



doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2015.03.012
http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.1005-6947.2015.03.012
Chinese Journal of General Surgery, 2015, 24(3):370-374.

· 基础研究 ·

胃转流术对2型糖尿病大鼠胰岛细胞胰岛素受体及胰岛素受体底物2表达的影响

石力, 文艺, 张少华, 陈涛, 崔剑锋, 闫洪涛, 汤礼军

(中国人民解放军成都军区总医院 全军普外中心, 四川 成都 610083)

摘要

目的: 探讨胃转流术对2型糖尿病大鼠胰岛细胞中胰岛素受体(IRc)及胰岛素受体底物2(IRS-2)表达的影响。

方法: 高糖高脂饮食联合腹腔注射小剂量链脲佐菌素建立2型糖尿病大鼠模型, 将造模成功的大鼠分为模型组和胃转流组, 另取正常大鼠作为正常对照组, 胃转流组大鼠行胃空肠吻合术加空肠侧侧吻合, 模型组与正常对照组大鼠均行假手术。检测术前及术后8周大鼠空腹血糖、血清胰岛素, 计算胰岛素敏感指数(ISI), 用免疫组化法检测胰腺组织IRc及IRS-2的表达。

结果: 与正常对照组比较, 模型组与胃转流组术前空腹血糖均明显升高, ISI均明显降低, 但术后胃转流组两项指标均较模型组明显改善(均 $P<0.05$); 各组胰岛素水平手术前后均无统计学差异(均 $P>0.05$)。术后8周, 胃转流组胰岛细胞IRc和IRS-2表达量均明显高于模型组(均 $P<0.05$), 其中IRc表达量仍低于正常对照组($P<0.05$), 但IRS-2表达量与正常对照组接近($P>0.05$)。

结论: 2型糖尿病大鼠胰岛细胞中IRc及IRS-2表达下调, 而胃转流术能够使其表达显著增加, 这可能是该手术产生对2型糖尿病产生疗效的机制之一。

关键词

糖尿病, 2型/外科学, 受体, 胰岛素; 胰岛素受体底物2
中图分类号: R656.6

Influence of gastric bypass on expressions of insulin receptor and insulin receptor substrate 2 in islet cells of rats with type 2 diabetes mellitus

SHI Li, WEN Yi, ZHANG Shaohua, CHEN Tao, CUI Jianfeng, YAN Hongtao, TANG Lijun

(Center of General Surgery of PLA, General Hospital of Chengdu Military Region, Chengdu 610083, China)

Abstract

Objective: To investigate the influence of gastric bypass surgery on expressions of insulin receptor (IRc) and insulin receptor substrate 2 (IRS-2) in islet cells of rats with type 2 diabetes mellitus.

Methods: The model of type 2 diabetes mellitus in rats was induced by a high fat and high glucose diet plus intraperitoneal streptozotocin injection, and then the rats with establishment of successful model were divided into model group and gastric bypass group, using the normal rats as normal control group. The rats in gastric

基金项目: 军队临床高新技术重大基金资助项目(2010gxjs040)。

收稿日期: 2014-05-16; 修订日期: 2015-02-12。

作者简介: 石力, 中国人民解放军成都军区总医院主任医师, 主要从事糖尿病外科治疗基础与临床方面的研究。

通信作者: 汤礼军, Email: whjlj1251@163.com

bypass group underwent gastrojejunostomy and side-to-side jejunojunctionostomy, and those in model group and normal control group underwent sham operation. The fasting glucose and serum insulin levels were measured and insulin sensitivity index (ISI) was calculated before and at 8 weeks after operation, and the IRc and IRS-2 expressions in pancreatic tissues were determined by immunohistochemical staining.

Results: The fasting glucose levels were increased and ISI values were decreased significantly in both model group and gastric bypass group compared with normal control group before operation, but these two parameters were significantly improved in gastric bypass group compared with model group after operation (all $P < 0.05$); the serum insulin levels showed no significant difference among groups before and after operation (both $P > 0.05$). In gastric bypass group at 8 weeks after operation, both IRc and IRS-2 expression levels were significantly higher than those in model group (both $P < 0.05$), but IRc expression level was still lower than that in normal control group ($P < 0.05$), while IRS-2 expression level was approximately equal to that in normal control group ($P > 0.05$).

Conclusion: IRc and IRS-2 expressions are decreased in islet cells of rats with type 2 diabetes mellitus, and gastric bypass surgery can increase IRc and IRS-2 expression, which may be one of the mechanisms for the therapeutic effect of this surgical procedure on type 2 diabetes mellitus.

Key words

Diabetes Mellitus, Type 2/surg; Receptor, Insulin; Insulin Receptor Substrate 2

CLC number: R656.6

业已证明 β 细胞的胰岛素抵抗(insulin resistance, IR)可促进2型糖尿病的发生^[1],而胰岛素受体(insulin receptor, IRc)以及胰岛素受体底物2(insulin receptor substrate 2, IRS-2)表达的下降可导致 β 细胞胰岛素信号转导障碍,引起 β 细胞胰岛素抵抗,使 β 细胞的功能以及增殖发生障碍^[2-4]。 α 细胞的胰岛素信号转导障碍同样也可以导致高糖血症的发生^[5]。研究^[6]表明胃转流术治疗2型糖尿病的作用机制之一是术后患者全身的胰岛素抵抗状态的改善,那么与胰岛细胞胰岛素抵抗相关的IRc以及IRS-2蛋白表达在术后是否会发生改变,笔者对此进行了研究,报告如下。

1 材料与方法

1.1 糖尿病大鼠模型制备

糖尿病大鼠模型制备参照文献^[7],具体如下:22只SD大鼠给予高脂饲料(72%基础鼠饲料+15%炼猪油+10%蔗糖+3%蛋黄)。喂养4周后,空腹状态下经腹腔注射链脲佐菌素35 mg/kg(购自美国Sigma),1周后行OGTT试验(禁食12 h,葡萄糖1.5 g/kg灌胃,测2 h血糖),筛选血糖值 >11.1 mmol/L的大鼠确定为糖尿病大鼠(成模20只,成模率90.9%)。

1.2 动物分组

将2型糖尿病模型大鼠分为胃转流组(12只),模型组(8只),另取8只正常SD大鼠作为正常对照组。胃转流组手术方法如下:腹腔内注射麻醉(0.5%戊巴比妥钠,50 mg/kg)后固定于手术台,无菌条件下,上腹部正中切口长3 cm切开进腹,闭合胃远端,距Treitz韧带10 cm切断空肠,远端肠襟行胃空肠吻合,距胃肠吻合口远端10 cm行空肠侧侧吻合;模型组与正常对照组大鼠均行假手术,即胃窦十二指肠离断原位吻合术。手术12只大鼠,存活8只,存活率66.7%,模型组与正常对照组无大鼠死亡。

1.3 指标检测

术前及术后8周检测空腹血糖及胰岛素,术后8周取胰腺组织以免疫组织化学方法检测胰岛细胞IRc以及IRS-2表达,以Image ProPlus图像分析软件检测胰岛免疫组织化学染色的平均光密度值(mean optical density, MOD)^[8]。胰岛素敏感指数(insulin sensitivity index, ISI) = $\ln(\text{空腹血糖} \times \text{空腹胰岛素})^{-1}$ ^[9]。

1.4 统计学处理

应用SPSS 19.0统计软件进行分析,计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组比较采用单因素方差分析,两两比较采用LSD检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 血糖、胰岛素、ISI 变化

胃转流组及模型组手术前后空腹血糖均明显高于正常对照组，但胃转流组术后血糖明显降

低，且明显低于模型组 ($P < 0.05$)；各组血清胰岛素水平手术前后、组间差异均无统计学意义 (均 $P > 0.05$)；胃转流组及模型组手术前后ISI均明显低于正常对照组，但胃转流组术后ISI较术前明显增高，且明显高于模型组 (均 $P < 0.05$) (表1)。

表1 各组血糖、胰岛素、ISI 变化比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of the changes in glucose and insulin levels and ISI values among groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	血糖 (mmol/L)		胰岛素 (mIU/L)		ISI	
	术前	术后	术前	术后	术前	术后
胃转流组	13.58 ± 2.02 ¹⁾	6.42 ± 1.43 ^{1),2),3)}	30.57 ± 5.36	30.76 ± 4.04	-6.00 ± 0.15 ¹⁾	-5.40 ± 0.24 ^{1),2),3)}
模型组	13.63 ± 1.73 ¹⁾	13.85 ± 1.73 ¹⁾	32.15 ± 3.02	32.93 ± 4.32	-6.11 ± 0.22 ¹⁾	-5.99 ± 0.14 ¹⁾
正常对照组	5.17 ± 1.81	5.62 ± 0.84	31.55 ± 8.07	30.41 ± 7.63	-5.04 ± 0.18	-5.07 ± 0.16

注：1) 与正常对照组比较， $P < 0.05$ ；2) 与模型组比较， $P < 0.05$ ；3) 与术前比较 $P < 0.05$

Note: 1) $P < 0.05$ vs. normal control group; 2) $P < 0.05$ vs. model group; 3) $P < 0.05$ vs. preoperative value

2.2 胰岛细胞 IRc 以及 IRS-2 蛋白表达情况

胃转流组与模型组IRc蛋白表达量均明显低于正常对照组，但胃转流组IRc表达量明显高于模型组 (均 $P < 0.05$)；模型组IRS-2蛋白表达量明显低

于胃转流组与正常对照组 ($P < 0.01$)，但胃转流组与对照组间IRS-2蛋白表达量差异无统计学意义 ($P > 0.05$) (图1-2) (表2)

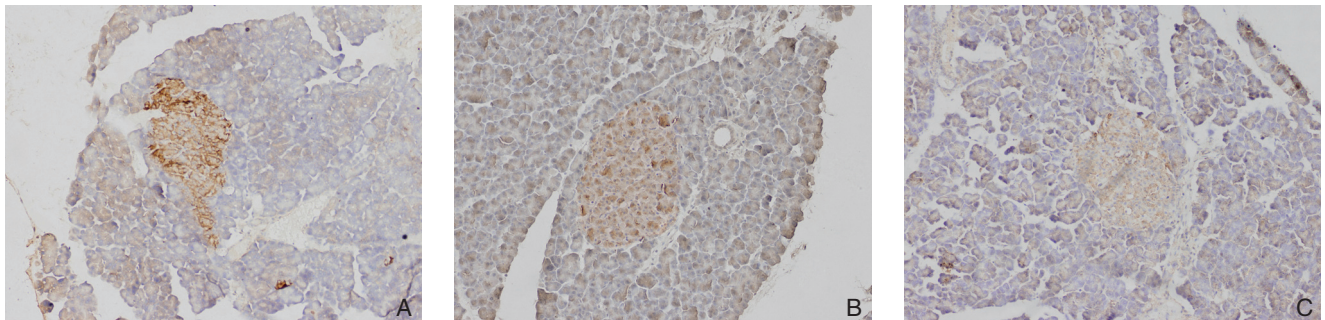


图1 免疫组化检测 IRc 表达 ($\times 200$) A: 正常对照组; B: 胃转流组; C: 模型组

Figure 1 Immunohistochemical staining for IRc expression ($\times 200$) A: Normal control group; B: Gastric bypass group; C: Model group

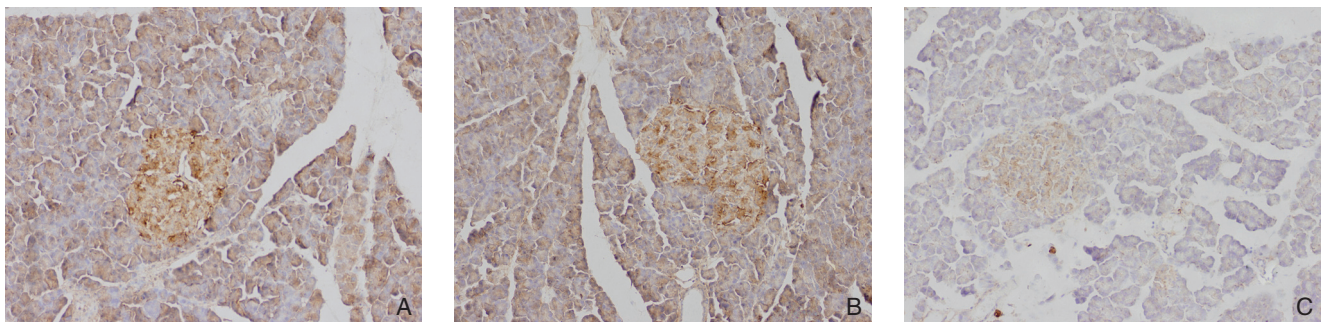


图2 免疫组化检测 IRS-2 表达 ($\times 200$) A: 正常对照组; B: 胃转流组; C: 模型组

Figure 2 Immunohistochemical staining for IRS-2 expression ($\times 200$) A: Normal control group; B: Gastric bypass group; C: Model group

表2 各组 IRC 及 IRS-2 蛋白表达比较 ($\bar{x} \pm s$, MOD)
Table 2 Comparison of IRC and IRS-2 expression levels among groups ($\bar{x} \pm s$, MOD)

组别	IRc	IRS-2
胃转流组	0.28 ± 0.04 ^{1,2)}	0.35 ± 0.06
模型组	0.19 ± 0.04 ¹⁾	0.21 ± 0.03 ¹⁾
正常对照组	0.36 ± 0.07	0.37 ± 0.07

注: 1) 与正常对照组较, $P < 0.01$; 2) 与模型组比较, $P < 0.05$

Note: 1) $P < 0.05$ vs. normal control group; 2) $P < 0.05$ vs. model group

3 讨 论

目前2型糖尿病的发病机制尚未完全阐明,其主要特征为胰岛素抵抗和 β 细胞功能缺陷,在糖尿病发病早期甚至发病前就已经存在上述改变^[10]。过去近半个世纪的研究主要是针对肝脏以及肌肉和脂肪组织等胰岛素经典靶组织,而胰岛细胞长期被认为只是一些产生内分泌激素的细胞,并非胰岛素的作用靶细胞,因此从来没有考虑过这些细胞是否也存在胰岛素抵抗。然而Harbeck等^[11]的研究发现在胰岛 β 细胞上也表达有IRC和IRS,从而改变了这一认识。陆续实验研究发现 β 细胞内也有胰岛素信号转导通路的其他成分,同时发信胰岛素信号通路在胰岛 β 细胞的功能调节中起重要作用,可能与 β 细胞胰岛素基因表达、胰岛素分泌有关^[2]。因此胰岛细胞的胰岛素抵抗,尤其是 β 细胞的胰岛素抵抗是近年来人们所关注的一个焦点^[12]。有研究^[13-14]表明, β 细胞自身的胰岛素信号转导通路障碍可导致2型糖尿病的发生, β 细胞上胰岛素信号转导通路的缺陷可影响细胞的分泌功能以及细胞存活,IRc以及IRS-2表达下降可影响胰岛素的信号转导,从而导致胰岛细胞水平的胰岛素抵抗。Jackerott等^[15]发现IRc对 β 细胞的功能调节有着重要的作用,将小鼠胰岛 β 细胞的胰岛素受体进行基因敲除后,动物出现了与人类2型糖尿病发病初期相似的临床特征,说明胰岛 β 细胞的胰岛素抵抗可以导致胰岛素的分泌障碍。同样,对 β 细胞进行IRS-2基因敲除后可引起2型糖尿病^[16],有研究^[17]认为IRS-2对 β 细胞数量的调节有着重要的作用。此外, α 细胞的胰岛素信号转导障碍也可促进糖尿病患者胰高血糖素血症和高血糖的发生^[5],有作者^[13]对高脂饮食肥胖大鼠胰岛细胞胰

岛素抵抗发生的机理进行了研究,发现胰岛IRc以及IRS-2的表达显著降低,提示 β 细胞和 α 细胞功能障碍与其胰岛素信号转导障碍有关。在本研究中,糖尿病大鼠胰岛细胞IRc以及IRS-2蛋白表达均显著低于正常大鼠,也提示2型糖尿病的发生可能与胰岛细胞IRc及IRS-2表达的下降有关。

胃转流术治疗2型糖尿病有效率可达80%以上^[18],但手术产生作用的机制尚未完全阐明。胰岛素抵抗及 β 细胞功能障碍是2型糖尿病发生发展过程中的两个重要原因,临床研究显示患者术后胰岛素抵抗状态的改善是手术产生作用的重要因素^[19]。既然手术能够改善患者全身的胰岛素抵抗状态,那么胰岛细胞自身的胰岛素抵抗是否在术后也发生了改变?本研究中,糖尿病大鼠胃转流术后8周,在血糖显著下降的同时,胰岛素敏感性也得到了显著提高,进一步提示血糖的下降和胰岛素抵抗状态的改善有关。而此时胰岛细胞中IRc以及IRS-2的表达较糖尿病组及模型组均有显著增加,说明手术可以促进胰岛细胞IRc及IRS-2的表达,并有可能因此而改善胰岛细胞的胰岛素抵抗。

综上所述,在2型糖尿病大鼠中出现了胰岛细胞IRc及IRS-2表达的下降,而这种改变可以在胃转流术后得到显著改善。这就提示2型糖尿病的发生以及胃转流术产生作用的机制可能与胰岛细胞胰岛素抵抗的产生以及改善有关。

参考文献

- [1] Zhao J, Zhang N, He M, et al. Increased beta-cell apoptosis and impaired insulin signaling pathway contributes to the onset of diabetes in OLETF rats[J]. Cell Physiol Biochem, 2008, 21(5/6):445-454.
- [2] Kulkarni RN, Brüning JC, Winnay JN, et al. Tissue-specific knockout of the insulin receptor in pancreatic beta cell creates an insulin secretory defect similar to that in type 2 diabetes[J]. Cell, 1999, 96(3):329-339.
- [3] Demozay D, Tsunekawa S, Briaud I, et al. Specific glucose-induced control of insulin receptor substrate-2 expression is mediated via Ca²⁺-dependent calcineurin/NFAT signaling in primary pancreatic islet β -cells[J]. Diabetes, 2011, 60(11):2892-2902.
- [4] Muller D, Huang GC, Amiel S, et al. Identification of insulin signaling elements in human beta-cells: autocrine regulation of insulin gene expression[J]. Diabetes, 2006, 55(10):2835-2842.
- [5] Xu E, Kumar M, Zhang Y, et al. Intra-islet insulin suppresses

- glucagon release via GABA-GABAA receptor system[J]. *Cell Metab*, 2006, 3(1):47-58.
- [6] 石力, 汤礼军, 陈涛, 等. 2型糖尿病患者胃转流术后游离脂肪酸的改变及其意义[J]. *中国普通外科杂志*, 2011, 20(9):960-962.
- [7] 文艺, 张少华, 陈振宇, 等. Roux-en-Y胃旁路术对2型糖尿病大鼠肾功能的影响[J]. *中华消化外科杂志*, 2013, 12(12):932-936.
- [8] 文敏, 周波, 余资江. 免疫组织化学图像光度学参数的选择及测量[J]. *局解手术学杂志*, 2009, 18(6):377-378.
- [9] Muniyappa R, Lee S, Chen H, et al. Current approaches for assessing insulin sensitivity and resistance in vivo: advantages, limitations, and appropriate usage[J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2008, 294(1):E15-26.
- [10] Lupi R, Del Prato S. Beta-cell apoptosis in type 2 diabetes: quantitative and functional consequences[J]. *Diabetes Metab*, 2008, 34(Suppl 2):S56-64.
- [11] Harbeck MC, Louie DC, Howland J, et al. Expression of insulin receptor mRNA and insulin receptor substrate 1 in pancreatic islet beta-cells[J]. *Diabetes*, 1996, 45(6):711-7
- [12] Szabat M, Lynn FC, Hoffman BG, et al. Maintenance of beta-cell maturity and plasticity in the adult pancreas: developmental biology concepts in adult physiology[J]. *Diabetes*, 2012, 61(6):1365-1371.
- [13] 邹云红, 李秀钧, 李宏亮, 等. 高脂饮食肥胖大鼠胰岛细胞胰岛素抵抗机理的探讨[J]. *中华医学杂志*, 2005, 85(27):1907-1910.
- [14] Oliveira JM, Rebuffat SA, Gasa R, et al. Tungstate promotes β -cell survival in *Irs2*^{-/-} mice[J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2014, 306(1):E36-47.
- [15] Jackerott M, Baudry A, Lamothe B, et al. Endocrine pancreas in insulin receptor -deficient mouse pups[J]. *Diabetes*, 2001, 50(Suppl 1):S146-149.
- [16] Kubota N, Tobe K, Terauchi Y, et al. Distribution of insulin receptor substrate 2 causes type 2 diabetes because of liver insulin resistance and lack of compensatory beta-cell hyperplasia[J]. *Diabetes*, 2000, 49(11):1880-1889.
- [17] Kubota N, Terauchi Y, Tobe K, et al. Insulin receptor substrate 2 plays a crucial role in beta cells and the hypothalamus[J]. *J Clin Invest*, 2004, 114(7):917-927.
- [18] Yan H, Tang L, Chen T, et al. Defining and predicting complete remission of type 2 diabetes: a short-term efficacy study of open gastric bypass[J]. *Obes Facts*, 2013, 6(2):176-184.
- [19] Koshy AA, Bobe AM, Brady MJ. Potential mechanisms by which bariatric surgery improves systemic metabolism[J]. *Transl Res*, 2013, 161(2):63-72.

(本文编辑 宋涛)

本文引用格式: 石力, 文艺, 张少华, 等. 胃转流术对2型糖尿病大鼠胰岛细胞胰岛素受体及胰岛素受体底物2表达的影响[J]. *中国普通外科杂志*, 2015, 24(3):370-374. doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2015.03.012

Cite this article as: SHI L, WEN Y, ZHANG SH, et al. Influence of gastric bypass on expressions of insulin receptor and insulin receptor substrate 2 in islet cells of rats with type 2 diabetes mellitus[J]. *Chin J Gen Surg*, 2015, 24(3):370-374. doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2015.03.012

欢迎关注我刊姊妹刊《Gland Surgery》

《Gland Surgery》(Gland Surg; pISSN 2227-684X; eISSN 2227-8575; PubMed: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/2506>) 于 2012 年 5 月由《中国普通外科杂志》与 AME 公司合作创刊, 是一本同行评审、开放获取的英文期刊, 主要刊登腺体疾病预防、诊断、治疗、预后等方面的文章。由我刊主编吕新生教授与北京 301 医院普通外科李席如教授共同担任主编; 湘雅医院普通外科的李新营, 泰国 Mahidol University 的 Visnu Lohsiriwat, 澳大利亚 University of Melbourne 的 Warren M Rozen, 以及美国 Virginia Commonwealth University 的 Kazuaki Takabe 等教授共同担任副主编。《Gland Surgery》拥有一支国际化的编委团队, 编委分别来自中国、美国、英国、日本、台湾、泰国、澳大利亚、意大利、加拿大、西班牙、希腊等世界各国。

欢迎业内人士登录《Gland Surgery》网站: <http://www.glandsurgery.org>。

中国普通外科杂志编辑部