

环孢霉素 A对胰岛 β 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 β 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 β Cell Function

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

ABSTRACT: OBJECTIVE To explore the effect of cyclosporine A on pancreatic β cells (NIT-1) insulin secretion and apoptosis. **METHODS** Cultured pancreatic β 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 β 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 β 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 β 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% 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 β 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}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 ¹⁾	129.65 ±5.04 ¹⁾	127.64 ±4.22 ¹⁾	126.53 ±4.01 ¹⁾

注:与对照组比,¹⁾ *P* < 0.01

Note:¹⁾ *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 ¹⁾	7.69 ±0.66 ¹⁾	7.84 ±0.45 ¹⁾	7.85 ±0.61 ¹⁾

注:与对照组比,¹⁾ *P* < 0.01

Note:¹⁾ *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^[1],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^[1]。单用 CsA 对实验大鼠也诱发糖尿病的发生^[2]。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^[3]。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^[4]。CsA 还能抑制胰岛素基因的转录^[5]。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^[6]。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^[7]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⁻¹,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