

行政院及所屬各機關出國報告
(出國類別：進修)

**Insulin Deficiency Down-Regulated Heat Shock
Protein Expression and Subsequent Reduction of
IGF-1 Receptor Signaling in Diabetic Myocardium**

(胰島素和類胰島素生長因子在心肌細胞的作用)

糖尿病的老鼠因為胰島素的缺乏使得心臟中熱
壓力性蛋白 60 含量下降而導致 IGF 1 接受體磷
酸化的程度減低進而降低其細胞內訊號的傳遞

服務機關：台北榮總
出國人 職 稱：主治醫師
姓 名：陳 涵 栩
出國地區：美國 (加州大學爾灣分校)
出國期間：自 92 年 6 月 30 日 起
至 93 年 6 月 24 日 止
報告日期：93 年 8 月 2 日

J3/ C09201948

公務出國報告提要

頁數: 29 含附件: 否

報告名稱:

胰島素和類胰島素生長因子在心肌細胞的作用

主辦機關:

行政院輔導會臺北榮民總醫院

聯絡人/電話:

/28757115

出國人員:

陳涵栩 行政院輔導會臺北榮民總醫院 內科部 主治醫師

出國類別: 進修

出國地區: 美國

出國期間: 民國 92 年 06 月 30 日 -民國 93 年 06 月 24 日

報告日期: 民國 93 年 09 月 15 日

分類號/目: J3/醫療 J3/醫療

關鍵詞: 胰島素和類胰島素生長因子在心肌細胞的作用

內容摘要: 壓力性蛋白質和類胰島素生長因子都可以保護心臟免於傷害,但是壓力性蛋白質和類胰島素生長因子在糖尿病心臟病變所扮演的角色並不清楚。
目的: 首先測量壓力性蛋白質和類胰島素生長因子接受體在糖尿病大白鼠身上的變化,其次探討糖尿病如何調節壓力性蛋白質和類胰島素生長因子,再來我們評估糖尿病大白鼠經過胰島素的治療之後壓力性蛋白質和類胰島素生長因子接受體是否可以恢復正常。結果: 壓力性蛋白質和類胰島素生長因子接受體在糖尿病大白鼠身上都顯著的減少,胰島素的濃度可以影響壓力性蛋白質的表現但是葡萄糖不會,糖尿病大白鼠經過胰島素的治療之後壓力性蛋白質和類胰島素生長因子接受體幾乎都可以恢復到正常。

背景

熱壓力性蛋白 60 (HSP60) 和類胰島素生長因子 (IGF 1)接受體細胞內訊號傳遞可以保護心臟免於傷害。心臟 IGF 1 接受體的數量和訊號的傳遞會受到 HSP60 的影響，但是糖尿病如何來調控心臟中 HSP60 的表現目前尚不清楚。

我們之前的研究已經證明：透過病毒加強 HSP 60 的表現可以增加心肌細胞 IGF 接受體的含量，加強 IGF 1 接受體的磷酸化以及增加 IGF-1 接受體細胞內訊號的傳遞。相反的，我們用抗 HSP60 的寡磷酸 (Anti-sense HSP 60 oligos)來降低 HSP 60 的表現可以減少心肌細胞 IGF 1 接受體的含量，降低 IGF 1 接受體的磷酸化以及降低 IGF 1 抗計畫性凋亡的能力。

我這次研究的目的主要是來探討：

1. HSP 60 和 IGF-1 接受體在糖尿病老鼠的心臟和其他器官的變化。
2. 糖尿病老鼠是因為血糖高或者是胰島素作用不足來影響 HSP60 和 IGF 1 接受體在心臟的表現。
3. 探討糖尿病老鼠如何調節心臟肌肉 IGF 1 接受體細胞內訊號的傳遞。

實驗方法

實驗一

為了探討 HSP60 和 IGF 1 接受體在糖尿病的表現，我們選擇了注射 streptozotocin 老鼠的糖尿病動物模式。經過 streptozotocin 注射的老鼠，兩天之後血糖立即上升，接著體重逐漸減輕。我們分別在注射 streptozotocin 之後的第四、七、十四和二十一天犧牲老鼠來做實驗。我們將老鼠身上的心臟、腎臟、脂肪組織以及肌肉組織取下來，然後粹取出蛋白質，接著利用這些蛋白質來跑 SDS-PAGE 的分析，然後用特定的抗體來染膜上的 HSP 60、IGF 1 接受體和其他的蛋白質，顯影之後用電腦軟體來分析它們之間的差異。

實驗二

為了探討糖尿病是因為血糖上升，滲透壓增加或者是胰島素不足而引起 HSP60 和 IGF 1 接受體的變化，我們利用初始心肌細胞來做實驗。我們將初始心肌細胞培養在不同濃度的葡萄糖、甘露醇以及胰島素，24 小時之後將心肌細胞刮取下來，然後粹取他們的蛋白質，接著利用這些蛋白質來跑 SDS-PAGE 的分析，然後用特定的抗體來染膜上的 HSP 60、IGF 1 接受體和其他的蛋白質，顯影之後用電腦軟體來分析它們之間的差異。。

實驗三

為了進一步證明糖尿病對 HSP 60 和 IGF 1 接受體的影響，我們分別使用胰島素和 phlorizin 來治療糖尿病老鼠。Phlorizin 藉由增加葡萄糖由小便中排出來降低血糖但不影響胰島素的分泌。當實驗動物注射 streptozotocin 引起糖尿病之後，將它們分成四組：正常組、不治療的糖尿病組、以胰島素治療的糖尿病組和以 phlorizin 治療的糖尿病組，七天之後犧牲。將老鼠身上的心臟、腎臟、脂肪組織以及肌肉組織取下來，然後粹取出蛋白質，接著利用這些蛋白質來跑 SDS-PAGE 的分析，然後用特定的抗體來染膜上的 HSP 60、IGF 1 接受體和其他的蛋白質，顯影之後用電腦軟體來分析它們之間的差異。

實驗四

我們將正常和糖尿病老鼠注射 IGF 1 來探討糖尿病對 IGF 1 接受體細胞內訊號傳遞的影響。實驗動物經過一個晚上的禁食之後，一大早就注射 IGF 1 或是緩衝液，2 分鐘後將心臟取下立即丟到液態氮內。取出冰凍的心臟然後粹取出蛋白質，接著利用這些蛋白質來跑 SDS-PAGE 的分析，我們分別用 IGF 1 和胰島素接受體的抗體來沈澱心臟的蛋白質，跑完 SDS-PAGE 之後再用抗磷酸化抗體來染色，顯影之後用電腦軟體來分析它們之間的差異。

研究結果

1. HSP 60 在糖尿病老鼠的疾病過程中先下降，再回升一些，但並沒有恢復到正常。而 IGF 1 接受體則隨著糖尿病的進展而下降。

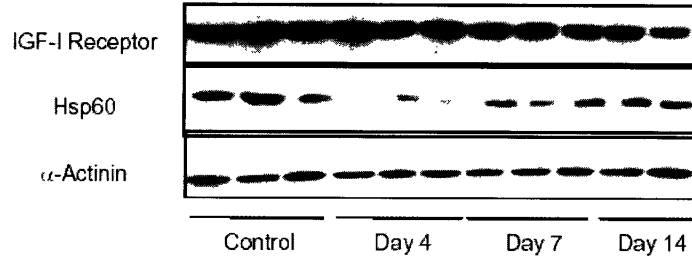
Table 1. The characteristics of experimental animals. The diabetic and control rats were sacrificed at 4, 7, 14 and 21 days after streptozotocin (STZ) or vehicle injection.

	Number	Body Weight (g)	Blood Glucose (mg/dL)
Control	6	266.7 ± 17.2	100.7 ± 8.1
Day 4	6	243.7 ± 15.6 *	365.8 ± 34.4 *
Day 7	6	239.0 ± 15.9 *	395.8 ± 34.9 *
Day 14	5	232.2 ± 13.4 *	491.6 ± 38.2 *
Day 21	5	222.8 ± 45.3 *	572.8 ± 68.5 *

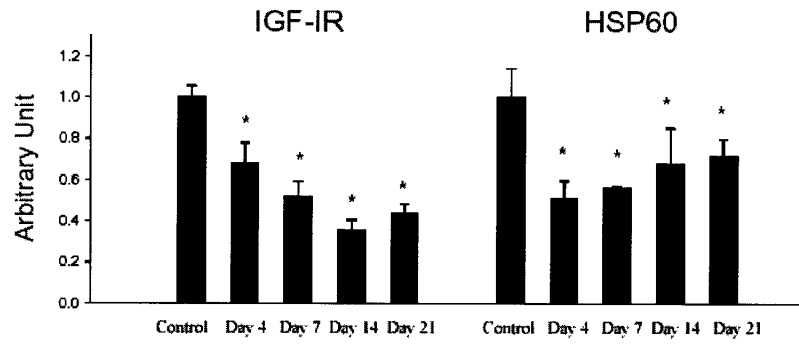
Data were mean ±SE. *Different compared with control rats ($P < 0.05$).

Fig 1

A.

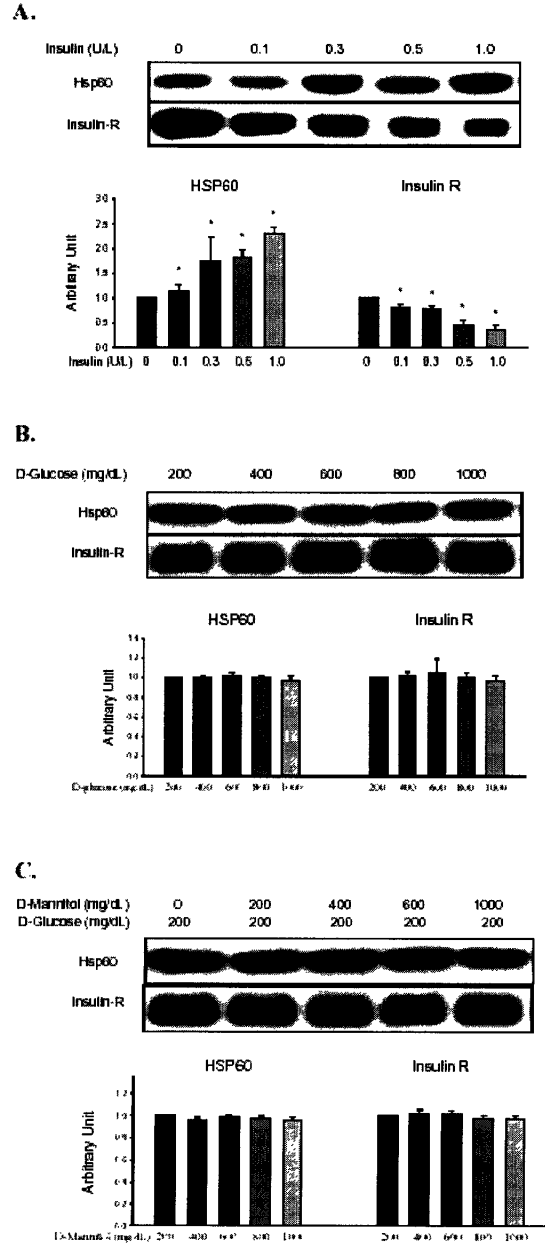


B.



2. 在初始心肌細胞實驗的結果顯示，HSP 60 和 IGE 1 接受體的含量隨著胰島素濃度的上升而增加，但是並不隨著葡萄糖或是甘露醇的濃度而改變。

Fig 2



3. 糖尿病的老鼠經過胰島素治療之後，血糖、體重以及心臟中 HSP 60，IGF 1 接受體的含量可以恢復到正常。然而經過 phlorizin 治療的糖尿病老鼠，雖然血糖恢復到正常，但是體重仍然偏輕，而心臟中 HSP 60 和 IGF 1 接受體的含量也沒有恢復到正常。

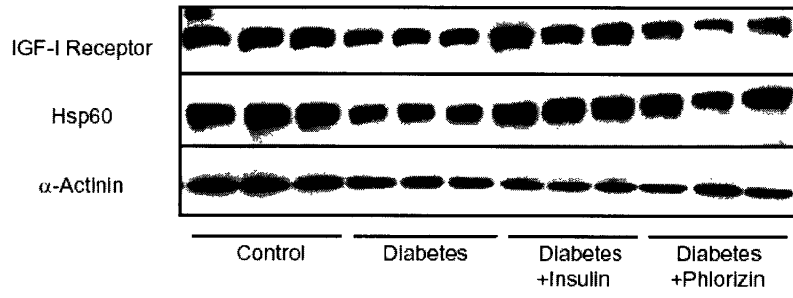
Table 2. Characteristics of experimental animals. When indicated, the diabetic rats were treated with insulin or phlorizin for 6 days

	Body Weight (g)	Blood Glucose (mg/dL)
Control	262.7 ± 13.1	101.8 ± 6.6
STZ-DM	227.8 ± 11.6 *	396.2 ± 35.6 *
Insulin-treated STZ-DM	262.8 ± 26.7#	119.7 ± 11.8 #
Phlorizin-treated STZ-DM	236.7 ± 13.0*	135.2 ± 28.3 #

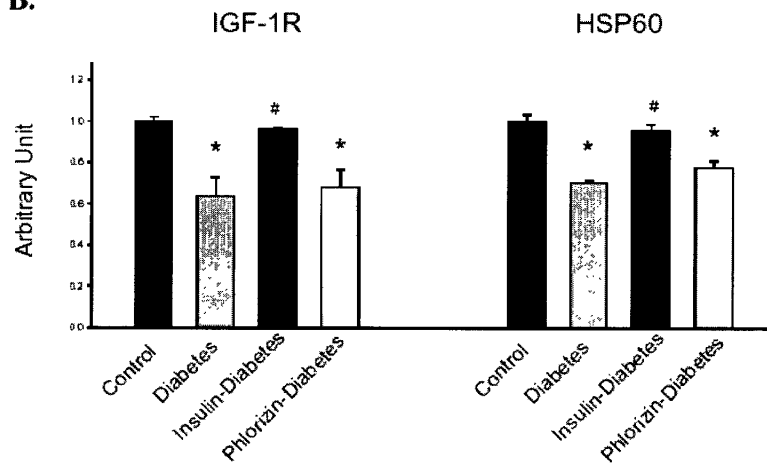
Data were mean ±SE. * $P < 0.05$, vs. control, # $P < 0.05$, vs. STZ-DM.

Fig 3

A.



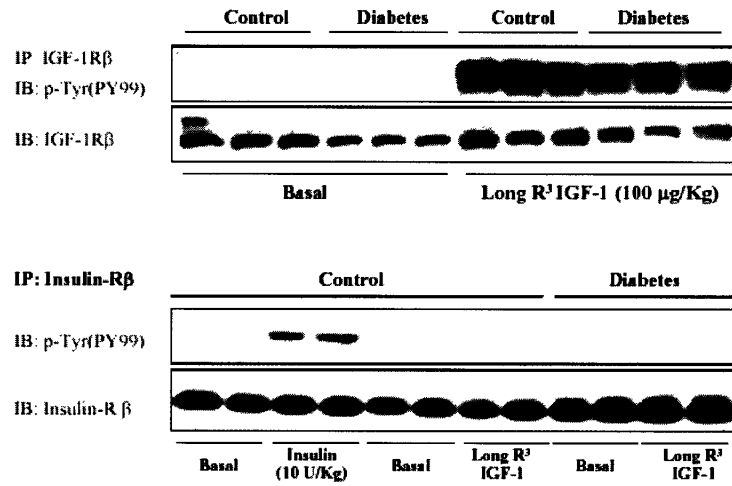
B.



4. 糖尿病的老鼠因為心臟中 IGF 1 接受體的含量下降而導致 IGF 1 接受體磷酸化的程度減低進而降低其細胞內訊號的傳遞。

Fig 4 A, 4B

A.



B.

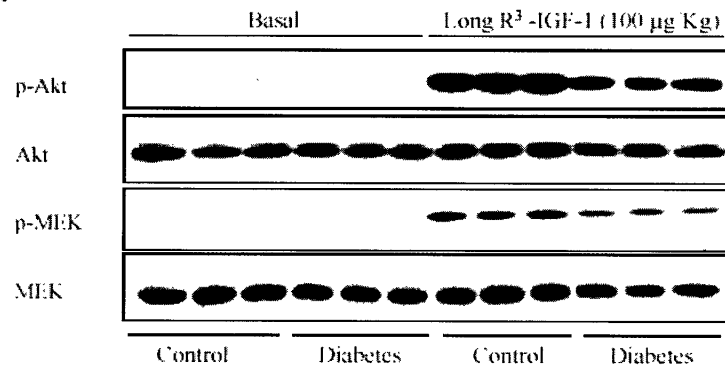
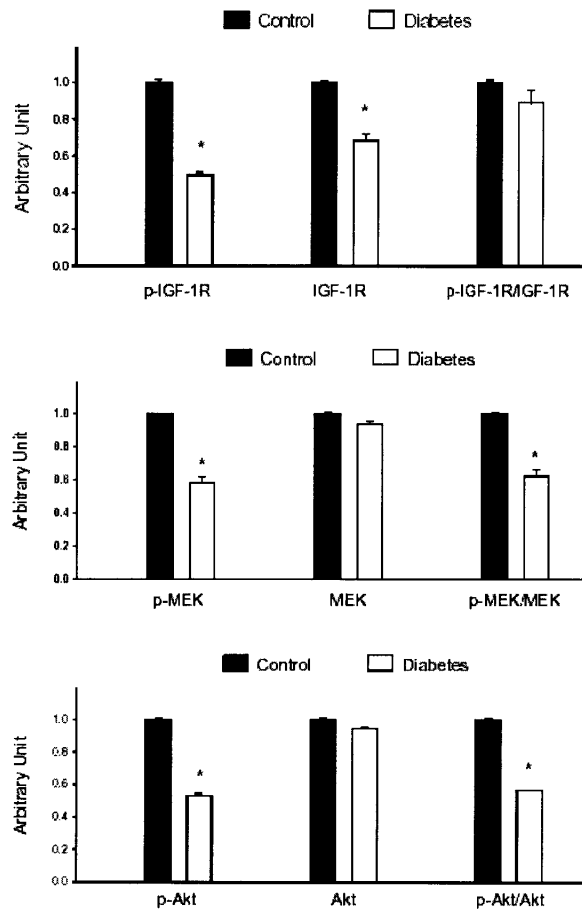


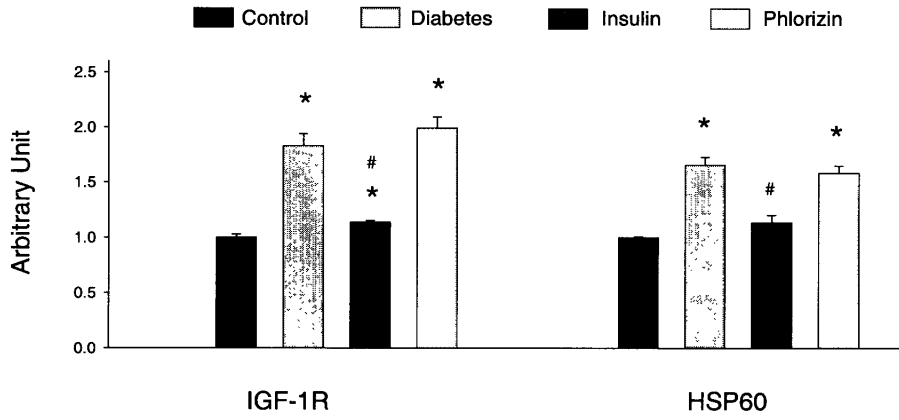
Fig 4C

C.



5. 腎臟組織中 HSP 60 和 IGF 1 接受體的含量隨著糖尿病的發展而增加，經過胰島素的治療之後其含量可以恢復到正常，但是經過 phlorizin 治療的糖尿病老鼠卻無法恢復到正常。

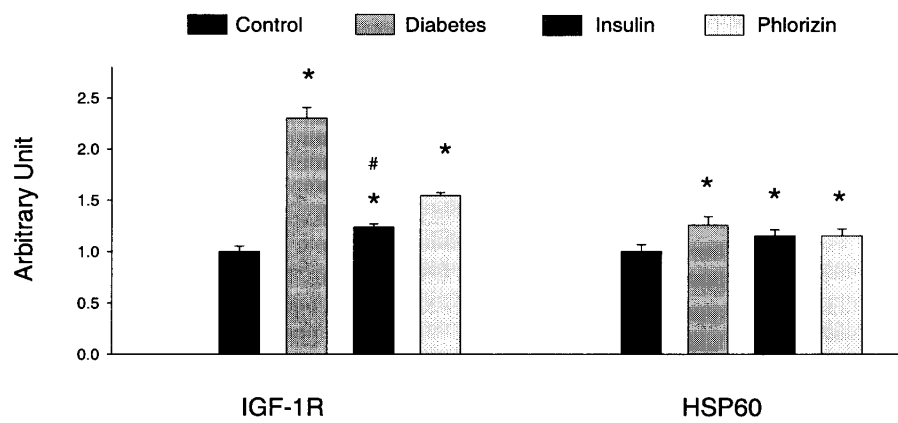
Insulin or Glycemic Effects in Kidney



* , p < 0.01 compare with control group; #, p < 0.01 compare with diabetes group

6. 脂肪組織中 HSP 60 接受體的含量隨著糖尿病的發展而增加，經過胰島素的治療之後其含量可以恢復到正常，但是經過 phlorizin 治療的糖尿病老鼠卻無法恢復到正常。IGF 1 接受體的含量隨著糖尿病的發展而增加，經過胰島素或 phlorizin 治療的糖尿病老鼠卻無法恢復到正常。

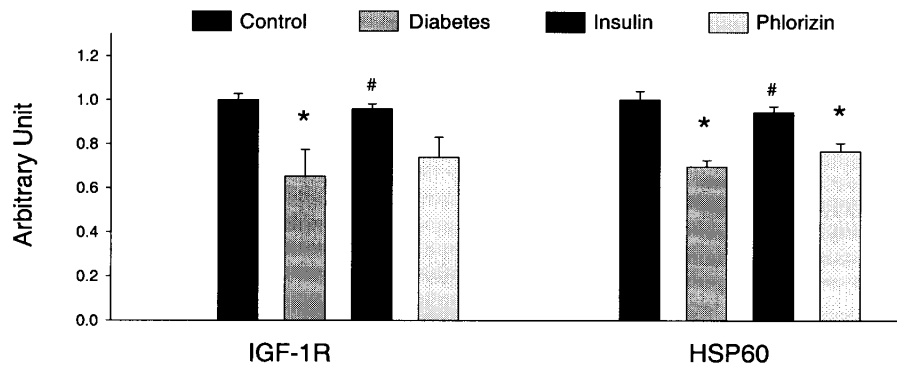
Insulin or Glycemic Effects in Fat



*, $p < 0.01$ compare with control group; #, $p < 0.01$ compare with diabetes group

7. 肌肉組織中 HSP 60 和 IGF 1 接受體的含量隨著糖尿病的發展而減少，經過胰島素的治療之後其含量可以恢復到正常，但是經過 phlorizin 治療的糖尿病老鼠卻無法恢復到正常。

Insulin or Glycemic Effects in Muscle



* , p < 0.01 compare with control group; #, p < 0.01 compare with diabetes group

討論

1. 在心臟組織方面 HSP 60 在糖尿病老鼠的疾病過程中先下降，再回升一些，但並沒有恢復到正常。而 IGF 1 接受體則隨著糖尿病的進展而下降。在初始心肌細胞實驗的結果顯示，HSP 60 和 IGF 1 接受體的含量隨著胰島素濃度的上升而增加，但是並不隨著葡萄糖或是甘露醇的濃度而改變。糖尿病的老鼠經過胰島素治療之後，血糖、體重以及心臟中 HSP 60，IGF 1 接受體的含量可以恢復到正常。然而經過 phlorizin 治療的糖尿病老鼠，雖然血糖恢復到正常，但是體重仍然偏輕，而心臟中 HSP 60 和 IGF 1 接受體的含量也沒有恢復到正常。這意味著糖尿病老鼠大部分是因為胰島素的功能不足而影響其組織中 HSP 60 和 IGF 1 接受體的濃度。
2. 糖尿病的老鼠因為心臟中 IGF 1 接受體的含量下降而導致 IGF 1 接受體磷酸化的程度減低進而降低其細胞內訊號的傳遞。
3. 心臟中 HSP 60 的含量減少可以降低 IGF 1 接受體的含量進而減低 IGF 1 接受體細胞內訊號的傳遞。HSP 60 可以藉由影響 IGF 1 在心臟的作用在糖尿病心臟病變中扮演著一個重要的角色。