

# 环孢霉素 A对胰岛 $\beta$ 细胞功能的影响

章激, 帅红霞 (襄樊市中心医院, 湖北 襄樊 441021)

**摘要:**目的 探讨环孢霉素 A(cyclosporine A, CsA)对胰岛  $\beta$  细胞(NIT-1 细胞)胰岛素分泌及细胞凋亡的影响。方法 实验室培养 NIT-1 细胞,用 0.5, 2.5, 5.0, 10  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  CsA 作用细胞 72 h,检测其对细胞胰岛素分泌及凋亡的影响。结果 与对照组相比, CsA 能明显抑制 NIT-1 细胞胰岛素分泌 ( $P < 0.01$ ),对细胞的凋亡具有明显促进作用 ( $P < 0.01$ )。结论 CsA 对 NIT-1 细胞的功能具有抑制作用并能促进细胞的凋亡。

**关键词:**环孢霉素 A; 胰岛素; 凋亡

中图分类号: R979.5 文献标识码: A 文章编号: 1007-7693(2007)08-0691-02

## The Effect of Cyclosporine A on Pancreatic $\beta$ Cell Function

ZHANG Ji, SHUAI Hong-xia (Xiangfan Central Hospital, Xiangfan 441021, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To explore the effect of cyclosporine A on pancreatic  $\beta$  cells (NIT-1) insulin secretion and apoptosis. **METHODS** Cultured pancreatic  $\beta$  cells (NIT-1) and detected the effect of cell insulin secretion and apoptosis after 0.5, 2.5, 5.0, 10  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  CsA affected cells for 72 hours. **RESULTS** Compared with controls, CsA could significantly inhibit NIT-1 insulin secretion ( $P < 0.01$ ) and significantly promote apoptosis ( $P < 0.01$ ). **CONCLUSION** CsA can inhibit NIT-1 function and promote apoptosis.

**KEY WORDS:** cyclosporine A; insulin; apoptosis

环孢霉素 A(CsA)主要用于器官移植后的排斥反应及自身免疫病的治疗。研究发现, CsA 对胰岛  $\beta$  细胞的功能产生影响,并对多种细胞的增殖具有抑制作用。本研究主要探讨 CsA 对胰岛  $\beta$  细胞(NIT-1 细胞)胰岛素分泌及细胞凋亡的影响。

### 1 材料与方法

#### 1.1 细胞培养

将 NIT-1 细胞(来源于转基因小鼠的胰岛素瘤  $\beta$  细胞系)置于含 DMEM(HYCLON 公司生产)培养基的培养瓶中,培养基中加入 20%胎牛血清(兰州民生药业有限公司),青霉素及链霉素,放入 37 $^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$  培养箱中培养。每 2~3 d

更换全部培养液,约 5~7 d 传代一次。

#### 1.2 胰岛 $\beta$ 细胞功能测定

细胞分 2 组:①不加 CsA 的 NIT-1 细胞;②分别加 CsA 0.5, 2.5, 5.0, 10  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ,作用 72 h。用含 16.7  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  葡萄糖的完全培养基行刺激实验,2 h 后收集各组细胞培养上清液, -20 $^{\circ}\text{C}$  保存待检胰岛素。放射免疫法测定胰岛素浓度( $^{125}\text{I}$ 胰岛素放免分析试剂盒购自中国原子能科学研究院)。

#### 1.3 CsA 对 NIT-1 细胞凋亡的影响

细胞分组同上,作用 72 h。收集各组细胞,每次至少收集  $10^6$  个细胞,按 Annexin V-FITC 凋亡检测试剂盒(Clontech 公司)操作步骤处理细胞,上流式细胞仪(美国 BD 公司)用

## 1.4 统计学方法

数据以均数 ±标准差表示,采用 *t* 检验。

## 2 结果

表 1 环孢霉素 A对细胞胰岛素分泌的影响

Tab 1 The effect of CsA on cell insulin secretion

	对照	CsA 0.5	CsA 2.5	CsA 5.0	CsA 10.0
胰岛素分泌	186.79 ±6.76	129.35 ±6.09 <sup>1)</sup>	129.65 ±5.04 <sup>1)</sup>	127.64 ±4.22 <sup>1)</sup>	126.53 ±4.01 <sup>1)</sup>

注:与对照组比,<sup>1)</sup> *P* < 0.01

Note:<sup>1)</sup> *P* < 0.01 vs. control

## 2.2 CsA对 NIT-1 细胞凋亡的影响

无 CsA作用的情况下,细胞凋亡的基础水平是(3.83 ±

表 2 环孢霉素 A对细胞凋亡的影响

Tab 2 The effect of CsA on cell apoptosis

	对照	CsA 0.5	CsA 2.5	CsA 5.0	CsA 10.0
凋亡	3.83 ±0.64	7.66 ±0.57 <sup>1)</sup>	7.69 ±0.66 <sup>1)</sup>	7.84 ±0.45 <sup>1)</sup>	7.85 ±0.61 <sup>1)</sup>

注:与对照组比,<sup>1)</sup> *P* < 0.01

Note:<sup>1)</sup> *P* < 0.01 vs. control

## 3 讨论

环孢霉素 A(CsA)是一种强效的免疫抑制剂,它主要作用于 T细胞,通过抑制信号传导通路来调节 T细胞活性,抑制神经钙蛋白磷酸酶的活性从而活化 T细胞的转录蛋白核因子<sup>[1]</sup>,在临床上广泛用于器官移植后的排斥反应及自身免疫性疾病的治疗。

免疫抑制剂的应用是肝、肾等器官移植后糖代谢紊乱的主要原因,近来研究发现 CsA对肾移植后糖代谢紊乱也有影响<sup>[1]</sup>。单用 CsA对实验大鼠也诱发糖尿病的发生<sup>[2]</sup>。其致糖尿病的作用是它直接作用于胰岛 β细胞,特别是影响细胞内 Ca代谢,从而减少胰岛素的分泌<sup>[3]</sup>。本实验结果显示,CsA对胰岛 β细胞的胰岛素分泌具有抑制作用。ATP在胰岛素分泌过程中起着促进作用,CsA通过下调胰岛 β细胞线粒体氧化磷酸化酶基因表达使 ATP合成下降从而使胰岛素分泌减少<sup>[4]</sup>。CsA还能抑制胰岛素基因的转录<sup>[5]</sup>。亦有研究认为 CsA通过线粒体渗透转移孔抑制葡萄糖刺激的细胞内 Ca离子浓度的摆动而减少胰岛素的分泌<sup>[6]</sup>。目前发现它对多种细胞如视网膜上皮细胞,血管内皮细胞,胰腺腺泡细胞<sup>[7]</sup>等的增殖有抑制作用。本实验采用流式细胞仪对细胞的凋亡检测显示 CsA对胰岛 β细胞的凋亡具有促进作用,可能是通过对某种转录基因的调控而实现的。

对 CsA引起的胰岛 β细胞功能及凋亡的改变的机制还需做进一步研究以指导临床治疗。

## 参考文献

[1] BOUCHTA N B, GHISDAL L, ABRAMOWICZ D, *et al.* Con-

## 2.1 CsA对 NIT-1 细胞胰岛素分泌的影响

无 CsA作用的情况下,细胞胰岛素分泌水平是(189.58 ±4.24) mIU·L<sup>-1</sup>,用 CsA处理后细胞胰岛素分泌明显被抑制(*P* < 0.01)。见表 1。

0.64)%。用 CsA处理后细胞凋亡明显被促进(*P* < 0.01)。见表 2。

version from tacrolimus to cyclosporin is associated with a significant improvement of glucose metabolism in patients with new-onset diabetes mellitus after renal transplantation[ J]. *Transplant Proc*, 2005, 37(4):1857-1860.

[2] CHUNG B H, LI C, SUN B K, *et al.* Rosiglitazone protects against cyclosporine-induced pancreatic and renal injury in rats [ J]. *Am J Transplant*, 2005, 5(8):1856-1867.

[3] IPPOLITI G B, VIGANO M. Calcineurin inhibitors and mechanisms that are responsible for the appearance of post-transplant diabetes mellitus[ J]. *G Ital Nefrol*, 2003, 20(25):11-14.

[4] YU L, LEI L S, WU S G. Cyclosporine A inhibits insulin release and down-regulate gene expression of mitochondrial oxidative phosphorylation enzyme in NIT-cells[ J]. *Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao*, 2003, 23(8) 833-836.

[5] OETJEN E, BAUN D, BEIMESCHE S, *et al.* Inhibition of human insulin gene transcription by the immunosuppression drugs cyclosporine A and tacrolimus in primary, mature islets of transgenic mice[ J]. *Mol Pharmacol*, 2003, 63(6):1289-1295.

[6] DUFER M, KRIPPEIT-DREWS P, LEMBERT N, *et al.* Diabetogenic effect of cyclosporin A is mediated by interference with mitochondrial function of pancreatic B-cells[ J]. *Mol Pharmacol*, 2001, 60(4):873-879.

[7] SCHNEIDER G, OSWALD F, WAHL C, *et al.* Cyclosporine A inhibits growth through the activating transcription factor/cAMP-responsive element-binding protein binding site in the cyclin D1 promoter[ J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(46):43599-43607.

收稿日期:2006-02-25