

高糖高胰岛素促进小鼠胰腺星状细胞 活化和半乳凝素-3表达

祝祥云 吴春华 杨家悦 李玲*

(东南大学附属中大医院内分泌科与东南大学医学院, 南京 210009)

摘要 该研究观察了高糖高胰岛素对小鼠胰腺星状细胞(pancreatic stellate cells, PSCs)活化、增殖、细胞外基质(extracellular matrix, ECM)合成和半乳凝素-3(galectin-3, Gal-3)表达的影响。分离PSCs并培养至3~5代后进行实验。PSCs干预分为低糖对照组(5 mmol/L葡萄糖)、高糖组(25 mmol/L葡萄糖)、高胰岛素组(5 mmol/L葡萄糖+100 nmol/L胰岛素)、高糖高胰岛素组(25 mmol/L葡萄糖+100 nmol/L胰岛素)。细胞免疫荧光检测胰岛素受体(insulin receptor, IR)和胰岛素样生长因子-1型受体(insulin like growth factor-1 receptor, IGF-1R)在PSCs的表达; MTT法检测PSCs增殖; RT-PCR和Western blot测定 α -平滑肌肌动蛋白(α -smooth muscle actin, α -SMA)、I型胶原(type I collagen, ColI)、纤连蛋白(fibronectin, Fn)和Gal-3的mRNA和蛋白质水平。结果发现, PSCs细胞表达IR和IGF-1R; 与低糖对照组相比, 高糖组、高胰岛素组、高糖高胰岛素组均诱导PSCs活化、增殖并促进ColI、Fn生成和Gal-3表达, 其中以高糖高胰岛素组最为显著。以上结果说明, 2型糖尿病高糖、高胰岛素微环境可能促进PSCs活化、增殖、ECM生成和Gal-3表达, 在一定程度上可导致胰腺纤维化。

关键词 2型糖尿病; 胰腺星状细胞; 胰岛素受体; 胰岛素样生长因子-1型受体; 半乳凝素-3

The Effects of High Concentration Glucose and Insulin on the Activation of Pancreatic Stellate Cells and Expression of Galectin-3

Zhu Xiangyun, Wu Chunhua, Yang Jiayue, Li Ling*

(Department of Endocrinology, Zhongda Hospital, School of Medicine, Southeast University, Nanjing 210009, China)

Abstract This work was aimed to investigate the effects of high concentration glucose (25 mmol/L) and insulin on activation, proliferation, extracellular matrix (ECM) production and expression of galectin-3 (Gal-3) in pancreatic stellate cells (PSCs). PSCs were isolated and cultured *in vitro*, then were divided into low glucose control group (5 mmol/L), high glucose group (25 mmol/L), high insulin group (5 mmol/L glucose+100 nmol/L insulin) and high glucose and high insulin group (25 mmol/L glucose+100 nmol/L insulin). The protein levels of insulin receptor (IR) and insulin-like growth factor-1 receptor (IGF-1R) were determined by immunofluorescence staining. The cell proliferation was assessed by MTT assay. The mRNA and protein levels of α -smooth muscle actin (α -SMA), type I collagen (ColI), fibronectin (Fn) and Gal-3 were measured by RT-PCR and Western blot, respectively. The results showed that PSCs expressed receptors for both insulin and IGF-1. Compared with low concentration

收稿日期: 2016-11-08 接受日期: 2016-12-14

国家自然科学基金(批准号: 81270010、81570739)和江苏省六大人材高峰资助项目(批准号: 1190000020)资助的课题

*通讯作者。Tel/Fax: 025-83272012, E-mail: dr_liling@126.com

Received: November 8, 2016 Accepted: December 14, 2016

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.81270010, 81570739) and the Six Talent Peaks Project in Jiangsu Province (Grant No.1190000020)

*Corresponding author. Tel/Fax: +86-25-83272012, E-mail: dr_liling@126.com

网络出版时间: 2017-02-07 15:47:45 URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20170207.1547.008.html>

glucose (5 mmol/L), PSCs proliferation was significantly enhanced by high concentration glucose or insulin. The mRNA and protein levels of α -SMA, ColI, Fn and Gal-3 were also significantly increased by high concentration glucose, high concentration insulin and in particular the combination of both. High concentration glucose and insulin induced PSCs activation and increased PSCs proliferation, ECM production and Gal-3 expression, which may involve in development and progression of pancreatic fibrosis.

Keywords type 2 diabetes; pancreatic stellate cell; insulin receptor; insulin-like growth factor-1 receptor; galectin-3

2型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)是由遗传和环境因素共同作用而引起的一组以慢性高血糖为特征的代谢紊乱性疾病,其发病的两个因素是胰岛素抵抗和胰岛素分泌缺陷^[1]。目前,越来越多的证据显示,T2DM与胰腺癌的发生有关,T2DM作为一种危险因素参与了胰腺癌的发生、发展过程,但具体分子机制尚未阐明,可能与高血糖、高胰岛素血症、胰岛素样生长因子(insulin like growth factor, IGF)、免疫功能调节紊乱及氧化应激等有关^[2-3]。近年来,胰腺星状细胞(pancreatic stellate cells, PSCs)在T2DM和胰腺癌研究领域逐渐受到关注^[4-5]。PSCs活化是胰腺纤维化发生的始动和关键环节,在T2DM高糖高胰岛素环境下,PSCs可能参与了胰腺纤维化的发生。因此,本研究拟观察高糖、高胰岛素对PSCs的活化、增殖及细胞外基质(extracellular matrix, ECM)如I型胶原(type I collagen, ColI)、纤连蛋白(fibronectin, Fn)生成和半乳糖-3(galectin-3, Gal-3)表达的影响。

1 材料与方 法

1.1 材 料

清洁级C57BL/6小鼠由南京医科大学实验动物中心提供。DMEM和FBS购自Hyclone公司。链蛋白酶、胶原酶、DNase I和Nycodenz均购自Roche公司。Gibco胎牛血清和Trizol试剂盒购自南京凯基生物科技发展有限公司。胰岛素、 α -平滑肌肌动蛋白(α -smooth muscle actin, α -SMA)一抗、Fn一抗、Gal-3一抗和 β -actin一抗购均自Sigma公司,ColI一抗、兔二抗、鼠二抗均购自Millipore公司。胰岛素受体(insulin receptor, IR)一抗、胰岛素样生长因子-1型受体(insulin-like growth factor-1 receptor, IGF-1R)一抗、phospho-IGF-1R/IR一抗均购自Cell Signaling Technology公司。引物用Primer Premier 5.0软件设计,由生工生物工程(上海)股份有限公司设计合成。MTT试剂盒购自上海碧云天生物技术有限公司。

1.2 小鼠PSCs分离与培养

选用C57BL/6小鼠,体重25~30 g。经东南大学实验动物伦理委员会批准,在清洁级饲养环境中适应性饲养1周后处死。取胰腺组织,PBS洗3次,将胰腺剪碎成1~2 mm³的小块,用含0.02%链蛋白酶、0.05%胶原酶P、0.1% DNase I的GBSS消化液于37 °C水浴消化20 min,消化后细胞悬液100 μ m滤网过滤,DMEM培养基洗涤,细胞重悬于9.5 mL含5% FBS的GBSS中,与8 mL 28.7% Nycodenz溶液混匀。轻轻加入6 mL含5% FBS的GBSS制成Nycodenz梯度,4 °C,1 400 \times g离心20 min,在Nycodenz与GBSS液面间的白色絮状模糊带即为PSCs。吸取细胞并用DMEM培养基洗2次,用含20%胎牛血清的培养基重悬细胞。将细胞接种于培养瓶中,第2 d换含10% FBS的培养基,以后隔天换液。

1.3 免疫细胞化学染色

PSCs接种于盖玻片上,培养24 h。换无血清培养液,分别设对照组和100 nmol/L胰岛素干预组。干预30 min后,将细胞从孵育箱中取出,用PBS清洗3次。加4%多聚甲醛于4 °C固定过夜,0.3% Triton X-100作用8 min,加3% BSA于37 °C孵育1 h,加入兔抗IR β 抗体(1:100)和兔抗IGF-1R β 抗体(1:200),4 °C过夜,以PBS代替一抗作为阴性对照。荧光标记二抗于37 °C孵育1 h,之后37 °C核荧光染色30 min,甘油封片荧光显微镜下观察。

1.4 MTT法检测细胞增殖

取对数生长期的PSCs,用胰蛋白酶消化后,稀释成 5×10^3 /mL的细胞悬液,接种于96孔细胞板,置于37 °C、5% CO₂的培养箱中过夜。分别给予低糖(5 mmol/L)、高糖(25 mmol/L)、高胰岛素(5 mmol/L葡萄糖+100 nmol/L胰岛素)、高糖高胰岛素(25 mmol/L葡萄糖+100 nmol/L胰岛素)干预后,每孔加入20 μ L MTT溶液(5 mg/mL),72 h后终止培养,弃去培养基,每孔加入200 μ L DMSO,避光振荡30 min后于酶标

仪570 nm波长下测吸光度(D)值。每组做4个复孔, 取平均值。

1.5 实时定量PCR检测 α -SMA、 $ColI$ 、 Fn 和 $Gal-3$ 基因表达

PSCs接种于6孔板, 培养48 h后用无血清培养液同步化24 h, 分别给予高糖、高胰岛素干预。按照Trizol试剂说明书提取各组细胞的总RNA, 合成cDNA, 进行实时定量PCR。 α -SMA引物: 5'-GTT CAG TGG TGC CTC TGT CA-3', 反义引物: 5'-ACT GGG ACG ACA TGG AAA AG-3'; $ColI$ 引物: 5'-AAA GAA GGC GGC AAA GGT-3', 反义引物: 5'-ACG ATC ACC ACT CTT GCC A-3'; Fn 引物: 5'-TCC AGG AGT TCA CTG TGC C-3', 反义引物: 5'-CTG CAA GCC TTC AAT AGT CA-3'; $Gal-3$ 引物: 5'-CAG TGC TCC TGG AGG CTA TC-3', 反义引物: 5'-TTC ACT GTG CCC ATG ATT GT-3'。反应条件为: 95°C预变性5 min; 95°C变性30 s, 60°C退火20 s, 72°C延伸1 min, 40个循环。

1.6 Western blot检测IR、IGF-1R、 α -SMA、 Fn 和 $Gal-3$ 蛋白表达

PSCs接种于6孔板, 培养48 h后用无血清培养液同步化24 h。以终浓度为0、25、50、75、100 nmol/L的胰岛素干预PSCs, 并观察100 nmol/L的胰岛素干预在0、3、10、30、60 min时, IR、IGF-1R的磷酸化

情况; 以低糖、高糖、高胰岛素、高糖高胰岛素处理, 48 h后收集各组细胞总蛋白。BCA法测各组蛋白质总量。各取等量样品经10%聚丙烯酰胺凝胶电泳分离后电转移至PVDF膜上, 5%脱脂奶粉室温摇床上封闭2 h, 分别加入相应的一抗: 兔抗IR单克隆抗体、兔抗IGF-1R单克隆抗体、兔抗p-IGF-1R β /IR β 单克隆抗体、鼠抗 α -SMA单克隆抗体、兔抗 Fn 单克隆抗体和兔抗 $Gal-3$ 单克隆抗体, 4°C孵育过夜, TBST洗膜3次, 每次15 min, 加入辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔IgG, 37°C温箱孵育1 h, ECL化学发光显色, 凝胶成像系统分析。取各目的蛋白质与内参照吸光度的比值作为目的蛋白质的相对表达量。

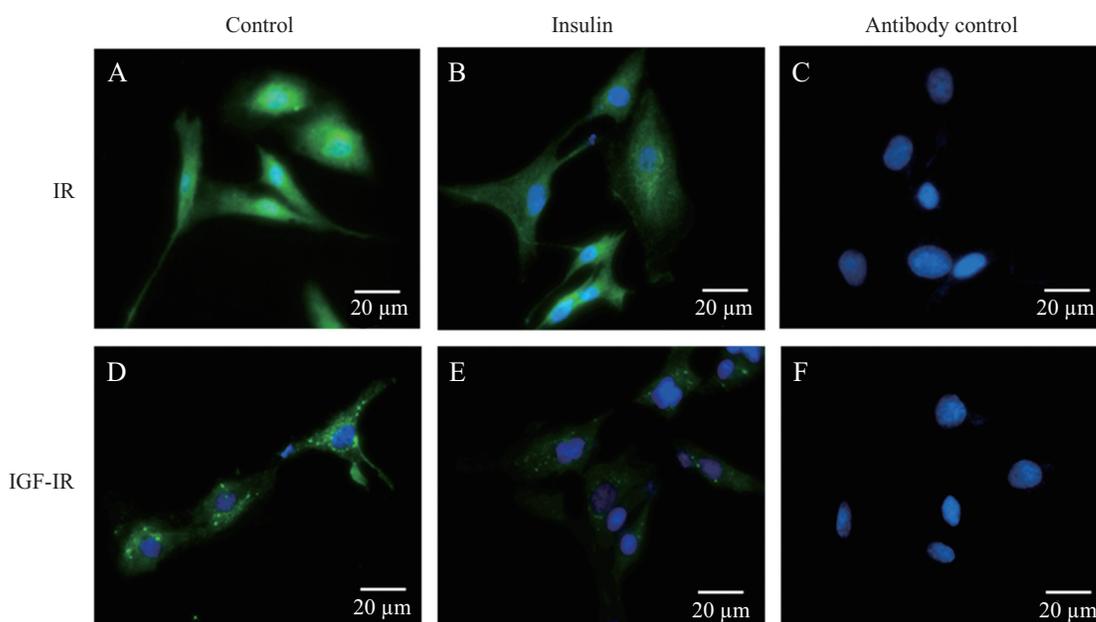
1.7 统计分析

实验重复3次, 应用SPSS 16.0统计软件进行分析, 计量资料以 $\text{mean} \pm \text{S.D.}$ 表示, 两组间比较采用 t 检验, 多组间比较采用单因素方差分析, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 PSCs中IR和IGF-1R的表达

细胞免疫荧光染色显示, PSCs有IR和IGF-1R表达(图1A和图1D); 用Image Pro Plus 6.0软件对受体的表达进行荧光强度分析。结果显示, 与空白对照组相比, 胰岛素降低IR和IGF-1R的表达(图1B和图



A、D: 空白对照组; B、E: 高胰岛素处理组; C、F: 仅加二抗的阴性对照。

A,D: control groups; B,E: high insulin groups; C,F: staining with secondary antibody only as negative controls.

图1 PSCs胰岛素受体和胰岛素样生长因子-1受体的表达

Fig.1 The expression of the insulin receptor and the insulin-like growth factor-1 receptor in PSCs

1E)($P<0.05$); 不加IR或IGF-1R抗体的阴性对照未见有IR和IGF-1R表达, 仅见细胞核对比染色(图1C和图1F)。

2.2 胰岛素诱导IR和IGF-1R酪氨酸磷酸化

Western blot结果显示, 胰岛素剂量依赖性地诱导IR和IGF-1R发生磷酸化。随着胰岛素干预浓度的增加, IR和IGF-1R表达逐渐降低, 而IR和IGF-1R磷酸化水平逐渐升高, 在胰岛素浓度为100 nmol/L时最显著(图2A)(为对照组的 7.40 ± 0.41 倍, $P<0.05$)。以100 nmol/L胰岛素对PSCs进行干预, 随着作用时间的延长, IR和IGF-1R表达逐渐降低; IR和IGF-1R磷酸化水平在3 min达到最高(为对照组的 7.45 ± 0.45 倍, $P<0.05$), 磷酸化持续至60 min(图2B)。

2.3 高糖和高胰岛素对PSCs增殖的影响

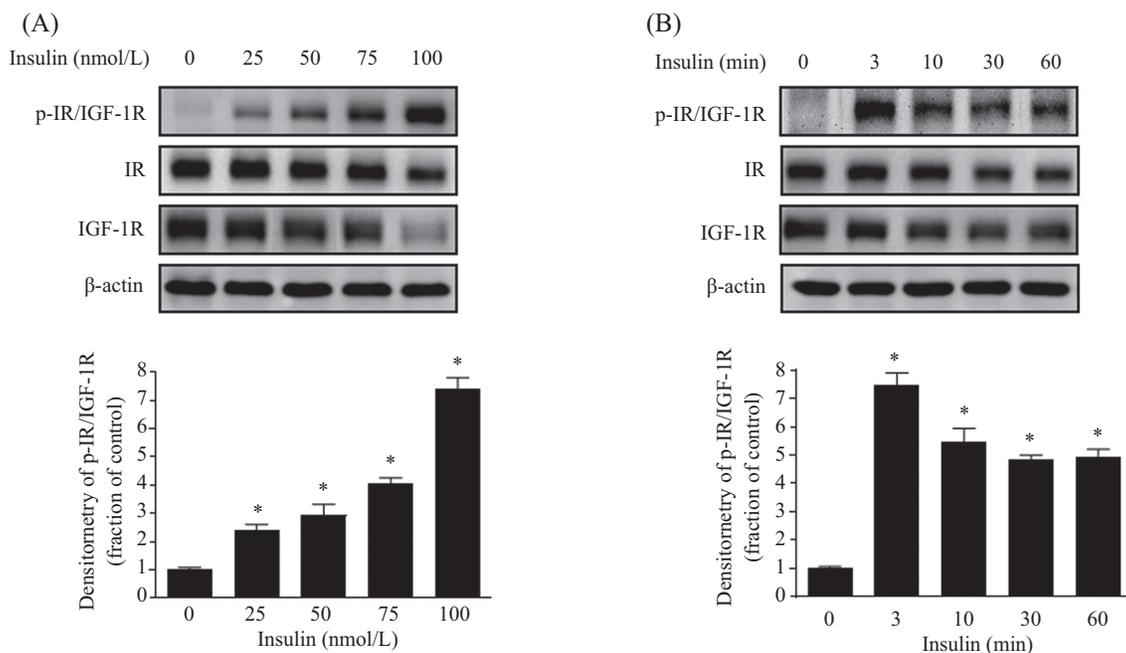
MTT法检测PSCs增殖结果显示, 4组间细胞增殖率差异有统计学意义($P<0.05$)。将低糖对照组的细胞增殖率设定为1, 高糖组、高胰岛素组和高糖高胰岛素组PSCs增殖率分别升高至 1.60 ± 0.04 、 1.69 ± 0.05 和 2.52 ± 0.04 , 差异有统计学意义($P<0.05$), 且高糖高胰岛素组细胞增殖率显著高于高糖组、高胰岛素组($P<0.05$)(图3)。

2.4 高糖和高胰岛素对PSCs活化的影响

PSCs活化的标志是表达 α -SMA蛋白。PCR结果显示, 4组间 α -SMA mRNA水平差异有统计学意义($P<0.05$)。与低糖对照组(设定为1)相比, 高糖组、高胰岛素组和高糖高胰岛素组PSCs的 α -SMA mRNA水平分别增加至 1.44 ± 0.07 、 1.62 ± 0.07 和 1.80 ± 0.06 , 差异有统计学意义($P<0.05$)(图4A), 3组间 α -SMA mRNA表达差异比较无统计学意义($P>0.05$)。Western blot结果显示, 4组间 α -SMA蛋白质水平差异有统计学意义($P<0.05$)。与低糖对照组(设定为1)相比, 高糖组、高胰岛素组和高糖高胰岛素组PSCs的 α -SMA蛋白质水平分别增加至 1.54 ± 0.04 、 1.61 ± 0.05 和 1.72 ± 0.08 , 差异有统计学意义($P<0.05$), 3组间 α -SMA蛋白质水平差异比较无统计学意义($P>0.05$)(图4B)。

2.5 高糖和高胰岛素对PSCs生成ECM的影响

PCR结果显示, 4组间*Coll*和*Fn* mRNA水平差异有统计学意义($P<0.05$)。与低糖对照组(设定为1)相比, 高糖组、高胰岛素组和高糖高胰岛素组*Coll* mRNA水平分别增加至 1.42 ± 0.06 、 1.57 ± 0.06 和 1.95 ± 0.05 , 差异有统计学意义($P<0.05$)(图5A); *Fn* mRNA水平分别增加至 1.56 ± 0.06 、 1.55 ± 0.04 和

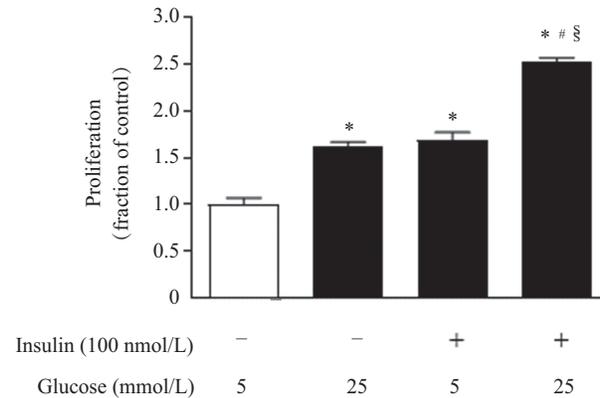


A: 不同浓度胰岛素处理PSCs后, Western blot检测PSCs IR和IGF-1R酪氨酸磷酸化情况; $*P<0.05$, 与对照组(0 nmol/L胰岛素)比较。B: 100 mmol/L胰岛素处理3、10、30、60 min后, Western blot检测PSCs IR和IGF-1R酪氨酸磷酸化情况; $*P<0.05$, 与对照组(0 min)比较。

A: tyrosine phosphorylated of IR and IGF-1R were determined by Western blot in PSCs after treated with different concentrations of insulin; $*P<0.05$ vs control group (0 nmol/L insulin). B: tyrosine phosphorylated of IR and IGF-1R were determined by Western blot in PSCs after 100 mmol/L insulin treated for 3, 10, 30, 60 min; $*P<0.05$ vs control group (0 min).

图2 胰岛素诱导IR和IGF-1R酪氨酸磷酸化

Fig.2 Insulin induced tyrosine phosphorylation of IR/IGF-1R

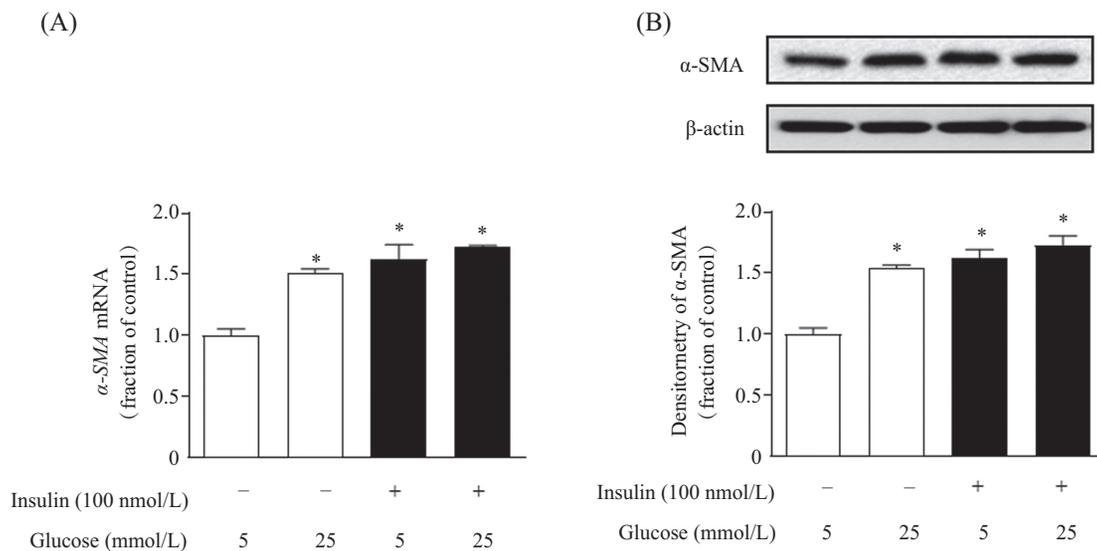


* $P < 0.05$, 与低糖对照组比较; # $P < 0.05$, 与高糖组比较; § $P < 0.05$, 与高胰岛素组比较。

* $P < 0.05$ vs low glucose control group; # $P < 0.05$ vs high glucose group; § $P < 0.05$ vs high insulin group.

图3 高糖和高胰岛素对PSCs增殖的影响

Fig.3 Effects of high glucose and high insulin on the proliferation of PSCs



A: PCR检测高糖和/或高胰岛素处理后PSCs α -SMA的mRNA表达变化; B: Western blot检测高糖和/或高胰岛素处理后PSCs α -SMA的蛋白表达情况。* $P < 0.05$, 与低糖对照组比较。

A: the expression of α -SMA were determined by PCR in PSCs after high glucose and/or insulin treated; B: the expression of α -SMA were determined by Western blot in PSCs after high glucose and/or insulin treated. * $P < 0.05$ vs low glucose control group.

图4 高糖和高胰岛素对PSCs活化的影响

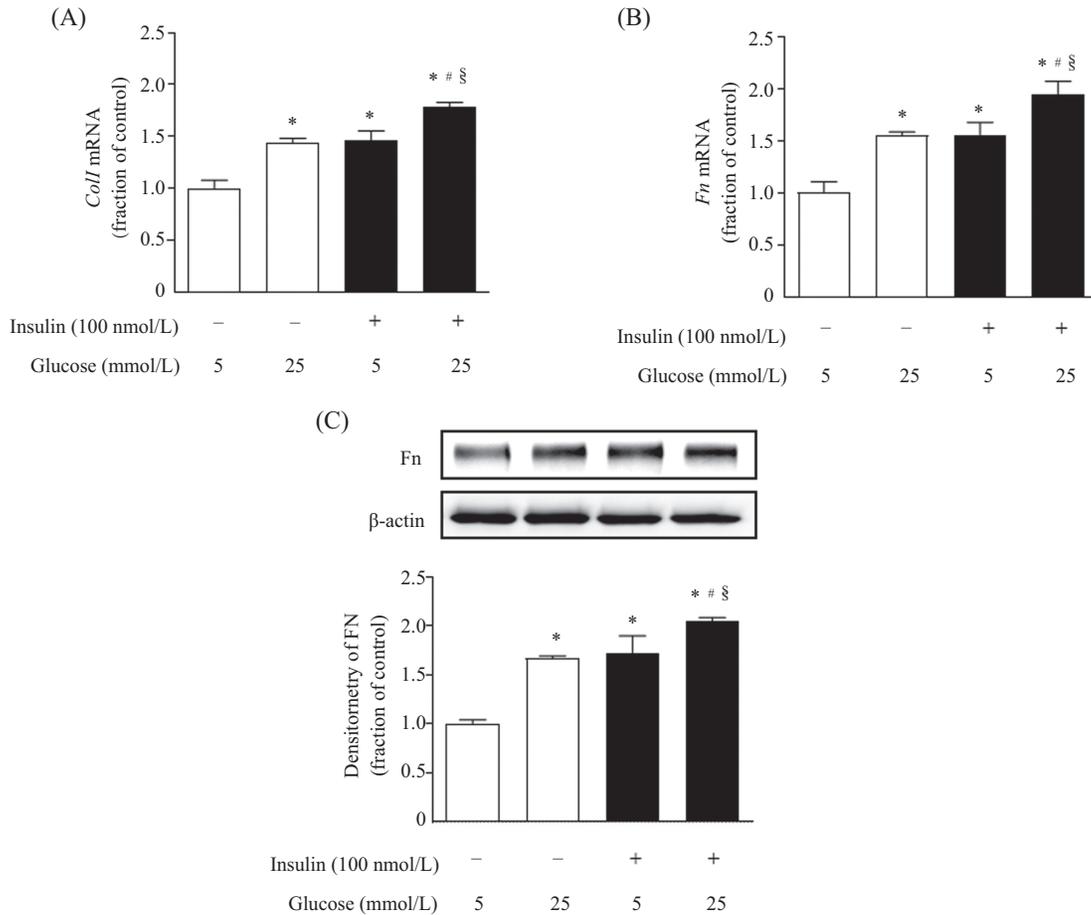
Fig.4 Effects of high glucose and high insulin on the activation of PSCs

1.94 \pm 0.10, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 且高糖高胰岛素组 *Coll*和*Fn* mRNA水平显著高于高糖组、高胰岛素组($P < 0.05$)(图5B)。

Western blot结果显示, 4组间Gal-3蛋白表达差异有统计学意义($P < 0.05$)。与低糖对照组(设定为1)相比, 高糖组、高胰岛素组和高糖高胰岛素组Fn蛋白表达分别增加至1.67 \pm 0.03、1.72 \pm 0.10和2.05 \pm 0.04, 差异具有统计学意义($P < 0.05$), 且高糖高胰岛素组Fn蛋白表达水平显著高于高糖组、高胰岛素组($P < 0.05$)(图5C)。

2.6 高糖和高胰岛素对PSCs中Gal-3 mRNA和蛋白质水平的影响

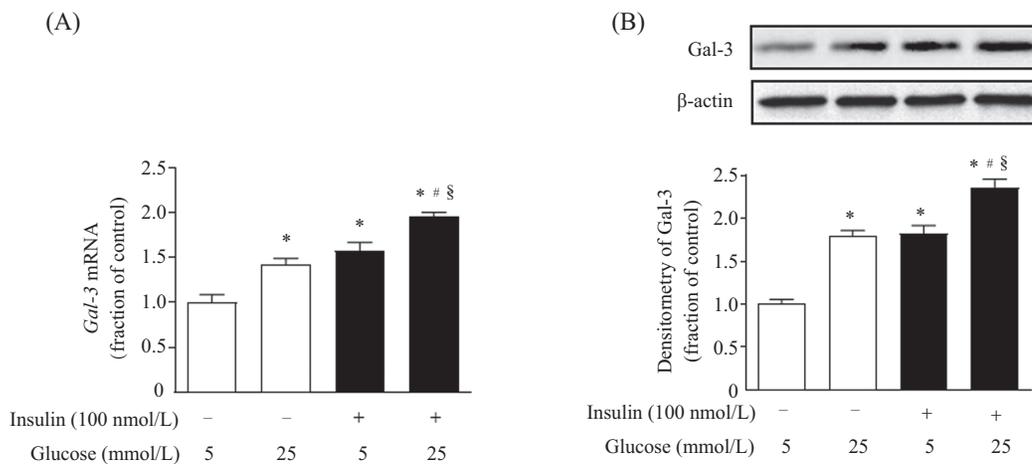
PCR结果显示, 4组间Gal-3 mRNA水平差异有统计学意义($P < 0.05$)。与低糖对照组(设定为1)相比, 高糖组、高胰岛素组和高糖高胰岛素组Gal-3水平分别增加至1.42 \pm 0.06、1.57 \pm 0.06和1.95 \pm 0.05, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 且高糖高胰岛素组Gal-3 mRNA水平显著高于高糖组、高胰岛素组($P < 0.05$)(图6A)。Western blot结果显示, 4组间Gal-3蛋白质水平差异有统计学意义($P < 0.05$)。与低糖对照组(设



A: PCR检测高糖和/或高胰岛素处理后PSCs *Col1* mRNA表达变化; B: PCR检测高糖和/或高胰岛素处理后PSCs *Fn* mRNA表达变化; C: Western blot检测高糖和/或高胰岛素处理后PSCs Fn的蛋白表达情况。* $P < 0.05$, 与低糖对照组比较; # $P < 0.05$, 与高糖组比较; § $P < 0.05$, 与高胰岛素组比较。
A: the expression of *Col1* were determined by PCR in PSCs after high glucose and/or insulin treated; B: the expression of *Fn* were determined by PCR in PSCs after high glucose and/or insulin treated; C: the expression of Fn were determined by Western blot in PSCs after high glucose and/or insulin treated. * $P < 0.05$ vs low glucose control group; # $P < 0.05$ vs high glucose group; § $P < 0.05$ vs high insulin group.

图5 高糖高胰岛素对细胞外基质生成的影响

Fig.5 Effects of high glucose and high insulin on extracellular matrix (ECM) production



A: PCR检测高糖和/或高胰岛素处理后PSCs *Gal-3* mRNA表达变化; B: Western blot检测高糖和/或高胰岛素处理后PSCs Gal-3的蛋白表达情况; * $P < 0.05$, 与低糖对照组比较。# $P < 0.05$, 与高糖组比较; § $P < 0.05$, 与高胰岛素组比较。

A: the expression of *Gal-3* were determined by PCR in PSCs after high glucose and/or insulin treated; B: the expression of Gal-3 were determined by Western blot in PSCs after high glucose and/or insulin treated. * $P < 0.05$ vs low glucose control group; # $P < 0.05$ vs high glucose group; § $P < 0.05$ vs high insulin group.

图6 高糖高胰岛素对Gal-3 mRNA和蛋白质水平的影响

Fig.6 Effects of high glucose and high insulin on the levels of Gal-3 mRNA and protein

定为1)相比, 高糖组、高胰岛素组和高糖高胰岛素组Gal-3蛋白质水平分别增加至 1.80 ± 0.06 、 1.83 ± 0.07 和 2.36 ± 0.10 , 差异有统计学意义($P<0.05$), 且高糖高胰岛素组Gal-3蛋白质水平显著高于高糖组、高胰岛素组($P<0.05$)(图6B)。

3 讨论

T2DM以胰岛素抵抗为主, 伴胰岛素分泌绝对或相对不足。流行病学证据支持T2DM是胰腺癌的风险因子, 慢性高血糖和高胰岛素血症是潜在的发病机制^[2,6-7]。高糖环境对胰腺是一种慢性刺激, 可能导致胰腺细胞功能障碍甚至癌变^[8]。胰岛素是一种生长调节因子, 能够促进胰腺多种细胞的增殖与分化^[8]。目前, 研究大多集中在高糖、高胰岛素血症对胰岛细胞及胰腺实质细胞的影响, 而对胰腺间质细胞PSCs的影响关注甚少。

PSCs位于胰腺小叶间和腺泡周围区, 围绕邻近腺细胞基底, 约占胰腺细胞数的4%。静止状态下PSCs以表达神经胶质原纤维酸性蛋白(glial fibrillary acidic protein, GFAP)、结蛋白(desmin)为特征性标志, 胰腺损伤后, 细胞因子、氧化应激、乙醇等及后续的炎症反应使PSCs从静息状态转化为活化状态, 以表达 α -SMA为标志^[9]。活化的PSCs增殖活跃, 趋化、集聚、合成和分泌大量ColII、ColIII及Fn等主要ECM成分, 而ECM的降解相对减少, 两者失去平衡, 致使过多ECM沉积, 从而导致胰腺纤维化的发生^[9]。活化的PSCs还可分泌包括半乳糖凝素(galectin, Gal)和白细胞介素等细胞因子, 与癌细胞相互作用, 构建适合胰腺癌细胞及PSCs生长的微环境^[10]。

正常生理条件下, 胰岛素和IR结合可调节细胞的生长与增殖^[11]。IR是受体酪氨酸激酶家族一员, IGF-1R与其具有高度的同源性, 均广泛分布于全身各组织细胞膜。胰岛素和IGF-1都可以与对方的受体相结合, 但较其与自身受体的结合要弱^[12]。高浓度的胰岛素与靶细胞表面的IR和IGF-1R结合, 受体活化后酪氨酸激酶发生磷酸化, 激活下游信号通路, 最终促进细胞有丝分裂, 抗细胞凋亡, 诱导细胞分化, 刺激胰腺细胞增殖^[13]。本研究结果首次发现, PSCs表达IR和IGF-1R, 胰岛素降低IR和IGF-1R的表达, 且随着胰岛素浓度和作用时间的增加, IR和IGF-1R水平逐渐下调。高浓度胰岛素导致细胞表面受体下调可能存在以下两方面的机制: 一方面高浓度

胰岛素加速了细胞表面受体的降解; 另一方面, 高浓度的胰岛素抑制了受体的合成。我们的研究同时也发现, 随着胰岛素浓度的增加, IR和IGF-1R磷酸化水平明显升高。胰岛素与IR和IGF-1R结合后酪氨酸激酶发生磷酸化, 可能进一步激活下游信号通路, 促进PSCs的活化增殖。

PSCs作为胰腺一种重要的间质细胞, 在致病因子的刺激下活化、增殖、合成并分泌大量ECM, 最终导致胰腺纤维化。Hong等^[14]报道, 高糖和高胰岛素可诱导大鼠PSCs中 α -SMA的表达, 促进PSCs活化。本研究结果进一步证实, 高糖和高胰岛素可分别诱导小鼠PSCs活化, 加速其增殖, 并促进ECM如ColII和Fn的合成, 高糖和高胰岛素两者联合作用更显著。由此推测, 在T2DM高糖、高胰岛素微环境下, PSCs活化、增殖和ECM生成, 导致过多ECM沉积, 从而促进胰腺纤维化。

半乳糖凝素家族是一类能结合含半乳糖成分的糖结合物的可溶性凝集素, Gal-3是Gal家族的一员, 其主要通过与相应配体相互作用发挥多种效应^[15]。其主要存在于多种细胞的细胞质、细胞核、细胞表面及ECM, 可与细胞内糖蛋白、细胞表面分子和ECM相互作用, 参与细胞黏附、增殖、活化、凋亡等, 调节ECM的生成。近年来, Gal-3在肿瘤的发生与发展过程中所起的作用正日益受到重视, Gal-3被发现于结肠癌、胃癌、黑色素瘤、头颈部鳞癌、卵巢癌、肺癌、淋巴瘤均高表达, 参与新生血管形成及肿瘤浸润与转移等^[16]。但迄今为止, Gal-3在PSCs表达的研究鲜有报道。本研究结果证实, PSCs表达Gal-3, 且在高浓度葡萄糖和胰岛素作用下, Gal-3表达水平显著上调。高表达的Gal-3可能促进PSCs活化、增殖, 调节ECM的生成^[17]。

在T2DM高糖、高胰岛素环境下, PSCs活化增殖及ECM过度合成分泌是胰腺纤维化发生的始动和关键环节, Gal-3的高表达可能进一步促进胰腺纤维化。探索T2DM胰腺纤维化的发病机制以及以PSCs为靶标的治疗措施可能从另一个角度促进胰腺组织修复, 阻断胰腺损伤后持续的纤维化发展。

参考文献 (References)

- 1 Vigneri P, Frasca F, Sciacca L, Pandini G, Vigneri R. Diabetes and cancer. *Endocr Relat Cancer* 2009; 16(4): 1103-23.
- 2 Rahman A. Type 2 diabetes and risk of pancreatic adenocarcinoma. *Lancet Oncol* 2014; 15(10): e420.

- 3 Lin CC, Chiang JH, Li CI, Hsieh TF, Liu CS, Lin WY, *et al.* Independent and joint effect of type 2 diabetes and gastric and hepatobiliary diseases on risk of pancreatic cancer risk: 10-year follow-up of population-based cohort. *Br J Cancer* 2014; 111(11): 2180-6.
- 4 Zechner D, Knapp N, Bobrowski A, Radecke T, Genz B, Vollmar B. Diabetes increases pancreatic fibrosis during chronic inflammation. *Exp Biol Med (Maywood)* 2014; 239(6): 670-6.
- 5 Kiss K, Baghy K, Spisák S, Szanyi S, Tulassay Z, Zalatnai A, *et al.* Chronic hyperglycemia induces trans-differentiation of human pancreatic stellate cells and enhances the malignant molecular communication with human pancreatic cancer cells. *PLoS One* 2015; 10(5): e0128059.
- 6 Chari ST, Leibson CL, Rabe KG, Timmons LJ, Ransom J, de Andrade M, *et al.* Pancreatic cancer-associated diabetes mellitus: Prevalence and temporal association with diagnosis of cancer. *Gastroenterology* 2008; 134(1): 95-101.
- 7 Godsland IF. Insulin resistance and hyperinsulinaemia in the development and progression of cancer. *Clin Sci (Lond)* 2009; 118(5): 315-32.
- 8 李晓岚, 陈卫昌. 糖尿病与胰腺癌发生发展的关系. 医学综述 (Li Xiaolan, Chen Weichang. Diabetes and the development of pancreatic cancer. *Medical Recapitulate*) 2011; 11(17): 1652-54.
- 9 Erkan M, Adler G, Apte MV, Bachem MG, Buchholz M, Detlefsen S, *et al.* StellaTUM: Current consensus and discussion on pancreatic stellate cell research. *Gut* 2012; 61(2): 172-8.
- 10 Pothula SP, Xu Z, Goldstein D, Pirola RC, Wilson JS, Apte MV. Key role of pancreatic stellate cells in pancreatic cancer. *Cancer Lett* 2016; 381(1): 194-200.
- 11 King SM, Modi DA, Eddie SL, Burdette JE. Insulin and insulin-like growth factor signaling increases proliferation and hyperplasia of the ovarian surface epithelium and decreases follicular integrity through upregulation of the PI3-kinase pathway. *J Ovarian Res* 2013; 6(1): 12.
- 12 Werner H, Weinstein D, Bentov I. Similarities and differences between insulin and IGF-I: Structures, receptors, and signalling pathways. *Arch Physiol Biochem* 2008; 114(1): 17-22.
- 13 Gallagher EJ, LeRoith D. The proliferating role of insulin and insulin-like growth factors in cancer. *Trends Endocrinol Metab* 2010; 21(10): 610-8.
- 14 Hong OK, Lee SH, Rhee M, Ko SH, Cho JH, Choi YH, *et al.* Hyperglycemia and hyperinsulinemia have additive effects on activation and proliferation of pancreatic stellate cells: Possible explanation of islet-specific fibrosis in type 2 diabetes mellitus. *J Cell Biochem* 2007; 101(3): 665-75.
- 15 Jiang K, Lawson D, Cohen C, Siddiqui MT. Galectin-3 and PTEN expression in pancreatic ductal adenocarcinoma, pancreatic neuroendocrine neoplasms and gastrointestinal tumors on fine-needle aspiration cytology. *Acta Cytol* 2014; 58(3): 281-7.
- 16 Xie L, Ni WK, Chen XD, Xiao MB, Chen BY, He S, *et al.* The expressions and clinical significances of tissue and serum galectin-3 in pancreatic carcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol* 2012; 138(6): 1035-43.
- 17 Dunér S, Lopatko Lindman J, Ansari D, Gundewar C, Andersson R. Pancreatic cancer: the role of pancreatic stellate cells in tumor progression. *Pancreatology* 2010; 10(6): 673-81.