

• 方法学研究 •

脂肪分化障碍引起的胰岛素抵抗、脂肪肝及高胆固醇血症小鼠模型研究

李凤霞¹, 李金磊², 荣向路^{2,5}, 王春怡², 雷 燕³, 郭 姣^{4,5} (1. 广州中医药大学临床药理研究所, 广东 广州 510405; 2. 广州中医药大学中药学院, 广东 广州 510006; 3. 中国中医科学院医学实验中心, 北京 100700; 4. 广东药学院, 广东 广州 510006; 5. 广东省代谢性疾病中医药防治重点实验室, 广东 广州 510006)

摘要: **目的** 观察 aP2-SREBP-1c 转基因小鼠糖脂代谢生物特征, 探讨其在糖脂代谢紊乱性疾病研究中的应用。**方法** 动物分为 aP2-SREBP-1c 转基因小鼠及其同窝野生型小鼠 2 组, 均为雌性, 观察两组小鼠体质量、进食量、进水量, 不禁食及禁食 12 h 血中 TG、TC、LDL-C、Glu 水平, 肝脏、肌肉脂质含量, 口服糖耐量、胰岛素及瘦素, 稳态胰岛素(HOMA-IR), 脂肪、肝脏病理组织学变化。**结果** 与野生型比较, aP2-SREBP-1c 转基因小鼠肾周、性腺周围、皮下脂肪均明显减少($P < 0.01$), 褐色脂肪明显增加($P < 0.01$), 肝脏切片显示明显脂肪肝病理变化, 肝脏质量明显增加($P < 0.01$), 血中胰岛素、葡萄糖水平及 HOMA-IR 明显增加(P 分别 < 0.01 、 0.05 、 0.001), 瘦素明显下降($P < 0.01$), 禁食状态血中 TC、LDL-C 水平均显著升高($P < 0.05$, $P < 0.01$), 显示存在明显的脂肪分化障碍、胰岛素抵抗、高胆固醇血症和脂肪肝。**结论** aP2-SREBP-1c 转基因小鼠可用于糖尿病、脂肪肝、高胆固醇血症等糖脂代谢紊乱疾病的研究。

关键词: aP2-SREBP-1c 转基因小鼠; 动物模型; 糖脂代谢紊乱; 脂肪分化障碍; 胰岛素抵抗; 脂肪肝; 高胆固醇血症

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1003-9783(2014)01-0096-06

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2013.01.026

Study on Mouse Model Characterized by Insulin Resistance, Fatty Liver And Hypercholesteremia Induced by Lipodystrophy

LI Fengxia¹, LI Jinlei², RONG Xianglu^{2,5}, WANG Chunyi², LEI Yan³, GUO Jiao^{4,5} (1. Institute of Clinical Pharmacology, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405 Guangdong, China; 2. School of Chinese Materia Medica, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006 Guangdong, China; 3. Experimental Research Center, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China; 4. Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006 Guangdong, China; 5. Guangdong TCM key laboratory for Metabolic Diseases, Guangzhou 510006 Guangdong, China)

Abstract: Objective To observe the biometric characteristics of glucose and lipid metabolism of aP2-SREBP-1c transgenic mice, and to explore its application in the study of glucose and lipid metabolism disorder. **Methods** Female aP2-SREBP-1c transgenic mice and their wild type littermates were investigated. General data of body weight, food-intake and drink-intake were monitored. Metabolic parameters such as fed and fasting plasma glucose, TG, TC, LDL-C, hepatic TC, TG and muscular TG, fasting blood glucose(FBG), insulin, leptin, HOMA-IR were tested. Histological changes in fat tissue and hepatic tissue were observed after hematoxylin and eosin staining. **Results** Compared to their wild type littermates, weight of perirenal fat, peri-gonad fat, subcutaneous fat lose in

收稿日期: 2013-10-18

作者简介: 李凤霞, 女, 硕士研究生, 研究方向: 中医药防治代谢性疾病及创新药物研发。Email: 88farrahlee@gmail.com。李金磊, 男, 中药学研究生, Email: 273901652@qq.com。通讯作者: 郭姣, 博士, 二级教授, 主任医师, 研究方向: 中医药防治代谢性疾病及创新药物研发。Email: guojiao@gzucm.edu.cn。

基金项目: 教育部“新世纪优秀人才计划”(NCET-11-0916); 国家自然科学基金面上项目(81274156); 广州市科技攻关专项(2012J4100095)。

the transgenic mice ($P < 0.01$), while weight of brown adipose tissue and liver gained ($P < 0.01$). Liver biopsy showed significantly pathological changes of fatty liver. Plasma insulin, glucose and HOMA-IR raised significantly ($P < 0.01$, $P < 0.05$, $P < 0.001$), while plasma leptin level decreased ($P < 0.01$). Lipid metabolic indicators such as fasting plasma TC and LDL-C were higher ($P < 0.05$, $P < 0.01$). The results indicated that aP2-SREBP-1c mice were characterized by evident lipodystrophy, insulin resistance, hypercholesteremia and fatty liver when compared with the wild-type controlled group. **Conclusion** aP2-SREBP-1c transgenic mice can be used as the advisable mouse model for the study of glucose and lipid metabolism disorder such as insulin resistance, fatty liver and hypercholesteremia.

Keywords: aP2-SREBP-1c transgenic mice; Animal models; Glucose and lipid metabolism disorder; Lipodystrophy; Insulin resistance; Fatty liver; Hypercholesteremia

代谢综合征 (metabolic syndrome, MS) 又称为胰岛素抵抗综合征 (insulin resistance syndrome), 是以中心性肥胖、糖尿病或糖调节受损、高血压、血脂异常以及胰岛素抵抗 (insulin resistance, IR) 为共同病理生理基础, 以多种代谢性疾病合并出现为临床特点的一组临床症候群^[1]。随着生活环境的改善, 其发病趋势日渐严峻。最新资料显示, 我国成年人糖尿病患者达 1.139 亿, 糖尿病前期达 4.934 亿^[2-3], 脂肪肝达 1.2 亿^[4], 高脂血症约为 1.6 亿^[5], 研发 MS 拟合度高的动物模型对推动防治 MS 基础与应用研究意义重大。脂肪组织是 MS 发病的重要器官, ob/ob、db/db 小鼠, Zucker 肥胖大鼠, SHROB 大鼠等遗传型模型及高脂饲料喂养大小鼠模型均是脂肪组织过度增生的肥胖型 MS 模型, 在 MS 研究中被大量应用^[6]。而 A-zip/F1^[7-8] 及 aP2-SREBP-1c 小鼠^[9]最初用于模拟艾滋病病毒 (HIV) 引起或先天遗传引起的脂肪萎缩症, 因脂肪生成分化障碍, 导致糖脂代谢紊乱。此类非肥胖转基因动物模型因繁育过程较复杂, 在糖脂代谢紊乱疾病研究中应用较少。因此, 本文主要观察 aP2-SREBP-1c 转基因小鼠的糖脂代谢生物特征, 探索该模型在 MS 中的应用。

1 材料与方法

1.1 动物 aP2-SREBP-1c 转基因小鼠由美国 Jackson 实验室引进, 委托南京大学模式动物研究所净化, 然后转至广州中医药大学饲养繁殖。合格证号: J003393 SCXK(苏)2010-0001。饲养繁殖条件: 广州中医药大学实验动物中心 SPF 级动物房, 温度 20 ℃ ~ 25 ℃, 湿度 50~80 %, 12 h: 12 h 昼夜间断照明, 普通饲料购买于广东省医学实验动物中心。本实验参照《广州中医药大学实验动物管理条例》, 得到广州中医药大学动物实验伦理委员会批准。

1.2 动物繁殖 6 周龄以上、年龄相近的雄性转基因型和雌性野生型小鼠以 1: 2 合笼, 雌鼠怀孕后雄鼠

单独分笼, 怀孕母鼠适当添加营养喂饲, 饲养条件同上。小鼠出生 2 周后剪尾约 1cm 行基因型鉴定, 辨别野生型和转基因型。

1.3 基因型鉴定 aP2-SREBP-1c 转基因小鼠是 C57BL/6J 和 SJL 背景的杂合子个体, 参照 Jackson 实验室基因型鉴定方法进行鼠尾 DNA 提取和 PCR 扩增, 鉴定转基因型 (transgene-type, T) 和野生型 (wild-type, W) (http://jaxmice.jax.org/protocolsdb/f?p=116:2:5839504087493719::NO:2:P2_MASTER_PROTOCOL_ID,P2_JRS_CODE:3437,003393)

1.4 动物分组及处理 选 8 周龄同窝雌性野生型小鼠 (W), 转基因型小鼠 (T) 各 8 只。每周测体质量及进食量、进水量各 2 次, 于第 23~24 周眼底静脉丛取血测葡萄糖 (Glu), 甘油三酯 (TG), 总胆固醇 (TC), 低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C), 胰岛素 (insulin), 瘦素 (leptin), 末次取血后迅速脱颈椎处死小鼠, 剖取肝脏 (liver)、棕色脂肪 (brown adipose tissue, BAT)、肾周脂肪 (perirenal fat, Fr)、腹股沟皮下脂肪 (subcutaneous fat, Fs) 和性腺周围脂肪 (gonadal fat, Fg), 精密称质量。另再取 8, 14, 20 周龄雌性野生型及转基因型小鼠各 8 只, 眼底静脉丛取血测 Glu, TG, TC, LDL-C。

1.5 主要仪器及试剂 BS110S 电子分析天平, 德国 Sartorius 公司; T10 匀浆机, 德国 IKA 公司; MG96G 基因扩增仪, 杭州朗基科学仪器有限公司; 全波长酶标仪, Multiskan GO, 1510, 赛默飞中国公司; HITACHI CR22G 高速冷冻离心机, 日本日立公司; D-无水葡萄糖, BIOSHARP; 异丙醇, 批号: 111017, 广州市新成精细化工有限公司; 小鼠 insulin、leptin ELISA 试剂盒, 批号: O31013489 N24011193, 武汉华美生物生物工程有限公司; 肝素批号: 20100226, 晶欣生物科技有限公司; Glu、TG、TC、LDL-C 试剂盒, 批号: 20100801, 上海荣盛生

物药业有限公司。

1.6 检测指标及方法 (1)血液生化: TG、TC、LDL-C、GLU、insulin、leptin 的测定均按试剂盒说明书进行。(2)口服葡萄糖耐量实验(OGTT): 动物禁食 12 h 后, 乙醚浅麻, 眼底静脉丛取血, 然后以 $2\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 灌胃给予葡萄糖, 取血, 测 0, 20, 60, 120 min 血糖。制作血糖-时间曲线, 并计算曲线下面积(AUC)。(3)肝脏及肌肉脂质测定^[10]: 称取肝脏 100~150 mg, 按 $20\text{ mL}\cdot\text{g}^{-1}$ 肝的比例加入异丙醇, 匀浆约 15 s, 冷藏过夜, 次日振荡混匀后, $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ $3000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 10 min, 取上清测 TG、TC。(4)肝脏、脂肪组织病理观察: 处死小鼠后迅速分离肝脏、棕色脂肪、肾周脂肪、腹股沟皮下脂肪和性腺周围脂肪, 置于中性甲醛中, HE 染色, 进行病理观察。

1.7 统计学处理方法 全部数据以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 各项结果采用 StatView 软件进行 t 检验。

2 结果

2.1 基因型鉴定显示外源性 nSREBP-1c 表达 见图 1。aP2-SREBP-1c 转基因小鼠的构建是通过插入脂肪组织特异表达的 aP2 基因增强子/启动子驱动的一个 5.4 kb 的 DNA 片段, 该片段编码人 SREBP1c 1~436 氨基酸序列, 即核型 SREBP-1c(nSREBP-1c)。基因型鉴定显示与 Jackson 实验室一致, 新生转基因型(T)和野生型(W)小鼠比例约为 1:1。PCR 目标条带(Transgene)为 151 bp, 内参(Internal positive control)为 324 bp。Shimomura 等^[9]用 Northern Blot 分析也显示转基因型小鼠白色脂肪中源自人的 nSREBP-1c mRNA 过度表达。

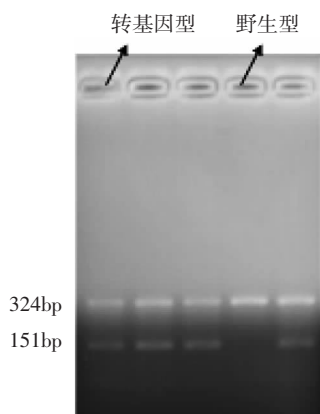


图 1 aP2-SREBP-1c 小鼠基因型鉴定
Figure 1 Genotype of aP2-SREBP-1c mice

2.2 aP2-SREBP-1c 小鼠外观、体质量、进食量、进水量等基本情况 见图 2。刚出生的 aP2-SREBP-1c

小鼠肉眼观无明显异常, 2 周左右可扣及稍大的肝脏, 随着年龄长大, 腹部膨大越明显。12 周龄的小鼠体型偏瘦, 肩胛部脂肪垫明显发达, 体质量与野生型对比, 偏重, 呈稳定增长。而进水量和进食量无明显变化。

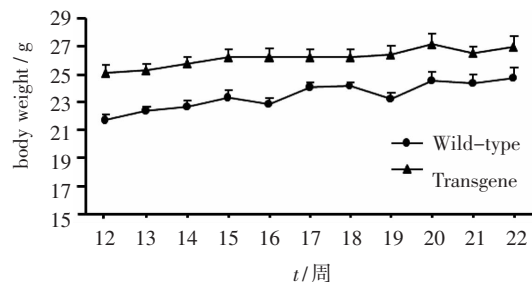


图 2 aP2-SREBP-1c 及野生型小鼠体质量增长曲线

Figure 2 Body weight gain of aP2-SREBP-1c mice and its littermate

2.3 aP2-SREBP-1c 小鼠脂肪、肝脏形态及病理改变 见图 3 及图 4。图 3A 及 3B 中, 与野生型比较, aP2-SREBP-1c 小鼠肝脏(Liver)和褐色脂肪(BAT)体积明显增大、脏器体质量比(器官质量/体质量 $\times 100\%$)增加($P < 0.01$), 差异有统计学意义。提示存在明显脂肪生成紊乱: 白色脂肪萎缩, 褐色脂肪替代性增生。

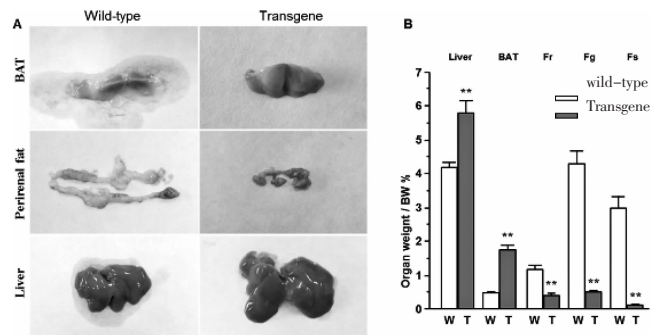


图 3 aP2-SREBP-1c 及野生型小鼠肝脏及脂肪组织大体形态及器官体质量比

Figure 3 Morphology and organ/BW ratio of liver and adipose tissue in aP2-SREBP-1c mice and its littermate

图 4 病理切片显示, aP2-SREBP-1c 小鼠肝细胞肿大, 核居中, 胞浆淡染, 有多个微小脂滴, 部分肝细胞微小脂滴融合成单个大脂滴, 将核挤向边缘, 肝细胞间隙有炎细胞浸润。野生型小鼠 BAT 体积较小, 富含线粒体, 有多个微小脂滴, 而 aP2-SREBP-1c 小鼠 BAT 中含大小不一的, 处于不同阶段的未成熟脂肪细胞, 体积较大, 胞浆淡染, 含单个较大脂肪滴, 与白色脂肪相似。野生型小鼠白色脂肪(肾周脂肪、性腺周围脂肪、皮下脂肪)呈成熟单泡脂肪细胞,

aP2-SREBP-1c 小鼠白色脂肪则包在成熟单泡脂肪细胞之间可见较多未完全融合成大脂肪空泡的脂肪细胞, 大小各异, 其细胞内可见较多细小脂肪滴, 细胞质较多, 细胞核居中呈圆形, 部分被脂滴挤到细胞一侧, 呈新月形, 细胞间隙有炎细胞浸润(图 4A)。leptin 主要由脂肪细胞分泌, aP2-SREBP-1c 小鼠血中 leptin 水平较野生型显著降低($P < 0.01$), 与其脂肪组织分化不全一致(图 4B)。

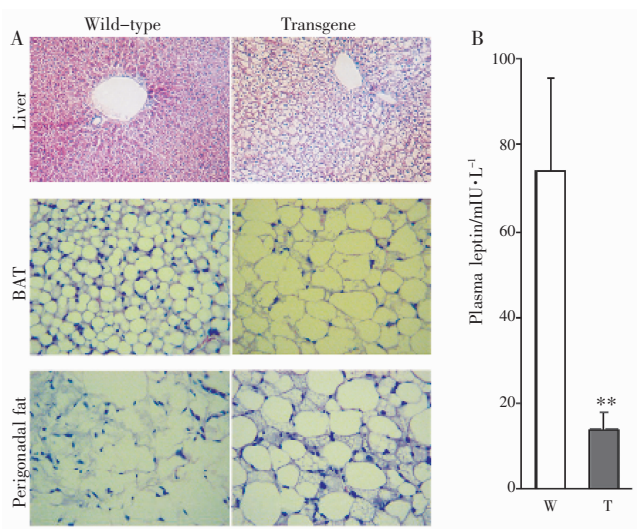


图 4 aP2-SREBP-1c 及野生型小鼠肝脏及脂肪组织病理学变化

Figure 4 Pathology investigation of liver and perigonadal fat in aP2-SREBP-1c mice and its littermate

2.4 aP2-SREBP-1c 小鼠糖代谢 见图 5。与野生型比较, aP2-SREBP-1c 小鼠 FBG、FIns 和 HOMA-IR 指数均显著升高($P < 0.05 \sim 0.001$)(图 5A、B、C)。OGTT 在第 0, 120 min, aP2-SREBP-1c 小鼠血糖明显升高($P < 0.05$)(图 5D), 但 AUC 虽高于野生型, 差别无统计学意义($P > 0.05$)(图 5E)。综合各项糖代谢指标, 提示存在明显胰岛素抵抗。AUC 差异无统计学意义, 可能是实验误差所致。

2.5 aP2-SREBP-1c 小鼠脂代谢 见图 6。与野生型比较, aP2-SREBP-1c 小鼠在正常饮食及禁食状态下, 血中 TC、LDL-C 水平均显著升高($P < 0.05 \sim 0.01$)(图 6A、B), 而 TG 在不禁食状态下无明显变化, 禁食后明显下降($P < 0.05$)(图 6C)。肝内 TG 含量显著升高($P < 0.05$)(图 6D), TC 升高不显著($P > 0.05$)(图 6E)。肌肉中 TG 无明显改变($P > 0.05$)(图 6D)。提示高胆固醇血症和脂肪肝。

2.6 aP2-SREBP-1c 小鼠糖脂代谢时间变化 见图 7。鉴于 aP2-SREBP-1c 小鼠血 TG 没有伴随 TC 升

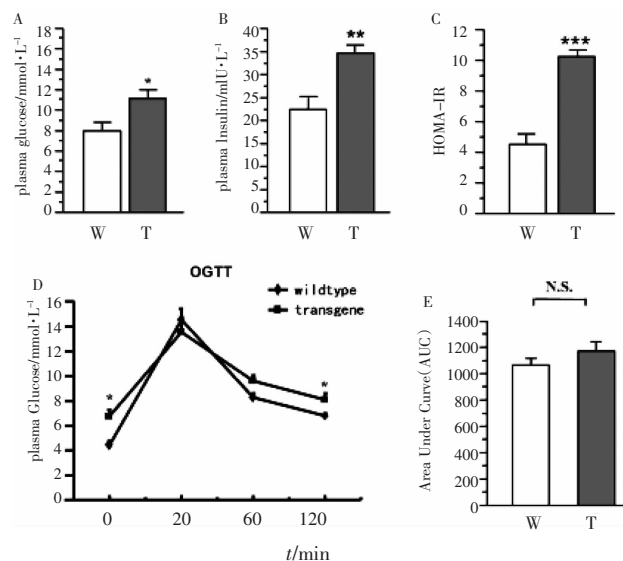


图 5 aP2-SREBP-1c 及野生型小鼠糖代谢

Figure 5 Glucose metabolism of aP2-SREBP-1c mice and its littermate

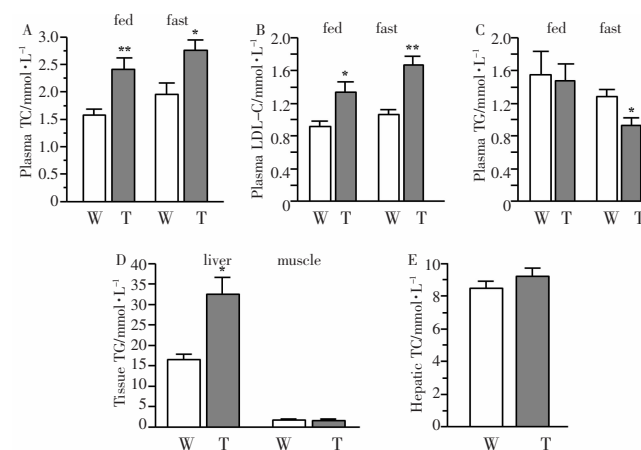


图 6 aP2-SREBP-1c 及野生型小鼠脂代谢

Figure 6 lipid metabolism of aP2-SREBP-1c mice and its littermate

高, 在禁食情况下, 还有下降趋势, 为了解该鼠血中 TG 的动态变化, 我们又选了 8, 14, 20 周龄 aP2-SREBP-1c 及其野生型小鼠, 测量血中生化指标。结果显示, 8, 14 周龄 aP2-SREBP-1c 小鼠 Glu 在禁食状态下就显著升高($P < 0.05 \sim 0.001$), 与之前结果一致, 而在 20 周龄时改变不明显, 可能与当时小鼠机能状态差异有关, 因为野生型小鼠空腹血糖超过 11 mmol/L, 高于正常水平, 具体原因待研究(见图 7A)。8, 14, 20 周龄 aP2-SREBP-1c 小鼠不禁食与禁食状态下血 TC、LDL-C 水平均显著升高($P < 0.05 \sim 0.001$), 与之前结果一致(图 7B、8C)。而血 TG 除 14 周龄时在非禁食状态下显著升高外, 其余各时间点及不同状态均无明显改变, 提示雌性 aP2-SREBP-

1c 小鼠血TG至少在24周龄前与野生型比较,变化不明显(图7D)。

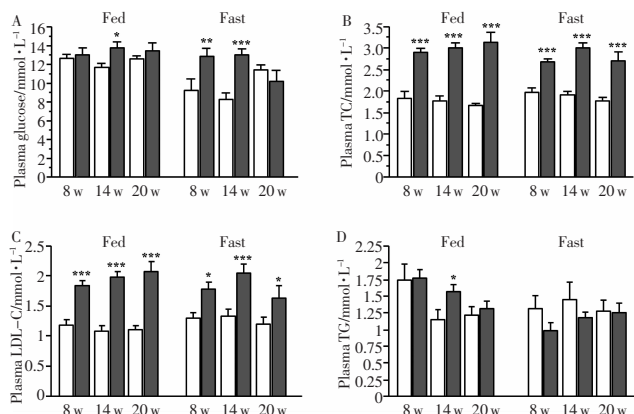


图7 aP2-SREBP-1c及野生型小鼠糖脂代谢的时间变化

Figure 7 Time course of glucose and lipid metabolism in aP2-SREBP-1c mice and its littermate

3 讨论

SREBP-1c是核转录因子家族的重要一员,它主要参与调控脂肪合成和葡萄糖代谢相关酶基因的表达。其有3种形式:SREBP-1C、SREBP-1a和SREBP-2。SREBP-2倾向于激活胆固醇的合成,SREBP-1a和SREBP-1c倾向于促进脂肪酸的合成且SREBP-1c在肝和脂肪组织中优势表达^[11-12]。此转基因小鼠系利用腺病毒技术令SREBP-1c在脂肪组织中过度表达^[13],它与另一种脂肪发育障碍转基因模型小鼠A-ZIP/F-1小鼠相似,前者出生时即表现出明显白色脂肪萎缩,褐色脂肪发达。后者则表现为白色脂肪绝对缺乏,褐色脂肪大幅度减少,二者均出现一系列代谢综合征症候包括胰岛素抵抗、高脂血症、高血糖等^[7-9]。

本实验所用aP2-SREBP-1c转基因小鼠,出生后便渐见体表脂肪偏少,随着年龄,腹部膨隆明显,肩胛部脂肪垫发达。目前认为脂肪组织是有特定组织类型和平衡能量储备、分泌激素和调节免疫等特定功能的真正器官系统,脂肪发育障碍特别是白色脂肪的严重不足,令脂肪细胞分泌的瘦素水平下降,从而降低胰岛素敏感性。从空腹血糖,空腹胰岛素水平及HOMA-IR指数来看,本小鼠模型存在明显胰岛素抵抗。众所周知,脂肪过多(肥胖)是导致胰岛素抵抗的重要因素,在糖尿病等代谢性疾病发病中占据重要地位。因此,本研究利用小鼠提供了非肥胖型胰岛素抵抗模型,可为临床非肥胖型糖尿病或糖尿病合并脂肪发育障碍等疾病的研究提供一个新的研究工具。

白色脂肪的严重不足导致甘油三酯等无法正常分

布而异位沉积。酶法检测肝脏内甘油三酯含量明显升高,胆固醇稍微升高,病理切片肝细胞肿大、黄染、脂滴融合,均说明肝脏是脂肪异位沉淀的靶器官之一。有此模型的相关研究检测到肝脏中nSREBP-1c蛋白明显升高^[13],导致脂肪生成相关基因的转录上调,脂肪酸合成的速率增加,可能是最终导致脂肪肝的原因。aP2-SREBP-1c转基因小鼠跟常用的ob/ob小鼠相似,一样可作为脂肪肝的动物模型。

由于繁殖需要,本次实验中只选取了雌性转基因小鼠作为研究对象。实验结果显示12周龄雌性aP2-SREBP-1c小鼠血中甘油三酯水平轻微升高,胆固醇水平明显升高,低密度脂蛋白变化与胆固醇变化相符。而随后选取的8周、14周、20周的雌性小鼠血中血脂变化趋势基本与12周龄相同,随着年龄的增长,血脂异常是否有变化有待进一步的观察研究。雌激素对女性血脂异常等心血管相关疾病的发生有保护作用,女性绝经后心血管发病率的增加可能在一定程度上是由雄激素和中心性肥胖相对增加而引起的^[14]。因此,后续研究可进一步观察衰老模型小鼠血脂异常变化,以更全面地研究模型,为研究提供更好的支撑。

肥胖和脂肪萎缩都能导致胰岛素抵抗,而脂肪发育障碍导致胰岛素抵抗的具体机制尚有待进一步研究,具体到此模型中,明确nSREBP-1c在脂肪组织中的过度表达与脂肪分化紊乱的关系可能对理解不同状态下的胰岛素抵抗有帮助。最新临床研究显示^[15],远端肢体脂肪萎缩(PLL)合并2型糖尿病病人比单纯2型糖尿病病人表现出更明显的胰岛素抵抗、脂肪肝及血脂异常,建议对具有明显血脂异常、胰岛素抵抗和转氨酶升高的2型糖尿病病人进行PLL的筛查^[16],探讨此动物模型具有实际临床意义。

参考文献:

- [1] 李秀钧. 代谢综合征[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2007: 48.
- [2] Yang W, Lu J, Weng J, et al. Prevalence of diabetes among men and women in China[J]. N Engl J Med, 2010, 362(12): 1090-1101.
- [3] Xu Y, Wang L, He J, et al. Prevalence and control of diabetes in Chinese adults[J]. JAMA, 2013, 310(9): 948-958.
- [4] Fan JG, Jia JD, Li YM, et al. Guidelines for the diagnosis and management of nonalcoholic fatty liver disease: Update 2010[J]. J Dig Dis, 2011, 12(1): 38-44.
- [5] Khera AV, Cuchel M, de la Llera-Moya M, et al. Cholesterol efflux capacity, high-density lipoprotein function, and atherosclerosis[J]. N Engl J Med, 2011, 364(2): 127-135.
- [6] 毕秀萍, 张薇. 代谢综合征动物实验模型的研究进展[J]. 中国动脉

- 硬化杂志, 2006, 14(11): 1007-1009.
- [7] Kim Jk, Gavrilova O, Chen Y, et al. Mechanism of insulin resistance in A-ZIP/F-1 fatless mice[J]. J Biol Chem, 2000, 275: 8456-8460.
- [8] Moit ra J, M ason MM, O live M, et al. Life without white fat: A transgenic mouce[J]. G enes Dev, 1998, 12(20): 3168-3181.
- [9] Shimomura I, Hammer RE, Richardson JA, et al. Insulin resistance and diabetes mellitus in transgenic mice expressing nuclear SREBP-1c in adipose tissue: model for congenital generalized lipodystrophy [J]. Genes Dev., 1998(12): 3182-3194.
- [10] Rong X, Li Y, Ebihara K, et al. An adipose tissue-independent insulin-sensitizing action of telmisartan: a study in lipodystrophic mice [J]. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 2009, 331: 1096-1103.
- [11] Shimano H. Sterol regulatory element-binding proteins (SREBPs): transcriptional regulators of lipid regulators of synthetic genes[J]. Prog Lipid Res, 2001, 40(6): 439-452.
- [12] Horton JD, Goldstein JL, Brown MS. SREBPs: activators of complete program of cholesterol and fatty acid synthesis in liver[J]. J Clin Invest, 2002, 109(9): 1125-1131.
- [13] Shimomura I, Bashmakov Y, Horton JD, et al. Increased levels of nuclear SREBP-1c associated with fatty liver in two mouse models of diabetes mellitus[J]. Genes Dev., 1999, 274 (2): 30028-30032.
- [14] Deslypere JP, Verdonck L, Vermeulen A. Fat tissue: a steroid reservoir and site of steroid metabolism[J]. J Clin Endocrinol Metab, 1985, 61(3): 564-570.
- [15] Strickland LR, Lok K, Guo FJ, et al. Type 2 diabetes with partial lipodystrophy of the limbs [J]. Diabetes Care, 2013, 36: 2247-2253.
- [16] Rother KL, Brown RD. Novel forms of lipodystrophy, why should we care[J]? Diabetes Care, 2013, 36: 2142-2145.
- (编辑: 邓响潮)

乙醇诱导人胃上皮细胞株凋亡的研究

刘翠玲¹, 黄可儿², 陈柏书¹, 来慧丽¹ (1. 广州中医药大学, 广东 广州 510405; 2. 广州中医药大学第一附属医院, 广东 广州 510405)

摘要: **目的** 探讨建立乙醇诱导人胃上皮细胞株 (GES-1) 凋亡模型的方法和可行性。**方法** 采用罗氏细胞实时动态分析仪、MTT 比色法、Hoechst 染色法、Annexin V-FITC/PI 凋亡流式检测研究不同浓度的乙醇对人胃上皮细胞株(GES-1)凋亡作用。**结果** (1)当乙醇浓度大于 0.5 mol·L⁻¹ 时, 对 GES-1 细胞株有明显的诱导凋亡作用, 而考察的 TNF-α(100, 50 ng·mL⁻¹)则没有明显的细胞凋亡诱导作用;(2)通过形态学观察, 发现乙醇模型组 GES-1 细胞株出现明显的凋亡细胞形态学改变;(3)Annexin V-FITC/PI 凋亡流式分析结果发现乙醇浓度大于 0.2 mol·L⁻¹ 对细胞具有明显的诱导凋亡作用, 乙醇主要诱导 GES-1 细胞株进入早期凋亡, 且具有浓度依赖性, 但该诱导作用具有时效性, 在作用持续 60 min 后, 其诱导作用会逐渐减弱。**结论** 乙醇对 GES-1 细胞株具有明显的诱导细胞凋亡作用, 且具有浓度依赖性及时效性; 本凋亡模型具有较好的重现性。

关键词: 人胃上皮细胞; 乙醇; 凋亡

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2014)01-0101-06

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2013.01.027

Establishment of Human Gastric Epithelial Cells Apoptosis Model Induced by Ethanol

LIU Cuiling¹, HUANG Ke'er², CHEN Baishu¹, LAI Huili¹ (1. Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405 Guangdong, China; 2. The First Affiliated Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405 Guangdong, China)

收稿日期: 2013-08-22

作者简介: 刘翠玲, 女, 博士研究生, 研究方向: 调理脾胃方药的临床与实验研究。Email: liuculing0912@163.com。通讯作者: 黄可儿, 研究员, 博士生导师, 主要从事中医药防治脾胃疾病的研究。Email: hke8989@163.com。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81072946)。