

行政院國家科學委員會專題研究計畫 成果報告

第四型介白素於第二型糖尿病致病機轉中所扮演的角色

計畫類別：個別型計畫

計畫編號：NSC94-2320-B-040-022-

執行期間：94年08月01日至95年07月31日

執行單位：中山醫學大學醫學檢驗暨生物技術學系

計畫主持人：張懿欣

共同主持人：黃建寧

報告類型：精簡報告

報告附件：出席國際會議研究心得報告及發表論文

處理方式：本計畫涉及專利或其他智慧財產權，2年後可公開查詢

中 華 民 國 95 年 10 月 24 日

行政院國家科學委員會專題研究計劃成果報告

第四型介白素於第二型糖尿病致病機轉中所扮演的角色 (3/3)

Role of interleuin-4 in type 2 diabetic pathogenesis (3/3)

計劃編號：NSC94-2320-B-040-022

執行期限：94 年 8 月 1 日至 95 年 7 月 31 日

主持人：張懿欣 中山醫學大學醫學檢驗暨生物技術學系

共同主持人：黃建寧 中山醫學大學附設醫院新陳代謝科

一、中文摘要

糖尿病 (DM) 是常見的內分泌疾病，其致病機轉仍然未知。許多因素可能會導致 DM，其中以和遺傳與環境因子相關的研究最多。本實驗希望以為期 3 年之計劃從遺傳學、細胞與動物模式等角度循序漸進的深入探討 IL-4 在第二型 DM (T2DM) 致病機轉中所扮演的角色。在第一年執行期間(92 年計劃，NSC92-2314-B-040-032)發現 IL-4 啟動子-34 與-589 基因多型性在 T2DM 與健康個體之分佈有顯著差異，而且此兩個位置的對偶基因分佈在此兩種族群差異更為顯著。此外，T2DM 患者與健康個體週邊血液單核細胞 IL-4 的分泌能力有差異。第二年(93 年計劃，NSC93-2314-B-040-025)以藥物誘發糖尿病動物模式的數據顯示具有高 IL-4 分泌能力的 BALB/c 母鼠糖尿病病程發展明顯比低 IL-4 分泌能力的 C57BL/6 母鼠快速；另外在葡萄糖耐受性測試也觀察到受 STZ 處理的 BALB/c 母鼠，胰島素的作用有所損害，無法使血糖值降回正常範圍。本年度計畫則是發現 IL-4 會調控 3T3-L1 纖維母細胞以及脂肪細胞之 MMPs 表現量以及活性，影響細胞正常功能。以上觀察均顯示 IL-4 分泌能力與基因型參與第二型糖尿病病程發展。本計

畫從遺傳學、細胞與動物模式等角度循序漸進的研究不但可了解 IL-4 在第二型 DM 致病機轉中的角色，也提供未來發展糖尿病療法的嶄新線索。

關鍵詞：第四型介白素、第二型糖尿病

Abstract

Diabetes mellitus (DM) is a common endocrine disease with unknown etiology. Many factors can lead to the onset of DM, however, host genetic factors and environmental factors are the focus of discussion. We design to study the role and involvement of IL-4 in type 2 diabetic development in the genetic, animal and cellular study sequentially in this 3-year project. Genotypic and allelic frequencies of IL-4 gene at -34 and -589 polymorphisms were significantly different between T2DM and control subjects (NSC92-2314-B-040-032). Higher IL-4 secreting ability in T2DM subjects was also identified. In the second year (NSC93-2314-B-040-025), BALB/c mice with higher IL-4 secreting ability developed diabetes more rapidly and prominently than

lower IL-4 secreting C57BL/6 mice upon STZ induction. Glucose tolerance in C57BL/6 mice was better than that in BALB/c mice. We found IL-4 can affect normal cell function by regulating MMPs expression and activities in 3T3-L1 fibroblasts and adipocytes. The completion of the genetic, cellular and animal studies sequentially can lead to further understanding of the role of IL-4 T2DM development and provide a putative clue for future designing of type 2 diabetic treatment.

二、緣由與目的

糖尿病(diabetes mellitus)是指胰島素分泌不足或功能作用減低，而引起高血糖的一種慢性的新陳代謝異常疾病¹，發病原因主要是受遺傳基因和環境因素的影響。肥胖、情緒壓力、懷孕、藥物、營養失調、感染或內分泌等因素都會促使糖尿病發病。糖尿病主要分為人體不能自行分泌胰島素的第一型糖尿病和細胞對胰島素反應不佳的第二型糖尿病。第二型糖尿病是一個多因子的疾病，患者的胰臟通常能製造出足夠量或過量的胰島素，但其組織細胞卻抵抗胰島素的作用而不能有效地利用葡萄糖作為能量的來源。

有鑑於第二型糖尿病與許多的發炎前期的細胞激素皆有密切的關聯，因此本研究室著手進行IL-4、IL-6及IL-10等發炎前期的細胞激素之研究。本實驗首先我們在第一年執行期間(92年計劃，NSC92-2314-B-040-032)發現IL-4 啟動子 -34 ($p=0.048$) 與 -589

($p=0.005$)基因多型性在第二型DM與健康個體之分佈有顯著差異，而且此兩個位置的對偶基因分佈在此兩種族群差異更為顯著($p=0.017$ for -34, $p=0.001$ for -589)。此外，我們也在第一年計劃中發現第二型DM患者與健康個體週邊血液單核細胞IL-4的分泌能力有差異。

第二年計畫發現具有高IL-4分泌能力的BALB/c母鼠糖尿病病程發展明顯比具有低IL-4分泌能力的C57BL/6母鼠快速；另外在葡萄糖耐受性測試也觀察到受STZ處理的BALB/c母鼠，胰島素的作用有所損害，無法使血糖值降回正常範圍。以上的觀察均顯示IL-4分泌能力與基因型參與第二型糖尿病病程發展。

本年度計畫則是以3T3-L1纖維母細胞以及脂肪細胞為模式，探討IL-4對3T3-L1之MMPs表現量以及活性的影響。

三、結果與討論

1. IL-4對3T3-L1纖維母細胞MMPs mRNA 表現量的影響

首先探討高濃度葡萄糖環境下，IL-4是否會影響3T3-L1纖維母細胞MMPs的mRNA表現量。因此將細胞培養在高濃度葡萄糖(4.5 g/L)的培養液兩天，分別用IL-4 (100 nM)或高濃度胰島素(100 nM)刺激細胞30分鐘，萃取細胞RNA。結果發現高葡萄糖濃度環境下，只有IL-4才可影響MMP2的mRNA表現量，但有趣的是皆不影響MMP9的mRNA表現量。

2. IL-4對3T3-L1纖維母細胞中MMPs

分泌性蛋白質活性的影響

根據上述IL-4可調控3T3-L1纖維母細胞MMPs mRNA 的表現量，因此接著希望了解IL-4是否也會影響MMPs蛋白質的活性。結果發現高濃度葡萄糖環境下以IL-4前處理30分鐘後再以低濃度胰島素刺激後，3T3-L1纖維母細胞MMP9分泌性蛋白質的活性都有上升的趨勢。

3. 高濃度葡萄糖環境下 IL-4 對 3T3-L1 脂肪細胞中 MMPs mRNA 表現量的影響

首先將3T3-L1纖維母細胞誘導分化成3T3-L1脂肪細胞後，經染色與顯微鏡觀察其細胞內的脂肪油滴，確認分化成功；之後探討高濃度葡萄糖環境下IL-4是否會影響3T3-L1脂肪細胞MMPs的mRNA表現；結果發現3T3-L1脂肪細胞MMP2的mRNA表現量皆有明顯下降的趨勢；而MMP9的mRNA表現量皆有明顯上升的趨勢。

4. 結論

基於以上第一年與第二年的實驗結果，因為第二型糖尿病患與健康對照組之IL-4啟動子基因型有明顯差異，而且第二型糖尿病患之PBMC在經過刺激後的IL-4 RNA與蛋白質分泌能力都比健康對照組高；再加上帶有較高IL-4分泌能力基因型的老鼠不但比帶有較低IL-4分泌能力基因型的老鼠較容易由藥物誘發罹患糖尿病，而且葡萄糖耐受性也較差。而本年度則利用3T3-L1細胞為實驗模式，發現高濃度葡萄糖環境下，IL-4的確會調控MMPs表現量與活性，證實發炎反應

與MMPs系統之間有交互作用。因此綜合上述數據，我們推測帶有較高IL-4分泌能力基因型而IL-4分泌量較高之個體可能是糖尿病的高危險群。

四、計劃成果自評

總而言之，本研究延續了先前IL-4基因多型性的發現，並對IL-4更深入探討。目前研究進度符合計劃中所規劃的研究目的，證實IL-4的基因多型性與第二型糖尿病有顯著相關，並參與第二型糖尿病發病過程與調控胰島素標地細胞-脂肪細胞的MMPs蛋白表現與活性。我們相信本計畫從遺傳學、細胞與動物模式等角度循序漸進的研究不但可使我們了解IL-4在第二型DM致病機轉中的角色，也提供了未來發展糖尿病療法的嶄新線索。進一步證實IL-4在第二型糖尿病中所參與的角色。

五、參考文獻

1. Schuster DP, Duvuuri V. *Clin Podiatr Med Surg* 2002; **19**:79-107.
2. Pickup JC, Crook MA. *Diabetologia* 1998; **41**:1241-1248.
3. Crook MA, Tutt P, Pickup JC. *Diabetes Care* 1993; **16**:57-60.
4. Rosenwasser LJ, Klemm DJ, Dresback JK. *Clin Exp Allergy* 1995; **25**:74.
5. Song Z, Casolaro V, Chen R, Georas SN, Monos D, Ono SJ. *J Immunol* 1996; **156**:424-429.
6. Takabayashi A, Ihara K, Sasaki Y, Kusuhara K, Nishima S, Hara T. *J Hum Genet* 1999; **44**:352-353.