7 d,所饮水内皆加入 1 mg/mL BrdU。第 4、12、20 周实验组及对照组小鼠处死后取胰腺进行后续实验。

1.3 免疫荧光双标染色

取胰腺,常规固定、包埋、石蜡切片。常规免疫荧光双标染色,其中一抗组合为小鼠抗 Glucagon (1 : 1 500)+兔抗 Cleaved-Caspase 3 (1 : 400)、小鼠抗 Glucagon (1 : 1 500)+兔抗 Ki67 (1 : 200)、小鼠抗 BrdU (1 : 200)+兔抗 Glucagon (1 : 100);二抗组合为 TRITC-驴抗兔 IgG (1 : 100)+FITC-驴抗小鼠 IgG (1 : 100),或为 FITC-驴抗兔 IgG (1 : 100)+TRITC-驴抗小鼠 IgG (1 : 100)。

从每个胰腺中取 5 张荧光染色切片 (断面间隔 100 μm),每张切片在 200 倍荧光显微镜下任取 15 个视野,Image-Pro Plus 5.1 计数 Glucagon+Ki67、Glucagon+BrdU 双染细胞数量,以显示胰岛 α 细胞的增生;计数 Glucagon+ Cleaved-Caspase 3 双染细胞的数量,以显示胰岛 α 细胞的凋亡;检测胰腺总面积和胰岛 α 细胞总面积,以显示每个胰岛 α 细胞总量,其计算公式为:胰岛 α 细胞总面积÷胰腺总面积×胰腺质量。

1.4 TUNEL 与 Glucagon 免疫荧光双标染色

取胰腺,按文献^[3]进行操作,其中 Glucagon 的一抗为小鼠抗 Glucagon (1 : 1 500),其二抗为 TRITC-驴抗小鼠 IgG (1 : 100)。

计数 Glucagon+TUNEL 双染的细胞,以显示胰岛 α 细胞的凋亡,其计数方法同 1.3。

1.5 免疫荧光三标染色

取胰腺,按文献^[3]进行操作,其一抗组合为小鼠

抗 Glucagon (1 : 1 500)+羊抗 Neurogenin 3 (1 : 300)+兔抗 MafA (1 : 100),二抗组合为 FITC-驴抗小鼠 IgG (1 : 100)+TRITC-驴抗兔 IgG (1 : 100)+AMCA-驴抗羊 IgG (1 : 100)。计数 Glucagon+Neurogenin 3+MafA 共阳性细胞,以显示胰岛 α 细胞的新生,其计数方法同 1.3。

1.6 Western blot

以胶原 P 消化胰腺,分选胰岛^[3]。加入组织匀浆液后,超声破碎细胞。13 000 r/min 离心 15 min,吸取上清,即为蛋白提取物。BCA 法蛋白定量后,常规做 Western blot (兔抗 Neurogenin 3 多克隆抗体 1 : 300,辣根过氧化物酶标记山羊抗兔 IgG 1 : 1 000),以 β-actin 为其内参照。Alpha 软件处理系统分析蛋白电泳条带的光密度 (OD) 值,以目的蛋白条带与内参条带 OD 值比值作为目的蛋白的相对表达量。

1.7 统计学方法

数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示。组间比较采用单因素方差分析及 Tukey 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 36 周内 STZ 鼠血糖水平的变化

糖尿病发生后,STZ 鼠的血糖水平随时间不断变化:初期 (第 4 周、第 12 周),其值不断升高,在糖尿病第 20 周时达高峰;此后 (第 28 周、第 36 周),缓慢恢复。见图 1。

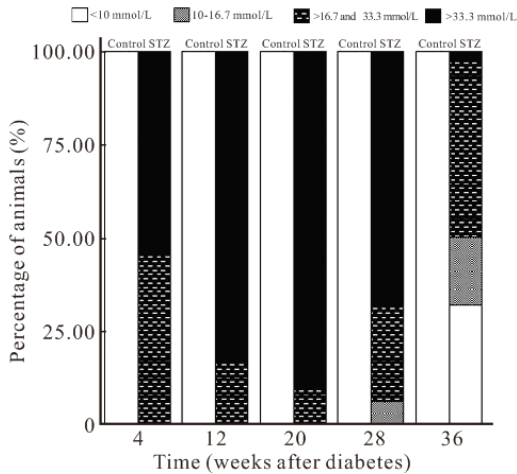


图 1 糖尿病发生后 STZ 鼠血糖水平的变化
Fig 1 Changes of blood glucose levels in controls and STZ mice with diabetic progress

Blood glucose values were broken up into four categories: <10 mmol/L, 10-16.7 mmol/L, >16.7 mmol/L and ≤33.3 mmol/L, >33.3 mmol/L

2.2 糖尿病发展过程中 STZ 鼠胰岛 α 细胞的增生和凋亡

见图 2,表 1。以 Glucagon+Ki67 和 Glucagon+BrdU 免疫荧光双标显示胰岛 α 细胞的增生:在正常对照、STZ 鼠胰岛内皆可见上述双标细胞,但数量极少。1 个胰腺的 5 张切片中仅有双标细胞 2 个左右,且各组间差异无统计学意义。

2.3 糖尿病发展过程中 STZ 鼠胰岛 α 细胞量的改变

糖尿病发生后,STZ 鼠胰岛 α 细胞量增多,与正常对照比较差异有统计学意义 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$),并随血糖水平的升高,其量不断增加,在糖尿病第 20 周时已较第 4 周出现明显变化($P<0.05$)。见表 1。

以 Glucagon+ Cleaved-Caspase 3、Glucagon+TUNEL 免疫荧光双标显示胰岛 α 细胞的凋亡:与增生结果类似,双标细胞数量极少,各组间差异均未见统计学意义。见图 3,表 1。

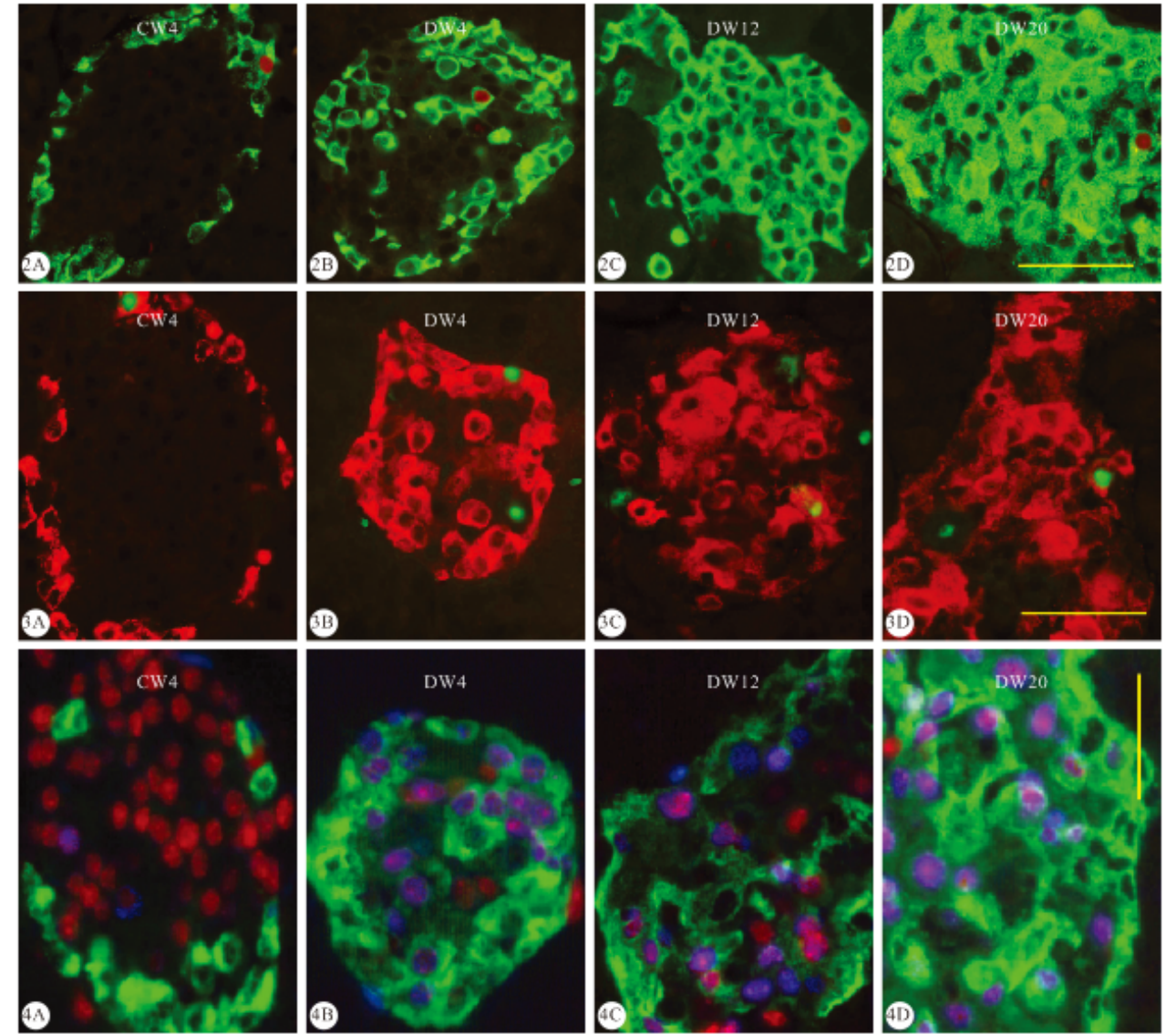


图 2 正常对照和 STZ 鼠胰腺 Glucagon+ Ki67 (A,B)、Glucagon+ BrdU (C,D)免疫荧光双标染色 图 3 正常对照和 STZ 鼠胰腺 Glucagon+ TUNEL (A,B)、Glucagon+Cleaved-Caspase 3 (C,D)免疫荧光双标染色 图 4 正常对照和 STZ 鼠胰腺 Glucagon+ MafA+ Neurogenin 3 免疫荧光三标染色

Fig 2 Double immunofluorescent staining for Glucagon/Ki67 (A,B) or Glucagon/BrdU (C,D) (Glucagon: Green, labeled by FITC; Ki67 or BrdU:red, labeled by TRITC) in pancreata from controls and STZ mice Fig 3 Double immunofluorescent stainingfor Glucagon/TUNEL (A,B) or Glucagon/Cleaved-Caspase 3 (C,D) (Glucagon: Green, labeled by TRITC; Cleaved-Caspase 3: Red, labeled by FITC; TUNEL: Green, labeled by fluorescein) in pancreata from controls and STZ mice Fig 4 Triple immunofluorescent staining (Glucagon: Green; MafA: Red; Neurogenin 3: Blue) of pancreata from controls and STZ mice

CW4: Age-matched control mice of 4 weeks. DW4, DW12, DW20: Diabetic mice after 4, 12, 20 weeks of diabetes respectively. $n=10$ per group. Bar=50 μ m

表 1 在糖尿病发展过程中 STZ 鼠胰岛 α 细胞的增生和凋亡 ($\bar{x}\pm s$)

Table 1 Proliferation and apoptosis of pancreatic α cells with diabetic progression of STZ mice ($\bar{x}\pm s$)

Group	n	α cell mass (mg)	The number of positive α cells			
			Ki67	BrdU	Cleaved-Caspase 3	TUNEL
CW4	10	0.24±0.02	2.12±0.29	2.21±0.19	1.28±0.22	2.07±0.31
CW12	10	0.25±0.03	1.20±0.23	2.04±0.16	1.36±0.11	1.68±0.29
CW20	10	0.26±0.02	1.31±0.18	2.08±0.22	1.87±0.21	1.72±0.35
DW4	10	0.39±0.03*	1.41±0.19	1.61±0.12	1.78±0.31	1.86±0.23
DW12	10	0.41±0.04#	1.76±0.26	1.76±0.23	1.87±0.23	1.92±0.32
DW20	10	0.57±0.04* * △	1.52±0.19	1.69±0.16	1.68±0.19	1.79±0.24

DW4, DW12, DW20: Diabetic mice after 4, 12, 20 weeks of diabetes respectively; CW4, CW12, CW20: Age-matched control mice respectively. * $P<0.05$, vs. CW4; # $P<0.05$, vs. CW12; * * $P<0.01$, vs. CW20; △ $P<0.05$, vs. DW4

2.4 糖尿病发展过程中 STZ 鼠胰岛内分泌干细胞的变化

在 STZ 鼠胰腺内,Neurogenin 3 阳性细胞、部分胞核 MafA 染色阳性,Neurogenin 3 和 MafA 均着色的细胞核呈紫红色荧光。Neurogenin 3、MafA 阳性的细胞,其 Glucagon 可呈阳性着色。

正常对照和 STZ 鼠胰岛内皆有 Neurogenin 3 阳性细胞,但 STZ 鼠 Neurogenin 3 阳性细胞的数量明显增多,且 Glucagon+Neurogenin3+MafA 共阳性细胞亦增多,差异有统计学意义 ($P<0.01$)。Western blot 也显示 STZ 鼠 Neurogenin 3 的表达量有所增加($P<0.01$)。见表 2,图 4、图 5。

表 2 糖尿病发展过程中胰岛内分泌干细胞各指标的变化 ($\bar{x}\pm s$)

Table 2 Index for stem cells in pancreatic islets with diabetic progression of STZ mice ($\bar{x}\pm s$)

Group	n	Neurogenin 3 ⁺ cell	Glucagon ⁺ , Neurogenin 3 ⁺ and MafA ⁺ cell	Neurogenin 3 (OD)/β-actin (OD)
CW4	10	2.07±0.15△	0.00±0.00△	0.00±0.00△
CW12	10	1.98±0.11	0.00±0.00	0.00±0.00
CW20	10	1.76±0.12	0.00±0.00	0.00±0.00
DW4	10	18.43±3.26	1.83±0.42	0.04±0.00
DW12	10	83.09±6.38* * △	17.88±3.45* * △	0.12±0.03* * △
DW20	10	90.47±6.86# * △	21.69±4.82# * △	0.17±0.05# * △

CW4, CW12, CW20, DW4, DW12, DW20: Denotes the same as those in Table 1. △ $P<0.01$, vs. DW4; * $P<0.01$, vs. CW12; # $P<0.01$, vs. CW20

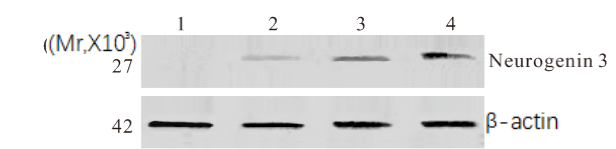


图 5 Western blot 示正常对照和 STZ 鼠胰岛 Neurogenin 3 的表达

Fig 5 Western blot analysis for Neurogenin 3 protein expression in pancreatic islets of controls and STZ mice

1: Control normal mice; 2-4: Diabetic mice after 4, 12, 20 weeks of diabetes respectively. $n=10$ per group

3 讨论

Henquin 等^[4]通过对 50 例糖尿病患者尸检发

现:糖尿病期间胰岛 β 细胞量显著减少,胰岛 α 细胞量则无明显变化;Yoon 等^[5]报道了对 25 例糖尿病患者的研究结果:糖尿病期间胰岛 α 细胞量较正常对照显著性增加;但 Kilimnik 等^[6]尸检 12 例糖尿病患者后认为:尽管在每个胰岛内 α 细胞所占比例增加,但其总量较正常对照显著减少。另外,需要说明的是上述尸检并未对胰岛 α 细胞量变化机制进行研究。Li 等^[7]、Meier 等^[8]则以糖尿病鼠为研究对象,研究了糖尿病发生前、后胰岛 α 细胞量的变化(仅限于糖尿病发生后 2 周内),但其结果大不相同:前者认为增多,后者认为并未发生任何变化;同时,Meier 等^[8]还探讨了其量保持不变的机制:糖尿病期间胰岛 α 细胞增生和凋亡很少出现,与正常对照相比并无明显变化。

到目前为止,有关糖尿病期间胰岛 α 细胞量的文献并不多见,其结论尚有争议;同时对 α 细胞量变化机制的研究,更是少见,尚无系统性实验数据。

糖尿病的发生和发展是一个相对漫长的过程,所以,对糖尿病胰岛 α 细胞量变化的研究也不应仅仅局限于糖尿病 2 周左右。为此,本实验延长了研究时间,却意外发现:多次低剂量 STZ 诱导的糖尿病小鼠,其血糖水平可自发恢复正常,只是在糖尿病前 20 周,血糖水平持续升高。为此,我们将糖尿病鼠发病后前 20 周定义为糖尿病发展阶段。于是,本研究选取了第 4、12、20 周作为糖尿病发展过程中进行研究的时间点,以此研究糖尿病发展过程中胰岛 α 细胞量的变化及其机制。本研究发现:糖尿病鼠胰岛 α 细胞量较正常对照增加,并随糖尿病的发展,其量也在不断增多,糖尿病第 20 周较第 4 周时胰岛 α 细胞量已增高。

胰岛 α 细胞量取决于胰岛 α 细胞的再生(包括增生和新生)和凋亡,为进一步揭示胰岛 α 细胞量变化的机制,本实验从以下几方面进行了探讨。

3.1 胰岛 α 细胞的增生与凋亡

Ki67 为增殖细胞核抗原,表达于细胞 G₁ 后期、S 期、G₂ 期和 M 期,可广泛用于检测细胞增生。我

们以 Ki67 研究胰岛 α 细胞增生时发现,呈现增生的 α 细胞数量极少,且各组间并差异无统计学意义。虽然这一结果与 Meier 等^[8]在糖尿病鼠糖尿病 2 周内的研究相一致,但为慎重起见,我们又采用累计 BrdU 法以研究胰岛 α 细胞在 7 d 内总的增生现象,以避免由于时间点选择的局限而影响实验结果。累计 BrdU 显示:胰岛 α 细胞的增生依然少见,糖尿病各组及糖尿病与正常对照间差异无统计学意义。

细胞凋亡与细胞增生都是生命的基本现象,共同维持机体细胞数量的动态平衡,所以胰岛 α 细胞量的增减除增生因素外,尚取决于胰岛 α 细胞的凋亡。若 α 细胞凋亡减少,即使胰岛 α 细胞增生不变也会导致胰岛 α 细胞量的增加。但本实验以 TUNEL 和 Cleaved-Caspase 3 两种方法检测胰岛 α 细胞凋亡时,均未发现随糖尿病的发展 α 细胞凋亡出现明显变化,与同龄正常对照间比较差异也无统计学意义。故我们设想:本实验中糖尿病鼠胰岛 α 细胞量的增加与增生、凋亡无关,那是否与胰岛 α 细胞的新生相关?

3.2 胰岛 α 细胞的新生

研究发现,胰岛 β 细胞新生可源于胰腺导管上皮细胞、外分泌部的腺细胞、胰岛其他内分泌细胞和干细胞,前两者形成的胰岛 β 细胞可单个散在分布,或位于大胰岛的周边部位,或形成小胰岛(主要由 3、5 个 β 细胞构成)。一般认为,胰腺导管上皮细胞、外分泌部的腺细胞及胰岛其他内分泌细胞在分化为胰岛 β 细胞前,首先去分化为胰岛内分泌干细胞,其细胞可失去某些表型,并表达胰岛内分泌干细胞的特征性标记 Neurogenin 3^[9,10]。

本实验借鉴研究胰岛 β 细胞新生的思路,利用免疫荧光染色和 Western blot 检测了胰岛 Neurogenin 3 的表达,结果发现:糖尿病鼠胰岛内 Neurogenin 3 的表达较正常对照增加,其胰岛内出现了许多 Neurogenin 3 阳性细胞,即胰岛内分泌干细胞。

为研究 Neurogenin 3 阳性细胞与胰岛 α 细胞量增多之间的关系,我们进行了 Neurogenin 3、Glucagon 和 MafA 的三标实验:许多 Neurogenin 3 阳性细胞中 Glucagon 染色呈强阳性或弱阳性,即 Neurogenin 3 阳性细胞正在转化形成胰岛 α 细胞。至此,我们认为糖尿病期间胰岛 α 细胞量的增多主要源于胰岛 α 细胞的新生。

新生的胰岛 α 细胞是源于胰腺导管上皮细胞、外分泌部的腺细胞、胰岛其他内分泌细胞,还是干细

胞呢?我们发现:Neurogenin 3 阳性细胞、Neurogenin 3/Glucagon 双阳性细胞主要存在于形体较大的胰岛,并且位于胰岛内部。据此我们推测:本实验中大量出现的胰岛内分泌干细胞可能源于胰岛其他内分泌细胞或胚胎时遗留的干细胞,而非胰腺导管上皮细胞及外分泌部的腺细胞。鉴于正常对照鼠胰岛内 Neurogenin 3 阳性的细胞极少,且在糖尿病发展过程中胰岛细胞并未出现明显的增生现象,所以我们进一步推测:实验中出现的胰岛内分泌干细胞并非来源于胚胎时遗留的干细胞,即并不是由干细胞增殖分化形成的,而是源于胰岛其他内分泌细胞,是由其他内分泌细胞转化而来的。

进一步研究意外发现,在糖尿病发展过程中 Neurogenin 3 阳性的细胞,其 MafA 也可呈阳性表达,而 MafA 为胰岛 β 细胞的特征性标记。因此我们有理由认为:糖尿病发展期间 Neurogenin 3 阳性的胰岛内分泌干细胞是源于胰岛的 β 细胞,是由于胰岛 β 细胞迫于糖尿病致病因子的损害去分化形成的。上述结论与既往研究^[11,12]相吻合,他们认为,糖尿病期间胰岛 β 细胞可失去所有胰岛素颗粒,出现去分化现象,以改变其细胞表型,使自身逃逸糖尿病致病因子的攻击。胰岛 β 细胞可转化为 α 细胞,已见于转基因鼠和体外转基因的实验中,但 STZ 诱导的糖尿病鼠出现这一现象目前尚未见其他报道。我们在前期研究中业已发现,STZ 鼠成模后第 1 d 其胰岛 β 细胞量已减少为 (0.37 ± 0.08) mg,为正常对照的 31.09%,即 STZ 鼠成模后其胰岛内尚有部分 β 细胞的存在^[13]。该部分胰岛 β 细胞可迫于糖尿病致病因子的损害转化为 α 细胞。

综上,在糖尿病发展过程中胰岛 α 细胞量不断增加,期间 α 细胞增生和凋亡并未发生明显变化,其细胞量的增加主要源于胰岛 α 细胞的新生,而胰岛 α 细胞的新生与胰岛 β 细胞的转化密切相关。

参 考 文 献

- 1 González-Vélez V, Dupont G, Gil A, *et al.* Model for glucagon secretion by pancreatic α -cells. PLoS One, 2012; 7 (3):e32282.
 - 2 Guardado-Mendoza R, Jimenez-Ceja L, Majluf-Cruz A, *et al.* Impact of obesity severity and duration on pancreatic β - and α -cell dynamics in normoglycemic non-human primates. Int J Obes (Lond), 2013;37(8):1071-1078.
 - 3 Li RJ, Qiu SD, Wang HX, *et al.* Androgen receptor: a new player associated with apoptosis and proliferation of pancreatic β -cell in type 1 diabetes mellitus. Apoptosis, 2008;13(8):959-971.
- (下转第 939 页)

参 考 文 献

- 1 Lu DX, Huang SK, Carlson BM. Electron microscopic study of long term denervated rat skeletal muscle. *Anat Rec*, 1997; 248 (3): 355-365.
 - 2 Stonnington HH, Engel AG. Normal and denervated muscle. A morphometric study of fine structure. *Neurology*, 1973; 23 (7): 714-724.
 - 3 Pette D, Vrbová G. Neural control of phenotypic expression in mammalian muscle fibers. *Muscle Nerve*, 1985; 8(8): 676-689.
 - 4 冯德培. 冲动活动不是决定骨骼肌纤维类型的唯一神经因素. *生理科学进展*, 1985; 16(1): 9-12.
 - 5 Wang LC, Kernell D. Recovery of type I fiber regionalization in gastrocnemius medialis of the rat after reinnervation along original and foreign paths, with and without muscle rotation. *Neuroscience*, 2002; 114(3): 629-640.
 - 6 Wang L, Copray S, Brouwer N, *et al.*, Regional distribution of slow-twitch muscle fibers after reinnervation in adult rat hind limb muscles. *Muscle Nerve*, 2002; 25(6): 805-815.
 - 7 Hakelius L, Nyström B, Stölberg E. Histochemical and neurophysiological studies of autotransplanted cat muscle. *Scand J Plast Reconstr Surg*, 1975; 9(1): 15-24.
 - 8 Das SK, Spector SA, Miller TA, *et al.* Model for microneurovascular muscle transplantation in the dog. *Plast Reconstr Surg*, 1986; 77(5): 804-813.
 - 9 Buller AJ, Eccles JC, Eccles RM. Eccles, Interactions between motoneurons and muscles in respect of the characteristic speeds of their responses. *J Physiol*, 1960; 150: 417-439.
 - 10 李江华, 刘承宜. 骨骼肌纤维类型在不同的条件下的转化研究. *首都体育学院学报*, 2008; 20(2): 50-54.
 - 11 Schantz P, Henriksson J. Increases in myofibrillar ATPase intermediate human skeletal muscle fibers in response to endurance training. *Muscle Nerve*, 1983; 6(8): 553-556.
 - 12 Schantz PG, Dhoot GK. Coexistence of slow and fast isoforms of contractile and regulatory proteins in human skeletal muscle fibres induced by endurance training. *Acta Physiol Scand*, 1987; 131(1): 147-154.
 - 13 Green HJ, Klug GA, Reichmann H, *et al.*, Exercise-induced fibre type transitions with regard to myosin, parvalbumin, and sarcoplasmic reticulum muscles of the rat. *Pflugers Arch*, 1984; 400(4): 432-438.
 - 14 McCullagh KJ, Calabria E, Pallafacchina G, *et al.* NFAT is a nerve activity sensor in skeletal muscle and controls activity-dependent myosin switching. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004; 101(29): 10590-10595.
 - 15 Talon S, Giroux-Metges MA, Pennec JP, *et al.* Rapid protein kinase C-dependent reduction of rat skeletal muscle voltage-gated sodium channels by ciliary neurotrophic factor. *J Physiol*, 2005; 565(3): 827-841.
 - 16 Duong FH, Warter JM, Poindron P, *et al.* Effect of the nonpeptide neurotrophic compound SR 57746A on the phenotypic survival of purified mouse motoneurons. *Br J Pharmacol*, 1999; 128(7): 1385-1392.
 - 17 Margaret A, Walter MD, Dean M, *et al.* Fibroblast growth factor-induced motor end plate regeneration in atrophic muscle. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*, 1996; 122(4): 425-430.
 - 18 Wang X, Blagden C, Fan J, *et al.* Runx1 prevents wasting, myofibrillar disorganization, and autophagy of skeletal muscle. *Genes Dev*, 2005; 19(14): 1715-1722.
- (2013 - 05 - 06 收稿, 2013 - 07 - 23 修回)
- 编辑 沈 进
-
- (上接第 890 页)
- 4 Henquin JC, Rahier J. Pancreatic alpha cell mass in European subjects with type 2 diabetes. *Diabetologia*, 2011; 54(7): 1720-1725.
 - 5 Yoon KH, Ko SH, Cho JH, *et al.* Selective beta-cell loss and alpha-cell expansion in patients with type 2 diabetes mellitus in Korea. *J Clin Endocrinol Metab*, 2003; 88(5): 2300-2308.
 - 6 Kilimnik G, Zhao B, Jo J, *et al.* Altered islet composition and disproportionate loss of large islets in patients with type 2 diabetes. *PLoS One*, 2011; 6(11): e27445.
 - 7 Li Z, Karlsson FA, Sandler S. Islet loss and alpha cell expansion in type 1 diabetes induced by multiple low-dose streptozotocin administration in mice. *J Endocrinol*, 2000; 165 (1): 93-99.
 - 8 Meier JJ, Ueberberg S, Korbas S, *et al.* Diminished glucagon suppression after β -cell reduction is due to impaired α -cell function rather than an expansion of α -cell mass. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2011; 300(4): E717-E723.
 - 9 Habener JF, Stanojevic V. A-cell role in β -cell generation and regeneration Islets, 2012; 4(3): 188-198.
 - 10 Desgraz R, Herrera PL. Pancreatic neurogenin 3-expressing cells are unipotent islet precursors. *Development*, 2009; 136 (21): 3567-3574.
 - 11 Szabat M, Lynn FC, Hoffman BG, *et al.* Maintenance of β -cell maturity and plasticity in the adult pancreas: developmental biology concepts in adult physiology. *Diabetes*, 2012; 61(6): 1365-1371.
 - 12 Weinberg N, Ouziel-Yahalom L, Knoller S, *et al.* Lineage tracing evidence for in vitro dedifferentiation but rare proliferation of mouse pancreatic beta-cells. *Diabetes*, 2007; 56 (5): 1299-1304.
 - 13 Li RJ, Qiu SD, Chen HS, *et al.* The immunotherapeutic effects of astragalus polysaccharide in type 1 diabetic mice. *Biol Pharm Bull*, 2007; 30(3): 470-476.
- (2013 - 04 - 15 收稿, 2013 - 07 - 22 修回)
- 编辑 余 琳