

糖脂毒性对肥胖大鼠 β 细胞功能和凋亡的影响研究*

谭惠文¹, 赵乃倩¹, 余叶蓉^{1△}, 韩丽娜¹, 张祥迅²

1. 四川大学华西医院 内分泌科(成都 610041); 2. 四川大学华西医院 内分泌代谢研究室(成都 610041)

【摘要】 目的 探讨葡萄糖和游离脂肪酸(FFA)联合作用对胰岛 β 细胞功能与凋亡的影响及病理生理机制。**方法** Wistar 大鼠采用高脂饲料喂养制造胰岛素抵抗模型,取造模成功的肥胖胰岛素抵抗模型大鼠分为 4 个亚组,生理盐水组(OB-NS 组, $n=7$)、高葡萄糖组(OB-GS 组, $n=9$)、高游离脂肪酸组(OB-FFA 组, $n=8$)和高糖高脂脂肪酸组(OB-FG 组, $n=9$)。另取 5 只 Wistar 大鼠采用普通饲料喂养作为正常对照组。采用比色法检测 FFA 和 β -羟丁酸(β -HBA)水平,采用静脉葡萄糖耐量试验(IVGTT)评价胰岛 β 细胞胰岛素分泌功能,免疫组织化学方法检测 β 细胞胰岛素储备的能力,并应用原位末端标记法(TUNEL)检测凋亡的 β 细胞。**结果** 肥胖大鼠葡萄糖输注率(GIR)低于正常对照[(10.82 $\pm$ 1.8 mg/kg·min) vs. (25.21 $\pm$ 1.7 mg/kg·min), $P<0.05$],提示胰岛素抵抗模型成功建立。OB-FG 组大鼠糖负荷后胰岛素分泌达峰时间延后且各时点胰岛素水平明显低于 NC 组和 OB-NS 组,差异有统计学意义($P<0.05$)。糖负荷后 5、10、15 和 20 min 时,OB-FG 组血胰岛素水平也明显较 OB-FFA 组、OB-GS 组降低,胰岛素和血糖比值及胰岛素释放指数也均低于 NC 组和 OB-NS 组,差异有统计学意义。免疫组织化学染色示,OB-FG 组胰岛素储备在各高脂肥胖亚组中最低,远低于 NC 组和 OB-NS 组($P<0.01$),OB-GS 组和 OB-FFA 组胰岛素储备与 OB-NS 组比较也有不同程度降低($P<0.05$)。OB-FG 组 β 细胞凋亡率高于 NC 组和 OB-NS 组($P<0.01$)。**结论** 糖脂联合毒性在引起肥胖大鼠酮体生成显著增加的同时也导致胰岛 β 细胞分泌功能障碍。

【关键词】 糖脂毒性 胰岛 β -细胞功能 酮体生成

Pancreatic β -cell Dysfunction and Apoptosis Induced by Elevated Free Fatty Acids Synergize with Hyperglycemia TAN Hui-wen¹, ZHAO Nai-qian¹, YU Ye-rong^{1△}, HAN Li-na¹, ZHANG Xiang-xun². 1. Division of Endocrinology and Metabolism, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 2. Laboratory of Endocrinology and Metabolism, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China

△ Corresponding author, E-mail: yerongyu@hotmail.com

【Abstract】 Objective To analysis the effects of glucotoxicity and lipotoxicity on the function and apoptosis of pancreatic β -cells. **Methods** The levels of circulating glucose and free fat acids (FFAs) were elevated by infusion dextrose and fat emulsion in high-fat obese rats. The insulin resistance model obese rats were divided into four group: obese group with saline infusion (OB-NS group, $n=7$), obese group with glucose infusion (OB-GS group, $n=9$), obese group with Lipid emulsion infusion (OB-FFA group, $n=8$), obese group with glucose and lipid emulsion infusion (OB-FG group, $n=9$). Five rats fed with general diet were taken as normal group (NC group). Plasma FFAs and β -hydroxybutyric acid (β -HBA) concentrations were determined by an enzymatic colorimetric method. An intravenous glucose tolerance test (IVGTT) was performed to examine the glucose-stimulated insulin secretion *in vivo* and immunohistochemical staining to detect the storage volume of insulin. FFA and β -HBA concentrations were measured at baseline and post-infusion. The apoptosis of pancreatic β -cell was detected by *in situ* end labeling technique (TUNEL). **Results** Glucose infusion rate (GIR) of obese rats was significantly lower than that in NC group [(10.82 $\pm$ 1.8) mg/(kg·min) vs. (25.21 $\pm$ 1.7) mg/(kg·min), $P<0.05$], confirming insulin resistance rat model successfully established. The insulin secretion peak load time of OB-FG group rats delayed, and the serum insulin level was significantly lower than that of NC group and OB-NS group during IVGTT. The differences were statistically significant ($P<0.05$). Compared with OB-NS and NC groups, storage volume of insulin of OB-GS group reduced, and β cell apoptosis rate elevated significantly. **Conclusion** Glucolipotoxicity could induce ketone overproduction, insulin resistance and defective insulin secretion.

【Key words】 Glucolipotoxicity Pancreatic β -cell function Ketone production

* 国家自然科学基金(No. 30570874)和四川省科技厅科技支撑计划项目(No. 2016SZ0058)资助

△ 通信作者, E-mail: yerongyu@scu.edu.cn

近年来,肥胖和糖尿病成为日益严重的公众健康问题,一类伴肥胖的酮症倾向糖尿病(ketosis-prone diabetes, KPD)患者开始引起临床医生和研

究者的关注。这类患者起病时以高血糖和高游离脂肪酸(FFA)血症为突出特征,同时,这类患者还存在严重外周胰岛素抵抗和胰岛 β 细胞功能障碍^[1]。基础研究发现,高血糖和高 FFA 血症可导致 β 细胞胰岛素基因表达减少、胰岛 β 细胞凋亡增加、胰岛素信号通路障碍,进而导致胰岛素分泌的相对或者绝对不足,提示糖毒性和脂毒性在胰岛 β 细胞功能障碍中扮演了重要的角色^[2]。目前国内外有关糖毒性或脂毒性对 β 细胞功能和外周胰岛素敏感性影响的研究报道虽然不少^[3-5],但多为单独针对糖毒性或脂毒性所进行的研究,高血糖与高 FFA 血症在胰岛 β 细胞功能障碍而导致酮症的发生中是否存在协同作用尚不清楚^[6]。本研究采用外源性输注葡萄糖和/或脂肪乳以提高循环中葡萄糖和 FFA 水平,探讨高血糖和高 FFA 联合作用对胰岛细胞功能和酮体生成的影响及病理生理机制。

1 对象与方法

1.1 实验动物

4 周龄雄性 Wistar 大鼠($n=55$),其中 5 只为正常对照组(NC 组),采用普通饲料[碳水化合物 57.83%,脂肪 12.1%,蛋白质 30.07%, (产能比)总热量 415 kcal/100 g, 1 kcal=4.2 kJ]喂养,另 50 只采用高脂饲料[碳水化合物 15.48%、脂肪 62.31%、蛋白质 18.08%, (产能比)总热量 625 kcar/100 g]喂养造模,造模组喂养 12 周后随机取 5 只,行正常血糖高胰岛素钳夹技术评价肥胖/胰岛素抵抗模型。正常血糖高胰岛素钳夹试验:经颈静脉输注短效胰岛素和 20%葡萄糖液,每 10 min 经颈动脉取血测血糖,根据血糖值调节葡萄糖输注速度,维持血糖水平在(5.0 ± 0.28) mmol/L。计算稳态时葡萄糖输注速率(GIR)评估胰岛素敏感性。

1.2 动物分组及处理

取造模成功的肥胖胰岛素抵抗模型大鼠分为 4 个亚组,生理盐水组(OB-NS 组, $n=7$)、高葡萄糖组(OB-GS 组, $n=9$)、高游离脂肪酸组(OB-FFA 组, $n=8$)和高糖高脂肪酸组(OB-FG 组, $n=9$)。肥胖各亚组 Wistar 大鼠行颈动静脉插管,休息 72 h,待大鼠体质量和食量稳定后输注生理盐水或葡萄糖和(或)脂肪乳,具体方法参考文献^[7]。OB-NS 组输注生理盐水;OB-GS 组输注 20%葡萄糖,输入速率 0.8~2.0 mL/h,维持循环中血糖水平为 11 mmol/L 左右;OB-FFA 组输注 20%英脱匹利特+肝素(英脱匹利特:肝素=1 mL:40 IU),输

入速率为 0.6~1.0 mL/h,维持循环中 FFA 水平高于基础值的 2~3 倍。OB-FG 组输注 20%英脱匹利特+50%葡萄糖,其中葡萄糖输入速率 0.3~1.0 mL/h,维持血糖为 11.0 mmol/L 左右和血 FFA 水平高于基础值的 2~3 倍。持续输液 48 h,观察输液过程中动物的生命体征并取血测定输液前后的血糖,胰岛素、胰高血糖素、游离脂肪酸和酮体 β -羟丁酸(β -HBA)水平。

1.3 静脉葡萄糖耐量试验(IVGTT)评价 β 细胞胰岛素分泌功能

参照文献^[7],清晨 8:00~10:00 先测定基础状态下血糖和胰岛素水平,然后经颈静脉弹丸式推注 50%的葡萄糖液(0.5 g/kg),并于糖负荷后 5 min、10 min、15 min、20 min 和 30 min 分别经颈动脉采血(500 μ L)测定血糖和胰岛素。胰岛素分泌指数($\Delta I/\Delta G$): ΔI 和 ΔG 分别为 IVGTT 糖负荷后各时间点血清胰岛素和葡萄糖较基线时增加值之和。

1.4 血清标本检测方法

血浆葡萄糖采用氧化酶法测定,胰岛素采用放射免疫分析药盒(批内 CV<5%,批间 CV<10%)检测,血脂采用奥林巴斯 AU2700 型全自动生化分析仪测定,胰高血糖素、FFA、 β -HBA 检测采用比色法。

1.5 胰岛素免疫组织化学染色检测 β 细胞胰岛素的储备能力

输液结束后处死大鼠后取胰尾组织固定,制成 4 μ m 的连续组织切片,采用豚鼠抗人/鼠胰岛素抗体(北京莱博公司) β 细胞染色(DAKO 公司)显色,胰岛细胞中胰岛素染色阳性细胞(胞浆着染棕红色颗粒)即胰岛 β 细胞。采用华西医院病理研究室 Nikon 图象采集系统,以 Image-Pro Plus 6.0 软件进行图象分析,每组至少选 10 张切片,每张切片选 3~5 个胰岛,测量平均光密度值代表单位面积细胞胰岛素的量,测定每个胰岛中染色阳性区域的总面积(S)代表 β 细胞量,用积分光密度(IOD)代表胰岛中胰岛素总的表达量,比较各组均值。

1.6 β 细胞凋亡检测

本研究应用原位末端标记法检测凋亡细胞(罗氏诊断公司),采用两种不同的显色方法。先采用吖啶橙染色,荧光显微镜下观察胰岛细胞凋亡情况,由于石蜡切片本身容易在荧光下有绿色背景,所以高亮的绿色荧光点且与细胞核大小相差无几表示有 DNA 损伤,为凋亡的细胞。再采用碱性磷酸酶染色,胞核染为橙红色的为凋亡细胞。由两位病理人

员盲法阅片。每只大鼠至少取 2 张胰腺切片,每组至少取 5 只大鼠的胰腺切片,每张切片中至少计数 3~5 个胰岛。 β 细胞凋亡率(%)= β 细胞凋亡数/ β 细胞总数 $\times 100\%$ 。

1.7 统计学方法

计量数据组间比较用 One-way ANOVA 方差分析或秩和检验;各组凋亡率比较采用 χ^2 检验。 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 外周胰岛素敏感性

见表 1。肥胖组大鼠空腹血清胰岛素水平高于 NC 组($P<0.05$),而正常血糖高胰岛素钳夹实验稳

态期血清胰岛素水平两组差异无统计学意义。钳夹实验于 60~120 min 进入稳态,稳态期血糖维持在 (5.0 ± 0.35) mmol/L 左右,钳夹稳态期血糖变异指数(CVBG)为 5.8%。维持正常血糖所需的 GIR 在肥胖组低于正常对照组($P<0.05$),表明高脂饲料诱导的肥胖/胰岛素抵抗动物模型成功建立。

2.2 肥胖大鼠和对照组大鼠的体质量和脂肪分布情况比较

处死大鼠后,通过解剖分离出腹腔脂肪和皮下脂肪进行称重,发现高脂诱导的肥胖大鼠的内脏和皮下脂肪显著多余普通饮食对照组,同时普通饮食组(NC 组)的甘油三酯和胆固醇水平低于高脂肪饮食的各组。见表 2。

表 1 高脂肥胖组与正常对照组大鼠的正常血糖高胰岛素钳夹试验

Table 1 The peripheral insulin sensitivity of OB and NC rats in euglycemic clamp test

Group	<i>n</i>	FBG/ (mmol/L)	SSBG/ (mmol/L)	FINS/ (μ IU/mL)	SSINS/ (μ IU/mL)	GIR/ [mg/(kg $\cdot$ min)]
NC	5	4.52 $\pm$ 0.36	4.97 $\pm$ 0.28	25.18 $\pm$ 9.73	61.20 $\pm$ 13.34	25.21 $\pm$ 2.85
OB	5	4.68 $\pm$ 0.29	5.01 $\pm$ 0.33	34.36 $\pm$ 12.71*	62.80 $\pm$ 26.00	10.82 $\pm$ 1.67**

NC: Normal group; OB: Obese group; FBG: Fasting blood-glucose; SSBG: Steady-state plasma glucose; FINS: Basal insulin; SSINS: Steady-state plasma insulin; GIR: Glucose infusion rate. * $P<0.05$, ** $P<0.01$, vs. NC group

表 2 各组大鼠的体脂指标

Table 2 Body fat indicators of rats in each group

Group	<i>n</i>	Body mass/ g	Subcutaneous fat/g	Visceral fat/g	Body fat ratio
NC	5	402.2 $\pm$ 35.5	10.0 $\pm$ 2.0	13.5 $\pm$ 3.1	0.05 $\pm$ 0.01
OB	33	493.2 $\pm$ 52.1	25.2 $\pm$ 6.9*	35.1 $\pm$ 8.6*	0.13 $\pm$ 0.02*

NC: Normal control group; OB: Obese group. * $P<0.05$, vs. NC group

2.3 各组肥胖大鼠静脉输液后酮体生成比较

OB-NS、FFA 组和 OB-GS 和 OB-FG 组在输液结束后血 β -HBA 水平均较基础值升高,其中 OB-FFA 组和 OB-FG 组 β -HBA 生成明显增加($P<0.05$)。见表 3。

2.4 各组高脂肥胖大鼠 β 细胞分泌功能评价结果

表 3 各组肥胖大鼠输液后的胰高血糖素,游离脂肪酸和 β -羟丁酸水平

Table 3 Glucagon, free fatty acids and beta hydroxybutyric acid concentration of obese rats after infusion

Group	<i>n</i>	Glucagon/(mmol/L)		FFA/(mmol/L)		β -HBA/(mmol/L)	
		Baseline	After infusion	Baseline	After infusion	Baseline	After infusion
OB-NS	7	297.8 $\pm$ 42.6	290.4 $\pm$ 56.2	439.3 $\pm$ 36.4	337.1 $\pm$ 23.0	0.20 $\pm$ 0.05	0.29 $\pm$ 0.05
OB-GS	9	285.7 $\pm$ 11.7	306.15 $\pm$ 76.85	486.1 $\pm$ 38.7	729.3 $\pm$ 58.6* $\#$	0.22 $\pm$ 0.07	0.31 $\pm$ 0.04
OB-FFA	8	289.2 $\pm$ 39.8	596.21 $\pm$ 235.72* $\blacktriangle$	497.5 $\pm$ 35.2	1159.9 $\pm$ 69.9* $\blacktriangle$	0.22 $\pm$ 0.06	0.53 $\pm$ 0.11* $\#$
OB-FG	9	215.6 $\pm$ 111.9	435.88 $\pm$ 148.95* $\blacktriangle$	508.9 $\pm$ 46.5	1099.6 $\pm$ 72.1* $\blacktriangle$	0.21 $\pm$ 0.05	1.26 $\pm$ 0.34* $\blacktriangle$

* $P<0.05$, ** $P<0.01$, vs. OB-NS group; $\#$ $P<0.05$, $\blacktriangle$ $P<0.01$, vs. baseline

正常对照组大鼠在静脉推注葡萄糖后,血糖和胰岛素分别于 5 min 达到高峰,糖负荷后 10~30 min 血糖水平逐渐下降,直至接近基线水平,胰岛素与葡萄糖比值变化也呈相同趋势。OB-NS 组葡萄糖负荷后 5~30 min 时血糖水平较 NC 组略高,糖负荷后 5 min 胰岛素达峰,5 min 后各时点胰岛素释放指数高于正常对照组,胰岛素与血糖比值高于正常对照组。OB-FFA 组和 OB-GS 组大鼠葡萄糖负荷后 5 min 时出现胰岛素分泌高峰,与 NC 组相比基线胰岛素水平略高于正常对照组,差异无统计

学意义($P<0.05$)。而胰岛素峰值低于正常对照组,OB-FFA 组与 NC 组胰岛素峰值差异有统计学意义($P<0.05$),OB-FFA 组和 OB-GS 组胰岛素与血糖比值低于正常对照组和 OB-NS 组,差异有统计学意义 OB-FG 组大鼠糖负荷后胰岛素分泌达峰时间延后且各时点胰岛素水平明显低于 NC 组和 OB-NS 组,差别有统计学意义($P<0.05$)。糖负荷后 5~20 min 时血胰岛素水平也明显较 OB-FFA 组、OB-GS 组降低。胰岛素和血糖比值及胰岛素释放指数也均低于 NC 组和 OB-NS 组,差异有统计学意

义($P<0.05$)。

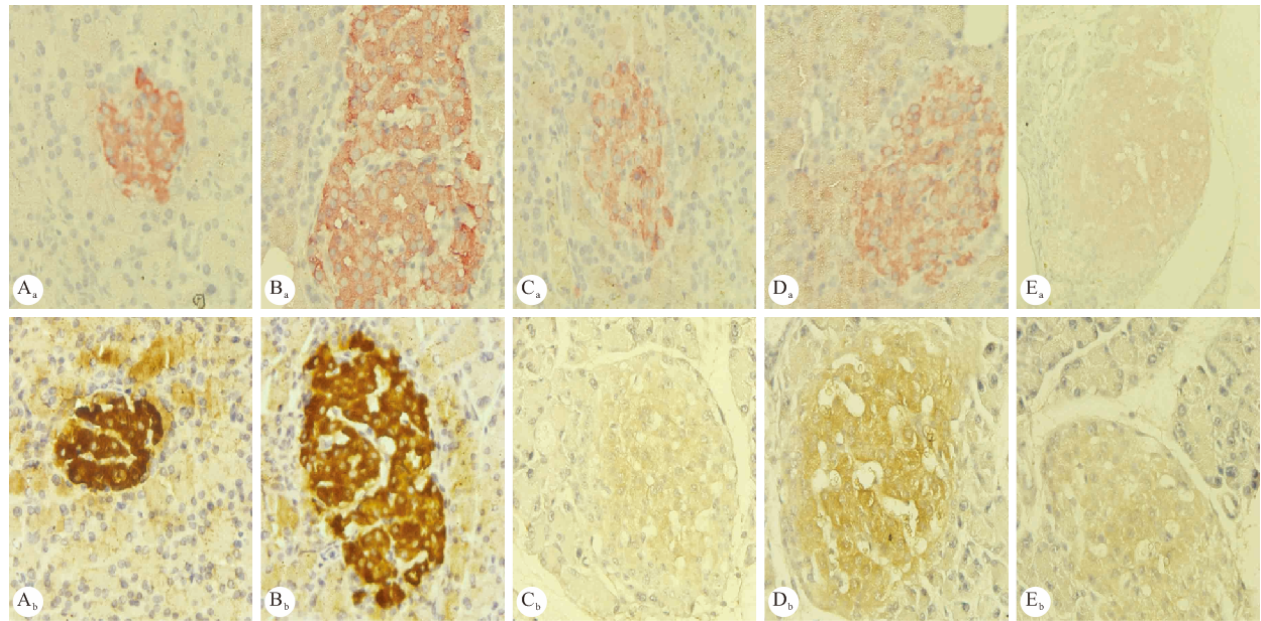
2.5 各组大鼠输注后 β 细胞胰岛素的储备能力评价结果

免疫组化染色图像(附图)显示经过葡萄糖或(和)脂肪乳输注后,胰岛素染色较 NC 组和 OB-NS 组浅,OB-FG 组 INS 免疫组织化学染色浅淡最明显,平均面积低于 OB-NS 组($P<0.01$),但是与 NC 组差异尚无统计学意义($P>0.05$)。OB-FG 组在各

亚组中 IOD 值最低,远低于 NC 组和 OB-NS 组($P<0.01$),OB-GS 组和 OB-FFA 组 IOD 值与 OB-NS 组比较也有不同程度降低($P<0.05$)。见表 4。

2.6 各组输注后胰岛细胞凋亡率

与 NC 组细胞凋亡率相比,各 OB 大鼠亚组胰岛细胞凋亡率增加,其中 OB 各亚组中以 OB-FG 组为显著,远远高于 NC 组,差别有统计学意义($P<0.01$)。见表 4。



附图 高脂组与正常组大鼠胰岛 INS 免疫组织化学染色。 $\times 400$

Fig Immunohistochemical staining of islet rat in obese group and normal control group. $\times 400$

A: Normal control group; B: Obese group with saline infusion; C: Obese group with glucose infusion; D: Obese group with lipid emulsion infusion; E: Obese group with glucose and lipid emulsion infusion; a: Acridine orange staining method; b: Alkaline phosphatase staining method

表 4 各组大鼠胰岛素免疫组织化学染色及凋亡率

Table 4 The insulin immunohistochemical staining and apoptosis rate of rats in each group

Item	NC group ($n=5$)	OB group			
		NS ($n=7$)	GS ($n=9$)	FFA ($n=8$)	FG ($n=9$)
Apoptosis rate/%	0.754 ± 0.21	1.28 ± 0.73	$5.69\pm1.42^{\Delta}$	$10.84\pm2.15^{\blacktriangle,*}$	$15.38\pm2.94^{\blacktriangle,**}$
The average area of β -cell/ μm^2 , median (range)	1 653 (648-6 843)	2 846 $\blacktriangle$ (139-12 165)	1 562 ** (239-3 498)	1 905 * (125-4 147)	1 685 ** (456-3 314)
IOD	$23\,816\pm326$	$31\,845\pm572^{\blacktriangle}$	$10\,027\pm269^{\blacktriangle,**}$	$25\,635\pm642^{*}$	$8\,453\pm327^{\blacktriangle,**}$

IOD: Integral optical density. $\blacktriangle P<0.01$, $\Delta P<0.05$, vs. NC group; $** P<0.01$, $* P<0.05$, vs. OB-NS group

3 讨论

高脂饲料诱导 8 周及以上的肥胖大鼠是一种公认的胰岛素抵抗动物模型^[8]。本研究采用高脂饲料喂养 12 周的肥胖大鼠作为研究对象,采用正常血糖高胰岛素钳夹试验评价外周胰岛素敏感性,确定胰岛素抵抗动物模型成功建立。通过外源性糖脂输注方式升高肥胖大鼠血糖和血 FFA 水平,研究结果显

示 OB 组大鼠循环中葡萄糖、游离脂肪酸和 β -羟丁酸等含量较基线水平明显增加,其中糖脂联合输注组大鼠酮体生成显著增加($P<0.05$)。IVGTT 显示肥胖组大鼠组各时点胰岛素水平和胰岛素分泌指数($\Delta I/\Delta G$)较正常组低下,提示其早相胰岛素分泌功能受损,葡萄糖和脂肪乳联合输注组肥胖大鼠(OB-FG 组)尤其突出,胰岛素分泌功能受损程度较 OB-GS 或 OB-FFA 组严重。本课题组之前采用离体胰腺葡萄糖

和脂肪酸灌注刺激试验也证实高血糖和高 FFA 协同作用可导致酮体显著增加且引起胰岛 β 细胞分泌功能及储备功能受损^[7]。通过胰腺组织的免疫组织化学染色,我们发现肥胖组大鼠呈不同程度的淡染,IOD 值显示葡萄糖和(或)脂肪乳输注的肥胖组大鼠的胰岛内胰岛素颗粒减少,以 OB-FG 组最为严重。本研究从活体功能和离体组织两个层面证实,持续外源性升高血糖/血 FFA 水平可以严重损害胰岛 β 细胞的胰岛素分泌功能,引起胰岛素分泌的耗竭,进而导致酮体生成增加。糖脂毒性导致胰岛素分泌严重受损可能是导致肥胖大鼠酮症倾向的根本原因,但是糖脂毒性导致胰岛素抵抗和胰岛 β 细胞功能障碍的病理分子机制尚不完全清楚^[9-10]。

既往基础研究发现,细胞凋亡在 β 细胞分泌功能不足中扮演了重要的角色^[11]。我们采用 TUNEL 技术检测胰岛 β 细胞凋亡水平,发现 OB-FG 组大鼠胰岛细胞凋亡率较 OB-GS 组、OB-NS 组及 NC 组明显增加,而 OB-NS 组与正常对照组比较并无统计学差异。那么糖脂毒性是如何增加胰岛 β 细胞凋亡的呢? 研究显示线粒体途径在胰岛 β 细胞凋亡过程中发挥重要的作用^[10]: 一方面,线粒体的膜受损可进而引起膜间隙的促凋亡蛋白 CytC,激活 Caspase 通路(主要 Caspase 9 和 Caspase3)和级联反应,导致胰岛 β 细胞凋亡增加,从而影响胰岛素合成和分泌^[11]。另一方面,线粒体作为细胞氧化代谢的中心为生命活动提供能量保障,持续存在的高血糖及高游离脂肪酸血症导致线粒体的结构改变和严重抑制线粒体的糖脂代谢的进程,必然会引起细胞对葡萄糖和游离脂肪酸的氧化利用障碍,线粒体供能不足和氧化障碍也导致胰岛 β 细胞的胰岛素合成和分泌下降^[12]。

本课题组前期研究显示葡萄糖/脂肪乳输注后大鼠肝脏和骨骼肌细胞线粒体明显肿胀,线粒体嵴断裂,线粒体呈空泡样改变,高糖高脂肪输注后尤为明显,胰岛 β 细胞线粒体基质明显肿胀、嵴断裂,同时胰岛 β 细胞细胞核染色质致密化,形成形状不一,大小不等的团块边集于核膜处^[1]。以上结果说明,持续糖脂输注升高循环中血糖和 FFA 水平可导致细胞线粒体肿胀、线粒体嵴断裂消失、内膜受损,提示糖脂超负荷一方面导致肝脏和肌肉细胞异位脂质沉积,导致外周胰岛素敏感性下降,另外一方面也导致线粒体等超微结构受损。我们之前的肥胖大鼠免疫组织化学研究也发现 Cyt C、AIF、Caspase-9 和 Caspase-3 在胰岛细胞胞质中呈弥散性分布,但 OB-FFA 组表达水平显著增高^[7]。本研究结果进一步证实,糖脂具有协同毒性,可以导致胰岛细胞凋亡增加,而胰岛细胞凋亡增加在胰岛 β 细胞分泌功能

不足中起着重要作用。

综上,本研究从多个方面证实糖脂协同毒性在引起肥胖大鼠 FFA 水平和酮体生成显著增加的同时也导致胰岛细胞分泌功能严重不足。肥胖个体在胰岛素严重抵抗的背景下,由于高糖和 FFA 可以通过影响胰岛细胞线粒体功能和可能诱导胰岛细胞凋亡等机制最终导致胰岛素的生物学活性极度低下,外周组织对酮体的氧化利用障碍,酮体的堆积而最终产生酮症。因此糖脂毒性在酮体过度生成中扮演了重要的角色,两者协同毒性导致的胰岛 β 细胞凋亡及胰岛素分泌功能障碍可能是肥胖糖尿病患者酮症倾向的重要原因。

参 考 文 献

- [1] 谭惠文,王 椿,余叶蓉,等. 酮症倾向糖尿病患者临床特征和异质性研究. 中华内分泌代谢杂志,2013,29(12):1026-1030.
- [2] KIM WH, LEE JW, SUH YH, *et al.* Exposure to chronic high glucose induces β -cell apoptosis through decreased interaction of glucokinase with mitochondria. *Diabetes*,2005, 54(9):2602-2611.
- [3] BRIAUD I, HARMON JS, KELPE CL, *et al.* Lipotoxicity of the pancreatic beta-cell is associated with glucose-dependent esterification of fatty acids into neutral lipids. *Diabetes*, 2001,50(2):315-321.
- [4] EL-ASSAAD W, BUTEAU J, PEYOT ML, *et al.* Saturated fatty acids synergize with elevated glucose to cause pancreatic β -cell death. *Endocrinology*,2003,144(9):4154-4163.
- [5] LITWAK SA, WALI JA, PAPPAS EG, *et al.* Lipotoxic stress induces pancreatic β -cell apoptosis through modulation of bcl-2 proteins by the ubiquitin-proteasome system. *J Diabetes Res*, 2015 (2015): 280615 [2015-11-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/pmc4438180/>. doi:10.1155/2015/2806/5.
- [6] PIRO S, ANELLO M, DI PIETRO C, *et al.* Chronic exposure to free fatty acids or high glucose induces apoptosis in rat pancreatic islets: possible role of oxidative stress. *Metabolism*,2002,51(10):1340-1347.
- [7] 赵乃倩,余叶蓉,谭惠文,等. 糖脂联合毒性导致胰岛 β 细胞功能障碍. 中华内分泌代谢杂志,2009,25(1):28-29.
- [8] TAN HW, ZHOU YX, YU YR. Characteristics of diabetic ketoacidosis in Chinese adults and adolescents. *Diabetes Res Clin Pract*,2012,97(2):306-312.
- [9] HU Y, XU XH, HE K, *et al.* Genome-wide analysis of DNA methylation variations caused by chronic glucolipotoxicity in beta-cells. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*,2014,122(2):71-78.
- [10] WALI JA, RONDAS D, MCKENZIE MD, *et al.* The proapoptotic BH3-only proteins Bim and Puma are downstream of endoplasmic reticulum and mitochondrial oxidative stress in pancreatic islets in response to glucotoxicity. *Cell Death Dis*,2014(5):e1124. doi:10.1038/cddis.2014.88.
- [11] VAN GURP M, FESTJENS N, VAN LOO G, *et al.* Mitochondrial intermembrane proteins in cell death. *Biochem Biophys Res Commun*,2003,304(3):487-497.
- [12] GOVINDARAJ J, SORIMUTHU PILLAI S. Rosmarinic acid modulates the antioxidant status and protects pancreatic tissues from glucolipotoxicity mediated oxidative stress in high-fat diet: streptozotocin-induced diabetic rats. *Mol Cell Biochem*,2015,404(1/2):143-159.

(2016-05-09 收稿,2016-10-11 修回)

编辑 汤 洁