

## 补镁对2型糖尿病大鼠胰岛素受体表达水平的影响

丛朋地 钟进义<sup>1</sup> 张静 孙健平 李蕾<sup>2</sup>

青岛大学医学院, 青岛 266021

**摘要:**目的 观察补镁对2型糖尿病大鼠胰岛素受体(insulin receptor, IR)表达水平的影响。方法 将高脂饲料喂养加链脲佐菌素注射方法诱发的2型糖尿病大鼠随机分为4个组,高、中、低剂量组在高脂饲料中分别加入氧化镁2000、1000、200 mg/kg(以镁离子计),糖尿病对照组只喂饲高脂饲料,正常对照组喂饲普通饲料。动物自由进食,连续4周,用葡萄糖氧化酶法测定空腹尾尖血的血糖含量,腹主动脉取血用放免法测定血清胰岛素含量,用免疫组化法测定胰腺和骨骼肌组织IR表达水平。结果 经Image-Pro Plus图像分析,高剂量组的胰腺和骨骼肌组织中IR表达水平分别为 $0.341 \pm 0.001$ 和 $0.346 \pm 0.002$ ,均较糖尿病对照组升高,而血糖水平则较糖尿病对照组降低,差异均有显著性意义( $P < 0.05$ )。结论 镁补充可以提高2型糖尿病大鼠胰腺和骨骼肌组织中IR的表达水平,降低空腹血糖水平。

**关键词:** 镁 2型糖尿病 胰岛素受体

中图分类号: R151.4 R587.1 Q593 文献标识码: A

## Effects of magnesium intake on expression of insulin receptor in type 2 diabetes rats

CONG Pengdi, ZHONG Jinyi, ZHANG Jing, SUN Jianping, Li Lei

Medical Collage of Qingdao University, Qingdao 266021, China

**Abstract: Objective** To investigate the effects of magnesium intake on expression of insulin receptor in type 2 diabetes rats. **Methods** The models of type 2 diabetes rats were established by feeding with high-fat-diet and injecting streptozotocin (STZ). Rats were randomly assigned to four groups. The high-fat-diets were administrated magnesium at a dose of 2000 (high magnesium group), 1000 (medium magnesium group) and 200 (low magnesium group). Model control group was only fed with high-fat-diet. Normal control group was fed with common diet. Rats ate freely for four weeks. Fasting blood glucose was detected by glucose oxidase method. Insulin was detected by radio-immunity method. The expression levels of IR of pancreas and skeletal muscle were detected by immunohistochemistry method. **Results** The immunohistochemistry pictures were analyzed by Image-Pro Plus. Compared with model control group, the expression levels of IR of pancreas and skeletal muscle were  $0.341 \pm 0.001$  and  $0.346 \pm 0.002$ , increased and fasting blood glucose decreased significantly in high magnesium group ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** Magnesium intake may increase the expression levels of IR of pancreas and

作者简介: 丛朋地,男,硕士研究生, E-mail: xiaotian\_miao@163.com

1 通讯作者: 钟进义,男,教授, E-mail: zhongjy03@yahoo.com.cn

2 厦门大学公共卫生学院

skeletal muscle, and decrease fasting blood glucose in type 2 diabetes rats.

**Key words:** magnesium, type 2 diabetes mellitus, insulin receptor

镁是人体重要的营养素,与多种酶的活性和糖代谢有密切关系。有研究表明2型糖尿病患者体内镁含量降低<sup>[1]</sup>,补充镁可以改善胰岛素抵抗、降低血糖水平,但其作用机制并未明了<sup>[2]</sup>。胰岛素受体对糖代谢有重要的意义,胰岛素需与胰岛素受体结合而发挥生理功能。为探讨镁与2型糖尿病胰岛素受体表达水平的关系,本实验采用给2型糖尿病大鼠喂饲不同剂量镁并检测胰腺和骨骼肌组织细胞胰岛素受体蛋白表达等指标的方法,研究了镁对2型糖尿病大鼠胰岛素受体表达的影响作用。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要材料

**1.1.1 实验动物** 清洁级雄性 Wistar 大鼠 60 只,体重 180~200g,购自山东实验动物中心。

**1.1.2 主要试剂及仪器** 氧化镁(分析纯)购自国药集团化学试剂有限公司;链脲佐菌素(streptozotocin STZ)购自 Sigma 公司;胰岛素放免试剂盒购自北京北方生物技术研究所;镁测定试剂盒购自南京建成生物工程研究所;胰岛素受体一抗(BA0499)、二抗(SA1022)购自武汉博士德生物工程有限公司;显微镜及照相机均为 OLYMPUS 公司产品;罗康全活力型血糖仪及配套试纸;高脂饲料购自中国医学科学院实验动物研究所。

### 1.2 实验方法

**1.2.1 模型制备** 将实验动物在本实验室适应性喂养一周,在用高脂饲料喂养4周后的第1、3和5天,分别腹腔注射 STZ 25、15 和 15mg/(kg·bw)<sup>[3]</sup>,注射3天后取尾尖血用葡萄糖氧化酶法测空腹血糖,血糖值 > 16.7mmol/L 为造模成功<sup>[4]</sup>。

**1.2.2 分组与处理** 将造模成功的大鼠随机分为高、中、低剂量镁补充组和糖尿病对照组。高、中、低剂量组在高脂饲料中分别加入氧化镁 2000、1000、200mg/kg(以镁离子计),糖尿病对照组只喂饲高脂饲料,正常对照组喂饲普通饲料。动物自由进食,实验周期为4周。处死动物前空腹12小时,尾尖采血测定血糖含量后,在腹腔注射水合氯醛麻醉条件下,腹主动脉采

血并分离血清、取胰腺组织和股四头肌标本进行指标检测。

**1.2.3 检测指标** 胰腺和骨骼肌胰岛素受体蛋白表达:用免疫组化方法测定。将胰腺组织和股四头肌标本经4%多聚甲醛固定,石蜡包埋,切片,SABC免疫组化法反应,DAB显色,脱水,透明,封片,高倍显微镜观察和Image-Pro Plus图像软件进行光密度分析。各组胰岛素受体蛋白表达水平以平均光密度值表示。

**血清胰岛素含量:**用放射免疫法测定。取血清0.1ml加入沉淀管中,经加入标记物抗体、37℃温育、分离剂、离心等处理后测定沉淀管的放射性计数。根据标准管及非特异性管放射性计数绘制log-logit标准曲线,计算血清胰岛素的含量。

**血浆血糖含量:**用葡萄糖氧化酶法测定。取微量尾尖血滴于罗康全活力型血糖仪配套试纸上,读取血浆血糖数值。

**血清镁离子浓度:**用络合指示剂法测定。取血清0.01ml加入测定管,按照试剂盒提供方法操作后,在波长540nm处测各管吸光度值并计算镁离子浓度。

### 1.3 统计处理

采用SPSS17.0统计软件对计量资料进行单因素方差分析,以 $\alpha=0.05$ 为检验水准。

## 2 结果

### 2.1 胰腺和骨骼肌组织细胞 IR 的表达水平

IR蛋白主要表达于细胞膜,呈棕黄色颗粒。本实验胰腺和骨骼肌组织IR蛋白表达水平均呈现高剂量组阳性细胞数量多,染色深,为高度表达(图1a、2a),糖尿病对照组阳性细胞数量少,染色浅,为低度表达(图1b、2b)。高剂量组和糖尿病对照组胰腺组织细胞切片的MOD值分别是 $0.341 \pm 0.001$ 和 $0.337 \pm 0.002$ ,骨骼肌的MOD值分别是 $0.346 \pm 0.002$ 和 $0.340 \pm 0.004$ ,差别均有显著性意义( $P < 0.05$ )。中、低剂量组与糖尿病对照组胰腺和骨骼肌MOD值比较以及高、中和低剂量组间比较均无显著性差异,但从低剂量组到高剂量组,胰腺和骨骼肌平均光密度值都呈现了增加趋势。各组IR蛋白表达的平均光密度值见表1。

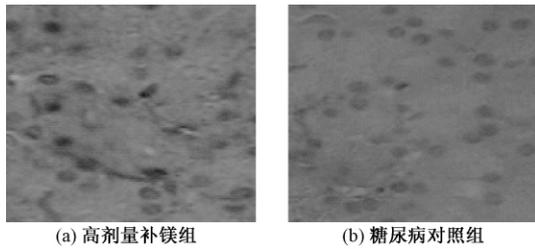


图 1 胰腺组织细胞中 IR 蛋白的表达 (DAB × 400)  
Figure 1 The expression of insulin receptor in pancreas (DAB × 400)

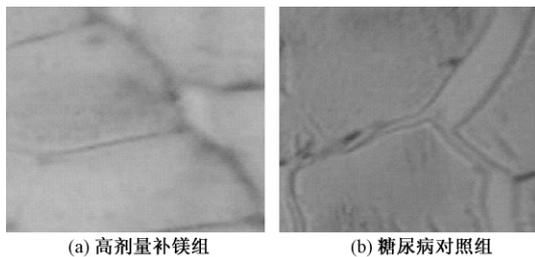


图 2 骨骼肌组织细胞中 IR 蛋白的表达 (DAB × 400)  
Figure 2 The expression of insulin receptor in skeletal muscle (DAB × 400)

表 1 各组大鼠骨骼肌和胰腺胰岛素受体表达水平 ( $n=10, \bar{x} \pm s$ )

Table 1 The expression of insulin receptor in skeletal muscle and pancreas in each group

组别	骨骼肌	胰腺
高剂量组	0.346 ± 0.002 <sup>(1,2)</sup>	0.341 ± 0.001 <sup>(1,2)</sup>
中剂量组	0.343 ± 0.003 <sup>(1)</sup>	0.339 ± 0.002 <sup>(1)</sup>
低剂量组	0.342 ± 0.002 <sup>(1)</sup>	0.338 ± 0.002 <sup>(1)</sup>
糖尿病对照组	0.340 ± 0.004 <sup>(1)</sup>	0.337 ± 0.002 <sup>(1)</sup>
正常对照组	0.361 ± 0.005	0.344 ± 0.003

注: (1) 与正常对照组比较,  $P < 0.05$ ; (2) 与糖尿病对照组比较,  $P < 0.05$

## 2.2 血糖含量、胰岛素含量及血清镁离子浓度

与糖尿病对照组比较,高剂量组空腹血糖和胰岛素含量降低而血清镁离子浓度升高,差异均具有显著性意义 ( $P < 0.05$ ),正常对照组与其它各组比较均有显著性差异 ( $P < 0.05$ ),中、低剂量组与糖尿病对照组比较以及高、中和低组间比较差异均无显著性意义 ( $P > 0.05$ ),但从低剂量组到高剂量组,呈现了血糖水平下降和血镁水平升高的趋势。各组的测定结果见表 2。

表 2 各组大鼠血糖、胰岛素以及血清镁离子浓度检测结果 ( $n=10, \bar{x} \pm s$ )

Table 2 The blood glucose, insulin and magnesium ion concentration in each group

组别	血糖含量 (mmol/L)	胰岛素含量 ( $\mu\text{IU}/\text{ml}$ )	血清镁离子浓度 (mmol/L)
高剂量镁补充组	17.45 ± 0.63 <sup>(1,2)</sup>	18.95 ± 0.60 <sup>(1,2)</sup>	0.701 ± 0.019 <sup>(1,2)</sup>
中剂量镁补充组	18.00 ± 0.56 <sup>(1)</sup>	19.34 ± 0.54 <sup>(1)</sup>	0.676 ± 0.043 <sup>(1)</sup>
低剂量镁补充组	18.07 ± 0.80 <sup>(1)</sup>	19.39 ± 0.60 <sup>(1)</sup>	0.671 ± 0.031 <sup>(1)</sup>
糖尿病对照组	18.55 ± 0.96 <sup>(1)</sup>	19.95 ± 0.44 <sup>(1)</sup>	0.642 ± 0.027 <sup>(1)</sup>
正常对照组	5.41 ± 0.43	14.66 ± 1.07	0.753 ± 0.021

注: (1) 与正常对照组比较,  $P < 0.05$  (2) 与糖尿病对照组比较,  $P < 0.05$

## 3 讨论

IR 与机体糖代谢密切相关。胰岛素需与 IR 结合后才能产生底物的磷酸化反应,进而引发葡萄糖转运体摄取葡萄糖并进行糖代谢。有研究报道,吸烟、过量饮酒等可以减少 IR 表达,而茶色素、17- $\beta$  雌二醇与三价铬纳米微粒等可上调其表达<sup>[5]</sup>。胰腺能够分泌胰岛素,是机体与糖代谢关系最密切的器官。骨骼肌是机体利用葡萄糖的主要外周组织,胰岛素介导的葡萄糖摄取 80% 以上由骨骼肌细胞负责,骨骼肌在机体糖代谢中起重要作用<sup>[6]</sup>。

本实验结果可见,糖尿病对照组空腹血糖和胰岛素水平均较正常对照组显著性升高,而血清镁水平降低,说明糖尿病对照组动物为 2 型糖尿病,存在胰岛素抵抗,血清镁水平降低,该结果与

文献报道的 2 型糖尿病患者体内镁含量明显减低<sup>[8]</sup>相吻合。高剂量组经给予补镁后空腹血糖和胰岛素水平均较糖尿病对照组下降,而血清镁水平升高,说明补镁可降低 2 型糖尿病大鼠血糖水平,对其糖代谢起到了改善作用。本次实验结果与文献报道的 2 型糖尿病患者经补充足够的镁后可改善胰岛素抵抗的研究结果相吻合<sup>[7]</sup>。

本实验 IR 表达水平的检测结果显示,糖尿病对照组胰腺和骨骼肌组织细胞中 IR 的表达水平均较正常对照组显著性降低,而高剂量组的 IR 表达水平则均较糖尿病对照组显著性升高,三个剂量组也呈现出随着补镁剂量的增加,IR 表达水平呈现逐渐升高的趋势,说明给 2 型糖尿病大鼠补充镁可提高其 IR 表达水平。该项实验结果与上述补镁后 2 型糖尿病大鼠血糖和胰岛素水平降低的实验结果相一致,也与文献报道补镁可降低糖

尿病血糖水平,改善胰岛素抵抗的结果相吻合。提示补镁可降低2型糖尿病血糖水平,改善糖代谢,有可能是通过上调IR表达水平,从而提高了胰岛素的糖代谢活性而实现的。

本实验血镁结果还可见,糖尿病对照组血镁水平较正常对照组显著减低,表明糖尿病对照组大鼠血镁减少。各剂量组组间血镁水平无显著性差异,但均较糖尿病对照组升高,且高剂量组出现显著性升高,表明补镁可以提高2型糖尿病大鼠血镁水平。本结果与文献报道的2型糖尿病患者体内镁含量明显减低<sup>[8]</sup>相吻合,与上述补镁后2型糖尿病大鼠IR表达水平升高的实验结果相一致。

综合本次实验结果可以认为,2型糖尿病大鼠经补镁后能够提高胰腺和骨骼肌组织IR的表达水平,降低空腹血糖和胰岛素含量,提示补镁对改善2型糖尿病的胰岛素抵抗和糖代谢有一定作用,其原理与补镁可上调IR的表达水平有关。

#### 参考文献

- 1 ANETOR JI, SENJOB A, AJOSE OA, et al. Decreased

serum magnesium and zinc levels: atherogenic implications in type-2 diabetes mellitus in Nigerians [J]. Nutr Health 2002, 16(4): 291-300.

- 2 毛晓明,田巍,王爱萍. 镁对2型糖尿病患者糖代谢的影响[J]. 中华糖尿病杂志 2004, 12(3): 212-214.
- 3 刘德慧,刑翔飞. 2型糖尿病大鼠模型的特点及评价[J]. 中国实验方剂学杂志 2010, 16(12): 212-214.
- 4 郝颖,柴瑞华,于世家. 改良链脲佐菌素(STZ)诱导大鼠糖尿病模型及其饲养方法[J]. 中华中医药学刊, 2008, 26(4): 784-785.
- 5 唐东华,姚起新,卮竹青,等. 17 $\beta$ -雌二醇上调去卵巢胰岛素抵抗大鼠骨骼肌中胰岛素受体的表达[J]. 中华内分泌代谢杂志 2010, 26(8): 695-698.
- 6 曲巍,郝丽萍,陈轶英,等. 长期酒精摄入对大鼠骨骼肌组织IR、IRS和PI-3K基因表达的影响[J]. 卫生研究 2007, 36(2): 172-175.
- 7 李金荣,牛静秀,范乐平. 糖尿病镁代谢与胰岛素抵抗的关系[J]. 山东医药 2005, 45(13): 52.
- 8 BARBAQALLO M, GUPTA PK, DOMINQUEZ LJ, et al. Cellular ionic alterations with age: relation to hypertension and diabetes [J]. J Am Geriatr Soc 2000, 48(9): 1111-1116.

收稿日期:2011-10-28

(上接第263页)

本研究结果证实,L-阿拉伯糖干预能够达到降低血糖的作用,对于保护胰岛细胞正常生理功能,尤其在增强糖耐量作用方面有重要意义。口服摄入适量L-阿拉伯糖对稳定血糖,减少糖尿病发生,维持健康生理状况具有重要意义。

#### 参考文献

- 1 韩伟,吴汉洲,杨彩霞. L-阿拉伯糖降血糖和减肥功能实验研究[J]. 中国中医药信息杂志 2010, 3(17): 39-40.
- 2 世利谦二. 含有 $\alpha$ -葡糖苷酶抑制剂:日本,平成6-65080[P]. 1994. 3. 8 [2010. 11. 4] [http://www.ipdl.ncipi.go.jp/homepg\\_e.ipdl](http://www.ipdl.ncipi.go.jp/homepg_e.ipdl)
- 3 白福玉,丁继程,张照伟. L-阿拉伯糖在戚风蛋糕中的应用[J]. 食品加工 2010(2): 48-50.
- 4 方永亮. 功能性甜味剂L-阿拉伯糖的研究进展[J]. 氨基酸和生物资源 2009, 31(1): 8-12.

- 5 向雪松,王竹,祝宇铭,等. 链脲佐菌素注射剂量对建立2型糖尿病大鼠模型的影响[J]. 卫生研究 2010, 39: 138-142.
- 6 苗明三主编. 实验动物和动物实验技术[M]. 北京:中国中医药出版社,1997: 241.
- 7 李光伟. 胰岛 $\beta$ 细胞功能评估[J]. 国外医学内分泌学分册 2001, 21: 227-227.
- 8 何丽. L-阿拉伯糖对正常及高糖高脂喂养大鼠生长及糖脂代谢的影响[J]. 卫生研究 2006, 10(2): 12-15.
- 9 井上修二. L-阿拉伯糖对于白鼠对蔗糖的消化吸收及能量代谢的抑制作用[J]. 日本营养与粮油学会期刊 1997, 50(2): 133-137.
- 10 SANAI K, REIFEN R, KEREM Z. Weight gain reduction in mice fed Panax ginseng saponin, a pancreatic lipase inhibitor [J]. J Agric Food Chem 2007, 55: 2824-2828.

收稿日期:2011-11-10