胰高糖素样肽 1 在糖尿病中的研究进展

★　于媚[1]　叶真[2]　(1. 浙江中医药大学 2006 级硕士研究生　杭州 310053;2. 浙江省卫生厅　杭州 310053)

摘要:胰高糖素样肽 1(GLP-1)是由胰岛 α 细胞和肠道神经内分泌细胞 L 细胞分泌的一种激素,具有葡萄糖依赖的促胰岛素分泌和抑制胰高糖素的分泌、促进 β 细胞的再生和抑制细胞凋亡等作用,在糖尿病的治疗中有广泛的应用前景。

关键词:胰高糖素样肽 1;GLP-1 类似物;糖尿病

GLP-1 是一种生理性肽类肠道激素,主要由回肠末端、结肠和直肠中的神经内分泌细胞 L 细胞分泌。GLP-1 与胰岛 β 细胞上特异性的受体结合后,具有刺激胰岛素分泌,提高 β 细胞对葡萄糖的敏感性,刺激 β 细胞中胰岛素基因的转录和翻译等作用。现就 GLP-1 的生物学功能及应用作一综述。

1　GLP-1 的生物学特性

GLP-1 含有 30 个氨基酸,由胰高糖素原 C 端加工形成。葡萄糖和脂肪酸能刺激 GLP-1 释放入血,与其特异的 GLP-1 受体作用后发挥效应。GLP-1 在体内的分泌为脉冲式分泌,葡萄糖的摄入可增加其脉冲的幅度而不增加频率。GLP-1 脉冲分泌的幅度可被阿托品减弱,表明 GLP-1 的分泌可能与胆碱能机制有密切关系。[1] GLP-1 释放入血后就会被血中的二肽酶Ⅳ(DPP-Ⅳ)裂解为无生物学活性的代谢产物,其半衰期仅 2min,完整的 GLP-1 主要从肾脏排出。

2　GLP-1 的生物学作用及机制

2.1　葡萄糖依赖的促胰岛素分泌和抑制胰高糖素分泌

GLP-1 的促胰岛素分泌的作用依赖于血浆葡萄糖的浓度,空腹状态下没有促胰岛素分泌的作用[2],因此 GLP-1 很少发生低血糖反应。

GLP-1 引起胰岛素释放的可能机制是与 ATP 敏感性 K 通道关闭,膜电位敏感性钙通道开放有关。GLP-1 与 β 细胞上的特异性受体结合,促使腺苷酸环化酶激活,使细胞内 cAMP 浓度增加。另外 GLP-1 通过影响离子通道导致膜去极化,使 Ca^{2+} 内流增加,细胞内 Ca^{2+} 水平升高,从而促进胰岛素的分泌[3]。王毅飞[4]等发现 GLP-1 与 Wistar 大鼠胰岛共同培育后能明显增加胰岛素的分泌,同时伴有细胞内钙离子浓度和 cAMP 的增加,且呈现葡萄糖浓度依赖性,钙离子和 cAMP 同为胰岛素分泌的第 2 信使,cAMP 的增加可激活 cAMP 依赖性蛋白激酶,引起蛋白底物磷酸化,启动胰岛素分泌系统。

GLP-1 也通过降低胰高糖素的分泌来降低血糖。已发现胰岛 α 细胞和 D 细胞表面有 GLP-1 受体,可能是通过直接抑制胰岛 α 细胞和刺激生长抑素及胰岛素分泌的间接机制来进行的。给 C 肽阴性(即无内源性胰岛素分泌能力)的糖尿病狗注射 GLP-1 可以降低血清胰高糖素水平,这一结果提示 GLP-1 抑制胰高糖素的作用至少有一部分是不依赖循环中胰岛素,而是与 GLP-1 作用于胰高糖素和生长抑素的直接作用相一致[5]。GLP-1 对 α 细胞抑制作用的各种机制间的相互目前还不十分清楚。

2.2　促进 β 细胞的再生,抑制细胞的凋亡

胰岛素分泌不足及胰岛 β 细胞进行性衰退是糖尿病发病的重要机制,因此,促进胰岛 β 细胞的分化成熟及再生也成为糖尿病治疗的重要策略。在 Wistar 大鼠,GLP-1 能能诱导胰十二指肠同源盒(PDX-1)表达的上调。PDX-1 是胰腺干细胞分化成熟的关键调节因子,不仅在胚胎胰腺的发育过程中起着重要作用,而且对维持成熟胰岛 β 细胞的功能也至关重要[6]。王川[7]等研究发现 GLP-1 可促进 PDX-1 mRNA 的转录和翻译,加速 PDX-1 的磷酸化,使其从胞浆转位到胞核;增强 PDX-1 与胰岛素、葡萄糖激酶、葡萄糖转运蛋白 2 基因结合的能力,促进胰岛素的合成和分泌。Farilla[8]等发现 GLP-1 在体外能够抑制新鲜分离的人胰岛死亡,不仅延缓胰岛细胞数目减少,还能够使胰岛维持更好的三维结构。

2.3　GLP-1 的胰腺外作用

GLP-1 通过直接抑制胃排空以减弱进餐造成的血糖波动,还可抑制胃酸分泌。在心脏、肺也发现有 GLP-1 受体的表达,具有舒张血管、降压及内皮保护功能。部分动物实验提示可刺激肝脏即骨骼肌细胞中糖原的合成,还发现中枢神经系统中的多个部位有 GLP-1 受体存在,但主要位于丘脑,在鼠脑室内注入 GLP-1 可抑制食物及水的摄入。

3　GLP-1 与糖尿病治疗

GLP-1 促胰岛素分泌又无低血糖副作用,还能改善胰岛素凋亡使其在 2 型糖尿病的治疗有光明的前景。但 GLP-1 循环中半衰期很短的生物学特性限制了其在临床上的应用,因此 GLP-1 的类似物和 DDP-Ⅳ抑制剂,以及 GLP-1 的受体激动剂成为研究和开发的热点。

AMYLIN 和 LILY 公司联合开发的第一个 GLP-1 类似物 Byetta(exenatide),是从巨蜴唾液腺中筛选出的,有 39 个氨基酸组成,有约 53% 的氨基酸与哺乳动物的 GLP-1 一致,与受体有高度亲和力,血浆半衰期达 4 小时,对 DPP-Ⅳ酶的降解作用有更强的抵抗。在一项三盲、安慰剂对照,272 例 T2DM 患者参与的历时 30 周的临床研究中发现,在二甲双胍治疗基础上,每日皮下注射两次 5 或 10 mg Exenatide 可使 HbA1C 水平明显降低,在 10、5 mg 及安慰剂组分别有 46%、32% 及 13% 的患者 HbA1C 可达 7% 以下(治疗组与安慰剂组相比,$P<0.01$)。Exenatide 最常见副作用为轻至中度的胃肠道反应,未观察到严重的低血糖反应[9]。

Liraglutide(NN2211)是一种 GLP-1 的长效衍生物,对 DDP-Ⅳ具有抵抗性,附加的脂肪酸基团可以使其与血浆蛋白结合,从而延缓肾脏的代谢清除,在人体内半衰期为 12 小时。Juhl CB 研究发现 T2DM 患者注射 NN2211 与对照组注射安慰剂相比能明显降低空腹血糖,胰岛素分泌增加,餐后血糖曲线下面积显著下降,胰高糖素曲线下面积减少。Degn[10]等研究发现,在高糖状态下,应用 NN2211 可显著增加胰岛素第一时相分泌及胰岛素对精氨酸刺激的反应,同时胰岛素原/胰岛素比值下降,葡萄糖利用指数可增加近 2 倍。

Nauck 等在午夜给 T2DM 患者注射 NN2211，第 2 天清晨使用胰岛素诱发低血糖后测定胰高糖素、皮质醇、儿茶酚胺和生长激素等低血糖的对抗调节激素，发现除了生长激素反应略有下降外，其他激素水平不受影响，NN2211 不影响胰高糖素对低血糖的反应。

4 结论

GLP-1 作为一种肽类肠道激素，除促进胰岛素分泌和保护胰岛细胞外，还具有胰外的多种生物学作用，其葡萄糖依赖性促胰岛素分泌机制使低血糖的发生率大大减低，优于胰岛素，使其成为糖尿病治疗研究的热点。中医药是否对 GLP-1 表达也有作用呢？已有个案报道：刺五加皂甙能使糖尿病模型大鼠空腹及口服葡萄糖 30 min 后的 GLP-1 分泌升高；陶枫[11]等的研究发现：健脾清化方促进 Wistar 大鼠 GLP-1 分泌，提高血清 GLP-1 浓度。这为我们的研究开辟一个新的领域。

参考文献

[1] Leon DD, Crutchlow MF, Ham JY, et al. Role of glucagon-like peptide-1 in the pathogenesis and treatment of diabetes mellitus[J]. Int J Biochem Cell Biol, 2006, 38: 845 – 859.

[2] Nauck MA, Kleine N, Orskov C, et al. Normalization of fasting hyperglycemia by exogenous glucagons-like peptide 1(7-36 amide) in type 2(non-insulin dependent) diabetic patients[J]. Diabetologia, 1993, 36: 741 – 744.

[3] Gromada J, Brock B, Schmits O, et al. Glucagon-like peptide-1: regulation of insulin secretion and therapeutic potential[J]. Basic Clin Pharmacol Toxicol, 2004, 95: 252 – 262.

[4] 王毅飞，汪吉仪，王国华，胰高糖素样肽-1(7-36)NH2 引起胰岛 β 细胞内游离钙的变化[J]. 广东医学，2000，21(4)：286 – 288.

[5] Dunning BE, Foley JE, Ahren B. Alpha cell function in health and disease: influence of glucagons-like peptide-1 [J]. Diabetologia, 2005, 48: 1700 – 1713.

[6] 巩秋红，楼晋宁，叶丽亚，等. 重组人胰高糖素样肽 1(7-36)促进 INS-1 细胞胰岛素释放与合成[J]. 中华内分泌代谢杂志，2004，20：559 – 560.

[7] 王川，严励，杨川，等. 胰高糖素样肽 1 长期作用对 RIN-m 细胞胰岛素分泌功能的影响[J]. 中华内分泌代谢杂志，2006，22：75 – 76.

[8] Farilla L, Bolotta A, Hisrshberg B et al. Glucagon-like peptide-1 inhibits cell apoptosis and improves glucose responsiveness of freshly isolated human islets [J]. Endocrinology, 2003, 144 (12): 5149 – 5158.

[9] DeFronzo RA, Ratner RE, Han J, et al. Effecta of exenatide (exendin-4) on glycemic control and weight over 30 weeks in metform-in-treated patients with type 2 diabetes[J]. Diabetes Care, 2005, 28(5): 1092 – 1100.

[10] Degn KB, Juhl CB, Sturis J, et al. One week's treatment with the long-acting glucagons-like peptide 1 derivative liraglutide(NN2211) markedly improves 24h glycemia and alpha-and beta-cell function and reduces endogenous glucose release in patients with type 2 diabetes[J]. Diabetes, 2004, 53(5): 1187 – 1194.

[11] 陶枫，朱蕴华，姚政，等. 健脾清化汤对糖尿病模型大鼠 GLP-1 表达的影响[G]. 第十次全国中医糖尿病大会论文集. 2007：663 – 668.

线拴法制备大鼠局灶性脑缺血再灌注损伤研究概况

★ 王林林 （天津中医药大学 天津 300193）

关键词：脑缺血；再灌注损伤；线拴法

研究缺血性脑血管疾病发生发展机制，需要复制简便有效的脑缺血动物模型。大鼠局灶性脑缺血模型(Middle cerebral artery occlusion MCAO)有多种制备方法，其中线拴法是目前脑缺血再灌注损伤常用的模型复制方法，具有不开颅，损伤小，栓塞部位确定等特点，但此模型制作成功率受到一定因素影响。现综合相关文献资料对这些影响因素概述如下：

1 研究背景

1981 年 Tamura 采用开颅电凝法阻断 MCA 建立局灶性脑缺血模型，1986 年 Bederson 对此模型加以改进，梗死率达 100 %[1]，缺点：开颅引起颅内压波动，创伤大，死亡率高。1986 年，Koizumi 等首次采用不开颅法经颈总动脉栓入尼龙线致大脑中动脉闭塞，采用头端硅化的 4-0 尼龙线，缺点：线拴僵硬，易刺破血管[2]。随后在 1989 年，学者 Longa 对这种方法加以改良，将尼龙线头端烧成光滑圆球[3]。近来一些学者将 Longa 法加以改进，效果更好。目前，Koizumi 和 Longa 法已成为制备此模型的典型代表方法。

2 实验动物

2.1 动物品系

诸晓凡等[4]认为 Lewis 大鼠的局灶性脑缺血模型优于 SD 大鼠。markgraf 等[5]认为 Wister 大鼠脑梗死灶体积较小，但梗死灶变异较大，Fischer-334 大鼠梗死灶体积较大且一致性好，变异性较小，SD 大鼠梗死灶的体积、变异性、一致性居二者之间。由于 SD 大鼠和 Wister 大鼠在国内较容易买到，因此常作为制备此模型的动物。

2.2 动物性别

由于雌性激素可减轻脑缺血时脑组织损伤，舒张血管，增加脑血流量，对脑神经有保护作用[6]，由此影响造模成功率，因此以雄性大鼠为主。

2.3 动物体重

多数研究认为随着大鼠体重增加，动脉直径相应增加，体重 >350 g，颅内血管增粗，难以充分阻断中动脉血流，体重 <240 g，有时线拴插入较为困难[7]。李小凤等[8]研究后总结出体重 261 ~ 280 g，插线直径约 0.24 mm，体重 281 ~ 300 g，插线直径约 0.26 mm 的规律。因此，我们实验中采用 300 g 左右的大鼠，便于控制线拴直径以及插入深度，保证造模成