

GABA 对高糖诱导氧化损伤的 RIN-m5f 细胞的保护作用 and 机制

蔺 忆¹, 高翠翠¹, 陈立立¹, 唐 雪^{1,2}, 施用晖^{1,2}, 乐国伟^{*1,2}

(1. 江南大学 食品学院, 江苏 无锡 214122; 2. 食品科学与技术国家重点实验室, 江南大学, 江苏 无锡 214122)

摘要: GABA 在胰腺中能够发挥保护作用, 但是其具体的作用机制尚不明确。为了确定 GABA 是否对胰岛 β 细胞具有抗氧化、抗凋亡以及促进胰岛素分泌的作用, 作者采用高糖(44 mmol/L)诱导建立细胞氧化损伤模型, 通过测定细胞存活率、细胞 ROS 生成量、细胞抗氧化酶活、丙二醛含量、胰岛素分泌量以及相关基因水平, 分析探讨不同浓度的 GABA(10、50、100 $\mu\text{mol/L}$) 对高糖诱导氧化损伤的 RIN-m5f 细胞的保护作用。结果表明, GABA 可以提高 RIN-m5f 细胞的存活率, 降低 ROS 生成量, 显著促进 SOD 和 GSH-Px 的活力, 降低 MDA 的浓度, 促进胰岛素分泌, 提高 Nrf2 和 Bcl-2 的 mRNA 水平, 并降低 GSK-3 β 和 Bax 的 mRNA 水平。而且现出的这些作用存在量效关系。GABA 的保护作用可能通过抑制 GSK-3 β , 进一步抑制 Bax 并激活 Nrf2 和 Bcl-2 等关键因子从而实现。因此, GABA 对 RIN-m5f 具有抗氧化、抗凋亡以及促进胰岛素分泌的作用。

关键词: GABA; γ -氨基丁酸; 抗氧化; 细胞存活率; 胰岛素分泌

中图分类号: R 151 **文献标志码:** A **文章编号:** 1673—1689(2015)02—0195—06

Effect of GABA on RIN-m5f Cells in High Glucose-Induced Oxidative Injury Model

LIN Yi¹, GAO Cuicui¹, CHEN Lili¹, TANG Xue^{1,2}, SHI Yonghui^{1,2}, LE Guowei^{*1,2}

(1. School of Food Science and Technology, Jiangnan University, WuXi 214122, China; 2. State Key Laboratory of Food Science and Technology, Jiangnan University, WuXi 214122, China)

Abstract: Oxidative injury was induced by high glucose. Cell viability, production of ROS, the activity of superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GSH-Px), malondialdehyde (MDA) content, insulin secretion and related genes level were measured to investigate the effect of different concentration of GABA (10, 50, 100 $\mu\text{mol/L}$) on RIN-m5f cells in high glucose-induced oxidative injury model. The results demonstrated that GABA improved the cell viability, reduced ROS production, significant enhanced the activity of SOD and GSH-Px, lowered the MDA content, promoted insulin secretion, increased the mRNA level of Nrf2 and Bcl-2, and decrease the mRNA

收稿日期: 2014-01-08

基金项目: 国家“十二五”科技支撑计划项目(2012BAD33B05); 江苏高校优势学科建设工程项目。

* 通信作者: 乐国伟(1956—), 男, 浙江宁波人, 农学博士, 教授, 博士研究生导师, 主要从事营养代谢与调控方面的研究。

E-mail: lgw@jiangnan.edu.cn

level of GSK-3 β and Bax. It follows that GABA possesses the anti-apoptosis and anti-oxidative protective effect on RIN-m5f, and this protection may be achieved by inhibit GSK-3 β and then inhibit Bax, and activate several key factors such as Nrf2 and Bcl-2.

Keywords: GABA, RIN-m5f, anti-oxidative, cell viability, insulin secretion

糖尿病(Diabetes Mellitus, DM)是一种以机体控制葡萄糖功能紊乱和胰岛素分泌失衡为特征的代谢失调疾病, 目前已成为世界第三大严重威胁人类健康的慢性非传染性疾病^[1-2]。氧化应激(Oxidative Stress, OS)被认为是糖尿病发生和发展过程中的一种主要风险因素^[3]。慢性高糖对胰岛 β 细胞有直接的损害作用, 它可以通过多种途径促使活性氧簇(reactive oxygen species, ROS)的产生, 造成氧化应激环境, 而其导致的葡萄糖毒性会损伤胰岛 β 细胞, 促进细胞凋亡, 降低胰岛素基因表达, 从而减少胰岛素分泌。另外, 氧化应激发生机制通常是多因素的, 包含了许多细胞信号通路如 PI3K/Akt 途径^[4]。PI3K/Akt 信号通路通过 GSK3 (Glycogen Synthase Kinase 3)促进糖原合成。活化的 GSK-3 β 不仅会促进多种应激条件, 包括氧化应激诱导的内源性细胞凋亡^[5], 还会抑制抗氧化因子 Nrf2^[6]。

GABA(γ -氨基丁酸)是中枢神经系统内的一种抑制性递质, 在人脑能量代谢过程中起重要作用^[7]。Adeghate E 等人的研究表明, 胰岛 β 细胞同时生成胰岛素和 GABA^[8]。多项研究证明, GABA 在胰腺中具有保护作用, GABA 不仅可以通过促进细胞增殖和恢复保护 β 细胞免受凋亡^[9], GABA 还可以改善葡萄糖耐受性和胰岛素敏感性^[10], 但是 GABA 的对胰腺的保护机制还尚未明确。由于在氧化应激条件下, 胰腺 β 细胞中活化的 GSK-3 β 可能损伤 β 细胞并促其凋亡, 最终导致胰腺 β 细胞的功能失调, GABA 可能通过抑制 GSK-3 β 减少 β 细胞凋亡和 ROS 生成量, 另外高糖损伤会导致 GABA 分泌不足^[11], 使其保护作用下降。因此作者以小鼠胰腺瘤细胞系 RIN-m5f 作为研究对象, 建造了慢性高糖氧化损伤模型, 从细胞水平研究了给予不同浓度 GABA 在高糖模型中对 RIN-m5f 细胞的保护作用以及对 GSK-3 β 水平的影响。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 实验材料 GABA: 博美生物科技有限公司; 小鼠

胰腺瘤 β 细胞 RIN-m5f: 上海拜力生物; 含青霉素和链霉素的 RPMI-1640 培养基; 胎牛血清: GIBCO 公司; 噻唑蓝 (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromide, MTT)、胰酶 (Trypsin): Sigma 公司; 超氧化物歧化酶 (SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px)、丙二醛 (MDA): 南京建成生物工程公司; Elisa 小鼠胰岛素测定试剂盒: 碧云天公司; Trizol: Biomiga 公司; 基因引物 (GSK-3 β 、Nrf2、Bcl-2、Bax): 上海捷瑞生物工程有限公司; 其他试剂: 均为国产分析纯试剂。

1.1.2 仪器 BIO-RAD 680 酶标仪: 美国 Bio-Rad 公司; 细胞培养箱: 美国 Thermo 公司; 倒置显微镜: Olympus; 基因扩增仪: 美国 MJ 公司; 7900HT Fast Real-Time PCR 仪: 美国 ABI 公司; 台式高速冷冻离心机 5804R: 美国 Eppendorf 公司; QL-901 漩涡混匀器: 江苏海门其林医用仪器厂; 恒温水浴锅: 上海精宏实验设备有限公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞传代培养 RIN-m5f 细胞培养基为 RPMI-1640, 含 10% 胎牛血清 (FBS)、100 g/mL 双抗、10 mmol/L HEPES, 于 37 °C、5% CO₂ 饱和湿度培养箱培养。每 2~3 天传代, 取对数生长期细胞用于实验。

1.2.2 实验分组 实验分为 6 组: 正常组 (Control): 含 11 mmol/L 葡萄糖培养基; 损伤组 (G): 含 33 mmol/L 高糖培养基; 高糖加 100 μ mol/L 硫辛酸阳性对照组 (G+LA); 高糖加不同浓度 GABA 处理组 10 μ mol/L (G+10)、50 μ mol/L (G+50)、100 μ mol/L (G+100)。作用细胞时间为 48 h。

1.2.3 噻唑蓝 (MTT) 法检测细胞存活率 接种细胞于 96 孔板, 按分组处理细胞, 孵育 48 h 后将培养基吸出, 每孔加入 20 μ L、5 mg/mL 的 MTT 和 80 μ L 的无血清培养基继续培养 4 h, 丢弃上清液并加入 150 μ L DMSO, 避光振荡 10 min, 测定各孔在 492 nm 波长处的吸光度。

1.2.4 DCFH-DA 荧光探针法检测细胞内自由基

ROS 水平 按将 RIN-m5f 细胞接种于 96 孔培养板上培养,每组设 6 个平行孔,以 DCFH-DA 法处理细胞,最后用荧光酶标仪(激发波长 525 nm,发射波长 488 nm)测定细胞平均荧光强度。

1.2.5 细胞抗氧化酶活(SOD、GSH-px)和 MDA 浓度影响的检测 细胞以每孔 1.0×10^4 的密度接种于六孔板,每组设 3 个平行孔,收集各组处理后的细胞裂解液。各酶活的水平按照试剂盒说明进行测定。

1.2.6 胰岛素分泌实验 将 RIN-m5f 细胞以细胞数 1.0×10^5 接种到 24 孔板中,按照上述分组加药培养 48 h,弃去培养基,用葡萄糖浓度为 44 mmol/L 的培养基再培养 2 h,收集上清液保存于 -80°C ,留待之后检测。用 ELISA 试剂盒测定胰岛素含量。

1.2.7 Real-time PCR 方法测定 GSK-3 β 、Nrf2、Bcl-2 和 Bax mRNA 的表达 Trizol 法提取细胞总 RNA。用 one-drop 仪器检测纯度和浓度, A_{260}/A_{280} 比值在 1.8~2.0 之间。每组分别取 2 μg 总 RNA 进行逆转录反应为 cDNA (25 μL 反应体系), -20°C 保存。GSK-3 β 、Nrf2、Bcl-2 和 Bax 的引物和探针由 pubmed 基因中心设计合成,见表 1。PCR 扩增条件为: 95°C 5 min, 95°C 20 s, 62°C 30 s, 72°C 20 s, 72°C 2 min,共 40 个循环。目标基因的相对表达量以目标基因与内参基因循环阈值的差值 (ΔCt) 表示。

表 1 基因的引物序列

Table 1 Sequence of the primers

基因	序列	
β -action	上游引物	GGGTCAGAAGGACTCCTATG
	下游引物	GTAACAATGCCATGTTCAAT
GSK-3 β	上游引物	GAGTGCTGAGAAGAAAGATGAGGT
	下游引物	CCAAAGGAATGGATATAGGCTAGA
Nrf2	上游引物	AGCACATCCAGACAGACACCACT
	下游引物	TTCAGCGTGGCTGGGGATAT
Bcl-2	上游引物	AACTCTAACTGTGCTTTGAAGGTGA
	下游引物	AGCTCAGAAGAGAACTTTAGTGGCT
Bax	上游引物	TGGAGATGAACTGGACAGCAATAT
	下游引物	GCAAAGTAGAAGAGGGCAACAC

1.2.8 数据统计分析 结果均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,运用 SPSS17.0 软件对数据进行单因素方差分析(ANOVA),并用 Tukey 检验进行组间比较,显著水平为 $P < 0.05$,极显著水平为 $P < 0.01$ 。

2 结果与讨论

2.1 GABA 在高糖氧化损伤模型对 RIN-m5f 细胞存活率的影响

由图 1 可以观察到,相比正常组,损伤组细胞存活率显著降低,为正常组的 78.19% ($P < 0.01$)。而与损伤组细胞存活率相比,细胞存活率随 GABA 浓度的增加而增加,10、50、100 $\mu\text{mol/L}$ 的 GABA 以及 LA 组分别提高细胞存活率为 3.89%、15.87%、31.89%和 14.85%,低浓度 GABA (10 $\mu\text{mol/L}$) 对 RIN-m5f 细胞生长没有显著影响 ($P > 0.05$),中浓度 GABA (50 $\mu\text{mol/L}$) 对细胞的保护作用较强,有显著差异 ($P < 0.05$);高浓度 GABA (100 $\mu\text{mol/L}$) 组同糖损伤组相比有极显著差异 ($P < 0.01$),且细胞存活率已恢复至正常水平,相较正常组升高了 10.08%,并且优于阳性对照 LA 组 (100 $\mu\text{mol/L}$) ($P < 0.05$)。

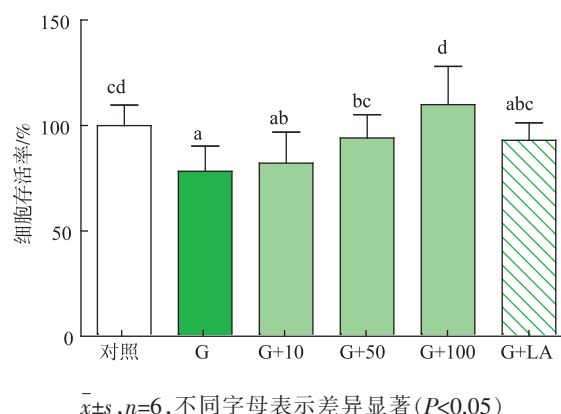


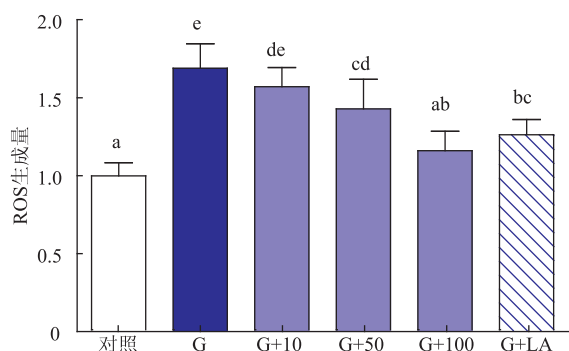
图 1 GABA 对高糖诱导的氧化损伤的 RIN-m5f 细胞存活率的影响

Fig. 1 Effect of GABA on viability of RIN-m5f cells in high glucose-induced oxidative injury model

2.2 GABA 在高糖氧化损伤模型中对 RIN-m5f 细胞 ROS 生成量的影响

图 2 为 GABA 对高糖诱导的氧化损伤的 RIN-m5f 细胞 ROS 生成量的影响,与正常组相比,损伤组 ROS 显著升高,为正常组的 1.70 倍 ($P < 0.01$)。GABA 对 ROS 生成量的抑制作用与药物浓度呈正相关,10、50、100 $\mu\text{mol/L}$ 的 GABA 以及 LA 组相比损伤组的 ROS 总量,其降低的 ROS 分别为 7.08%、15.49%、31.44%和 25.36%。低浓度 GABA (10 $\mu\text{mol/L}$) 相比,损伤组降低了 7.06%的 ROS,但是效果不显著 ($P > 0.05$)。浓度为 50 $\mu\text{mol/L}$ 的 GABA 对降低 ROS

有显著效果 ($P<0.05$), 浓度为 $100\ \mu\text{mol/L}$ GABA 对降低 ROS 有极显著效果, 且 ROS 的生成量降至正常水平 ($P<0.01$)。



$\bar{x} \pm s$, $n=6$, 不同字母表示差异显著 ($P<0.05$)

图2 GABA在高糖氧化损伤模型中对RIN-m5f细胞ROS生成量的影响

Fig. 2 Effect of GABA on ROS production of RIN-m5f cells in high glucose-induced oxidative injury model

2.3 GABA对RIN-m5f细胞中抗氧化酶(SOD、GSH-px)活力以及MDA的质量分数的影响

为了研究GABA是否具有提高抗氧化酶系统活力以及降低丙二醛水平的作用, 测定了SOD和GSH-Px的活力以及MDA的水平。从表2可知, 损伤组与正常组相比, SOD和GSH-px活性显著下降, 分别为正常组的49.16%和53.57% ($P<0.01$), MDA浓度显著升高, 是正常组的2.08倍 ($P<0.01$)。

随着GABA剂量的增加, 抗氧化酶SOD和GSH-px活性逐渐升高 ($P<0.05$): 相比损伤组的SOD活力, 低中高剂量GABA和LA组分别提高了7.60%、30.02%、86.89%、79.04%, 中高剂量作用效果显著 ($P<0.05$); 相比损伤组的GSH-Px活力, 低中高剂量GABA和LA组分别提高了7.52%、20.17%、55.40%、65.19%, 高剂量作用效果极显著 ($P<0.01$)。随着GABA剂量的增加, MDA浓度逐渐降低降低; 相比损伤组的MDA浓度, 低中高剂量GABA和LA组分别降低了5.34%、16.01%、36.28%和44.21%, 中高剂量作用效果显著 ($P<0.05$)。

2.4 GABA对RIN-m5f细胞胰岛素分泌量的影响

Elisa测定胰岛素分泌量的结果见图3。损伤组相较正常组其胰岛素分泌量显著下降, 为正常组的51.36% ($P<0.01$); 低中高GABA组和LA组相比, 损伤组胰岛素分泌量都有显著升高, 胰岛素分泌量分

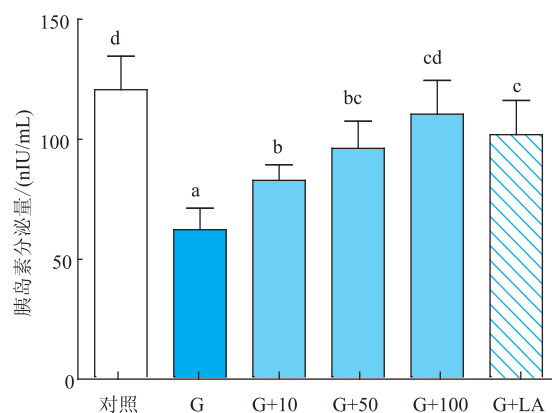
别升高了33.47%、55.04%、78.21%和64.35%, 且高剂量GABA组与对照组相比没有显著差异 ($P<0.05$)。中剂量GABA效果同LA组没有显著差异, 而高剂量GABA组分泌的胰岛素量明显高于LA组 ($P<0.05$)。

表2 GABA在高糖氧化损伤模型中对RIN-m5f细胞的抗氧化酶类(SOD、GSH-px、CAT、T-AOC)活力以及MDA浓度的影响

Table 2 Effect of GABA on activity of SOD, GSH-Px, CAT, T-AOC and content of MDA of RIN-m5f cells in high glucose-induced oxidative injury model

组别	SOD 酶活/ (U/mg)	GSH-px 酶活/ (U/mL)	MDA/ (nmol/L)
对照	16.60±0.62 ^d	118.36±7.32 ^c	3.16±0.26 ^d
G	8.16±0.62 ^a	63.41±7.32 ^a	6.56±0.22 ^a
G+10	8.78±0.51 ^a	68.18±9.08 ^a	6.21±0.12 ^{ab}
G+50	10.61±0.86 ^b	76.20±8.12 ^{ab}	5.51±0.40 ^b
G+100	15.25±0.76 ^{cd}	98.54±6.56 ^{bc}	4.18±0.25 ^c
G+LA	14.61±1.14 ^c	104.75±11.64 ^c	3.66±0.10 ^{cd}

注: $\bar{x} \pm s$, $n=3$, 同列中不同字母表示差异显著 ($P<0.05$)



$\bar{x} \pm s$, $n=3$, 不同字母表示差异显著 ($P<0.05$)

图3 GABA在高糖氧化损伤模型中对RIN-m5f细胞胰岛素分泌量的影响

Fig. 3 Effect of GABA on insulin production of RIN-m5f cells in high glucose-induced oxidative injury model

2.5 GABA在基因转录水平上对RIN-m5f细胞的影响

Real-Time PCR检测结果表明, 高糖刺激下损伤组中GSK-3 β 和Bax的基因水平极显著升高 ($P<0.01$), 而Nrf2和Bcl-2的mRNA表达极显著下降 ($P<0.01$)。而经不同浓度的GABA作用后, 随着GABA浓度的增加, Nrf2和Bcl-2的RNA表达随之

升高,GSK-3 β 和 Bax 的 mRNA 水平随之下降。高剂量 GABA 对上述因子 mRNA 水平的影响效果显著优于 LA 组 ($P<0.05$)。值得注意的是,高剂量 GABA 组能使上述因子的 mRNA 恢复至正常水平 ($P<0.05$)。有可能 GABA 对 Nrf2 的促进作用是通过抑制 GSK-3 β 实现的,这有待进一步验证。

表 3 GABA 在基因转录水平上对 RIN-m5f 细胞的影响
Table 3 Effect of GABA on RIN-m5f cells in high glucose-induced oxidative injury model at gene transcription level

组别	GSK-3 β	Nrf2	Bcl-2	Bax
对照	1.00 $\pm$ 0.08 ^c	1.00 $\pm$ 0.06 ^c	1.00 $\pm$ 0.09 ^{bc}	1.00 $\pm$ 0.14 ^{cd}
G	3.05 $\pm$ 0.22 ^a	0.42 $\pm$ 0.03 ^a	0.38 $\pm$ 0.03 ^a	2.28 $\pm$ 0.26 ^a
G+10	2.75 $\pm$ 0.29 ^a	0.48 $\pm$ 0.03 ^a	0.57 $\pm$ 0.05 ^{ab}	2.05 $\pm$ 0.21 ^a
G+50	2.20 $\pm$ 0.11 ^b	0.75 $\pm$ 0.06 ^b	0.87 $\pm$ 0.03 ^c	1.51 $\pm$ 0.05 ^b
G+100	1.13 $\pm$ 0.14 ^c	1.08 $\pm$ 0.04 ^c	1.22 $\pm$ 0.06 ^d	0.82 $\pm$ 0.08 ^c
G+LA	1.85 $\pm$ 0.17 ^b	0.84 $\pm$ 0.05 ^b	1.01 $\pm$ 0.07 ^c	1.32 $\pm$ 0.10 ^{bc}

2.6 讨论

GABA 在中枢神经系统中是一种主要的神经递质,它是由谷氨酸进行脱羧后合成的^[7]。有研究表明,胰岛 β 细胞可以生成 GABA,而且 β 细胞也能表达 GABA 受体,形成一个 GABA 自分泌信号系统^[8]。Soltani N 的研究证明,GABA 在胰腺中具有显著的保护作用:在 MDSD 小鼠中,GABA 通过促进细胞增殖和恢复保护 β 细胞免受凋亡。重要的是,对于 NOD 小鼠,如果在糖尿病初期用 GABA 进行治疗可以显著修复受损的 β 细胞^[9]。Tian J 等人的研究发现^[10],GABA 促进胰腺 β 细胞的再生,并在 T1D 小鼠模型中治愈高血糖症;而在 HFD 小鼠中,口服 GABA 可以改善葡萄糖耐受以及胰岛素敏感性。还有研究证明,持续高水平的葡萄糖和 ATP 可以抑制 GABA 的产生和从其从 β 细胞中的释放^[11]。因此 GABA 含量不足可能会对 β 细胞造成较大的损伤,需要外界给予 GABA 以维持 β 细胞的功能。尽管有诸多报道关于 GABA 对胰岛细胞的保护,但是其作用的具体机制还有待更进一步的研究。

由于氧化应激可以对胰岛 β 细胞造成严重损害,使得胰岛素基因表达和胰岛素分泌下降,并造成 β 细胞凋亡。而 Chien-Wei Hou 等人研究证明,GABA 可以通过降低红藻氨酸(KA)诱导的 ROS 来保护细胞,并通过降低丙二醛水平显著保护细胞免受 KA 毒性损害^[12]。因此,可提出假设,认为 GABA

可能作为抗氧化剂改善体内氧化还原状态,进而保护胰腺功能。另外,Nepton Soltani 等人发现,GABA 可以激活 PI3K/Akt 途径,而该途径的激活可以抑制 GSK-3 β 。活化的 GSK-3 β 会促进 Nrf2 出核降解,使其下游抗氧化因子无法表达^[13],从而导致生成过量的 ROS^[14],并通过促进多种应激条件诱导的内源性细胞凋亡^[5]。还有研究表明,胰岛素可以抑制 GSK-3 β ^[15],但是当胰岛素分泌不足时, β 细胞中 GSK-3 β 的激活可能会通过增加 ROS 生成量和促进细胞凋亡来损伤 β 细胞。因此 GABA 也许通过抑制 GSK-3 β 激活 Nrf2,从而发挥抗氧化作用,降低 ROS 生成,促进胰岛素分泌,进而保护 β 细胞,并减少细胞凋亡。

本研究采用高糖氧化损伤模型 (44 mmol/L,48 h),用不同浓度的 GABA (10、50、100 μ mol/L) 进行干预,测定了细胞存活率、ROS 生成量、多项抗氧化酶的活力、胰岛素分泌量以及相关基因水平。实验结果显示,GABA 对提高细胞存活率有显著影响,随着 GABA 浓度的升高,细胞的存活率也随之升高,当 GABA 浓度达到 50 μ mol/L 时,细胞存活率接近正常水平 ($P<0.05$)。而且 GABA 对 RIN-m5f 细胞中 ROS 生成量的抑制呈浓度依赖性,100 μ mol/L GABA 作用后,ROS 水平降至正常水平 ($P<0.05$)。进一步研究抗氧化酶类 (SOD 和 GSH-Px) 活性和 MDA 浓度后发现,相较正常组,损伤组的 SOD、GSH-Px 和 T-AOC 活力极显著降低,而 MDA 浓度极显著升高 ($P<0.01$)。但是在 GABA 保护后,抗氧化酶类活性都有不同程度的升高,而 MDA 相比损伤组有显著降低 ($P<0.05$)。其中高剂量 GABA 组在提高抗氧化酶活性以及降低 MDA 浓度的效果优于 LA 组。这表明,GABA 在高糖氧化损伤模型中具有良好的抗氧化作用。

从基因的结果来看,损伤组相较正常组,GSK-3 β 和 Bax 的 mRNA 水平分别升高了 3.04 倍和 2.28 倍,而 Nrf2 和 Bcl-2 分别降低至正常组的 41.90% 和 38.29%。在给予不同浓度 GABA 保护后,GSK-3 β 随 GABA 剂量升高而降低,高剂量组的 GSK-3 β 和 Bax 水平相对损伤组分别降低了 62.83% 和 64.03%,而 Nrf2 和 Bcl-2 的水平随着 GABA 剂量升高而上升,高剂量组的水平相对损伤组分别升高了 2.57 和 3.21 倍。以上结果表明,GABA 具有显著提高 β 细胞的存活率的能力,GABA 可能是通过抑制

GSK-3 β 进而抑制 Bax 并相应提高 Nrf2 和 Bcl-2 水平,从而发挥抗氧化和抗凋亡能力。

3 结 语

本研究的结果表明,GABA 对高糖诱导氧化损伤的 RIN-m5f 细胞具有较好的抗氧化和抗凋亡作

用,并能促进胰岛素分泌,而且发现 GABA 具有抑制 GSK-3 β 和提高 Nrf2 mRNA 水平的作用,其对 Nrf2 的促进作用是否通过抑制 GSK-3 β 实现还有待进一步研究。总之,GABA 在防治糖尿病方面具有潜在的生理功能和应用前景。

参考文献:

- [1] Zatalia S R, Sanusi H. The role of antioxidants in the pathophysiology, complications, and management of diabetes mellitus[J]. **Acta medica Indonesiana**, 2013, 45(2): 141-147.
- [2] Mrudula T, Suryanarayana P, Srinivas P, et al. Effect of curcumin on hyperglycemia-induced vascular endothelial growth factor expression in streptozotocin-induced diabetic rat retina [J]. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, 2007, 361(2): 528-532.
- [3] Fardoun R Z. The use of vitamin E in type 2 diabetes mellitus[J]. **Clinical and Experimental Hypertension**, 2007, 29(3): 135-148.
- [4] Rains J L, Jain S K. Oxidative stress, insulin signaling, and diabetes[J]. **Free Radical Biology and Medicine**, 2011, 50(5): 567-575.
- [5] Jope R S, Johnson G V W. The glamour and gloom of glycogen synthase kinase-3[J]. **Trends in Biochemical Sciences**, 2004, 29(2): 95-102.
- [6] Rojo A I, Sagarra M R, Cuadrado A. GSK-3 β down-regulates the transcription factor Nrf2 after oxidant damage: relevance to exposure of neuronal cells to oxidative stress[J]. **Journal of Neurochemistry**, 2008, 105(1): 192-202.
- [7] Fonnum F. Glutamate: a neurotransmitter in mammalian brain[J]. **Journal of Neurochemistry**, 1984, 42(1): 1-11.
- [8] Adeghate E, Ponery A S. GABA in the endocrine pancreas: cellular localization and function in normal and diabetic rats[J]. **Tissue and Cell**, 2002, 34(1): 1-6.
- [9] Soltani N, Qiu H, Aleksic M, et al. GABA exerts protective and regenerative effects on islet beta cells and reverses diabetes[J]. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 2011, 108(28): 11692-11697.
- [10] Tian J, Dang H N, Yong J, et al. Oral treatment with γ -aminobutyric acid improves glucose tolerance and insulin sensitivity by inhibiting inflammation in high fat diet-fed mice[J]. **PloS One**, 2011, 6(9): e25338.
- [11] Winnock F, Ling Z, De Proft R, et al. Correlation between GABA release from rat islet β -cells and their metabolic state[J]. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, 2002, 282(4): E937-E942.
- [12] Hou C W. Pu-Erh tea and GABA attenuates oxidative stress in kainic acid-induced status epilepticus[J]. **Journal of Biomedical Science**, 2011, 18(1): 1-10.
- [13] Rojo A I, Sagarra M R, Cuadrado A. GSK-3 β down-regulates the transcription factor Nrf2 after oxidant damage: relevance to exposure of neuronal cells to oxidative stress[J]. **Journal of Neurochemistry**, 2008, 105(1): 192-202.
- [14] Zou Y, Hong B, Fan L, et al. Protective effect of puerarin against beta-amyloid-induced oxidative stress in neuronal cultures from rat hippocampus: involvement of the GSK-3 β /Nrf2 signaling pathway[J]. **Free Radical Research**, 2013, 47(1): 55-63.
- [15] Yang J, Cron P, Good V M, et al. Crystal structure of an activated Akt/protein kinase B ternary complex with GSK3-peptide and AMP-PNP[J]. **Nature Structural & Molecular Biology**, 2002, 9(12): 940-944.