

外源注射 rrIL-6 在胰岛素抵抗发生中的作用

周侯涛¹, 唐 晖²

(1. 湖南工业大学 体育学院, 湖南 株洲 412007; 2. 湖南科技大学 体育学院, 湖南 湘潭 411201)

摘要: 研究外源性重组大鼠白细胞介素-6对2型糖尿病大鼠造模成功率的影响,并探讨不同造模手段对糖尿病大鼠空腹血糖、血清IL-6、空腹胰岛素指数的影响。实验时先将SD大鼠分为2组高脂饮食饲养6周,6周后将所有大鼠禁食12h,第一组进行一次性腹腔注射链脲佐菌素,第二组进行外源性重组大鼠白细胞介素6与链脲佐菌素混合腹腔注射。结果表明:注射外源性IL-6会一定程度降低建模成功率;不同造模手段对糖尿病大鼠空腹血糖指数都有明显升高,但对其胰岛素分泌功能的影响不大甚至没有;STZ注射造模后,大鼠血清IL-6指数有明显升高,但外源IL-6注射造模大鼠的血清IL-6指数变化程度不很明显。

关键词: 白细胞介素6;血清IL-6;血糖;胰岛素;胰岛素抵抗;建模;

中图分类号: R362

文献标志码: A

文章编号: 1673-9833(2010)06-0105-04

Effect of rrIL-6 on IR and Exercise Intervention

Zhou Yutao Tang Hui

(College of Physical Education, Hunan University of Technology, Zhuzhou Hunan 412007, China;
Institution of Physical Education, Hunan University of Science and Technology, Xiangtan Hunan 411201, China)

Abstract: Studies the influence of exogenous rrIL-6 on the modeling success ratio of type II diabetes rats and discusses the effects of different modeling means on DM rat FBG, serum IL-6 and FINS. SD rats are divided into two groups which are fed for 6 weeks with the hyper-lipid feedstuff and experience the 12 hours' fasting. The first group experiences a one-time injection of STZ. STZ and rrIL-6 are injected into the second group. The result shows that the injection of exogenous IL-6 will reduce modeling success ratio to some extent. FBG of DM rats is increased remarkably by various modeling which has a little effect on DM rats' insulin secretion. After STZ injecting, the index of rats serum IL-6 increases significantly but varies little from exogenous IL-6 modeling.

Keywords: IL-6; serum IL-6; blood glucose; Ins; IR; modeling

胰岛素抵抗 (insulin resistance, IR) 是指胰岛素作用的靶器官对胰岛作用的敏感性下降,即正常剂量的胰岛素产生低于正常生物学效应的一种状态,其成因尚未完全清楚。有大量文献报道^[1-8],胰岛素抵抗发生于人体生理作用的任何方面,且其抵抗机制十分复杂。已有研究表明,运动能够改善胰岛素抵抗,这是因为在运动过程中,骨骼肌所产生的白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6) 可通过调节和控制各组织中的胰

岛素作用及抵抗机制,通过不同的方式引起血糖指数、糖脂代谢、身体各组织器官血糖的改变,从而改善胰岛素抵抗^[1]。而外源性重组大鼠IL-6的注射是否能在改善胰岛素抵抗中起到一定作用,并达到肌源性IL-6改善同样的效果,尚未见确切报道。所以,本文拟针对外源性注射重组大鼠IL-6在胰岛素抵抗发生中的作用及其抵抗机制进行探讨。

收稿日期: 2010-10-08

通信作者: 周侯涛 (1983-), 男, 湖南株洲人, 湖南工业大学教师, 硕士, 主要从事运动训练生理学监控方面的教学与研究,

E-mail: yutao_zhou@163.com

1 材料和方法

1.1 研究材料

1.1.1 实验动物及处理

无特定病原体 (specific pathogen free, SPF) 级雄性^[2]远交群 (sprague dawley, SD) 大鼠 45 只, 购自广东省医学院实验动物中心, 许可证号: SCXK(粤)2003-0002, 粤监证字 2007A003, 6 周龄, 体重 (150 ± 15) g, 且分笼饲养, 每笼 5 只, 自由饮食, 饲养条件为室温 (23 ± 2) °C, 相对湿度 40%~60%, 每天及时给大鼠更换垫料, 以保持笼内干燥, 所有大鼠在购买后以普通饲料做适应性喂养 1 周后进行实验。

1.1.2 主要试剂配制

链脲佐菌素的配制: 根据大鼠体质量的多少称取一定量的链脲佐菌素 (strepto zotocin, STZ), 并用新鲜配制的浓度为 0.1 mol/L 柠檬酸缓冲液在冰浴中配制成质量浓度为 20 mg/mL 的链脲佐菌素溶液, 避光放置, 现配现用。

IL-6 的配制^[3]: 将重组大鼠 IL-6 (recombinant rat Interleukin 6, rrIL-6) 按照一定比例配制生理盐水, 配制成腹腔注射 IL-6, 每只每天用量为 0.4 ug, 现配现用。

高脂饮食大鼠饲料配方: 各配料添加质量分数为 10% 的猪油、20% 的白糖、5% 的蛋黄粉、0.2% 的胆盐、0.05% 的维生素、0.2% 的矿物质和 64.55% 的基础饲料。

1.2 实验方法

1.2.1 动物分组与造模

将实验用 45 只大鼠随机分为普通饮食组 (15 只, N 组) 和高脂饮食组 (30 只), 并将 30 只高脂饮食大鼠平均分为普通造模组 (S 组) 和 rrIL-6 造模组 (IS 组)。

将饲养 6 周后的所有高脂饮食大鼠禁食 12 h 后进行一次性腹腔注射链脲佐菌素, 剂量为 20 mg/kg^[4], 并从中随机抽取 15 只大鼠进行腹腔注射 rrIL-6 造模 1 周, 用量为每天 0.4 ug^[3]。1 周后进行随意血糖测试, 若血糖浓度大于 11.1 mmol/L^[4-5], 并且胰岛素敏感指数和抵抗指数显著改变, 即定为糖尿病造模成功。

1.2.2 糖尿病胰岛素抵抗、敏感指数评价的计算

小鼠糖尿病胰岛素抵抗指数 (insulin resistance index, IRI) 与胰岛素敏感指数 (insulin sensitivity index, IAI) 评价的计算, 采用国内外常用的 Homa Model 公式^[6-7]进行计算, 具体的计算公式为:

$$a_{IRI} = (n_{FBG} \times m_{FINS}) / 22.5,$$

$$a_{IAI} = \ln [1 / (n_{FBG} \times m_{FINS})].$$

式中: a_{IRI} 为胰岛素抵抗指数; n_{FBG} 为空腹血糖浓度; m_{FINS} 为空腹胰岛素质量浓度, a_{IAI} 为胰岛素敏感指数。

1.2.3 实验样品制备及指标测试方法

实验中相应组大鼠处理前禁食 12 h, 称重, 并用

10% 水合氯醛以相对体质量的 300 mg/kg 剂量麻醉, 在腹主动脉取血, 即刻测血糖, 并以 3 500 r/min 速度离心 15 min 以分离血清, -20 °C 冰箱内保存备测; 需测试的指标有: 1) 基础指标, 包括大鼠体质量、饮食量、Lee's 指数; 2) 血液指标, 包括血糖、胰岛素、IL-6。测试方法主要为酶标免疫测试法, 并采用自动生化分析仪进行测试分析。

1.2.4 实验数据统计方法

所有实验数据均以“平均数 ± 标准差”表示, 用 SPSS12.0 统计软件对数据进行处理, 各组之间均数比较用单因素方差分析。显著性水平 (p) 为 0.05。

2 实验结果与分析

2.1 糖尿病大鼠建模成功率情况及其影响因素

在糖尿病大鼠动物模型建立的研究中, 糖尿病建模的成功率是备受关注的问题, 成功率的高低与大鼠的性别、高脂喂养时间, STZ 与外源 IL-6 的注射剂量, 注射方式等因素有关。本研究认为, 经过 6 周高脂饮食并小剂量注射 STZ 后, 造模 15 只, 建模成功 11 只, 建模成功率为 73.3%, 建模后大鼠情况较稳定, 无死亡发生; 经过 6 周高脂饮食, 再小剂量注射 STZ, 并外源性注射 IL-6 后, 造模 15 只, 建模成功 8 只, 建模成功率为 53.3%, 建模后大鼠情况较稳定, 无死亡发生。

造模成功率情况说明: 此研究中, 糖尿病大鼠经外源性注射 IL-6 造模后, 在一定程度上降低了建模的成功率, 这表明外源性注射 IL-6 对胰岛素抵抗的发生有降低的趋势。

2.2 不同造模手段对大鼠 FBG、血清 IL-6、FINS 指数的影响

2.2.1 造模手段对 FBG 浓度和指数的影响

FBG (fasting blood glucose) 是指在隔夜空腹 (至少 8~12 h 未进任何食物, 饮水除外) 后采血, 检定所得血糖值, 它是检测糖尿病时最常用的一项指标, 其值能反应胰岛 β 细胞功能, 一般代表基础胰岛素的分泌功能。

本实验中, 不同造模手段对各组 15 只糖尿病大鼠 FBG 浓度及指数的影响结果见表 1。

表 1 不同造模手段对大鼠 FBG 浓度的影响

Table 1 Influence of different modeling means on FBG's concentration

| 组别 | 对照组 | 造 模 组 | |
|---|-------------|----------------|----------------|
| | | STZ | STZ+IL-6 |
| $n_{FBG}/(\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1})$ | 6.42 ± 0.80 | 13.36 ± 5.95** | 12.77 ± 2.62** |

注 与对照组对照比较, **为 $p < 0.01$, 后同。

由表 1 可看出, 经 6 周的高脂饮食喂养结合小剂量

STZ 注射造模后, 大鼠的 n_{FBG} 明显升高, 与正常组大鼠相比其差异有显著性意义 ($p < 0.01$); 经 6 周的高脂饮食喂养结合小剂量 STZ 注射以及小剂量外源 IL-6 注射造模后, 大鼠的 n_{FBG} 明显升高, 与正常组大鼠相比, 其差异有显著性意义 ($p < 0.01$); STZ+IL-6 注射大鼠与 STZ 注射大鼠相比, 空腹血糖的浓度指数略有减少, 有下降趋势, 但相差不大。

此结果说明: 不同造模手段对糖尿病大鼠 FBG 指数都有明显升高, 但外源 IL-6 注射造模与正常造模组的大鼠血糖相比有所下降, 但相差不大, 没有明显的统计学意义, 表明外源 IL-6 注射造模与正常造模成功的大鼠血糖指数无明显差别, 但有降低血糖的趋势。

2.2.2 造模手段对大鼠 FINS 质量浓度的影响

胰岛素是由胰岛 β 细胞受内源性或外源性物质如葡萄糖、乳糖、核糖、精氨酸、胰高血糖素等的刺激而分泌的一种蛋白质激素。胰岛素是机体内唯一能降低血糖的激素, 也是唯一能同时促进糖原、脂肪、蛋白质合成的激素^[9]。胰岛素抵抗是由各种原因引起的机体对生理水平的胰岛素失去敏感性, 胰岛素维持正常血糖的能力下降或组织对胰岛素的反应下降的现象。表现为外周组织, 尤其是肌肉、脂肪组织, 对葡萄糖摄取减少^[10]。

不同造模手段对糖尿病大鼠 FINS (fasting insulin) 质量浓度和指数的影响分别见表 2。

表 2 造模手段对糖尿病大鼠 FINS 质量浓度的影响

Table 2 Influence of modeling on FINS' s content

| 组 别 | 对 照 组 | 造 模 组 | |
|--|-----------------|-----------------|-----------------|
| | | STZ | STZ+IL-6 |
| $m_{\text{FINS}}/(\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1})$ | 3.15 ± 0.61 | 3.04 ± 0.69 | 3.71 ± 0.65 |

由表 2 可看出, 经 6 周的高脂饮食喂养结合小剂量 STZ 注射糖尿病造模后, 糖尿病大鼠的 FINS 质量体积浓度略有减少, 但是相差不大; 经 6 周的高脂饮食喂养结合小剂量 STZ 注射以及小剂量外源 IL-6 注射造模后, 糖尿病大鼠的 FINS 质量体积浓度略有增加, 但是相差不大; STZ 注射造模与 STZ+IL-6 注射造模 FINS 指数略有减少, 但相差不大。

此结果表明: 不同造模手段对糖尿病大鼠胰岛素功能分泌影响不大甚至没有, FINS 指数的变化没有显著统计学意义。

2.2.3 造模手段对大鼠血清 IL-6 含量和指数的影响

IL-6 是一种细胞因子, 主要由单核细胞、吞噬细胞、成纤维细胞和血管内皮细胞生成, 其作用是调节免疫系统及抗炎性。IL-6 能维持胰岛素分泌平衡, 其机理是胰岛可自分泌 IL-6, 同时 IL-6 又可促进胰岛素的产生, 进而证明 IL-6 是胰岛行使功能的促进因

子, 其参与了胰岛素和胰岛血糖素的分泌调节, 所以在维持胰岛内分泌代谢的平衡中发挥重要作用^[11]。IL-6 能维持骨骼肌内糖元的稳定。近年来的研究表明, 运动中肌肉糖元耗竭时, 血浆中 IL-6 的浓度会大幅度增加^[11-13]。

本实验中, 不同造模手段对糖尿病大鼠血清 IL-6 含量和指数的影响见表 3。

表 3 造模手段对大鼠血清 IL-6 含量的影响

Table 3 Influence of modeling on serum IL-6' s content

| 组 别 | 对 照 组 | 造 模 组 | |
|---|-------------------|-----------------------|-------------------|
| | | STZ | STZ+IL-6 |
| $m_{\text{血清 IL-6}}/(\text{pg} \cdot \text{mL}^{-1})$ | 33.82 ± 13.09 | $49.15 \pm 9.85^{**}$ | 39.88 ± 17.04 |

由表 3 可看出, 经 6 周的高脂饮食喂养结合小剂量 STZ 注射造模后, 大鼠血清 IL-6 指数明显升高, 与正常组大鼠相比, 其差异有显著性意义 ($p < 0.01$); 经 6 周的高脂饮食喂养结合小剂量 STZ 注射造模以及小剂量外源 IL-6 注射造模后, 血清 IL-6 指标略有增加, 与正常组大鼠相比, 其差异无显著意义; STZ 注射大鼠与 STZ+IL-6 注射大鼠血清的 IL-6 指数略有增加, 但相差不大。

此研究结果表明: STZ 注射造模后, 大鼠血清 IL-6 指数能明显升高, 但外源 IL-6 注射造模大鼠的血清 IL-6 指数变化程度不是很明显, 其原因可能是外源 IL-6 在大鼠体内自行吸收分解后会释放肌源性 IL-6。

3 结 论

本实验采用高脂饲料喂养大鼠, 造模后血糖显著增高, 与造模前及正常组相比, 其差异性具有显著性意义, 呈现出典型糖尿病临床表现, 说明本实验中糖尿病大鼠动物模型建立成功, 且可得到如下结论:

1) 外源性注射 IL-6 造模后, 一定幅度降低了建模成功率, 表明外源性注射 IL-6 对胰岛素抵抗的发生有降低的趋势。

2) 不同造模手段对糖尿病大鼠 FBG 指数都有明显升高, 外源 IL-6 注射造模与正常造模组的大鼠血糖水平相差不大, 但有所下降, 没有明显的统计学意义, 表明外源 IL-6 注射造模与正常造模成功的大鼠血糖指数无明显差别, 但有降低血糖的趋势。

3) 不同造模手段对糖尿病大鼠胰岛素功能分泌影响不大, 甚至没有, FINS 指数的变化没有显著的统计学意义。

4) STZ 注射造模后, 大鼠血清 IL-6 指数能明显升高, 但外源 IL-6 注射造模大鼠的血清 IL-6 指数变化程度不是很明显, 原因可能是外源 IL-6 在大鼠体内自行

吸收分解后释放肌源性 IL-6 的结果。

参考文献:

- [1] 唐 晖, 谢敏豪. 运动引起肌源性 IL-6 分泌的研究进展[J]. 中国运动医学杂志, 2006(1): 60-64.
Tang Hui, Xie Minhao. Research Progress on Exercise-Induced Muscle-Derived IL-6 Secretion[J]. Chinese Journal of Sports Medicine, 2006(1): 60-64.
- [2] 刘亚平, 季 虹, 荣海钦, 等. 不同性别大鼠在 2 型糖尿病造模过程中的稳定性[J]. 中国动物实验学报, 2008(1): 52-55.
Liu Yaping, Ji Hong, Rong Haiqin, et al. Observation of the Stability in Type 2 Diabetes Models of Male and Female Rats[J]. Acta Laboratorium Animalis Scientia Sinica, 2008(1): 52-55.
- [3] Wallenius K, Wallenius V, Sunter D, et al. Intracerebroventricular Interleukin-6 Treatment Decreases Body Fat in Rats[J]. BBRC, 2002(3): 560-565.
- [4] 余臣祖, 张朝宁, 刘国安. 实验性 2 型糖尿病动物模型研究进展[J]. 医学综述, 2006, 12(1): 41-42.
Yu Chenzu, Zhang Chaoning, Liu Guoan. Progress in the Research on Experimental Animal Model of Type 2 Diabetes Mellitus[J]. Medical Recapitulate, 2006, 12(1): 41-42.
- [5] 贾少丹, 吴晓晖, 孙 平. 糖尿病运动疗法的临床分析[J]. 河北医学, 1999(12): 24-26.
Jia Shaodan, Wu Xiaohui, Sun Ping. Clinical Analysis of Diabetes Kinesis Therapy[J]. Hebei Medicine, 1999(12): 24-26.
- [6] Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, et al. Homeostasis Model Assessment: Insulin Resistance and Beta-Cell Function from Fasting Plasma Glucose and Insulin Concentrations in Man[J]. Diabetologia, 1985, 28: 412-419.
- [7] Haffner SM, Gonzalez C, Stern MP, et al. A Prospective Analysis of the HOMA Model[J]. The Mexico City Diabetes Study: Diabetes Care, 1996, 19(9): 1138-141.
- [8] 张 严, 王丽敏, 葛 杰. 链脲佐菌素制备糖尿病大鼠模型[J]. 中外医疗, 2009(20): 45-54.
Zhang Yan, Wang Limin, Ge Jie. The Model of Preparation of Streptozotocin Diabetic Rats[J]. China Foreign Medical Treatment, 2009(20): 45-54.
- [9] 王今越, 丁树哲, 刘 伟, 等. 运动与 IL-6 的研究进展[J]. 体育科学, 2007(6): 60-81.
Wang Jinyue, Ding Shuzhe, Liu Wei, et al. Research Progress on Exercise and IL-6[J]. China Sport Science, 2007(6): 60-81.
- [10] 王今越, 范 尧, 高建磊, 等. 运动因子 IL-6 对糖代谢组织特异性作用的机制研究[J]. 浙江体育科学, 2009(4): 92-94.
Wang Jinyue, Fan Yao, Gao Jianlei, et al. Research on the Mechanism of Tissue Specificity Effect on Glucose by Exercise Factor IL-6[J]. Zhejiang Sport Science, 2009(4): 92-94.
- [11] 李海珍, 王彩玲. 白细胞介素-6 与胰岛素抵抗、2 型糖尿病关系的研究进展[J]. 山东医药, 2006(14): 89-95.
Li Haizhen, Wang Cailing. Research Progress on Interleukin-6 and Insulin Resistance, Type 2 Diabetes Mellitus[J]. Shandong Medical Journal, 2006(14): 89-95.
- [12] 郑慧芳, 郭层城. 运动诱导骨骼肌分泌白细胞介素-6 的研究进展[J]. 辽宁体育科技, 2007(4): 145-150.
Zheng Huifang, Guo Cengcheng. Research Progress on Exercise Induced Muscle Secretion of IL-6[J]. Liaoning Sport Science and Technology, 2007(4): 145-150.
- [13] Jové M, Palnavila A, Laguna JC, et al. Palmitate-Induced Interleukin 6 Production is Mediated by Protein Kinase C and Nuclear Factor Kappa B Activation and Leads to Glucose Transporter 4 Down-Regulation in Skeletal Muscle Cells[J]. Endocrinology, 2005, 146(7): 3087-3095.

(责任编辑: 廖友媛)