

臺灣二〇〇六年國際科學展覽會

科 別：醫學與健康科學

作品名稱：Neuropathy of DRG in STZ-induced DM rats

學校 / 作者：臺北市立第一女子高級中學 楊乙真

楊乙真



畢業於私立復興國民中小學，現就讀於台北市立第一女子高級中學。對於剛認識的朋友可能覺得我不太愛講話，看起來有點嚴肅，不過相處久了其實可以知道我頗愛閒話家常，在過於忙碌的生活當中，還是很渴望能有些時間可以放空心思或做一些不需要用到腦筋的事情，平常閒暇時喜歡彈琴、聽音樂、看書、上網。喜歡看的書比較偏重散文、詩和小說，包括傲慢與偏見和紅樓夢。

Neuropathy of DRG in STZ-induced DM rats

中文摘要

糖尿病是一種由於體內胰島素分泌不足或作用不良而導致血糖升高的疾病，此慢性病會造成周邊神經病變，影響周邊神經的傳導。本實驗以大白鼠為研究對象，首先將大白鼠分為兩組，一組以腹腔注射 streptozotocin (STZ, 60-80 mg/kg)，破壞其胰臟之 β 細胞；令另一組腹腔注射生理食鹽水作為對照組。經過 4-6 週，測量其血糖。其中注射 STZ 的一組，依照血糖改變分為兩組，一組是高血糖(>126mg/dl)，另一組是正常血糖組(<126mg/dl)，並進行行為反應測試神經反應。待實驗結束後，犧牲大白鼠，並取出其背根神經節，以做分析。本實驗針對高血糖之下，是否增加氧化壓力，進而造成 DRG 神經細胞之凋亡，此現象是否和內質網路徑或粒線體途徑有關。主要分析幾種內質網壓力的指標蛋白質，包括 procaspases-12、BIP、CHOP，以及粒線體途徑的指標蛋白質 caspase 3。此外也觀察 α -synuclein 是否和高血糖引起神經病變有關。截至目前的結果顯示，高血糖的老鼠之背根神經節有細胞凋亡的發生，內質網壓力及粒線體途徑參與高血糖引起之細胞凋亡。

Abstract

Diabetes Mellitus (DM) is a chronic disease caused by improper use or abnormal production of insulin, which results in elevated plasma glucose levels. Neuropathy in peripheral nervous system is commonly observed in DM patients. The aim of the present study was to investigate the involvement of endoplasmic reticulum (ER) stress and mitochondrial pathway in dorsal root ganglion (DRG) in STZ-injected rats. Male adult Sprague-Dawley rats were randomly divided into two groups, one group was intraperitoneally injected with streptozotocin (STZ, 60-80 mg/kg) to destroy their pancreatic β -cells and the other group was given saline as control. 4-6 weeks after STZ injection, blood glucose level was measured and rats receiving STZ were divided into two groups, one group had elevated blood glucose level (>126 mg/dl), and the other had normal blood glucose level (<126 mg/kg). Behavioral studies were performed to test the nerve conductivity. At the end of experiment, rats were sacrificed and DRG were removed for further analysis. Several hallmark proteins of ER stress and mitochondrial pathway, including procaspases-12, BIP, CHOP, caspase 3, were studied. Furthermore, α -synuclein, a protein involved in neurodegeneration was investigated in DRG of STZ-injected rats. My preliminary data show that apoptosis happened in dorsal roots ganglions of STZ-induced DM rats; ER stress and mitochondrial pathway are involved in apoptosis.

Neuropathy of DRG in STZ-induced DM rats

目次

中文摘要.....	2
Abstract.....	2
目次.....	3
壹、 背景介紹.....	4
一、 糖尿病.....	4
二、 氧化壓力.....	5
三、 細胞凋亡.....	5
四、 Streptozotocin 如何導致高血糖.....	6
貳、 實驗目的.....	7
參、 實驗器材與材料.....	8
肆、 實驗方法與步驟.....	10
一、 實驗架構圖.....	10
二、 實驗方法.....	11
伍、 實驗結果.....	13
陸、 討論.....	14
柒、 結論.....	15
捌、 應用與展望.....	15
玖、 參考文獻.....	20

壹、背景介紹

一、 糖尿病 Diabetes Mellitus (DM)

一般來說，正常情況下，人類的血糖值約在 90 mg/100ml，而當空腹血糖高於 126 mg/100ml 時則會被斷定為糖尿病病患(根據 Fasting Plasma Glucose Test; FPG)。目前，已知糖尿病是一種因為身體內的胰島素無法正常分泌或是作用不良，而導致血糖升高的疾病。根據統計，全球大概有 1.35 到 1.6 億人罹患糖尿病。1993 年，糖尿病進入台灣十大死因，2004 年更位居十大死因之第四位，依照衛生署的統計，2004 年死亡人口中，死與糖尿病的人數就高達 9191 人，佔全部死亡人口 6.88%。在美國約有兩千多萬名糖尿病患者，大約佔了美國人口數的百分之七。然而，其中仍有六百多萬人(接近三分之一)仍不知道自己已患了糖尿病。

1. 胰島素 Insulin

胰島素(insulin)是一種可以調節血糖的激素，由胰臟中的 β 細胞分泌。生理狀態下，當血糖超過標準值，也就是血糖升高時（如：攝入高糖的食物及飲料，或是注射葡萄糖溶液），胰島素的分泌量就會增加，胰島素可以促進全身細胞對葡萄糖的吸收、利用和儲存，亦可減緩肝臟中肝醣的分解來降低血糖濃度。但是對糖尿病病人來講，由於胰島素的分泌不足或是胰島素之標的組織失去對胰島素的回應能力，結果都會造成血糖升高，當上升的血糖濃度超過腎臟的血糖閾值時，葡萄糖會出現在尿液中。由於愈多的葡萄糖流失至尿液時，將因滲透壓效應減低腎小管對水的在吸收作用，而有更多的水份排出，引起尿液增加。細胞在脫水的情況下，則會極度口渴而想要喝水。

糖尿病大致可分為兩型，第一型糖尿病(Type 1 diabetes mellitus)又稱為「胰島素依賴型糖尿病(insulin-dependent diabetes mellitus)」，為一種自體免疫性疾病，因自體免疫系統破壞 β 細胞，而無法分泌胰島素造成血糖升高，通常在兒童時期發作，治療上，患者必須定期注射胰島素。第二型糖尿病(Type 2 diabetes mellitus)又稱為「非胰島素依賴型糖尿病(insulin-independent diabetes mellitus)」，但大多數是因為胰島素標的細胞上的受體蛋白有缺陷，使其對胰島素的敏感性下降(insulin resistance)，常發生在四十歲以上，可能與年齡老化有關。此外，遺傳體質及過度肥胖也是為第二型糖尿病的成因之一主因。

2. 糖尿病的合併症

包括有急性的高血糖性昏迷、酮酸中毒、低血糖性休克（痙攣、昏迷），視網膜、腎臟、神經、心臟血管病變與足部問題。

3. 糖尿病之神經病變 Diabetic nerve damage

糖尿病所造成的神經病變大致上可分為四類：

第一類為感覺運動神經病變(Sensorimotor neuropathy)，可能會造成手或腳的虛弱、發抖、疼痛。

第二類為自主神經病變(Autonomic neuropathy)，可能症狀有消化方面的問題、暈眩、昏倒，或是對低血糖的靈敏度不足。

第三類為局部神經病變(Focal neuropathy)，可能導致突然的虛弱、疼痛，或是造成視力方面的問題。

第四類為神經壓迫(Compressed nerves)，是患者會覺得一直覺得被壓，而導致神經在傳遞訊息時受到阻礙，造成的影響可能會使得患者對周遭環境的敏感度下降，甚至可能因此無法及時避免危險。

造成神經病變的原因尚在研究階段，目前已知高血糖造成中樞神經病變並不是很嚴重，亦非致死原因。而是否是因為背根神經節(dorsal root ganglion; DRG)受損則還有待研究，背根神經節位於中樞神經系統和周邊神經系統之間，為傳遞神經訊息的橋樑。受損的原因可能是因為高血糖導致其不正常的細胞凋亡(apoptosis，又稱計畫性細胞死亡，programmed cell death)，或是因為神經毒性造成功能受損。

二、 氧化壓力 Oxidative stress

目前已知葡萄糖會產生氧化壓力，進而會引起蛋白質、脂質氧化以及 DNA 之 cross-linkage，進而造成細胞死亡，包括背根神經節之神經細胞 (Kalousova et.al., 2002)。

三、 細胞凋亡 Apoptosis

細胞凋亡(apoptosis)，又稱為計畫性細胞死亡(programmed cell death)，對於維持生物體中細胞的恆定，與細胞增生同樣重要，例如胚胎發育過程中，多餘的細胞組織需要靠細胞凋亡來移除，或是當生物體細胞異常或是受到感染，亦可將異常細胞移除。

細胞凋亡的調控機制，主要是透過蛋白質降解來進行，因此對於細胞凋亡的進行與否，細胞必須要有完善的機制來調控。細胞中有一群結構相近的蛋白質，稱為 Bcl-2 family (Gross et al., 1999)，在細胞凋零調控上扮演重要角色。這群蛋白質中，有些會抑制細胞凋亡(anti-apoptotic)，如 Bcl-2、Bcl-xl，有些則會促使細胞凋亡(pro-apoptotic)的發生，如 BAX、BAK、BID、BIM、NOXA、PUMA 等。在細胞正常生長的情況下，抑制細胞凋亡的蛋白質

會發揮功能，而促進細胞凋亡的蛋白質則會受到抑制。當細胞受到刺激而要進行細胞凋亡時，抑制細胞凋亡的蛋白質會被抑制，而促進細胞凋亡的蛋白質會開始活化而發揮功用，開啓一連串蛋白質的活化路徑，造成細胞凋亡。

1. 粒線體路徑 Mitochondrial pathway :

目前已知關於細胞凋亡初期的調控機制，主要是透過對胞內胞器的調控來達成(Ferri and Kroemer, 2001)。其中一個路徑經過粒線體(mitochondrial pathway)，經由改變粒線體膜之通透性，影響粒線體內之細胞凋亡調控蛋白穿透粒線體進入細胞質與否，而決定細胞是否要凋亡，細胞凋亡調控蛋白主要包括 cytochrome C、procaspases 8, 9, 3 等。

2. 內質網路徑 ER pathway

透過內質網(ER stress)，Bcl-2 family 來到內質網外膜，引發內質網中鈣離子的釋出(Foyouzi-Youssefi et al., 2000)。鈣離子大量湧入細胞質中，而活化了 caspase 8 和 caspase 12。協助增強粒線體膜通透性，促進細胞凋亡調控蛋白的釋出。(附圖一)

3. Caspases

這些細胞凋亡的調控蛋白中，負責執行蛋白質降解的蛋白酶，稱為 caspases (Thornberry and Lazebnik, 1998)。這些蛋白酶平常會在細胞中表現，但是為了保護生長中的蛋白質，它們以 procaspases 的型式存在，此時蛋白酶不具或只具微弱活性，其活化必須要藉由蛋白質降解來引發。

細胞凋亡的過程中，有許多特殊的型態變化或是內部物質的破壞，例如 DNA 碎解、染色體濃縮、細胞膜的囊泡狀皺縮、細胞收縮、最後細胞崩解形成之泡狀凋亡體，目前已知，許多現象都與 caspases 的作用有關(Coleman and Olson, 2002)。

凋零死亡的細胞中受到 caspases 降解的蛋白質，在細胞中多半具有重要功能，例如調控細胞黏著、細胞週期、細胞骨架結構，細胞核結構與內部 DNA 的合成、切割與修復，以及影響 RNA 的轉錄及蛋白質轉譯的一些負責傳遞訊息的重要分子。

四、 Streptozotocin 如何導致高血糖

由於 Streptozotocin (STZ)的分子結構與葡萄糖相似(附圖二)，因此 β 細胞上的載體無法分辨，造成 STZ 進入 β 細胞而啓動下列三種可能機制導致 β 細胞功能的喪失：甲基化反應、自由基的生成、NO 的產生。

貳、實驗目的

1. 高血糖是否會經由氧化壓力造成背根神經節之細胞凋亡，最後導致神經訊息傳導的減緩和阻礙。
2. 觀察包括 procaspase 12, BIP, CHOP 等數個 ER stress 的指標蛋白質之改變，確定高血糖引起之背根神經節發生的細胞凋亡，是否和 ER stress 有關。
3. 觀察粒線體途徑的指標蛋白質 caspase 3 的表現，確定高血糖引起之背根神經節發生的細胞凋亡，是否和粒線體途徑有關。
4. 已知 α -synuclein 和許多神經病變有關，本實驗要研究 α -synuclein 是否參與高血糖引起 DRG 之神經病變。

參、實驗器材與材料

一、動物實驗

器材：離心機、小動物斷頭臺

材料：Adult male Sprague-Dawley rats (每隻約 300g)、共 28 隻
streptozotocin (STZ)

二、萃取蛋白質

器材：超音波振盪器、高速離心機(13000g, 15min, 4°C)

材料：RIPA (NaCl 150mM, NP40 1% , Deoxycholic Acid 0.5%, SDS 0.1%, Tris pH8.0
50mM, PMSF 1mM, pH8.0, protease inhibitor)

三、蛋白質定量

器材：Elisa Reader (96 well 分光光度計)

材料：BCA Protein Assay Kit (Pierce)

四、SDS-PAGE

器材：glass plates, spacers, combs, gel caster, upper buffer chamber, SE250 deep lower
buffer chamber, lid assembly, clamps

材料：10%, 12% resolving gel (H₂O, 30% acrylamide mix, 1.5M Tris pH8.8, 10%SDS,
10% ammonium persulfate, TEMED)

5% stacking gel (H₂O, 30% acrylamide mix, 1.5M Tris pH6.8, 10%SDS, 10%
ammonium persulfate, TEMED)

running buffer (Tris, glycine, SDS, H₂O)

五、轉漬

器材：轉漬槽

材料：membrane, transfer buffer (Tris, glycine, ddH₂O, methanol)

六、西方墨點法

器材：shaker

材料：Ponceau S solution (Sigma), TBST (Tris Lase, NaCl, pH7.5, Tween20), 5% milk,

anti-BiP/ Grp78 (1:1000) Stress gen

anti-PCNA (1:1000) Santa Cruz

anti-procaspase 12 (1:1000) Chemicon

anti-actin (1:2000) Chemicon

anti-CHOP/ GADD153 (1:1000) Santa Cruz

anit- α synuclein (1:500) BD

anti-rabbit (1:3000) Chemicon

anti-mouse (1:10000, 1:5000) Chemicon

七、 呈色

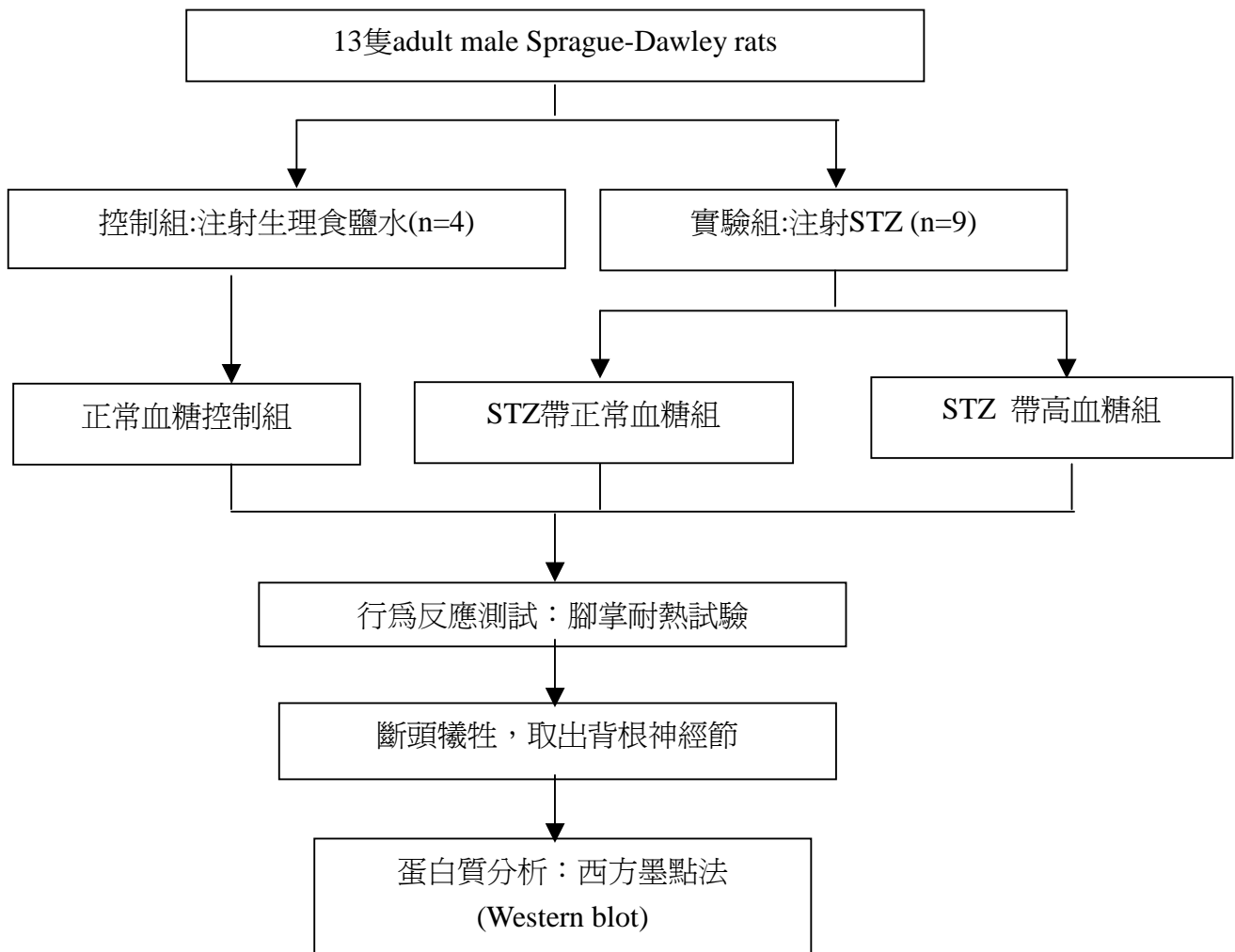
器材：Hypercassette, X 光片洗片機, X-ray film (Kodak)

材料：VisualizerTM Western Blot Detection Kit (Upstate)

肆、實驗方法與步驟

本實驗以大白鼠為實驗對象，先分為兩組，一組腹腔注射 STZ (60-80 mg/kg)，破壞其 β -細胞；一組注射生理食鹽水做為對照組。經過兩個星期後，注射 STZ 一組可再依據血糖高低，區分為高血糖組與正常血糖組。由於神經病變並非幾天之內就可發現，因此在打 STZ 過後約一個月內，再進行行為實驗(behavioral studies)，確定其神經傳導速度有差異。待實驗結束後，將動物犧牲，取出背根神經節，置於-80°C，作為日後進行蛋白質分析用。

一、實驗架構圖



二、實驗方法

1. Animal preparation (由實驗室負責人做)

13 隻 Adult male Sprague-Dawley rats，禁食 24 小時後，其中 9 隻腹腔注射 STZ (60-80 mg/kg)，另外 4 隻腹腔注射生理食鹽水。

2. 體重監測 (由實驗室負責人做)

3. Blood glucose measurement (由實驗室負責人做)

4-6 週後，以尾巴採血，測量其血糖。依據有無注射 STZ 及血糖高低，分為三組。

4. Behavioral studies (由實驗室負責人做)

將老鼠放在隔板間，自紅光刺激其前腳時開始計時，直到老鼠因感覺到熱和刺痛感將前腳抬起以舌頭舔，停止計時。再以相同的步驟測量其他三隻腳的反應時間，取其平均值。

5. After the end of experiment, animal sacrifice (由實驗室負責人做)

斷頭犧牲後，取其背根神經節，立即放入液態氮，等待分析。

6. 蛋白質萃取

對照組(CTR)、正常血糖組(STZ-)、高血糖組(STZ+)各取一對背根神經節，加入均質液 (RIPA, PMSF 之比 400:1)，利用振盪機將組織均質化，之後於 4°C、13000 轉、15 分鐘高速離心。離心後所得上清液即為組織蛋白質萃取液，取出置於新的離心管中，儲存於 -70°C，等待日後分析。

7. 蛋白質濃度測定

以 BCA kit (PIERCE) 測定蛋白質濃度。首先配置一組標準蛋白液，及 25 倍稀釋的待測蛋白質。將標準蛋白及待測蛋白各 25 μ l 加入 200 μ l 澄色劑，在 96 孔盤內各測定三組，由於蛋白質會與二價銅離子 (Cu²⁺) 作用，結合產生成一價銅離子 (Cu⁺)，而 kit 內所附 working solution 即和一價銅離子作用，產生紫色複合物。置於 37°C 培養箱中反應 30 分鐘。反應後於 540 nm 下測定其吸光值，並繪出標準曲線後比對樣本蛋白質的濃度。

8. SDS-聚丙烯醯胺凝膠電泳 (SDS-PAGE electrophoresis)

以二次水、30% acrylamide mix、1.5M Tris (pH8.8)、10% SDS、10% ammonium persulfate 及 TEMED 依一定比例配置下層膠，加入架膠槽，以 methanol 壓平。三十分鐘後，待其凝固，將 methanol 倒出，以二次水、30% acrylamide mix、1.5M Tris (pH6.8)、10% SDS、10

% ammonium persulfate 及 TEMED 依一定比例配置上層膠，加入插有梳狀槽模板的架膠槽。三十分鐘後，待其凝固。當不同的 SDS-蛋白質複合物通過多孔性膠體時，會因為蛋白質分子量不同，進而造成泳動速度不同，藉此分離蛋白質。

將欲分析的蛋白質溶液與 5 倍濃縮 sample buffer 及二次水依比例均勻混合，在沸水中煮 5 分鐘，以打斷蛋白質結構中的雙硫鍵，使其變性。離心。將樣品與 protein standard ladder 依序注入電泳槽尺狀凹槽中，放入電泳裝置中，加之以 100V 電壓。

9. 轉漬 (transfer)、西方墨點法 (Western blotting)、呈色

將蛋白質電泳和 membrane 完成之膠取下，浸泡於 transfer buffer (transfer buffer、二次水、甲醇)中，將 transfer 夾鋪平，依次放上一片海綿、一張濾紙、膠、membrane、一張濾紙、一片海綿，最後將夾子夾起來，過程中不可有氣泡和雜質。放入 transfer 裝置進行轉漬，100V、60 分鐘即可完成。

轉漬完成後取出 membrane，先以 Ponceau S solution 染 1 分鐘確認其上的蛋白質位置，以及轉漬的效率與品質，再利用含 5% 脫脂奶粉 (non-fat milk power)的 0.1% Tween 20 -TBS (TBST) blocking 5 分鐘，再加入特定的一級抗體(anti- α -synuclein, anti-procaspase12, anti-BiP, anti-CHOP, anti-actin)於 4°C 冷房中過夜作用。反應完成後先以 TBST 沖洗 5 分鐘 3 次，再加入適合之二級抗體(anti-rabbit, anti-mouse)於室溫下作用 1 小時，重複上述清洗步驟。之後利用 substrate (Upstate)將之顯影，顯影方式為將所附試劑 A、B 以一定比例(2:1)混合，淋在 membrane 上，迅速放進壓片盒(Kodak cassette)中，壓片 10 到 30 分鐘不等，以冷光專用 X 光片於暗房中壓片。

伍、實驗結果

一、腹腔注射 STZ 對大白鼠血糖、體重、行為之影響

1. 血糖方面：9 隻腹腔注射 STZ 大白鼠，其中 5 隻之血糖明顯高於注射生理食鹽水之對照組。其餘 4 隻腹腔注射 STZ 大白鼠，其血糖值和控制組比較接近。大白鼠血糖值大小順序: STZ 高血糖組 > STZ 低血糖組 > 控制組
2. 體重方面：腹腔注射 STZ 並高血糖大白鼠其體重明顯低於注射生理食鹽水大白鼠之體重。此外，腹腔注射 STZ 低血糖之大白鼠體重較控制組低一點。大白鼠體重大小順序: 控制組 > STZ 低血糖組 > STZ 高血糖組。
3. 行為方面：依時間長短排序為：控制組 > STZ 低血糖組 > STZ 高血糖組

二、老鼠犧牲後，取出背根神經節做蛋白質的分析

1. procaspase 12: 在控制組的量最高，STZ 低血糖組的量很少，STZ 高血糖組的量幾乎看不到。
2. BiP: 看不出變化。
3. CHOP: 有注射 STZ 的兩組皆受到 STZ 影響而升高。
4. caspase 3: 在控制組無顯現，STZ 低血糖組有微量，STZ 高血糖組的量最高。
5. α -synuclein: 有注射 STZ 的兩組皆受到 STZ 影響而升高。

陸、討論

STZ 引起 DM 之動物模式

由過往實驗已知施打 STZ 可以造成類似糖尿病之實驗動物模式，的確，本實驗在注射 STZ 大白鼠中也觀察到類似糖尿病的特徵，包括高血糖、體重減輕、和神經傳導異常。然而，本實驗也有一部份注射 STZ 大白鼠，其血糖值和施打生理食鹽水之對照組相同，這一組動物正好可以用來當成 STZ 是否會造成神經傷害之 positive control。已知 STZ 有神經毒性，經由比較 STZ-高血糖組和 STZ-低血糖組蛋白表現之差異，可以釐清本實驗所觀察到蛋白質之變化是因為高血糖導致之神經毒性而非 STZ 本身作用。

細胞凋亡和高血糖引起 DRG 細胞凋亡之關係

細胞凋亡會經過兩個路徑，一個是 ER stress，另一個是粒線體路徑。經由蛋白質分析中發現，由老鼠背根神經節萃取出蛋白質，procaspase 12 在控制組的量最多，在 STZ 低血糖組的量非常地少，在 STZ 高血糖組的量則幾乎看不到，與預期結果相符——由於 procaspase 12 是 caspase 12 的先趨物，平常在正常細胞內發揮的功能極低，不會導致細胞凋亡，但是經由 ER stress 的啟動一連串蛋白質活化作用，只要 procaspase 12 一活化成為 caspase 12，細胞凋亡即不可避免。此外，ER stress 另外兩條路徑上分別以 BiP 和 CHOP 作為指標，其中 BiP 看不出變化，CHOP 會受到 STZ 影響而增加。細胞凋亡的粒線體路徑中，caspase 3 除了會受到 STZ 的影響，同時也會因為高血糖而導致量的升高。

α -Synuclein 和高血糖引起細胞毒性之關係

另一方面， α -synuclein 的量在有注射 STZ 的老鼠均普遍升高，懷疑是由於注射 STZ 而引發背根神經節的神經毒性，但是否會因為高血糖導致 α -synuclein 的量升高進而引起細胞凋亡則有待確認。

柒、結論

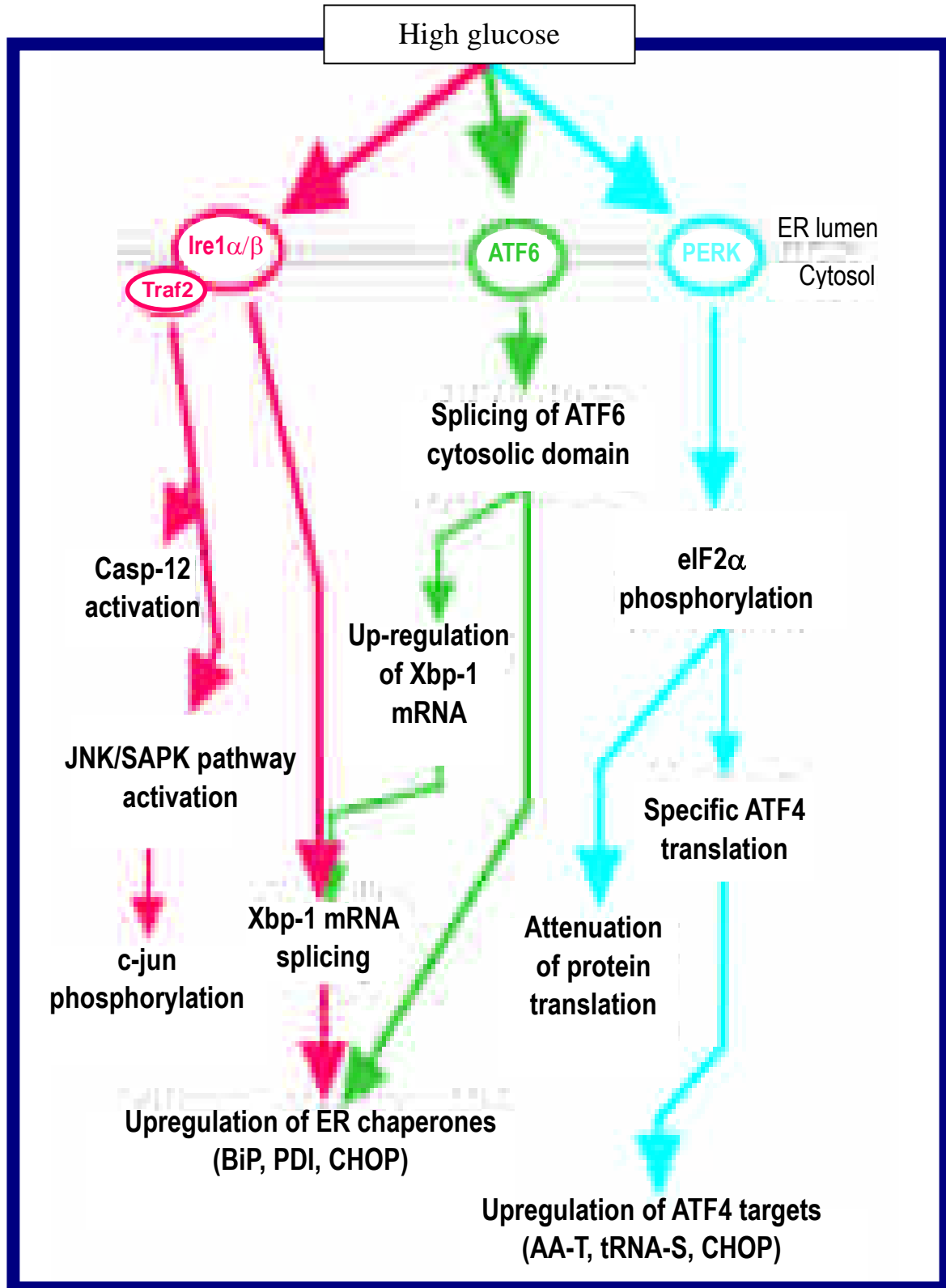
由於已有研究得知高血糖導致神經病變，中樞神經系統並不是致命的原因，於是本實驗觀察高血糖對位於中樞神經系統和周邊神經系統之間的背根神經節之影響。截至目前的研究發現 procaspase 12 的量在 STZ 高血糖組的量明顯降低，而 caspase 3 的量則明顯升高，有可能是因為背根神經節的確是因為高血糖而導致細胞凋亡。ER stress 和粒線體路徑可能參與 DRG 之細胞凋亡，使得神經傳遞出現障礙。

捌、應用與展望

實驗方面，由於 BiP 看不出變化，CHOP 會受到 STZ 的影響而升高，故不能確定高血糖是否會經由 ER stress 的這兩條途徑進行細胞凋亡，在未來的研究可以針對這兩條路徑的其他指標蛋白質的研究，確定是否有關係。另一方面，關於 caspase 3 和 procaspase 12 的變化，可以切斷這條路徑的方式確定是否這兩種蛋白質是背根神經節由於高血糖產生細胞凋亡的必要指標蛋白質。而 α -synuclein 的量會受到 STZ 的影響，因此是否高血糖會導致 α -synuclein 產生的神經毒性則還有待進一步確認。

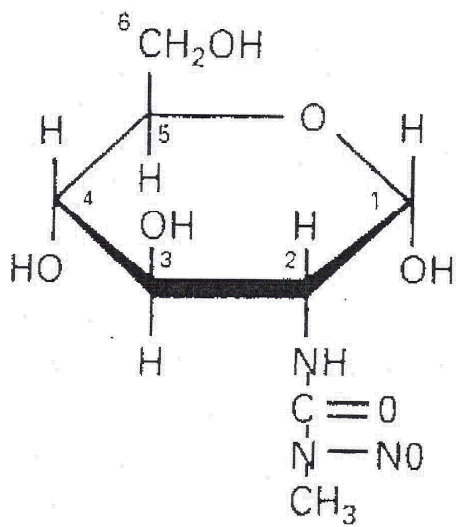
醫療方面，因為 procaspase 12 的量降低以及 caspase 3 的量升高，猜測高血糖會造成背根神經節的細胞凋亡會經過 ER stress 和粒線體途徑。因此可以考慮在患有糖尿病的病患體內阻斷這兩條路徑上的指標蛋白質，避免背根神經節的病變，或許可以減低病患由於神經病變造成的不適感。

附圖一、高血糖可能引起之內質網壓力的三條路徑(Holtz & O'Malley, 2003)

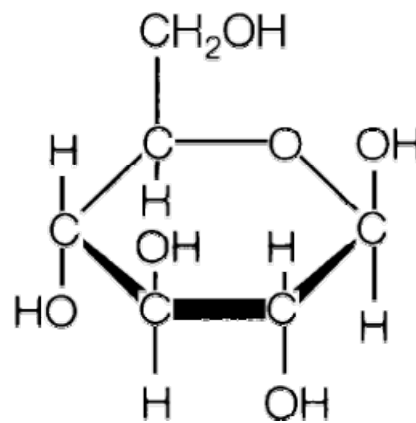


經由高血糖的刺激，可能使神經細胞產生 ER stress，其中有三條不同的蛋白質活化路徑，都會啟動不可逆的細胞凋亡過程。其中 caspase 12 出現在左邊的路徑，啟動一連串下游的蛋白質，BIP 和 CHOP 則出現在蛋白質活化路徑的最後一步。

附圖二、STZ 和葡萄糖的結構式



STZ 結構式



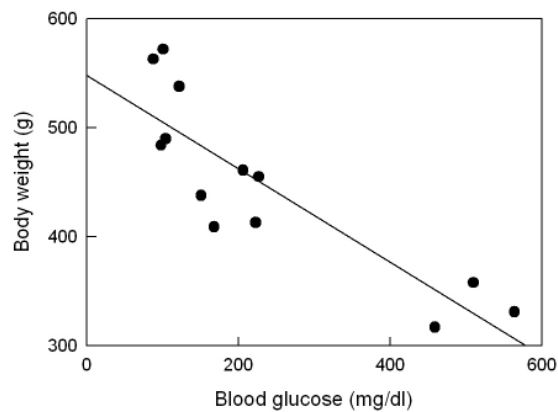
葡萄糖結構式

STZ 和葡萄糖的結構相似，只有在二號碳上有差異：STZ 二號碳上接的是氮，而葡萄糖二號碳上接的是-OH 基。由於這個原因， β 細胞沒有辦法辨認出是 STZ 分子還是葡萄糖，STZ 於是經由葡萄糖的通道進入 β 細胞並破壞之。

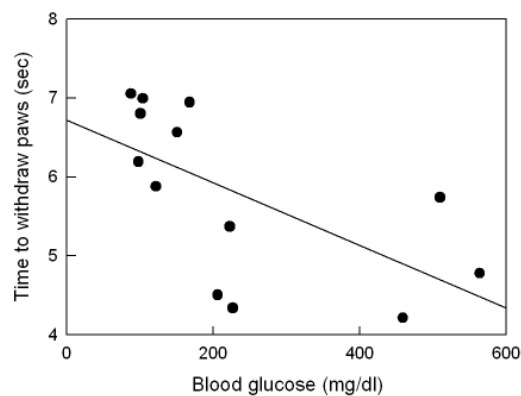
表一、大白鼠腹腔注射 STZ 對體重、血糖和熱耐受度之影響。本數據是平均值±標準差。括號內數字表示受測動物數目。*表示該組數據和控制組數據有統計上顯著之差異 ($p<0.05$)，本表乃利用獨立樣本單因子變異數 (one way ANOVA) 分析。

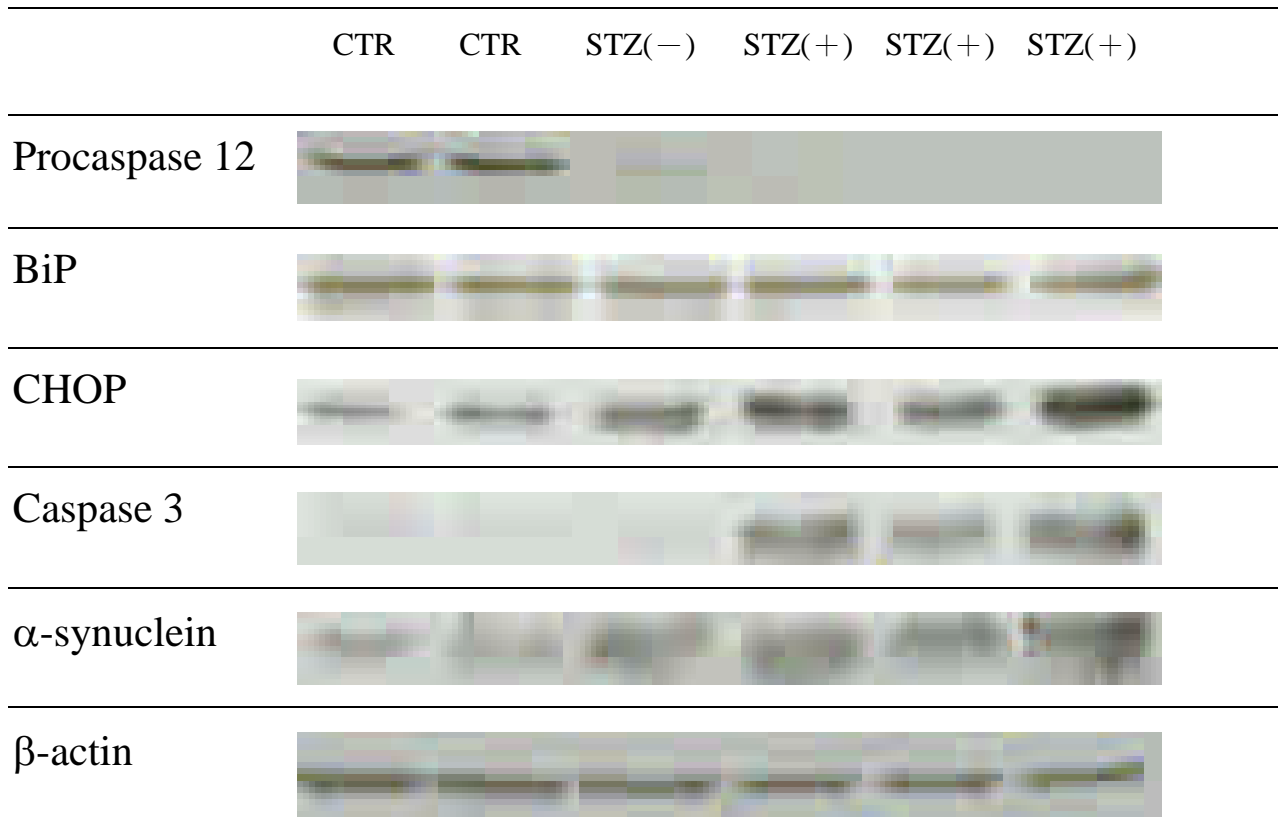
	CTR (n=4)	STZ(L) (n=3)	STZ(H) (n=6)
Body weight (g)	527±23	462±39	389±25*
Blood glucose (mg/dl)	98±3	147±13	365±67*
Time to withdraw paw (sec)	6.8±0.2	6.5±0.3	4.8±0.2*

圖一、血糖對體重圖，顯示血糖越高者其體重越輕



圖二、體重對行為反應時間圖，顯示血糖越高者其反應時間越快



圖三、血糖影響注射 STZ 大白鼠 DRG 細胞凋亡相關蛋白質和 α -synuclein 之表現

玖、參考資料

1. American Diabetes Association <http://www.diabetes.org/home.jsp>
2. Halliwell B. Free Radicals in Biology and Medicine Third edition Oxford university p639-645
3. Campbell N. A., Reece J. B. 生物學(中文版,譯者:鐘楊聰等人) 第六版 美國(臺灣) 偉明圖書有限公司 台灣培生教育出版股份有限公司
4. Duke R. C., Ojcius D. M, and Young J.D.E (1996) Cell Suicide in Health and Disease. Scientific American Special Edition 275: 80, 8p
5. Holtz W.A. and O'Malley K. L. (2003) Parkinsonian mimetics induce aspects of unfolded protein response in death of dopaminergic neurons J. Biol. Chem. 278:
6. 潘咸嘉 (2005) 多酚類化合物對抗興奮性毒性之神經原保護潛力研究 國立陽明大學生物藥學研究所碩士論文 p9-10
7. 盧崇如 (2003) 基隆山藥區分物對大白鼠血糖與血脂之影響 國立台灣大學食品科技研究所碩士論文 p11-24
8. 劉英志 (2005) 細胞凋零死亡過程中, Caspase-3 對酪氨酸去磷酸酶 PTP-PEST 的降解機制及活性調控之探討 p4-13, p40-50

評語

這個研究以大白鼠為實驗模式引發糖尿病，探討和神經退化相關機制，研究結果顯示糖尿病大白鼠在高血糖狀態，其背根神經節細胞具細胞凋亡機制之引發，造成細胞死亡，此研究仍待努力，進行探討高血糖利用何種訊息傳遞路徑引發 caspase12 的活化。