

# 硫辛酸对高糖诱导小鼠 RIN-m5F 细胞保护作用的机制

高翠翠<sup>1</sup>, 唐雪<sup>1,2</sup>, 蔺忆<sup>1</sup>, 陈立立<sup>1</sup>, 施用晖<sup>1,2</sup>, 乐国伟<sup>\*1,2</sup>

(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:** 探究  $\alpha$ -硫辛酸( $\alpha$ -LA)对高糖诱导 RIN-m5F 细胞的保护机制。RIN-m5F 细胞分为对照组(11 mmol/L 葡萄糖)、葡萄糖损伤组(22 mmol/L 或 44 mmol/L 葡萄糖)、 $\alpha$ -LA 干预组(上述 3 个葡萄糖浓度+200  $\mu$ mol/L  $\alpha$ -LA), 分别检测细胞内活性氧自由基 (ROS)、丙二醛 (MDA) 水平、总抗氧化能力 (T-AOC) 及超氧化物歧化酶 (SOD) 活性; BAX、BCL-2、GSK-3 $\beta$  mRNA 表达水平; 细胞线粒体膜电位及蛋白印迹法检测 GSK-3 $\beta$  和 p-Ser9 GSK-3 $\beta$  蛋白质水平。结果表明, 与糖损伤组相比, 200  $\mu$ mol/L  $\alpha$ -LA 显著降低胞内 ROS 水平, 分别降低 30% 和 83%; 增强细胞 SOD 活性及 T-AOC 能力, 降低 MDA 积累; 上调抗凋亡因子 BCL-2 mRNA 表达水平, 下调促凋亡蛋白质 BAX mRNA 表达水平, 提高细胞线粒体膜电位。此外,  $\alpha$ -LA 能够下调 GSK-3 $\beta$  mRNA 表达水平, 提高 p-Ser9 GSK-3 $\beta$  蛋白质水平, 表明  $\alpha$ -LA 对高糖诱导 RIN-m5F 细胞的抗氧化和抗凋亡保护作用与调节 GSK-3 $\beta$  有关。

**关键词:** 硫辛酸; 葡萄糖; 氧化应激; 细胞凋亡

**中图分类号:** TS 201.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1673—1689(2015)09—0949—07

## Cytoprotective Effect of $\alpha$ -Lipoic Acid on RIN-m5F Cultured with High Glucose

GAO Cuicui<sup>1</sup>, TANG Xue<sup>1,2</sup>, LIN Yi<sup>1</sup>, CHEN Lili<sup>1</sup>, SHI Yonghui<sup>1,2</sup>, LE Guowei<sup>\*1,2</sup>

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

**Abstract:** The aim of this study is to investigate whether  $\alpha$ -lipoic acid ( $\alpha$ -LA) prevents high glucose-induced oxidative damage and apoptosis of pancreatic islet beta cells. In the present study, RIN-m5F cells were incubated with different concentration of glucose (11 mmol/L, 22 mmol/L and 44 mmol/L) in the presence or absence of 200  $\mu$ mol/L  $\alpha$ -LA for 72 h. Then, cellular reactive oxygen species (ROS) levels, malondialdehyde (MDA) levels, total antioxidant capacity (T-AOC) and superoxide dismutase (SOD) activity were assayed with the appropriate test kits; mitochondrial membrane potential was detected by flow cytometry; relative genes levels were analyzed by reverse transcriptase polymerase chain reaction; western blotting was used to determine protein expression of GSK-3 $\beta$  and p-GSK-3 $\beta$  (Ser9). The results show that  $\alpha$ -LA significantly reduced the MDA

收稿日期: 2014-06-04

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资助项目。

\* 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研究。

E-mail: lgw@jiangnan.edu.cn

formation and inhibited the ROS production induced by high glucose, whereas increased T-AOC and SOD activity. Additionally,  $\alpha$ -LA induced membrane depolarization and increased mitochondrial membrane potential. These effects were mediated by Bcl-2 associated X protein (BAX) and B-cell lymphoma-2 (BCL-2) expression. Western blotting indicated that  $\alpha$ -LA inhibited GSK-3 $\beta$  by increasing p-GSK-3 $\beta$  (Ser9) level. Therefore, our data suggest that  $\alpha$ -LA can effectively attenuate high glucose-induced RIN-m5F cell oxidative damage and apoptosis, by mechanisms which probably involves the inactivation of GSK-3 $\beta$  by phosphorylation. These findings provide a new interpretation on the role of  $\alpha$ -LA in the treatment of diabetes.

**Keywords:**  $\alpha$ -lipoic acid, glucose, oxidative stress, apoptosis

高血糖导致的胰岛  $\beta$  细胞损伤是糖尿病发生的重要环节,高浓度葡萄糖环境导致细胞内氧化系统与抗氧化系统失衡,从而造成细胞各项功能受损,而胰岛  $\beta$  细胞抗氧化酶(如 CAT、GPx、SOD)活性相对较低,更易受到氧化损伤而引发糖尿病<sup>[1]</sup>。

$\alpha$ -硫辛酸( $\alpha$ -LA)在糖尿病及其并发症的预防及治疗中已经有所应用。 $\alpha$ -LA 与其还原形式二氢硫辛酸(DALA)均具有较强抗氧化作用,可通过直接清除氧自由基、螯合金属离子如铜和铁、再生内源性抗氧化剂和修复氧化损伤等途径减轻机体氧化应激<sup>[2-4]</sup>。多项研究已经证实  $\alpha$ -LA 对细胞的保护作用,例如它可以抑制高糖诱导的人脐静脉内皮细胞凋亡<sup>[5]</sup>,抑制 TNF- $\alpha$  诱导的肝细胞及骨髓基质细胞凋亡<sup>[6-7]</sup>;也有研究表明  $\alpha$ -LA 能够减少自由基对胰岛  $\beta$  细胞的损害,对抗凋亡。但是  $\alpha$ -LA 保护胰岛  $\beta$  细胞的具体机制尚未明确<sup>[8-9]</sup>。

GSK-3 $\beta$  在多种信号传导过程中起关键作用,它不仅通过激活糖原合成酶调节细胞糖代谢及能量代谢过程,而且在细胞生长、分化、突变和凋亡等生命活动中也具有重要的调控作用<sup>[10]</sup>。研究显示, GSK-3 $\beta$  是胰岛细胞增殖分化的限速酶。正常小鼠敲除 GSK-3 $\beta$  可提高胰岛  $\beta$  细胞功能,饲喂高脂日粮后仍具有正常的葡萄糖耐受能力及胰岛功能<sup>[11]</sup>。姜黄素可以通过增加 GSK-3 $\beta$  Ser9 磷酸化水平抑制 GSK-3 $\beta$  活性,对抗  $A\beta$  导致的线粒体代谢缺陷和氧化应激<sup>[12]</sup>。此外,LA 可通过增加 p-GSK-3 $\beta$  水平保护活性氮介导的心肌细胞损伤<sup>[13]</sup>,抑制 GSK-3 $\beta$  表达,对抗 BV-2 细胞炎症反应<sup>[14]</sup>。

目前, $\alpha$ -LA 对胰腺  $\beta$  细胞抗氧化保护作用是否与 GSK-3 $\beta$  有关,尚未有报道。因此,本研究以胰岛素瘤细胞株(RIN-m5F)为对象,探究  $\alpha$ -LA 可能

的抗氧化机制,以期 I 型糖尿病的防治提供有价值的理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试剂和仪器

小鼠胰岛素瘤细胞系 RIN-m5F,江南大学药学院金坚教授馈赠。RPMI 1640 培养基,胎牛血清,GIBCO 公司产品; $\alpha$ -LA(纯度 99%),江苏富士莱医药化工有限公司产品;DCFH-DA 荧光探针试剂盒,JC-1 线粒体膜电位测定试剂盒,碧云天生物公司产品;超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)、总抗氧化能力(T-AOC)试剂盒,南京建成生物工程研究所研制;Trizol,荧光染料 SBY,美国 Biomiga 公司产品;M-MLV 逆转录酶,Promega 公司产品;基因引物,上海捷瑞生物工程有限公司产品;兔抗鼠 GSK-3 $\beta$  抗体,p-Tyr216GSK-3 $\beta$  抗体,p-Ser9GSK-3 $\beta$  抗体,美国 Cell Signaling 公司产品;其他试剂均为国产分析纯试剂。Spectra Max M5/M5e 酶标仪,美国 Molecular Devices 公司制造;7900HT Fast Real-Time PCR 仪,美国 ABI 公司制造;FACS Calibur 流式细胞仪,美国 Becton Dickinson 公司制造;Fluor Chem FC3 型化学发光成像分析系统,美国 Protein Simple 公司制造。

### 1.2 细胞培养

RIN-m5F 培养于含体积分数 10% FBS、100 U/mL 青霉素和 100  $\mu$ g/mL 链霉素的 RPMI1640 培养基中,在 37  $^{\circ}$ C 和体积分数 5% CO<sub>2</sub> 培养箱中培养,待细胞长至 80%~90% 融合时,以质量分数 0.25% 胰蛋白酶消化后按 1:2 体积比传代培养。

### 1.3 实验分组及处理

细胞贴壁长至 50% 体积时,分别转入不同条件

培养基继续培养 72 h。实验分组:对照组(11 mmol/L 葡萄糖);糖损伤组(22 mmol/L 葡萄糖,44 mmol/L 葡萄糖); $\alpha$ -LA 干预组(11 mmol/L 葡萄糖+200  $\mu$ mol/L  $\alpha$ -LA,22 mmol/L 葡萄糖+200  $\mu$ mol/L  $\alpha$ -LA,44 mmol/L 葡萄糖+200  $\mu$ mol/L  $\alpha$ -LA)。

1.4 活性氧自由基(ROS)测定

细胞接种于 96 孔板,分组及处理同上。去除培养液,加入稀释好的 DCFH-DA 探针,使其终浓度为 10  $\mu$ mol/L,37  $^{\circ}$ C 培养箱内孵育 30 min,用无血清培养液洗涤细胞 3 次,以充分去除未进入细胞的 DCFH-DA。M5 荧光酶标仪检测荧光强度,激发波长为 488 nm,发射波长为 525 nm。

1.5 氧化应激指标的测定

取对数生长期的细胞接种于 6 孔板,分组及处理同上。预冷磷酸盐缓冲溶液(0.01 mol/L PBS)清洗细胞 2 次,RPMI 细胞裂解液于冰上裂解细胞

5 min,10 000 r/min 离心 10 min,取上清液,-20  $^{\circ}$ C 保存待测。

严格按照试剂盒说明书测定细胞裂解液中相关指标:MDA、SOD、T-AOC。

1.6 细胞线粒体膜电位测定

取对数生长期的细胞接种于 6 孔板,分组及处理同上。严格按照 JC-1 线粒体膜电位试剂盒说明书测定,实验独立重复 3 次。

1.7 Real-Time PCR 检测细胞内相关基因 mRNA 表达水平

Trizol 法提取细胞总 RNA,取 2.0  $\mu$ g 总 RNA,经反转录为 cDNA (20  $\mu$ L 反应体系),-20  $^{\circ}$ C 保存。PCR 扩增条件:预变性 95  $^{\circ}$ C,5 min;变性 95  $^{\circ}$ C 20 s,退火 62  $^{\circ}$ C 30 s,延伸 72  $^{\circ}$ C 20 s,所有基因均为 40 个循环;终末延伸 72  $^{\circ}$ C 2 min。基因引物上下游序列及退火温度见表 1。

表 1 引物序列及退火温度  
Table 1 Sequences of the primers and annealing temperature

| 基因名称           | 上下游引物                                 | 退火温度/ $^{\circ}$ C |
|----------------|---------------------------------------|--------------------|
| $\beta$ -actin | sense: 5' GGGTCAGAAGGACTCCTATG 3'     | 62                 |
|                | antisense: 5' GTAACAATGCCATGTTCAAT 3' |                    |
| GSK-3 $\beta$  | sense: 5' TTGGACAAAGGTCTTCCGGCCCC3'   | 62                 |
|                | antisense: 5' TGCAGGTGTGTCTCGCCCAT3'  |                    |
| BCL-2          | sense: 5' ATAGCCCGTGTTTGTAAT'         | 62                 |
|                | antisense: 5' TTCCTGATAGGCTAGGTG3'    |                    |
| BAX            | sense: 5' AGAGGCAGCGGCAGTGAT3'        | 60                 |
|                | antisense: 5' CGATCCTGGATGAAACCCT3'   |                    |

1.8 Western-blot 检测 GSK-3 $\beta$  蛋白质水平

各组细胞抽提蛋白质,BCA 法测定蛋白质浓度。各组样品按 40  $\mu$ g/孔点样,质量分数 12.5% SDS-聚丙烯酰胺(PAGE)凝胶电泳,半干法转蛋白质至 PVDF 膜。体积分数 5% BSA TBST 液在室温条件下封闭 60 min。GSK-3 $\beta$  抗体(体积比 1:1 000)、p-Ser9GSK-3 $\beta$  抗体(体积比 1:1 000),4  $^{\circ}$ C 孵育过夜。洗涤后二抗室温孵育 60 min。显色,成像,电泳图像分析系统分析。

1.9 数据处理与统计方法

采用 SPASS17.0 统计软件对数据进行相关性分析,并作 Duncan 多重比较。实验数据用  $\bar{x}\pm$ SD 表示,显著水平为  $P<0.05$ 。

2 结果与分析

2.1  $\alpha$ -LA 对细胞内 ROS 的影响

随着葡萄糖浓度的增加,细胞 ROS 水平逐渐升高,且差异显著( $P<0.05$ );添加 200  $\mu$ mol/L  $\alpha$ -LA 可

显著降低 22 mmol/L 和 44 mmol/L 葡萄糖组 ROS 水平 ( $P<0.05$ ), 且 22 mmol/L 葡萄糖组可恢复至正常水平。如图 1 所示。

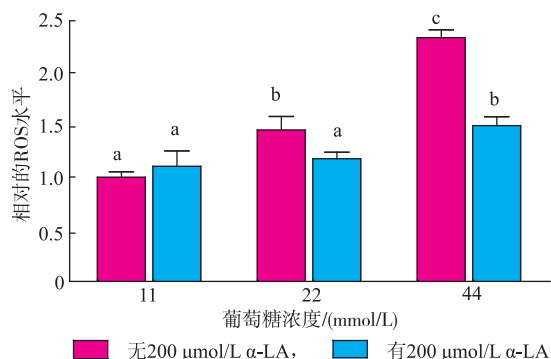


图 1 各组细胞存活率及 ROS 水平的影响

Fig. 1 Influence of  $\alpha$ -LA on ROS and the viability of RIN-m5F treated with glucose

表 2 各组细胞 MDA、SOD 和 T-AOC 水平的比较

Table 2 Effects of  $\alpha$ -LA on MDA content, SOD activities and T-AOC in RIN-m5F treated with glucose

| 试验组                                        | SOD 活性/(U/mg)                 | T-AOC 水平/(U/mg)              | MDA 水平/(nmol/mg)             |
|--------------------------------------------|-------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| 11 mmol/L 葡萄糖                              | 19.83 $\pm$ 1.98 <sup>c</sup> | 1.32 $\pm$ 0.08 <sup>c</sup> | 2.38 $\pm$ 0.14 <sup>a</sup> |
| 11 mmol/L 葡萄糖+200 $\mu$ mol/L $\alpha$ -LA | 23.45 $\pm$ 1.96 <sup>d</sup> | 1.42 $\pm$ 0.09 <sup>c</sup> | 2.03 $\pm$ 0.09 <sup>a</sup> |
| 22 mmol/L 葡萄糖                              | 14.03 $\pm$ 0.96 <sup>b</sup> | 0.89 $\pm$ 0.06 <sup>b</sup> | 4.31 $\pm$ 0.25 <sup>b</sup> |
| 22 mmol/L 葡萄糖+200 $\mu$ mol/L $\alpha$ -LA | 19.20 $\pm$ 1.43 <sup>c</sup> | 1.28 $\pm$ 0.09 <sup>c</sup> | 2.31 $\pm$ 0.27 <sup>a</sup> |
| 44 mmol/L 葡萄糖                              | 9.32 $\pm$ 1.32 <sup>a</sup>  | 0.42 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup> | 6.19 $\pm$ 0.44 <sup>c</sup> |
| 44 mmol/L 葡萄糖+200 $\mu$ mol/L $\alpha$ -LA | 15.33 $\pm$ 1.68 <sup>b</sup> | 1.13 $\pm$ 0.10 <sup>b</sup> | 2.53 $\pm$ 0.12 <sup>a</sup> |

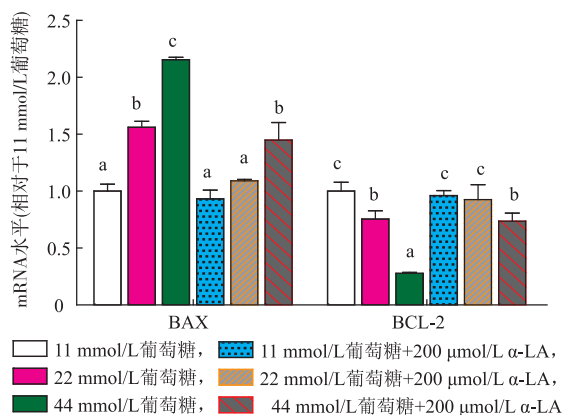


图 2 各组细胞 BAX-2mRNA 表达的变化

Fig. 2 Expression of BAX-2 gene in different groups

## 2.4 线粒体膜电位变化

随着葡萄糖浓度的增加,线粒体膜电位显著下降 ( $P<0.05$ );  $\alpha$ -LA 干预后, 各组相比损伤组线粒体膜电位均有显著升高 ( $P<0.05$ ), 且 22 mmol/L 葡萄糖+ $\alpha$ -LA 组可恢复至正常水平, 如图 3、4 所示。

## 2.2 细胞 SOD 活性、MDA 水平以及 T-AOC 的变化

随着葡萄糖浓度的增加, 细胞内 MDA 水平显著升高 ( $P<0.05$ ), SOD、T-AOC 显著降低 ( $P<0.05$ ); 而  $\alpha$ -LA 干预可显著提高各组 SOD 活性 ( $P<0.05$ ), 22 mmol/L 葡萄糖+ $\alpha$ -LA 组可恢复至正常水平; 此外, 添加  $\alpha$ -LA 后可提高 22 mmol/L 和 44 mmol/L 葡萄糖组 T-AOC 水平, 降低 MDA 含量 ( $P<0.05$ ), 表明 LA 可有效降低高糖引起的氧化应激, 见表 2。

## 2.3 细胞 BAX 和 BCL-2 mRNA 表达水平的变化

随着葡萄糖浓度的增加, BAX mRNA 表达水平显著上调 ( $P<0.05$ ), BCL-2 mRNA 表达水平显著下调 ( $P<0.05$ ); 添加  $\alpha$ -LA 后可在一定程度恢复 22 mmol/L 和 44 mmol/L 葡萄糖组 BCL-2 表达水平, 降低 BAX 表达水平 ( $P<0.05$ ), 表明 LA 具有一定的抗凋亡作用, 如图 2 所示。

## 2.5 $\alpha$ -LA 干预对 GSK-3 $\beta$ mRNA 表达水平及蛋白质磷酸化水平的影响

$\alpha$ -LA 对各组细胞 GSK-3 $\beta$  基因水平的影响如图 5 所示, GSK-3 $\beta$  mRNA 表达水平随葡萄糖浓度增加而提高 ( $P<0.05$ );  $\alpha$ -LA 干预可显著降低糖损伤组 GSK-3 $\beta$  mRNA 表达水平, 其中 22 mmol/L 葡萄糖组可下调至正常水平。

Western-blot 检测细胞 GSK-3 $\beta$  磷酸化水平, 结果如图 6 和图 7 所示, 随着葡萄糖浓度的升高, GSK-3 $\beta$  Ser9 位点磷酸化水平显著降低 ( $P<0.05$ );  $\alpha$ -LA 干预后, 相比损伤组 Ser9 位点磷酸化水平均有显著升高 ( $P<0.05$ )。

## 3 讨论

Brownlee 的统一机制学说认为, 在高糖环境, 线粒体呼吸链生成过多氧自由基可激活晚期糖基化终末产物途径、多元醇途径, 以及蛋白激酶 C 途径, 后者反过来又能促进自由基的生成, 形成恶性循环<sup>[15]</sup>。

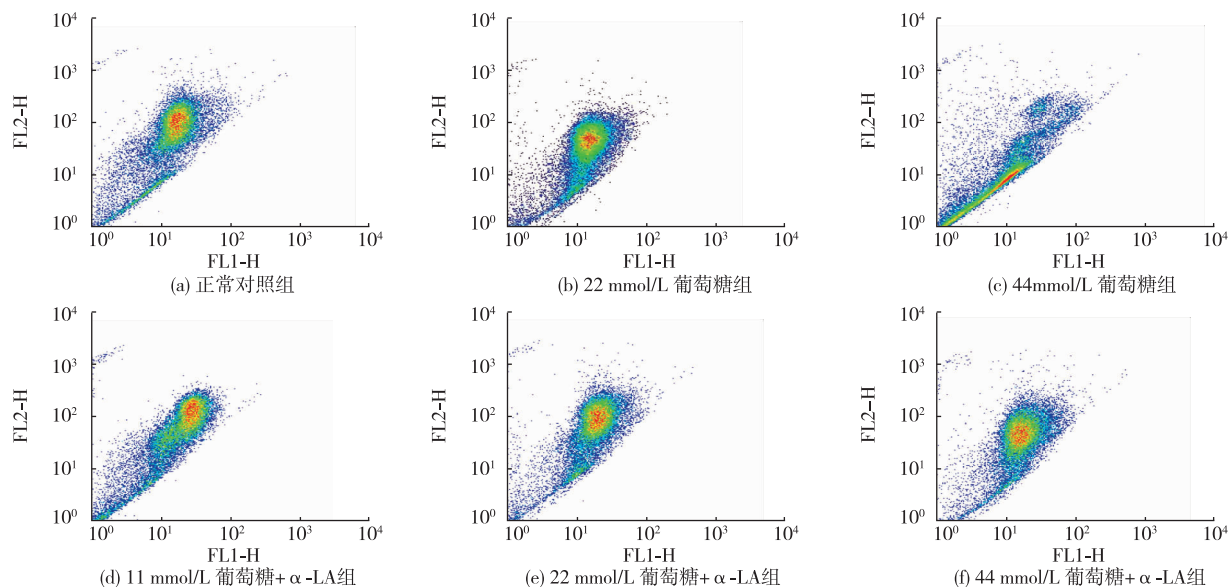


图 3  $\alpha$ -LA 对 RIN-m5F 细胞线粒体膜电位的影响

Fig. 3 Influence of  $\alpha$ -LA to the mitochondrial membrane potential of RIN-m5F cell

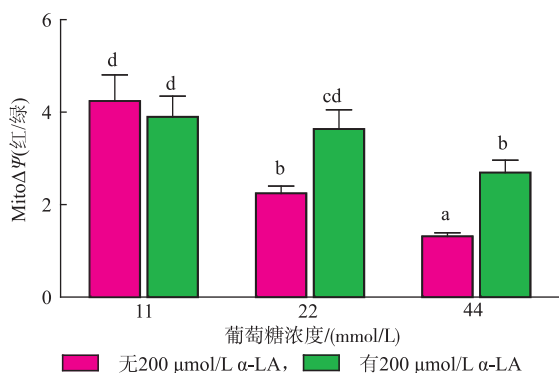


图 4  $\alpha$ -LA 对 RIN-m5F 细胞线粒体膜电位的影响

Fig. 4 Influence of  $\alpha$ -LA to the mitochondrial membrane potential of RIN-m5F cell

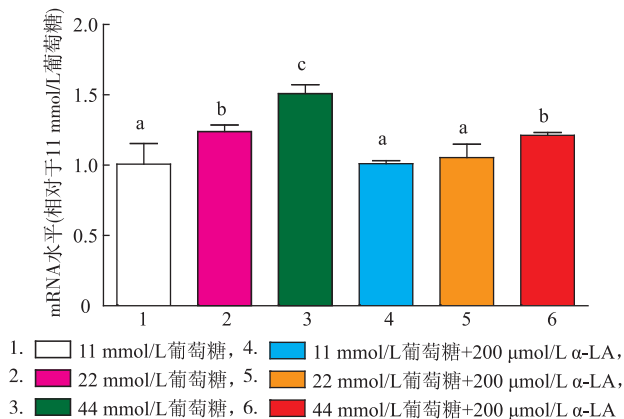


图 5 各组细胞 GSK-3 $\beta$  mRNA 表达的变化

Fig. 5 Expression of GSK-3 $\beta$  gene in different groups

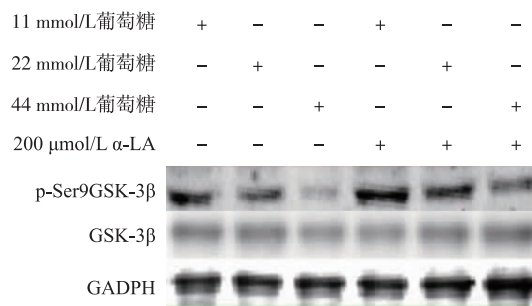


图 6 western-blot 检测各组细胞 p-GSK-3 $\beta$  蛋白水平表达

Fig. 6 western-blot of p-GSK-3 $\beta$  protein in different groups

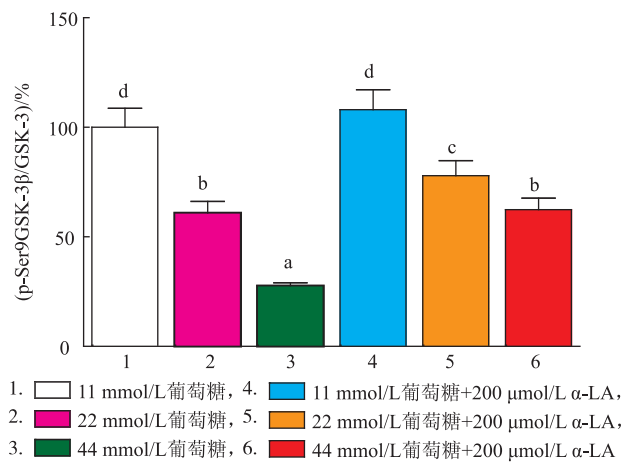


图 7 western-blot 检测各组细胞 p-GSK-3 $\beta$  蛋白表达灰度值

Fig. 7 western-blot of p-GSK-3 $\beta$  protein in different groups

胰岛  $\beta$  细胞功能紊乱是糖尿病发生的中心环节,由于  $\beta$  细胞抗氧化系统处于较低水平,使其更易发生氧化应激,诱导细胞凋亡及胰岛素分泌功能降低<sup>[16]</sup>。正常生理状况下,胞内 ROS 生成和清除处于动态平衡,ROS 过多生成引起细胞氧化损伤。

MDA 是细胞膜脂质被活性氧氧化的产物,是评价氧化损伤程度的重要标志物,其过度累积可直接反映受氧化应激损伤的程度<sup>[17]</sup>。SOD 是细胞受到外界刺激产生的内源性抗氧化酶类,可以清除活性氧物质,对维持氧化与抗氧化平衡起着重要作用,通过检测 SOD 活性可间接反映胞内氧化应激水平<sup>[18]</sup>。本研究中以 11、22、44 mmol/L 葡萄糖分别孵育 RIN-m5F 细胞 72 h,发现高糖可诱导细胞产生氧化应激,且与糖浓度呈正相关。200  $\mu$ mol/L  $\alpha$ -LA 干预可使高糖组细胞 MDA 和 ROS 生成显著降低,SOD 活性及 T-AOC 水平显著升高。表明  $\alpha$ -LA 对 RIN-m5F 细胞的抗氧化保护作用,与调节抗氧化酶活性、增强总抗氧化能力有关。

糖原合成酶激酶 GSK-3 $\beta$  是一种高度保守的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,在生物体内参与多种蛋白质的转录与激活,以及调控细胞增殖、分化和凋亡等生命活动的信号转导,具有广泛的细胞调节作用。研究发现,ROS 升高导致 GSK-3 $\beta$  Ser9 位点磷酸化水平降低,从而激活 GSK-3 $\beta$ ,造成线粒体内  $\text{Ca}^{2+}$  外流,线粒体膜电位改变,PTP 通道打开。激活后的 GSK-3 $\beta$  能够促进线粒体促凋亡蛋白质 BAX 表达<sup>[10]</sup>。BAX 是 BCL-2 家族的重要蛋白质之一,正常条件下 BCL-2 与 BAX 形成异源二聚体,抑制 BAX

的功能。当 BCL-2 减少时,释放出来的 BAX 形成同源二聚体,在线粒体外膜形成足够让凋亡蛋白质传输的孔道,使线粒体膜电位破坏,造成线粒体膜电位下降,诱导细胞凋亡。王俐<sup>[19]</sup>等研究发现, $\alpha$ -LA 可以抑制高糖诱导的 ECV304 细胞线粒体膜电位降低,保护细胞免受氧化损伤。Yoshiki Koriyama<sup>[14]</sup>等指出,LA 可以通过抑制 GSK-3 $\beta$  的表达对抗 BV-2 细胞炎症反应,为神经病变性疾病提供依据。但  $\alpha$ -LA 能否调节胰岛细胞 GSK-3 $\beta$  活性,尚未见相关报道。本研究结果显示,高糖可以显著诱导 RIN-m5F 细胞凋亡,上调 GSK-3 $\beta$  mRNA 表达水平,下调 GSK-3 $\beta$  Ser9 位点的磷酸化水平,激活 GSK-3 $\beta$  活性; $\alpha$ -LA 干预后,GSK-3 $\beta$  mRNA 水平显著下调,GSK-3 $\beta$  Ser9 位点的磷酸化水平显著上调,并且伴随 Bax mRNA 表达水平下调及 BCL-2 mRNA 水平上调,线粒体膜电位显著升高,其中 200  $\mu$ mol/L  $\alpha$ -LA 可使 22 mmol/L 葡萄糖组各项指标恢复至正常水平。表明  $\alpha$ -LA 可能通过抑制 GSK-3 $\beta$  活性调节线粒体 BCL-2 表达,从而抑制 BAX 释放,进而提高线粒体膜电位,抑制高糖诱导的细胞凋亡,维护细胞氧化还原稳态。

## 4 结 语

综上,推测 GSK-3 $\beta$  可能是  $\alpha$ -LA 保护高糖损伤胰岛细胞的一个重要信号分子, $\alpha$ -LA 可能通过提高 GSK-3 $\beta$  Ser9 磷酸化水平抑制其活性,从而降低促凋亡蛋白质表达,提高线粒体膜电位,维护 RIN-m5F 细胞氧化还原稳态。

## 参考文献:

- [1] Robertson R P, Harmon J S. Diabetes, glucose toxicity, and oxidative stress: a case of double jeopardy for the pancreatic islet  $\beta$  cell[J]. **Free Radical Biology and Medicine**, 2006, 41(2): 177-184.
- [2] Biliska A, Wlodek L. Lipoic acid-the drug of the future[J]. **Pharmacol Rep**, 2005, 57(5): 570-577.
- [3] Biewenga G P, Haenen G R M M, Bast A. The pharmacology of the antioxidant lipoic acid [J]. **General Pharmacology: The Vascular System**, 1997, 29(3): 315-331.
- [4] Saliou C, Kitazawa M. Antioxidants modulate acute solar ultraviolet radiation-induced NF- $\kappa$ B activation in a human keratinocyte cell line[J]. **Free Radic Biol Med**, 1999, 26: 174-183.
- [5] Meng X, Li Z M, Zhou Y J, et al. Effect of the antioxidant  $\alpha$ -lipoic acid on apoptosis in human umbilical vein endothelial cells induced by high glucose[J]. **Clinical and Experimental Medicine**, 2008, 8(1): 43-49.
- [6] Byun C H, Koh J M. Alpha-lipoic acid inhibits TNF- $\alpha$ -induced apoptosis in human bone marrow stromal cells[J]. **Bone Miner Res**, 2015, 20(7): 1125-1130.

- [7] Diesel B, Kulhanek-Heinze S, Holtje M, et al.  $\alpha$ -Lipoic Acid as a directly binding activator of the insulin receptor: protection from hepatocyte apoptosis[J]. **Biochemistry**, 2007, 46(8): 2146-2155.
- [8] Yang Y, Wang W, Liu Y, et al.  $\alpha$ -lipoic acid inhibits high glucose - induced apoptosis in HIT-T15 cells [J]. **Development, Growth & Differentiation**, 2012, 54(5): 557-565.
- [9] Lee B W, Kwon S J, Chae H Y, et al. Dose-related cytoprotective effect of  $\alpha$ -lipoic acid on hydrogen peroxide-induced oxidative stress to pancreatic beta cells[J]. **Free Radical Research**, 2009, 43(1): 68-77.
- [10] Chiara F, Rasola A. GSK-3 and mitochondria in cancer cells[J]. **Frontiers in Oncology**, 2013(3): 1.
- [11] Liu Y, Tanabe K, Baronnier D, et al. Conditional ablation of Gsk-3 $\beta$  in islet beta cells results in expanded mass and resistance to fat feeding-induced diabetes in mice[J]. **Diabetologia**, 2010, 53(12): 2600-2610.
- [12] 赵丽艳, 余秀娟, 韩天云, 等. 姜黄素神经保护作用研究进展[J]. 神经药理学报, 2012, 2(2): 58-64.  
ZHAO Liyan, YU Xiujuan, HAN Tianyun, et al. Research progress on neuroprotective effects of curcumin [J]. **Acta Neuroparmacologica**, 2012, 2(2): 58-64. (in Chinese)
- [13] 姜苏蓉.  $\alpha$ -硫辛酸对活性氮介导心肌损伤的保护作用及其机制研究[D]. 南京: 南京医科大学, 2013.
- [14] Koriyama Y, Nakayama Y, Matsugo S, et al. Anti-inflammatory effects of lipoic acid through inhibition of GSK-3 $\beta$  in lipopolysaccharide-induced BV-2 microglial cells[J]. **Neuroscience Research**, 2013, 77(1): 87-96.
- [15] Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications[J]. **Nature**, 2001, 414: 813-820.
- [16] Simona Cernea, Minodora Dobreanu. Diabetes and beta cell function: from mechanisms to evaluation and clinical implications[J]. **Biochimica Medica**, 2013, 23(3): 266-280.
- [17] Andriantsitohaina R, Duluc L. Systems biology of antioxidants[J]. **Clin Sci**, 2012, 123: 173-192.
- [18] Sugino N. The role of oxygen radical—mediated signaling pathways in endometrial function[J]. **Placenta**, 2007, 28: 133-136.
- [19] 王俐, 蔡美琴, 刘秀玲, 等.  $\alpha$ -硫辛酸对高糖和  $H_2O_2$  致 ECV304 细胞线粒体氧化损伤的保护作用[J]. 营养学报, 2010, 32(3): 234-238.  
WANG Li, CAI Meiqin, LIU Xiuling, et al. The protective effects of  $\alpha$ -lipoic acid against oxidative damage induced by hyperglycemia and hydrogen peroxide in ECV304 cell mitochondria [J]. **Acta Nutrimenta Sinica**, 2010, 32(3): 234-238. (in Chinese)

## 会 议 信 息

会议名称(中文): 第六届全国农业环境科学学术研讨会

会议名称(英文): the 6th national conference of agro-environment science

所属学科: 生态学, 农林基础, 环境科学, 环境工程, 环境生态

开始日期: 2015-11-15

结束日期: 2015-11-18

所在城市: 福建省 福州市

主办单位: 农业部环境保护科研监测所, 福建省农业科学院

协办单位: 天津双和恣扬环保技术有限公司

承办单位: 福建农林大学资源与环境学院

会议主席: 任天志 刘波

联系人: 《农业环境科学学报》编辑部

联系电话: 李无双(13702119778) 潘淑君(13920028209)

传真: 022-23674336

E-MAIL: caep@vip.163.com

通讯地址: 天津市南开区复康路 31 号

邮政编码: 300191

会议注册费: 1200

会议网站: <http://www.aes.org.cn>