

## • 基础研究 •

增龄对大鼠胰岛 $\beta$ 细胞功能的影响

谷昭艳 杜英臻 李春霖 刘瑜 马丽超 龚燕平 田慧

**【摘要】** 目的 观察不同月龄大鼠的糖代谢指标变化,了解在基础和糖刺激下增龄对大鼠胰岛 $\beta$ 细胞功能的影响。方法 以4月龄(青年组, $n=15$ )、14月龄(中年组, $n=15$ )和24月龄(老年组, $n=15$ )健康雄性Wistar大鼠为研究对象,进行口服葡萄糖耐量试验(OGTT)和胰岛素释放试验(IRT),比较三组间基础血糖和胰岛素水平的差异,计算糖负荷后胰岛素增值与血糖增值的比值( $\Delta I_{10}/\Delta G_{10}$ ),120min葡萄糖、胰岛素曲线下面积(AUC<sub>g</sub>,AUC<sub>i</sub>),葡萄糖与胰岛素曲线下面积比值(AUC<sub>i/g</sub>),胰岛素抵抗指数(HOMA-IR),胰岛 $\beta$ 细胞功能指数(HOMA- $\beta$ )等,以分析各組间胰岛功能的差异。结果 随着月龄的增长,空腹血糖有升高的趋势,但未达到统计学差异。OGTT后老年组大鼠表现为血糖达峰时间延长,血糖峰值增加,OGTT2h血糖及AUC<sub>g</sub>增加,即老年组大鼠出现糖耐量异常状态,主要表现为餐后高血糖。青年组、中年组和老年组大鼠空腹胰岛素水平分别为( $0.59 \pm 0.14$ )、( $1.60 \pm 0.15$ )、( $2.37 \pm 0.04$ ) $\mu\text{g/L}$ (两两相比均 $P < 0.01$ );IRT中,老年组大鼠胰岛素达峰时间延迟, $\Delta I_{10}/\Delta G_{10}$ 降低,AUC<sub>i</sub>增加( $P < 0.05$ )。使用稳态模型评估,HOMA- $\beta$ 在青年、中年和老年组中呈递增趋势,但未达到统计学差异;而HOMA-IR在青年、中年和老年组分别为 $3.09 \pm 0.80$ 、 $8.34 \pm 0.72$ 、 $13.14 \pm 1.59$ (两两相比均 $P < 0.01$ )。结论 正常老龄大鼠存在一定的胰岛素抵抗和代偿性胰岛素分泌增加,但由于胰岛素分泌的早期时相受损,仍然出现糖负荷后血糖增高状态。

**【关键词】** 大鼠;增龄;胰岛 $\beta$ 细胞;胰岛素

## Aging on the function of islet beta-cell in rats

GU Zhaoyan, DU Yingzhen, LI Chunlin, et al

Department of Geriatric Endocrinology, PLA General Hospital, Beijing 100853, China

**【Abstract】** Objective To evaluate the effect of aging on the function of islet beta-cell in the normal and post-stimulus condition. Methods Healthy male Wistar rats in 4-month-old(youth,  $n=15$ ), in 14-month-old (middle age,  $n=15$ ) and in 24-month-old (aged,  $n=15$ ) were used in the present study. Oral glucose tolerance test(OGTT) and insulin releasing test(IRT) were performed to compare the difference of basic glucose and insulin among three groups, to calculate the areas under the curve of plasma glucose levels(AUC<sub>g</sub>) and plasma insulin levels(AUC<sub>i</sub>), the ratio of areas under the curve of insulin and glucose(AUC<sub>i/g</sub>), the ratio of profile in insulin and glucose on post-stimulus condition( $\Delta I_{10}/\Delta G_{10}$ ), insulin resistance index(HOMA-IR) and the function index of islet beta-cell(HOMA- $\beta$ ), and to essay the function of islet cells. Results Fasting glucose was increased with aging, without statistical significance in the different groups. The peak time of blood glucose was later, peak and 2h blood glucose were higher, the AUC<sub>g</sub> was increased in the old group than the other 2 groups. Fasting insulin was( $0.59 \pm 0.14$ ), ( $1.60 \pm 0.15$ ) and ( $2.37 \pm 0.04$ ) $\mu\text{g/L}$  in three groups, with statistical significance between two of three groups( $P < 0.01$ ). In aged group, insulin releasing was mostly delayed,  $\Delta I_{10}/\Delta G_{10}$  was the lowest and AUC<sub>i</sub> increased ( $P < 0.05$ ). HOMA- $\beta$  was gradually increased in young, middle and aged groups, but without statistical significance; HOMA-IR was  $3.09 \pm 0.80$ ,  $8.34 \pm 0.72$  and  $13.14 \pm 1.59$  ( $P < 0.01$ ). Conclusion Insulin resistance and compensative high level insulin secretion are observed in the normal old rats. The impaired rapid secretion of insulin and partly compensative higher insulin level might explain the impaired glucose tolerance in the elderly rats.

**【Key words】** rats;aging;islet beta-cell;insulin

收稿日期:2008-11-10

基金项目:国家自然科学基金(30873412)

作者单位:100853北京市,解放军总医院老年内分泌科

作者简介:谷昭艳,女,1982年7月生,山东威海人,在读硕士研究生。Tel:13426192218, E-mail:Yuvale\_605@yahoo.com.cn

通讯作者:李春霖, E-mail:lcl301@yahoo.com.cn

流行病学资料显示,2型糖尿病的发病率随年龄增长而增加,糖尿病是一个增龄性疾病<sup>[1]</sup>。增龄导致糖尿病发病率增加的机制还未完全阐明。多数研究显示,胰岛素抵抗的早期机体可以通过高胰岛素分泌进行代偿,当 $\beta$ 细胞分泌的胰岛素水平不能补偿或满足机体的需要时就会导致糖尿病的发生。近年来越来越多的证据显示,在糖尿病发病之前就已经存在胰岛 $\beta$ 细胞功能的异常<sup>[2]</sup>。在正常状态下,随着年龄的增长,胰岛素的敏感性降低,但增龄因素是否可引起胰岛 $\beta$ 细胞结构和功能的改变,从而增加了糖尿病的发病率呢?自然衰老动物模型是最符合衰老病理生理特征的动物模型<sup>[3]</sup>。本研究通过对不同月龄组正常健康的Wistar大鼠进行研究,观察在自然衰老状态下增龄因素对胰岛 $\beta$ 细胞功能的影响。

## 1 材料和方法

**1.1 实验动物及其分组** 同一批次SPF级雄性健康Wistar大鼠45只,按月龄分为4月龄(青年)、14月龄(中年)和24月龄(老年)组,每组15只。大鼠购自北京维通利华实验动物技术有限公司,批号为:SCXK(京)2007-0001。青年组体重约480g/只,中年组体重约680g/只,老年组体重约720g/只。大鼠在解放军总医院动物中心SPF环境下饲养,自由进食饮水,室内温度22~24℃,湿度为40%~60%,定期紫外灯消毒。实验开始后,普通饲料喂养,处死部分大鼠(每组5只)测其肾周和附睾脂肪及肝脏重量。

**1.2 口服葡萄糖耐量试验(oral glucose tolerance test, OGTT)和胰岛素释放试验(insulin releasing test, IRT)** 实验前禁食过夜,按2g/kg给大鼠灌胃50%葡萄糖溶液,于灌胃0、10、30、60、120min时用剪尾法测血糖(罗氏血糖仪测定),同时从内眦静脉丛取血1ml,分离血清后-20℃保存,用于同批胰岛素测定。用放射免疫法测定大鼠胰岛素水平(大鼠胰岛素放射免疫试剂盒购自美国Linco公司),操作流程及质控严格按照试剂盒说明书进行,批内变

异系数 $<10\%$ 。分别观察空腹血糖值(fasting blood glucose, FBG)和空腹胰岛素值(fasting insulin, FINS)、血糖和胰岛素达峰时间以及最高值,计算120min血糖曲线下面积(area under curve of glucose, AUCg),120min胰岛素曲线下面积(area under curve of insulin, AUCi),120min胰岛素曲线下面积与血糖曲线下面积比值(area under curve of insulin/glucose, AUCi/g),以及10min内胰岛素增值与葡萄糖增值的比值( $\Delta I_{10}/\Delta G_{10}$ ), $\Delta I_{10}/\Delta G_{10} = (10\text{min 胰岛素} - 0\text{min 胰岛素}) / (10\text{min 血糖} - 0\text{min 血糖})$ <sup>[5]</sup>。

**1.3 稳态模型评估胰岛 $\beta$ 细胞功能** 用稳态模型评估法(homeostasis model assessment)评价胰岛素抵抗(HOMA-IR)和胰岛素分泌功能(HOMA- $\beta$ )。HOMA-IR = (FINS  $\times$  FBG)/22.5; HOMA- $\beta$  = 20  $\times$  FINS/(FBG-3.5)。

**1.4 统计学处理** 结果用 $\bar{x} \pm SE$ 表示,数据用GraphPad Prism 5.0软件进行统计,One-way ANOVA进行多组间资料分析,用Student-Newman-Keuls(SNK)方法检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 各组大鼠一般情况(表1)** Wistar大鼠体重随年龄增加而增大。肾周和附睾脂肪重量及脂肪与体重比值表现为老年组与中年组相似,均大于青年组。随着月龄的增加,肝脏重量在中年组和老年组明显高于青年组,但是肝脏与体重的比值却低于青年组。

**2.2 OGTT血糖的变化(表2,图1)** 随着月龄的增长,FBG有升高的趋势,这在老年组尤为明显,但未达到统计学差异。但糖负荷后的反应不同。与青年组比较,中年组的血糖达峰时间延长,OGTT2h血糖增高,AUCg增加;而老年组除上述表现,还有血糖峰值增加,表现在OGTT30min达到高峰,持续60min后开始回落,至120min仍未降至基础水平。可以认为,老年组大鼠已经出现糖耐量异常状态,主

表1 不同月龄Wistar大鼠的一般特征( $\bar{x} \pm SE$ )

组别	体重(g)	肾周和附睾脂肪重(g)	肾周和附睾脂肪重/体重(%)	肝脏重量(g)	肝脏重量/体重(%)
青年组	490.6 $\pm$ 7.7	18.0 $\pm$ 2.1	3.77 $\pm$ 0.37	11.6 $\pm$ 0.7	2.89 $\pm$ 0.12
中年组	690.9 $\pm$ 6.1*	27.6 $\pm$ 1.2*	5.48 $\pm$ 0.17*	16.6 $\pm$ 0.9*	2.53 $\pm$ 0.09*
老年组	728.9 $\pm$ 7.6**	29.0 $\pm$ 1.0*	5.33 $\pm$ 0.08*	17.5 $\pm$ 0.7*	2.38 $\pm$ 0.06*

注:与青年组相比,\* $P < 0.01$ ;与中年组相比,\*\* $P < 0.01$

表2 各组大鼠 OGTT 和 IRT 结果(±SE)

组别	FBG	血糖达峰值	血糖达峰	OGTT2h	AUCg	胰岛素达峰	胰岛素达峰
	(mmol/L)	(mmol/L)	时间(min)	血糖	(mmol·L <sup>-1</sup> ·min <sup>-1</sup> )	值(μg/L)	时间(min)
青年组	4.76±0.29	8.68±0.28	10	5.14±0.07	25.85±0.46	5.69±0.44	10
中年组	4.80±0.11	9.96±0.76	30 <sup>#</sup>	7.50±0.51 <sup>#</sup>	31.99±1.67 <sup>*</sup>	4.18±0.35 <sup>*</sup>	10
老年组	5.03±0.55	13.10±0.42 <sup>#△</sup>	30 <sup>#</sup>	8.90±1.65 <sup>#</sup>	41.13±2.70 <sup>#*</sup>	5.24±0.05	30 <sup>#*</sup>

组别	FINS	AUCi	AUCi/g	ΔI <sub>10</sub> /ΔG <sub>10</sub>	HOMA-β	HOMA-IR
	(μg/L)	(μg·L <sup>-1</sup> ·min <sup>-1</sup> )				
青年组	0.59±0.14	12.05±0.57	0.47±0.02	1.43±0.25	12.56±4.20	3.09±0.80
中年组	1.60±0.15 <sup>#</sup>	12.62±0.95	0.40±0.03	1.16±0.13	26.73±4.54	8.34±0.72 <sup>#</sup>
老年组	2.37±0.04 <sup>#*</sup>	16.08±0.26 <sup>#△</sup>	0.39±0.02	0.51±0.07 <sup>#△</sup>	43.72±9.13	13.14±1.59 <sup>#*</sup>

注:与青年组相比,\*P<0.05,#P<0.01;与中年组相比,△P<0.05,\*P<0.01

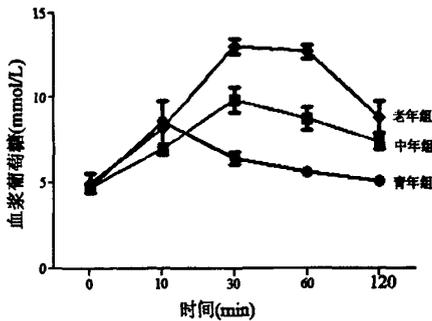


图1 OGTT 血糖曲线

要表现为餐后高血糖。

2.3 胰岛素分泌功能的变化(表2,图2) 基础状态下三组大鼠 FINS 水平逐步升高。在口服葡萄糖刺激后的 IRT 中,三组不同月龄大鼠胰岛素的变化出现差异。与青年组大鼠相比,中年组胰岛素释放峰值减少;而老年组则出现胰岛素达峰时间延迟, ΔI<sub>10</sub>/ΔG<sub>10</sub>降低, AUCi 增加。AUCi/g 在三组中的差异没有统计学意义。

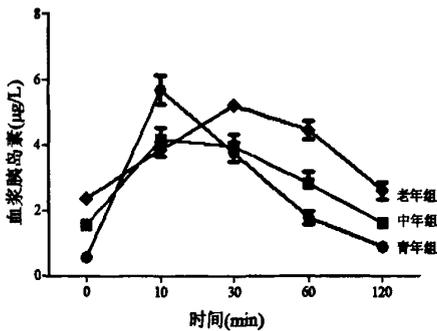


图2 IRT 胰岛素曲线

使用稳态模型评估,HOMA-β 在青年、中年和老年组中呈递增趋势,但未达到统计学差异;而 HOMA-IR 在青年、中年和老年组分别为 3.09±0.80、8.34±0.72、13.14±1.59,两两相比均 P<

0.01。

### 3 讨论

随着年龄增加,糖尿病前状态(尤其是糖耐量减低)及 2 型糖尿病的发病率显著增高<sup>[1]</sup>。北京地区 60 岁以上人群糖尿病的患病率为 11.1%~16.0%,糖耐量受损的患病率为 11.6%~17.7%<sup>[7]</sup>。有研究对 1996—2005 年连续 10 年在解放军总医院查体的 2456 例北京老年人群的调查显示,老年糖代谢异常的诊断率为 24.9%<sup>[8,9]</sup>,可见增龄因素在糖代谢异常发生中所起的作用不可忽视。因此,探讨增龄导致糖代谢异常的发生机制十分必要。

自然衰老动物模型是最符合衰老病理生理特征 的动物模型,本研究以 4 月龄(相当于人类 14 岁年龄阶段)、14 月龄(相当于人类 50 岁年龄阶段)和 24 月龄(相当于人类 84 岁年龄阶段)大鼠为研究对象,探讨了在基础状态和糖负荷状态下增龄因素对大鼠血糖和胰岛 β 细胞分泌功能的影响。

对大鼠一般状况的观察显示,增龄过程中大鼠体重逐渐增加,在青年组、中年组和老年组大鼠分别为(490.6±7.7)、(690.9±6.1)、(728.9±7.6)g,而相对反映内脏脂肪的肾周和附睾脂肪重量以及肾周和附睾脂肪重/体重在中年组和老年组明显高于青年组,而中年组和老年组之间无统计学差异。这提示,大鼠中年以后可能存在内脏脂肪的相对增加,除此之外,中老年以后,肝脏的重量增加,但肝脏与体重的比却相对降低,提示肝细胞的数目减少,且可能存在肝脏组织的脂肪沉积,这些可能都参与了胰岛素抵抗的发生<sup>[6]</sup>。HOMA-IR 也证实了这一点。本研究显示 HOMA-IR 在青年、中年和老年组分别为 3.09±0.80、8.34±0.72、13.14±1.59,且各组间比较均有统计学差异。

增龄对血糖的影响主要表现在负荷后。三组大

鼠FBG水平无显著差异,但糖刺激后的反应不同。与青年组比较,中年组的血糖达峰时间延长,OGTT2h血糖增高,AUC<sub>g</sub>增加,但血糖尚维持在基本正常水平;而老年组大鼠不仅有上述表现,还伴有AUC<sub>g</sub>继续增加,血糖峰值增加,表现在OGTT30min达到高峰,持续60min后开始回落,至120min仍未降至基础水平。可以认为,老年组大鼠已经出现糖耐量异常状态,主要表现为餐后高血糖。在本研究中,自然衰老条件下的三组大鼠血糖水平均未达到通用的糖尿病血糖诊断标准,提示单纯的增龄因素不会导致大鼠糖尿病的发生,这与既往的研究一致<sup>[4]</sup>。

随增龄胰岛素分泌功能的变化首先表现在基础胰岛素分泌水平的差异。基础状态下青年组、中年组和老年组大鼠FINS水平逐步升高,分别为(0.59±0.14)、(1.60±0.15)、(2.37±0.04) μg/L(两两相比均P<0.01),结合三组间相似的FBG水平,推测随增龄已经出现了肝脏胰岛素敏感性的降低,机体为了维持FBG的正常,出现代偿性的高空腹胰岛素水平,以抵消肝脏胰岛素的抵抗。在OGTT刺激后的IRT中,与青年组大鼠相比,中年组胰岛素释放高峰时间同样为10min,ΔI<sub>10</sub>/ΔG<sub>10</sub>没有变化,但胰岛素释放峰值减少;而老年组则出现胰岛素达峰时间延迟,ΔI<sub>10</sub>/ΔG<sub>10</sub>降低,AUC<sub>i</sub>增加。ΔI<sub>10</sub>/ΔG<sub>10</sub>是公认的较好的反映胰岛β细胞功能的指数之一,被广泛应用于反映早期胰岛素分泌功能;老年大鼠ΔI<sub>10</sub>/ΔG<sub>10</sub>降低,提示正常老年大鼠胰岛的分泌功能已经出现早期损害,主要表现为早时相分泌的延迟。结合老年组大鼠增高的胰岛素抵抗指数和OGTT后出现的餐后高血糖状态,可以推测,老年组大鼠为代偿增龄导致的胰岛素抵抗,已经出现了空腹的高胰岛素水平和糖刺激后AUC<sub>i</sub>的增加,但由于胰岛素早相分泌的延迟,从而导致负荷后血糖增高。这也可以解释为什么HOMA-β在三组间的差异无统计学意义,因为稳态模型评估法的

HOMA-β主要反映的是空腹状态下胰岛素的分泌能力,而单纯增龄不会损害基础胰岛素的分泌能力。

综上所述,本研究显示正常老龄大鼠存在一定的胰岛素抵抗和代偿性胰岛素分泌增加,但由于胰岛素分泌的早期时相受损,仍然出现糖负荷后血糖增高状态。

#### 参考文献

- [1] Wilson PW, Anderson KM, Kannel WB. Epidemiology of diabetes mellitus in the elderly. The Framingham study. *Am J Med*, 1986, 80:3-9.
- [2] Kanrushi M, Nakajima M, Saito Y, et al. Pancreatic beta-cell function and insulin sensitivity in Japanese subjects with impaired glucose tolerance and newly diagnosed type 2 diabetes mellitus. *Metabolism*, 2003, 52:476-481.
- [3] 崔美芝,刘浩,李春艳. 衰老动物模型的建立和评价. *中国比较医学杂志*, 2006, 16:118.
- [4] 赵晓龙,顾迁,何晓辉,等. 老年大鼠的糖代谢和胰岛β细胞质量和功能的改变. *复旦学报(医学版)*, 2007, 34:400-402.
- [5] Hanson RL, Pratley RE, Bogaardus C, et al. Evaluation of simple indices of insulin sensitivity and insulin secretion for use in epidemiologic studies. *Am J Epidemiol*, 2000, 151:190-198.
- [6] Slawik M, Vidal-Puig AJ. Lipotoxicity, overnutrition and energy metabolism in aging. *Ageing Res Rev*, 2006, 5:144.
- [7] 国家九五攻关计划糖尿病研究协作组. 中国12个地区中老年糖尿病患病率调查. *中华内分泌代谢杂志*, 2002, 15:280-284.
- [8] 陈美玲,田慧,潘长玉,等. 老年干部糖尿病患病率及影响因素. *军医进修学院学报*, 1999, 20:151-153.
- [9] 李春霖,田慧,潘长玉,等. 代谢综合征不同诊断标准在老年人群的比较研究. *解放军医学杂志*, 2007, 32:1010-1013.