

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2016.04.031

View this article at: <http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2016.04.031>

糖尿病细胞模型及研究进展

陈晶¹ 综述 李璟² 审校

(1. 南华大学附属省马王堆医院, 长沙 410016; 2. 湖南省老年医院研究所, 长沙 410016)

[摘要] 本文从胰岛素抵抗和胰岛素分泌不足两个方面对不同细胞糖尿病模型的建立进行总结, 并简述其优缺点, 以期为研究者选择合适的体外糖尿病细胞模型提供参考。

[关键词] 胰岛素抵抗; 胰岛素分泌不足; 糖尿病细胞模型

Advances in establishment of cell culture models of diabetes mellitus

CHEN Jing¹, LI Jing²

(1. Hunan Mawangdui Hospital Affiliated to University of South China, Changsha 410016; 2. Hunan Geriatric Hospital, Changsha 410016, China)

Abstract Different types of cell culture models of diabetes mellitus based on insulin resistance and insufficient insulin secretion were summarized. Meanwhile, all the advantages and disadvantages were briefed. So as to provide reference on choosing appropriate cell culture models of diabetes mellitus in vitro.

Keywords insufficient insulin secretion; insulin resistance (IR); cell culture models of diabetes mellitus

目前国内外关于降糖药物的筛选以及药物降糖的作用机制研究中, 仍以动物为主要模型, 但其存在实验周期长、实验繁琐复杂、费用高等问题; 近几年, 体外糖尿病细胞模型的建立逐渐发展起来, 同前者相比较, 能去除某些自然条件下不可能或不易排除的因素, 更简便、节约、快速、客观地观察实验结果。也因此, 细胞模型更多应用于高通量药物及药物毒性筛选、药物代谢分析、中药分子药理学研究及药效学评价、细胞功能、受体及细胞因子之间的相互作用等研究领域。糖尿病是一组以高血糖为特征的代谢性疾病, 而胰岛素抵抗(insulin resistance, IR)和胰岛素分泌不足是糖尿病的重要病理生理基础和显著特

征。本文将就这两方面对糖尿病细胞模型的建立进行综述(表1)。

1 胰岛素抵抗的细胞模型建立

胰岛素抵抗是指机体靶器官对胰岛素的敏感性降低, 导致胰岛素相对分泌不足、对糖代谢作用紊乱的病理生理过程, 是糖尿病发病机制之一。机体内对胰岛素敏感的主要作用部位是肝脏和外周组织(脂肪、肌肉), 当二者失衡时, 在整体水平上, 相应的一个或多个部位会表现出一系列的病症; 在细胞水平上, 则表现为细胞表面胰岛素受体数目减少和/或受体后缺陷。目前, 实验室

收稿日期 (Date of reception): 2016-02-06

通信作者 (Corresponding author): 陈晶, Email: 64379257@qq.com

表 1 糖尿病细胞模型常用的细胞类型分类

Table 1 Different cell models of diabetes mellitus from various species

模型分类	来源	代表种类	应用领域	优势	不足
胰岛素抵抗模型	肝脏细胞	动物原代肝细胞	可用于发病机制、酶诱导、抑制研究、药物降糖机制、药物筛选等	便于人为控制培养条件；排除种间及个体间代谢差异；同时获得大量均质性样本；功能和细胞分化状态基本保留	培养条件较苛刻，且随着时间的延长，细胞活力、结构形态及功能发生变化，基因表达异常
		HepG2		既保留了大部分肝细胞生物学特性和代谢特点，又便于体外培养，并且操作简单方便、可重复	在肝细胞的特异性功能上具有局限性，且表现程度不一，并带有致癌风险。另外，恶性肿瘤本身可能产生 IR 作用
		LO2		与人肝细胞具有基本相同的结构和功能，既具有持久增殖能力，又无成瘤性	正常人肝细胞的来源牵涉到伦理问题，需谨慎
	脂肪细胞	人、动物脂肪原代细胞		与人、动物脂肪细胞	需从脂肪组织中分离，而分离出来的脂肪细胞难以维持，无法进行时间较长的实验研究
		3T3-L1		获取技术比较成熟，周期短、重复性好；模型建立相对稳定	用于分化的前体细胞通常需要在 15 代以内。传代后生物学特性有一定变化
	肌细胞	人、鼠原代肌肉		培养简便、经济，可以更好的模拟体内环境	获取操作繁琐，不可传代，容易被成纤维细胞污染，且分化时间长，产量低
胰岛细胞模型	原代胰岛细胞	人、动物原代胰岛细胞	药物对胰岛细胞的毒性作用及胰岛细胞功能的研究	离体时间短，其特性同体内生理状态相似	分离过程严格，胰腺来源较少，细胞产量低，存在被成纤维细胞污染的风险
		胰岛细胞系	RIN 系 (RINm5F、Ins-1)	β 细胞生长、存活因子、细胞毒性及细胞功能的研究	表型较稳定，获得的细胞纯度高、可重复
		HIT 系 (HIT-T15)	分泌系统的生物化学研究	保留了正常胰岛素分泌的本质，且对葡萄糖及其他促分泌物的反应阈值较低	在培养过程中对葡萄糖及其他促分泌物的反应逐渐丧失
		MIN 系 (MIN6)	β 细胞内胰岛素分泌的机理及基因水平调控的深入研究。	GSIS 以及反应曲线均类似于正常胰岛细胞	同 HIT 系
		NIT 系 (NIT-1)	β 细胞免疫功能研究	分泌胰岛素功能稳定	细胞表面表达大 T 抗原，且存在亲嗜性逆转录病毒，且对糖刺激反应不敏感
		β TC 系	JNK 信号通路、细胞功能、药效评价等	维持分化约 50 代，有效的分泌胰岛素	同 HIT 系
		β HC 系	GSIS 机制、1 型糖尿病自身免疫抗体和 β 细胞自身免疫损伤的研究	早期保留了正常的 GSIS 能力及完整的葡萄糖信号转导途径	同 HIT 系，且后期己糖激酶的含量会增加
		β TC-tet 系	同 β HC 系	保持正常的 GSIS 反应超过 60 代	同 HIT 系

评价胰岛素抵抗主要是通过对细胞膜表面胰岛素受体数目、亲和力、结合率等进行测定的。如受体放射分析法测定高、低亲和力膜胰岛素受体数目和亲和力常数; Nishimura方法测定胰岛素受体结合率等。近20年来, 国内外学者已经建立了数种较为成熟的体外IR模型, 已用于体外筛选药物和营养物质及对其分子机制的研究, 并且获得许多研究成果。

1.1 肝脏细胞胰岛素抵抗模型

肝脏是体内物质代谢的中心, 也是胰岛素受体最密集的脏器之一, 对胰岛素非常敏感。由于肝脏细胞数量较多、再生能力强、易获取, 因此, 被广泛运用于IR模型的建立。目前使用的肝细胞模型大多来源于动物原代肝细胞、人肝癌细胞(HepG2)和人肝细胞模型(LO2)。

1.1.1 原代大鼠肝细胞模型

原代肝细胞具有肝脏的所有特异性功能, 因此能精确模仿体内代谢情况, 并且具有以下优点: 1)便于人为控制培养条件; 2)排除种间及个体间代谢差异; 3)同时获得大量均质性样本; 4)功能和细胞分化状态基本上保留。可用于酶诱导、抑制研究, 药物筛选等^[1]。但原代细胞在每次实验之前均需从肝组织中分离出来, 培养条件较苛刻, 且随着时间的延长, 细胞活力、结构形态及功能发生变化, 基因表达异常。因此, 严格的肝组织分离、合适的细胞培养方法及适宜的细胞外基质是成功建立体外原代肝细胞模型的基础。

肝细胞的分离方法主要包括非灌注法和灌注法。前者具有操作简单、时间短, 不需要复杂的仪器等优点, 但是获取率和成活率都比较低。后者目前应用最为广泛的是原位胶原酶灌注法(Seglen两步灌注法), 此法所获取的细胞纯度和成活率高, 还能分离肝实质细胞和肝非实质细胞, 但操作流程较复杂、所需时间长、易污染、成本高。因此, 有研究者^[2]采用多点穿刺灌注消化分离人肝脏组织, 综合了前两者的优点。随着对细胞生物学和细胞-基质相互作用的深入理解, 目前国内外采用了模拟生物的三维培养和共培养的方式对肝细胞进行培养, 关于三维培养及共培养可见下文。

有研究者^[3]将大鼠原代肝细胞置于含胰岛素的培养液中培养, 观察其胰岛素抵抗作用; 另有报道^[4]采用不同浓度脂联素处理大鼠肝脏细胞, 从能量代谢角度去探讨胰岛素抵抗的作用机制; 也有人^[5]采用高浓度葡萄糖刺激大鼠原代肝细胞, 观察细胞凋亡情况。

1.1.2 HepG2 细胞模型

HepG2细胞来源于人肝胚胎瘤细胞, 与肝细胞表型极为相似, 既保留了大部分肝细胞生物学特性和代谢特点, 又便于体外培养, 并且操作简单方便、可重复; 但它在肝细胞的特异性功能上具有局限性, 且表现程度不一, 并带有致癌风险。另外, 恶性肿瘤本身可能产生IR作用。有研究者^[6]利用高浓度游离脂肪酸(free fatty acid, FFA)作用HepG2细胞, 结果细胞产生了IR, 可能是因为胰岛素信号分子发生泛素化后, 引起相关蛋白酶体的降解所导致。另外, 也有研究^[7]发现HepG2细胞株在高糖情况下胰岛素受体数目减少、功能有缺陷。谢洁等^[8]采用含1 $\mu\text{mol/L}$ 浓度的地塞米松持续作用于HepG2细胞48 h, 细胞产生了IR。

1.1.3 人肝细胞模型

LO2细胞是人正常肝细胞株, 基本保留了人肝细胞的结构和功能, 既具有持久的增殖能力, 又无成瘤性, 因此, 从理论上来说, 适用范围比肝肿瘤细胞模型更广。近年来, 有人^[9]将LO2人肝细胞与多孔壳聚糖微载体共培养, 结果获得的肝细胞具有高密度与高活力。但正常人肝细胞的来源牵涉到伦理问题, 需谨慎。

1.2 脂肪细胞胰岛素抵抗细胞模型

脂肪组织是机体主要能量储存器官, 且具有内分泌功能。现在许多研究认为脂肪组织尤其是内脏脂肪是IR产生的始发部位。因此建立成功的脂肪细胞体外模型对于研究IR产生的发病机制具有重要意义。国内外建立胰岛素抵抗模型的脂肪细胞包括人和动物脂肪原代细胞、分化成熟的小鼠前脂肪细胞(3T3-L1)。但两者均需用胶原酶将脂肪细胞从脂肪组织中分离出来, 而分离出来的脂肪细胞难以维持, 无法进行时间较长的实验研究。目前应用较多的脂肪细胞模型是3T3-L1前脂肪细胞, 技术成熟、周期短、重复性好, 模型建立相对稳定; 但应注意的是, 用于分化的前体细胞通常需要在15代以内, 且传代后生物学特性有一定变化。

3T3-L1前脂肪细胞模型3T3-L1前脂肪细胞是一种从Swiss3T3-L1小鼠(17~19 d)胚胎的中胚层多能干细胞中分离克隆获得的细胞株, 具有分化为成熟脂肪细胞表型的潜力。目前国内外比较公认的诱导方法为IBMX+DEX+INSULIN诱导前脂肪细胞变为脂肪细胞。有学者^[10]利用高糖+胰岛素刺激成熟3T3-L1脂肪细胞, 发现细胞对胰岛素的敏感性减弱, 发生了IR。也有人^[8]将1 $\mu\text{mol/L}$ 地塞米松作用

于3T3-L1脂肪细胞, 建立胰岛素抵抗模型。也有研究^[11]将3T3-L1脂肪细胞经FFA体外作用后, 发现IRS-1和GLUT-4水平下调, 表明细胞产生了IR。

1.3 肌细胞胰岛素抵抗细胞模型

骨骼肌是体内耗能最主要的器官, 经胰岛素刺激后的葡萄糖转运总量占机体总量的75%。目前国内建立的肌细胞模型主要包括人、鼠原代肌肉细胞系及鼠成肌细胞系。原代成肌细胞是分化成熟的骨骼肌细胞, 不可传代, 但培养简便, 因此可以更好的模拟体内环境; 但其容易被成纤维细胞污染, 且所需分化时间长, 产量低。有报道是关于原代骨骼肌细胞^[12]和C2C12骨骼肌细胞^[13]建立IR模型的。前者采用棕榈酸诱导新生SD大鼠四肢原代骨骼肌细胞, 发现骨骼肌细胞产生了浓度依赖性IR。后者同样以棕榈酸处理细胞, 结果细胞发生了IR, 考虑与内质网应激有关。

L6成肌细胞模型是目前比较常用的骨骼肌IR模型。国内有人^[8]采用地塞米松诱导L6肌细胞成功建立胰岛素抵抗模型, 另外还发现地塞米松作用24 h后将引起胰岛素受体底物的Ser307蛋白磷酸化。也有人通过胰岛素^[14]和棕榈酸^[15]诱导建立成熟L6细胞株胰岛素抵抗模型。

2 胰岛细胞的模型建立

胰岛内具有分泌功能的细胞共4种, 分别是 β 细胞、 α 细胞、 δ 细胞及PP细胞。其中 β 细胞约占60%~70%, 主要分泌胰岛素。而由于各种原因所引起的胰岛 β 细胞受损均可导致胰岛素分泌不足, 是引起糖尿病的另一发病机制。因此, 建立体外胰岛细胞受损模型对于研究糖尿病具体发病机制是必需的。目前最常用的有人和鼠原代细胞、胰岛 β 细胞瘤克隆产生的胰岛细胞系及转基因鼠胰岛细胞系。

2.1 原代胰岛细胞模型

原代培养的胰岛细胞离体时间短, 其特性同体内生理状态相似, 因此适用于研究药物对胰岛细胞功能及毒性的作用。目前, 主要通过胶原酶分级消化鼠胰腺获取胰岛细胞, 单层培养法进行培养。该方法操作简便、易行, 且费用较少; 但分离过程中需严格控制消化时间、温度及酸碱度, 且胰腺来源较少, 细胞产量低, 同时存在被成纤维细胞污染的风险。国外学者^[16]采用软脂酸作用胰岛 β 细胞, 结果胰岛细胞凋亡增加, 从而导致胰岛素分泌下降。国内有研究者^[17]取出生3 d经

胶原酶处理过的SD乳鼠胰岛细胞, 将其置于含四氧嘧啶(AXN)的培养液中, 结果细胞凋亡数目增加, 细胞活性被抑制, 胰岛素分泌量明显下降。

2.2 胰岛细胞系

随着基因工程技术的发展, 国内外已经建立了多种胰岛 β 细胞系, 保持了很多正常胰岛的关键功能。目前所有已建立的 β 细胞系都来源于致命性放射线的照射或某种致癌基因表达的动物胰岛素瘤, 前者主要包括大鼠RIN系(RIN-m5F, INS-1)、仓鼠HIT细胞系(HIT-T15)、MIN细胞系(MIN6), 后者主要有NIT-1细胞系、 β TC细胞系、 β HC细胞系、 β TC-tet细胞系。获得的细胞系纯度高、可重复, 但部分细胞系弱化了对各种外来刺激反应, 导致胰岛素含量和葡萄糖刺激的胰岛素分泌(GSIS)减少, 不能如实地反应正常胰岛细胞功能。

2.2.1 RIN 细胞系

大鼠胰岛素瘤(RIN)细胞系源于可移植的胰岛细胞瘤, 但其仍有一定的致瘤性, 常用的有RIN-m5F和INS-1。RIN-m5F是RIN-m的亚克隆, 可分泌较高的胰岛素, 因此常被用于进一步的研究, 如P53磷酸化、泛素化, 信号通路P38 MAPK途径等; 但其同时还分泌生长抑素和胰高血糖素。安丽萍等^[18]利用浓度为250及500 μ g/L的软脂酸建立了RIN-m5F损伤模型, 并认为是氧化应激所导致。另有国外学者^[19]利用30 mmol/L葡萄糖培养48 h成功建立细胞损伤模型。INS-1是在最初的RIN系的基础上经2巯基乙醇培养生成肿瘤物质而建立, 其表型较稳定, 不分泌胰高血糖素、生长激素及胰多肽, 且对葡萄糖刺激和氧化应激损伤高度敏感, 因此是研究氧自由基介导、 β 细胞生长、存活因子、细胞毒性及细胞功能的理想模型。丁静云等^[20]将INS-1E细胞置于高糖培养基中培养, 结果细胞胰岛素mRNA合成及GSIS均显著降低, 且细胞的形态无明显改变。也有研究^[21]予以12 mmol/L AXN诱导后, 损伤的胰岛细胞IC₅₀约为正常对照组的50%, 可建立稳定的胰岛细胞损伤模型。

2.2.2 HIT 细胞系

HIT细胞是由分离的叙利亚地鼠胰岛细胞感染SV40病毒得到的, 而HIT-T15系是通过挑选母系中胰岛素含量高的亚系获得的, 保留了正常胰岛素分泌的本质, 且对葡萄糖及其他促分泌物的反应阈值较低, 是进一步研究分泌系统生物化学的重要工具。但它同时分泌胰升糖素, 且在培养过程中对葡萄糖及其他促分泌物的反应逐渐丧失。田

慧^[22]采用不同浓度环孢霉素体外培养离体大鼠HIT细胞, 结果发现0.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 环孢霉素即对胰岛素分泌有抑制作用, 此模型能保持稳定16 h。也有实验研究利用棕榈酸成功建立HIT-T5细胞损伤模型, 具体可参考文献^[23]。

2.2.3 MIN 细胞系

MIN是应用现代基因工程技术从转基因小鼠胰腺发生的胰岛细胞瘤中建立的胰岛 β 细胞株。研究^[24]表明, 胰岛 β 细胞株MIN6在高糖刺激下胰岛素分泌增加明显, 且分泌量以及反应曲线均类似于正常胰岛细胞, 也因此可以用于糖刺激 β 细胞内胰岛素分泌的机理以及基因水平调控的深入研究。但其需要15% FBS培养, 且在培养过程中会逐渐丧失反应强度和葡萄糖反应阈值。有实验研究^[25]采用地塞米松刺激小鼠MIN6细胞48 h后可诱导 β 细胞凋亡, 当浓度为800 nmol/L时细胞由凋亡转向坏死。也有通过棕榈酸来建立MIN6细胞损伤模型的, 具体参考文献^[26]。

2.2.4 NIT 细胞系

NIT是NOD/Lt小鼠胰岛素启动子控制下的SV40 T抗原基因而自发产生的 β 细胞腺瘤。NIT-1是其一种胰岛 β 细胞株, 供 β 细胞免疫功能研究的细胞系, 培养18代后分泌胰岛素功能稳定, 但仍少部分细胞可分泌少量的胰高血糖素。由于其不仅表达大T抗原, 且细胞表面存在亲嗜性逆转录病毒, 因而在免疫学研究中受到一定的限制。李莹芳等^[27]将NIT-1置于不同葡萄糖浓度中培养72 h, 结果当浓度为27.6 mmol/L时, 细胞凋亡率达到最高, 并认为与Irs2 mRNA表达下调、FOXO1 mRNA表达增加有关。另有研究^[28]利用0.5 mmol/L棕榈酸诱导NIT-1凋亡, 考虑与体内ROS含量升高有关。

2.2.5 β TC 细胞系

β TC来源于大鼠胰岛素启动因子控制下表达SV40 T抗原转基因小鼠的胰岛素瘤细胞。维持分化约50代, 有效的分泌胰岛素。其中 β TC7的胰岛素含量较高, 早期的GSIS对葡萄糖剂量依赖性与正常胰岛相似。但是随着培养时间延长, 剂量效应曲线左移, 与葡萄糖磷酸化酶、己糖激酶的表达升高一致。郑少娟^[29]采用不同浓度抵抗素诱导 β TC细胞24 h, 发现当浓度为60~200 ng/mL时细胞凋亡明显; 另有研究利用游离脂肪酸诱导细胞损伤, 具体参考文献^[30]。

2.2.6 β HC 细胞系

β HC来自SV40大T抗原转基因小鼠10周龄时增生的胰岛, 保留了正常的GSIS能力及完整的葡萄糖信号转导途径, 是研究 β 细胞GSIS机制的理

想细胞类型。但在体外培养过程中, GSIS逐渐衰减, 且40代以后反应性完全丧失。 β HC细胞表达两种类型的GAD, GAD水平接近正常胰岛细胞, 因而更适合用于1型糖尿病自身免疫抗体和 β 细胞自身免疫损伤的研究。

2.2.7 β TC-tet 细胞系

β TC-tet细胞系来源于四环素基因调控系统控制下表达SV40 T抗原的转基因小鼠, 保持正常的GSIS反应超过60代。但是随培养时间的延长, 己糖激酶活性逐渐增加, 然而这种改变在加入四环素后可逆转。国内外相关文献较少。

2.3 永生化胰岛 β 细胞系

由于上述原代细胞及胰岛细胞系存在的各种不足和应用局限性, 因此研究者通过基因技术对细胞进行永生化和可逆性永生化的改造, 来建立理想的细胞模型。使获得的细胞既有限增殖潜能, 又保持正常胰岛 β 细胞重要功能特征。也因此可用于研究胰岛素分泌机制、糖尿病药物筛选、糖尿病病因学和胰岛移植。目前功能良好、状态稳定的有两种, 分别是NAKT-15和BRIN-BD11。前者是利用含有SV40 Tag和hTERT cDNAs重组逆转录病毒载体转染人胰岛 β 细胞, 成功建立了人胰岛 β 细胞系, 但对于胰岛细胞的需求量较大, 且操作复杂、耗时长、成本高, 另外其功能和致癌性有待进一步研究。后者是通过电融合法将NEDH大鼠胰岛 β 细胞和RIN-m5F细胞进行杂交融合而建立的功能最好的细胞系, 可持续稳定传代超过50代, 胰岛素分泌能力及GSIS均较RIN-m5F细胞明显增强, 并高水平表达GLUT-2, 与大鼠正常胰岛 β 细胞极其相似, 是研究胰岛素分泌的良好模型。动物体内实验结果证实BRIN-BD11能有效控制血糖。但是该系分泌的胰岛素量较正常值少, 胞内胰岛素含量却无明显差异, 考虑可能是胞内胰岛素颗粒转运和释放存在缺陷所致, 除此之外, 仍有潜在的致癌性。

3 三维细胞培养

三维细胞培养(three-dimensional cell culture, TDCC)是指在体外将细胞与具有三维结构的材料共同培养, 构成三维的细胞-载体复合物, 使细胞能够呈空间立体方式迁移、生长, 以期更好的模拟体内生长模式。目前培养系统较为完善的是动力性三维细胞培养, 既能够保留体内细胞微环境的物质结构基础和功能, 又能体现细胞培养的直

观性及条件的可控性。主要应用于组织形成、血管生长、器官再生移植、肿瘤生物学、筛选新药的疗效分析和毒理实验等研究领域。陈旭春等^[31]采用动力性三维培养方法对大鼠胰腺导管来源干细胞(PDSC)进行培养,发现细胞产量高、贴壁好、细胞生物活性好。黄仁平等^[32]将3D肽纳米纤维水凝胶支架与胰岛细胞共同培养,结果细胞形态、活性及分泌功能均良好,延长了细胞在体外的生存时间。朱沙俊等^[33]将小鼠MIN6细胞与全肝脏脱细胞支架来重建胰岛素分泌器官,为体外生物器官支架构建提供了进一步的理论依据。

4 共培养

共培养是将2种或2种以上的细胞共同培养,诱导细胞自身分化或向另一种细胞分化,维持细胞活力和功能,调控细胞增殖,促进早期胚胎的发育及提高代谢产物的产量等。不仅可以直观的观察细胞之间复杂的相互反应,还可以准确的反映整体情况。主要用于药物研发、生物制药等研究。宋焕瑾等^[34]通过体外共培养胰岛和血管内皮细胞,发现胰岛细胞的活性及胰岛素释放实验得以改善,为临床大量开展胰岛移植术的可行性提供了依据。另有研究者分别以骨髓间充质干细胞^[35]及肌源性干细胞^[36]同胰岛细胞共培养,具体参考文献。

5 结语

综上所述,目前国内外建立的体外糖尿病细胞模型通过高胰岛素、高糖、高游离脂肪酸、STZ、地塞米松、AXN等因素从氧化应激、甲基化损伤等方面来诱导细胞损伤及胰岛素抵抗,三维培养和共培养方法为体外细胞模拟真实的机体环境。然而,在相同的诱导因素下不同类型的细胞发生IR及胰岛细胞受损的程度及机理也不尽相同,因此,对于有关糖尿病发病机制的结论也就有所争议。所以,建立不同类型的糖尿病细胞模型就十分必要。这为研究糖尿病具体发病机制、药物预防或延缓糖尿病及其并发症的筛选奠定一定的细胞基础。

参考文献

1. Damania A, Jain E, Kumar A. Advancements in in vitro hepatic models: application for drug screening and therapeutics[J]. *Hepatology International*, 2014, 8(1): 23-38.

2. 吴青松,李治国,刘广波,等.一种简易的人原代肝细胞分离培养方法[J]. *中国组织工程研究*, 2012, 16(18): 3301-3304.
WU Qingsong, LI Zhiguo, LIU Guangbo, et al. A simple method for human primary hepatocytes separation[J]. *Chinese Journal of Tissue Engineering Research*, 2012, 16(18): 3301-3304.
3. Sommerfeld A, Reinehr R, Häussinger D. Free fatty acids shift insulin-induced hepatocyte proliferation towards CD95-dependent apoptosis[J]. *J Biol Chem*, 2015, 290(7): 4398-4409.
4. Wanninger J, Neumeier M, Weigert J, et al. Adiponectin-stimulated CXCL8 release in primary human hepatocytes is regulated by ERK1/ERK2, p38 MAPK, NF- κ B, and STAT3 signaling pathways[J]. *Physiol*, 2012, 302(3): G406.
5. Kapoor R, Singh S, Tripathi M, et al. O-hexadecyl-dextran entrapped berberine nanoparticles abrogate high glucose stress induced apoptosis in primary rat hepatocytes[J]. *PLoS One*, 2014, 9(2): e89124.
6. Ishii M, Maeda A, Tani S, et al. Palmitate induces insulin resistance in human HepG2 hepatocytes by enhancing ubiquitination and proteasomal degradation of key insulin signaling molecules[J]. *Arch Biochem Biophys*, 2015, 566: 26-35.
7. Yuasa T, Amo K, Ishikura S, et al. Development of in vitro model of insulin receptor cleavage induced by high glucose in HepG2 cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2014, 445(1): 236-243.
8. 谢洁,杨瑞仪.地塞米松体外诱导胰岛素抵抗细胞模型的建立[J]. *科技通报*, 2015, 31(10): 31-33.
XIE Jie, YANG Ruiyi. Insulin resistance model induced dexamethasone in vitro cell[J]. *Bulletin of Science and Technology*, 2015, 31(10): 31-33.
9. Wu XB, Peng CH, Huang F, et al. Preparation and characterization of chitosan porous microcarriers for hepatocyte culture[J]. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*, 2011, 10(5): 509-515.
10. Yu H, Wu M, Lu FR, et al. Effect of trigonella foenum-graecum 4-hydroxyisoleucine on high-glucose induced insulin resistance in 3T3-L1 adipocytes of mice[J]. *Zhongguo Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi*, 2013, 33(10): 1394-1399.
11. She M, Hou H, Wang Z, et al. Melatonin rescues 3T3-L1 adipocytes from FFA-induced insulin resistance by inhibiting phosphorylation of IRS-1 on Ser307[J]. *Biochimie*, 2014, 103: 126-130.
12. Gogoi B, Chatterjee P, Mukherjee S, et al. A polyphenol rescues lipid induced insulin resistance in skeletal muscle cells and adipocytes[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2014, 452(3): 382-388.
13. Kim J, Park Y, Yoon K S, et al. Permethrin Alters Adipogenesis in 3T3-L1 Adipocytes and Causes Insulin Resistance in C2C12 Myotubes[J]. *J Biochem Mol Toxicol*, 2014, 28(9): 418-424.
14. Mohankumar SK, Taylor CG, Zahradka P. Domain-dependent modulation of insulin-induced AS160 phosphorylation and glucose uptake by Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase II in L6

- myotubes[J]. *Cellular Signaling*, 2012, 24(1): 302-308.
15. Wu W, Tang S, Shi J, et al. Metformin attenuates palmitic acid-induced insulin resistance in L6 cells through the AMP-activated protein kinase/sterol regulatory element-binding protein-1c pathway[J]. *Int J Mol Med*, 2015, 35(6): 1734-1740.
 16. Gong J, Dong H, Jiang S J, et al. Fenugreek lactone attenuates palmitate-induced apoptosis and dysfunction in pancreatic β -cells[J]. *World J Gastroenterol*, 2015, 21(48): 13457.
 17. Li W, Cai LL, Xu HQ, et al. Protective effects of da chai hu granules (DCHKL) against alloxan (AXN)-induced rat pancreatic islets damage[J]. *Yao Xue Xue Bao*, 2013, 48(9): 1403-1408.
 18. 安丽萍, 刘晓梅, 王春梅, 等. Exenatide对软脂酸诱导RINm5F细胞凋亡的保护作用[J]. *中国老年学杂志*, 2011, 31(18): 3562-3563. AN Liping, LIU Xiaomei, WANG Chunmei, et al. The Protective Effect of Exenatide on Palmitic Acid-induced RINm5F Apoptosis[J]. *Chinese Journal of Gerontology*, 2011, 31(18): 3562-3563.
 19. Raúl BG, Antonio FL, Arturo BG, et al. Hyperglycemia promotes p53-Mdm2 interaction but reduces p53 ubiquitination in RINm5F cells[J]. *Mol Cell Biochem*, 2015, 405(1-2): 257-264.
 20. 丁静云, 应颖, 邬磊, 等. INS-1E 细胞葡萄糖毒性模型的建立[J]. *现代生物医学进展*, 2015, 15(22): 4244-4247. DING Jingyun, YING Ying, WU Lei, et al. Establish Glucose Toxicity Model of INS-1E Cell[J]. *Progress in Modern Biomedicine*, 2015, 15(22): 4244-4247.
 21. 孙海峰, 常虹, 郭雪莹, 等. 胰岛细胞损伤体外模型的建立及在药物筛选中的应用[J]. *中医药学报*, 2012, 40(3): 53-56. SUN Haifeng, CHANG Hong, GUO Xueying, et al. The establishment of the islet cell damage in vitro model and its application in drug screening[J]. *China Journal of Chinese Medicine*, 2012, 40(3): 53-56.
 22. 田慧. 环孢霉素抑制离体大鼠胰岛和HIT细胞的胰岛素分泌[J]. *国外医学: 内分泌学分册*, 1987, (3): 162. TIAN Hui. Cyclosporine inhibition in vitro insulin secretion of rat islet cells and HIT[J]. *Foreign Medical Sciences: Section of Endocrinology*, 1987, (3): 162.
 23. Cho YS, Kim CH, Kim KY, et al. Protective effects of arachidonic acid against palmitic acid-mediated lipotoxicity in HIT-T15 cells[J]. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 2012, 364(1-2): 19-28.
 24. Fuentes M, Andrews M, Arredondo-Olguín M. Effects of high iron and glucose concentrations over the relative expression of Bcl2, Bax, and Mfn2 in MIN6 cells[J]. *Biological Trace Element Research*, 2013, 153(1-3): 390-395.
 25. Wang LX, Wang YP, Liu XY, et al. Dexamethasone-induced apoptosis of murine MIN6 pancreatic beta-cells and its effect on AKT phosphorylation[J]. *Yao Xue Xue Bao*, 2009, 44(11): 1216-1220.
 26. Hao F, Kang J, Cao Y, et al. Curcumin attenuates palmitate-induced apoptosis in MIN6 pancreatic β -cells through PI3K/Akt/FoxO1 and mitochondrial survival pathways[J]. *Apoptosis*, 2015, 20(11): 1420-1432.
 27. 李莹芳, 夏宁, 冯乐平, 等. 高浓度葡萄糖对胰岛 β 细胞株NIT-1细胞Irs2、FoxO1表达的影响[J]. *广西医科大学学报*, 2013, 30(1): 1-4. LI Yingfang, XIA Ning, FENG Leping, et al. Effect of High Concentration of Glucose on IRS2 and FOXO1 Expression of Pancreatic β Cells(NIT-1 Cells)[J]. *Journal of Guangxi Medical University*, 2013, 30(1): 1-4.
 28. 徐勤, 邓立东, 宋英. 龙血素B对棕榈酸引起的胰岛 β 细胞功能损伤的保护作用[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2013, (23): 254-257. XU Qin, DENG Lidong, SONG Ying. Protective Effects of Loureirin B on Dysfunction of Pacreatic Islet β Cell Induced by Palmitate[J]. *Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae*, 2013, (23): 254-257.
 29. 郑少娟, 杨立勇, 沈喜妹, 等. Exendin-4对抵抗素介导的 β TC6细胞PDX-1表达损害及细胞凋亡的干预[J]. *福建医科大学学报*, 2014, (6): 353-357. ZHENG Shaojuan, YANG Liyong, SHEN Ximei, et al. The intervening effects of Exendin-4 on the resistin-induced impairment and PDX-1 gene expression in β Tc6 cells[D]. *Fujian Medical University*, 2014, (6): 353-357.
 30. 项靖楠. 棕榈酸对 β TC6细胞PANDER表达的影响及Exendin-4的保护作用[J]. *福州: 福建医科大学*, 2012. XIANG Jingnan. The Effect of PA on Pancreatic Derived Factor Expression in β TC6 Cells and the Intervention Study of Exendin-4[D]. *Fuzhou: Fujian Medical University*, 2012.
 31. 陈旭春, 程颖, 杨蕾, 等. 三维及二维培养大鼠胰腺导管来源干细胞的体外对比实验研究[J]. *中国普外基础与临床杂志*, 2013, 19(7): 722-726. CHEN Xuchun, CHENG Ying, YANG Lei, et al. Culture of Pancreatic Duct-Derived Stem Cells of Rats in The Three-Dimension and Two-dimension Cell Culture[J]. *Chinese Journal of Bases and Clinics in General Surgery*, 2012, 19(7): 722-726.
 32. 黄任平, 宋纯, 张增岭, 等. 3D自组装肽纳米纤维支架对胰岛细胞分泌功能的影响[J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2011, 15(42): 7863-7867. HUANG Renping, SONG Chun, ZHANG Zengling, et al. A three-dimensional self-assembling peptide nanofiber hydrogel scaffold influences the secretion function of islet cells in vitro[J]. *Journal of Clinical Rehabilitative Tissue Engineering Research*, 2011, 15(42): 7863-7867.
 33. 朱沙俊, 王雷. 肝脏脱细胞支架与MIN6细胞三维共培养移植治疗I型糖尿病实验研究[J]. *交通医学*, 2015, (4): 319-322. ZHU Shajun, WANG Lei. Three dimensional co-culture of MIN6 cells and liver-derived perfusiondecellularized bioscaffold for potential clinical practice[J]. *Med J of Communications*, 2015, (4): 319-322.

34. 宋焕瑾, 薛武军, 李杨, 等. 联合应用大鼠血管内皮细胞和胰岛培养对胰岛功能的影响[J]. 中华细胞与干细胞杂志: 电子版, 2011, 1(1): 17-20.
SONG Huanjin, XUE Wujun, LI Yang, et al. Effect of endothelial cell coculture on islet function[J]. Chinese Journal of Cell and Stem Cell: Electronic Edition, 2011, 1(1): 17-20.
35. 李会珍, 李蒙, 李瑞玉, 等. 淫羊藿对骨髓间充质干细胞成骨分化的影响[J]. 中国组织工程研究, 2014, 18(6): 979-984.
LI Huizhen, LI Meng, LI Ruiyu, et al. Effects of epimedium on osteogenic differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells[J]. Chinese Journal of Tissue Engineering Research, 2014, 18(6): 979-984.
36. 刘畅, 刘福强, 梅晰凡, 等. 大鼠肌源性干细胞体外转分化为胰岛素分泌细胞[J]. 基础医学与临床, 2009, 29(1): 47-51.
LIU Chang, LIU Fuqiang, MEI Xifan, et al. Co-culture in vitro with muscle-derived stem cells improves the viability of pancreatic islets[J]. Jiangsu Medical Journal, 2009, 29(1): 47-51.

本文引用: 陈晶, 李璟. 糖尿病细胞模型及研究进展[J]. 临床与病理杂志, 2016, 36(4): 507-514. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2016.04.031

Cite this article as: CHEN Jing, LI Jing. Advances in establishment of cell culture models of diabetes mellitus[J]. Journal of Clinical and Pathological Research, 2016, 36(4): 507-514. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2016.04.031