

行政院國家科學委員會專題研究計畫成果報告
大鼠T-淋巴細胞葡萄糖運輸系統胰島素敏感性及其去敏感作用之探討
Studies on the insulin sensitivity and the desensitization of glucose transport system in T-lymphocyte from rat

計畫編號: NSC88-2314-B-040-004

執行期限: 八十八年八月一日至八十九年七月三十一日

主持人: 劉承慈副教授 私立中山醫學院營養科學研究所

一、中文摘要

過去已知高濃度之葡萄糖及穀氨醯氨同時存在下造成胰島素標的(target)組織對胰島素調控之葡萄糖運輸系統(GTS)發生去敏感作用,且可能因而抑制胰島素所調控之其他生理功能。活化之淋巴細胞表現胰島素接受器,且其對葡萄糖之利用受胰島素之調節。此外,胰島素對於活化之淋巴細胞的複製能力具有關鍵性的影響。故本研究以*in vitro*研究方法,觀察活化的T淋巴細胞GTS胰島素敏感性及高濃度葡萄糖與穀氨醯氨對其GTS活性之影響,並觀察這些細胞GTS活性之變化與其複製能力之關係。實驗方法係取大白鼠頸部淋巴結,經密度梯度以 1.077 kg/m^3 溶液離心得到淋巴細胞,將淋巴細胞經24小時concanavalin A (Con A)活化後,以silicon oil-layer技術追蹤 ^3H]2-deoxyglucose運送至胞內的速率測定細胞攝取葡萄糖之速率。並以 $^6\text{-}^3\text{H}$]thymidine併入經Con A活化之細胞DNA之速率做為複製能力指數。

研究結果顯示,雖然活化淋巴細胞之葡萄糖利用率受胰島素之作用而增加,但其葡萄糖運輸系統活性並未受胰島素之影響。另一方面,不論在正常(10 mmol/L)或高(30 mmol/L)濃度葡萄糖濃度下,10 mmol/L 穀氨醯氨之添加均比無穀氨醯氨添加時有較高之細胞GTS活性;且不論有無胰島素存在,高濃度葡萄糖(30 mmol/L)與高濃度穀氨醯氨(10 mmol/L)顯著抑制細胞對葡萄糖之攝取(與正常濃度葡萄糖(10 mmol/L)與高濃度穀氨醯氨(10 mmol/L)相比)。此外,在淋巴細胞的複製功能方面,於固定葡萄糖濃度下(10, 30或50 mmol/L)加入不同濃度穀氨醯氨(0-10 mmol/L),則細胞功能性約在穀氨醯氨濃度0.5~2mmol/L達尖峰,然後隨即下降,且葡萄糖濃度愈高則在愈低的穀氨醯氨濃度即開始下降;而於固定穀氨醯氨濃度下(2, 6或10 mmol/L),隨著葡萄糖濃度之增加(10, 30或50 mmol/L),淋巴細胞之複製率亦隨之降低。

本研究結果指出胰島素對活化之淋巴

細胞葡萄糖代謝調控發生於胞內而非葡萄糖運輸器。且高濃度葡萄糖與高濃度穀氨醯氨可能影響其非胰島素調控之葡萄糖運輸及/或代謝途徑。此外,高濃度葡萄糖與穀氨醯氨在抑制活化之淋巴細胞複製功能上具有協同作用,但此作用與葡萄糖運輸系統活性並無相關性。

關鍵字: 淋巴細胞 穀氨醯氨 葡萄糖 胰島素 葡萄糖運輸系統

英文摘要

Abstract

It has been known for sometime that the presence of high concentrations of both glucose and glutamine desensitizes the glucose transport system (GTS) of insulin target tissues/cells, consequently, the physiological function of these tissues may be affected. Activated lymphocytes express insulin receptor and the utilization of glucose in these cells are regulated by insulin. In addition, insulin plays an crucial role on the proliferative ability of activated lymphocytes. Therefore, the present study carried out an *in vitro* investigation on the sensitivity of GTS in activated T-lymphocytes and the effect of high concentrations of both glucose and glutamine on the activity of this system. The effects of high concentrations of both glucose and glutamine on lymphocyte proliferation were also investigated. Lymphocytes were prepared from rat cervical lymph node by first tear the organ with a stainless steel grinder and the cells released were layered on a density gradient solution ($d=1.077 \text{ kg/m}^3$). The cells were then washed and activated with Con A for 24 h before use for the investigation of GTS activity with ^3H]2-deoxyglucose. The rate of $^6\text{-}^3\text{H}$]thymidine incorporated into Con A activated lymphocytes were determined as the index of proliferative ability of these cells.

Results of the present study show that although insulin regulated the utilization rate of glucose in activated lymphocytes, the transport of glucose into these cells were not affected by insulin. On the other hand, no matter whether normal (10 mmol/L) or high (30 mmol/L) concentration of glucose presence, the addition of glutamine (10 mmol/L) increased the GTS activity in these cells compared to the condition where no glutamine was added. In addition, independently from the action of insulin, the presence of high concentrations of both glucose (30 mmol/L) and glutamine (10 mmol/L) significantly inhibited the uptake of glucose by these cells (compared with cells in the presence of normal concentration of glucose (10 mmol/L) and high concentration of glutamine (10 mmol/L)). Furthermore, in the presence of a certain concentration of glucose (10, 30 or 50 mmol/L), the addition of various concentrations of glutamine (0-10 mmol/L) into the culture medium firstly increased and then decreased the proliferation rate of lymphocytes. Peaks in all investigations appeared at 0.5-2mmol/L of glutamine. The higher concentration of glucose presented, the lower concentration of glutamine was required to start inhibiting the proliferation rate. Similarly, in the presence of a certain concentration of glutamine (2, 6 or 10 mmol/L), the proliferation rate of lymphocytes were suppressed dose-dependently by the concentrations of glucose (10, 30 or 50 mmol/L).

Thus, the results of the present study indicated that insulin regulate the utilization of glucose in activated lymphocytes via intracellular mechanisms rather than via the regulation of GTS. The presence of high concentrations of glucose and glutamine suppresses glucose utilization independently from the action of insulin. Finally, the present study indicated that the suppressing effect of high concentrations of both glucose and glutamine on the function of lymphocytes was independent from the activity of GTS in these cells.

Key words: lymphocyte glutamine glucose insulin glucose transport system

二、緣由與目的

組織對胰島素之抗拒性廣泛存在於血糖控制不良之非胰島素依賴型及胰島素依賴型糖尿病患者[5,7,19]，這形成糖尿病治療上的一大問題。已有許多研究提出造成問題的可能機制[19]，其中之一涉及高血糖本身所誘發之組織胰島素敏感性低下[12,21,22,23]：高血糖造成這些組織發生胰島素與其接受器接合後之作用損害，且此損害與葡萄糖運輸系統(glucose transport system; GTS)之去敏感作用有關。

GTS之去敏感作用是指胰島素促進細胞攝取葡萄糖的作用低下之現象。組織GTS去敏感作用對活體之影響主要在於其造成循環系統之高血糖，而就原先胰島素敏感之組織/細胞而言，則影響其能量利用，故可進一步影響其功能性，例如在糖尿病患之肌肉造成衰弱無力，而本研究所感興趣的是，是否免疫細胞亦受其影響。

過去有關GTS去敏感作用及其機制之研究均是透過對脂肪及肌細胞之觀察所瞭解，其中許多研究提出，於胰島素存在下，高葡萄糖濃度誘發之GTS去敏感作用需氨基酸之協同作用，其中又以穀氨醯氨之作用為最大，穀氨醯氨在胞內與高劑量葡萄糖經六碳醣氨代謝途徑產生之產物在胞內累積會因抑制胰島素與其接受體接合後之二級訊息傳遞進而導致胰島素抗拒性之產生[4,15,16]。

休止狀態之淋巴細胞不具有胰島素接受體，但經抗原或促細胞分裂原之活化之下這些細胞可表現胰島素接受體，且細胞之活化過程會因胰島素之存在而加強[8-11,13,14]。過去有其他學者指出胰島素可促進受激淋巴細胞之能量代謝，使細胞更有效率地進行複製[6]，且受有絲分裂原活化之T-淋巴細胞在胰島素存在下比無胰島素存在下有更高的葡萄糖及氨基酸利用率[2,3,17]。且已知受活化之淋巴細胞對葡萄糖及穀氨醯氨之利用非常迅速，以提供細胞複製所需之能量來源，及合成大分子之前驅物質[1,18]。有學者建議在壓力狀態下，因往往發現血清穀氨醯氨濃度下降，故應對該類對象補充穀氨醯氨之攝取[20]。然而，在壓力狀態下也往往調節血糖增加之激素分泌/活性增加以至於伴隨高血糖狀態之出現，故引起本計畫執行者對於瞭解高量穀氨醯氨與高葡萄糖濃度下可能對免疫細胞造成之傷害的興趣。

本研究之目的係為瞭解經活化之T-淋巴細胞GTS活性是否受胰島素之調控，及在高濃度之葡萄糖及穀氨醯氨同時存在下

，是否影響其GTS之胰島素反應及細胞之複製功能性。本研究希望根據上述觀察瞭解糖尿病患或急性壓力下，患者之免疫功能低下是否部分與淋巴細胞之GTS去敏感作用有關，及過度補充目前被視為具有免疫促進作用之氨基酸—穀氨醯氨，是否會在高葡萄糖濃度下反而有抑制淋巴細胞功能之危險。

三、結果與討論

(一) 胰島素對細胞利用葡萄糖之影響

本研究利用short-term incubation技術[3]觀察不同濃度之胰島素(0, 10, 25及250 ng/mL)對 Con A活化之淋巴細胞的葡萄糖利用率，其結果示於表一。由此結果可知細胞對葡萄糖之利用率呈現胰島素劑量反應，且在胰島素濃度為25 ng/mL時達最大值，此結果與過去其他學者提出之報告相符[24]。

(二) 細胞GTS動力學及胰島素反應

淋巴細胞在以RPMI1640為基的標準培養液中經以Con A活化24小時後，觀察其GTS活性。在視葡萄糖運輸初速率(apparent initial glucose transport rate)之觀察發現攝取速率與觀察時間之間於15分鐘內均有良好的線性，故所有觀察均以此時間進行。

在0, 25或250 ng/mL 胰島素存在下觀察細胞之GTS活性發現其並不受胰之影響(圖一)。此結果顯示，上述之本研究及過去所由其他報導中所提出之胰島素促進活化淋巴細胞葡萄糖攝取的作用可能並非透過對葡萄糖運輸器調節之結果。且由對GTS動力學研究發現，在本研究所觀察之葡萄糖濃度範圍內，細胞對葡萄糖之攝取隨葡萄糖濃度之增加而增加且其Km及Vmax值不論胰島素存在與否均相似(圖二)，說明了活化淋巴細胞之GTS的確不受胰島素之調控。因目前已知在GTS之transporter家族中只有GLUT4受胰島素調節[25]，故推測活化之淋巴細胞不表現此transporter。過去其他學者之研究曾發現未活化之淋巴細胞表現GLUT 2及GLUT 3，而在經PHA活化之淋巴細胞會表現出GLUT1[26]。然而，本研究及過去其他學者均發現活化之淋巴細胞受胰島素作用增加對葡萄糖之利用，因此可推論胰島素之此一作用應係對胞內之代謝調節而非調節葡萄糖攝取之步驟。例如，Curto等人指出，胰島素可活化淋巴細胞中丙酮酸去氫酶複

合體，而此酵素複合體為丙酮酸進入Krebs循環之速率限制酵素，在細胞代謝過程中扮演重要角色[27]。另外，亦有學者指出胰島素也可活化淋巴細胞中glycerol-3-phosphate dehydrogenase活性，促進甘油醇-3-磷酸產生，而進一步合成三酸甘油酯[28]。由於此二酵素參與葡萄糖之能量代謝作用，故胰島素對於活化淋巴細胞之葡萄糖利用的作用可能與這些酵素有關。

(三) 高濃度葡萄糖與穀氨醯氨對GTS之影響

淋巴細胞經Con A活化後，培養於RPMI-1640為基礎之標準培養液中，添加250 ng/ml之胰島素及1%BSA。分別於含不同濃度之葡萄糖及穀氨醯氨培養液中(各組濃度條件如結果所示)預培養6 hr，然後觀察細胞之葡萄糖運輸速率。其結果示於圖三。添加10 mmol/L穀氨醯氨與無穀氨醯氨相較可促進細胞之葡萄糖運輸($P < 0.05$)，但在此濃度之穀氨醯氨下，若將葡萄糖濃度由正常生理範圍之10 mmol/L提高至30 mmol/L，則顯著抑制細胞之葡萄糖運輸速率。因為活化淋巴細胞的GTS對胰島素無敏感性(如上述)故此結果顯示高濃度葡萄糖與穀氨醯氨對於非胰島素調控之GTS亦有抑制作用，其機制有待未來更進一步探討。

(四) 高濃度葡萄糖與穀氨醯氨對細胞複製能力之影響

本研究以 $[^3\text{H}]$ thymidine併入細胞之方法觀察高葡萄糖及高穀氨醯氨濃度對淋巴細胞功能性之影響。結果示於圖四、五、六及七。由圖可知，淋巴細胞在添加不同濃度之穀氨醯氨後，其 $[^3\text{H}]$ thymidine併入細胞量較無添加時有顯著增加($P < 0.05$)。Rohde等人觀察到PHA活化下，在穀氨醯氨濃度0.3~1.0 mmol/L時，其thymidine併入細胞量會增加，但當濃度提高到20 mmol/L時則與未添加時無顯著差異[29]，與本實驗以Con A活化觀察到的結果相似。且本研究發現當提高葡萄糖濃度時，穀氨醯氨會在較低的濃度下開始抑制淋巴細胞之功能，這顯示此二受質影響淋巴細胞功能之協同作用。本研究亦進一步以細胞數目及蛋白質含量確認此結果的確是DNA複製之作用所造成而非增加DNA修補之結果。由以上可知，適量穀氨醯氨的確可增加T-淋巴細胞之複製功能，但過量時，特別是伴隨有葡萄糖濃度升高時，其功能反而受到抑制。

Traxinger及Marshall等人研究指出,在脂肪細胞中,給予高濃度高葡萄糖及高穀氨醯氨時,此二分子可形成glucosamine,細胞中glucosamine之堆積會抑制胰島素二級訊息傳遞[30]。本研究結果之前半部證實活化之淋巴細胞GTS並不受此訊息系統之影響,因而高葡萄糖及高穀氨醯氨濃度可能尚影響非胰島素調節之代謝作用。至於其對淋巴細胞功能之影響是否是因此一訊息系統受到抑制亦有待進一步觀察。同時亦有必要瞭解是否活化之淋巴細胞中存在可形成glucosamine之代謝途徑,此途徑之關鍵酵素GFAT是否存在淋巴細胞中及抑制其活性是否可逆轉高葡萄糖及高穀氨醯氨濃度所引起的淋巴細胞功能之抑制作用將是未來亟需加以釐清的,將有助於瞭解穀氨醯氨之補充在活化之淋巴細胞中的其他角色。

四、計畫成果自評

本計畫最初預計完成之工作項目包括:(1)活化淋巴細胞之GTS動力學;(2)活化淋巴細胞GTS之胰島素敏感性;(3)高濃度葡萄糖與穀氨醯氨對活化淋巴細胞GTS之影響;(4)高濃度葡萄糖與穀氨醯氨對活化淋巴細胞複製功能之影響。估計完成百分之九十。雖然,根據本研究結果可能推翻部分實驗假說,即活化之淋巴細胞GTS受胰島素調控。因無此調控作用,故不存在GTS胰島素反應之去敏感性的問題。然而,本研究結果仍具有許多提供更進一步之基礎及臨床或動物活體實驗之價值。過去其他學者對於高濃度葡萄糖與穀氨醯氨對胰島素標的細胞造成之影響歸因於此二代謝受質之產物—glucosamine在胞內堆積,因而抑制胰島素二級訊息傳遞。本研究結果之前半部證實活化之淋巴細胞GTS並不受此訊息系統之影響,因而高葡萄糖及高穀氨醯氨濃度顯然尚影響非胰島素調節之葡萄糖運輸/代謝作用。至於其對淋巴細胞功能之影響是否是因此一訊息系統受到抑制亦有待進一步觀察。同時亦有必要瞭解是否活化之淋巴細胞中存在可形成glucosamine之代謝途徑,此途徑之關鍵酵素GFAT是否存在淋巴細胞中及抑制其活性是否可逆轉高葡萄糖及高穀氨醯氨濃度所引起的淋巴細胞功能之抑制作用。

而根據本研究結果所顯示細胞活性受到高葡萄糖及高穀氨醯氨濃度之協同作用而抑制,故未來應觀察在糖尿病或壓力(例如急性發炎)下長期及/或高劑量補充穀氨醯氨對免疫細胞功能可能造之負面影

響,以瞭解對病患補充含高劑量穀氨醯氨營養劑之安全性。

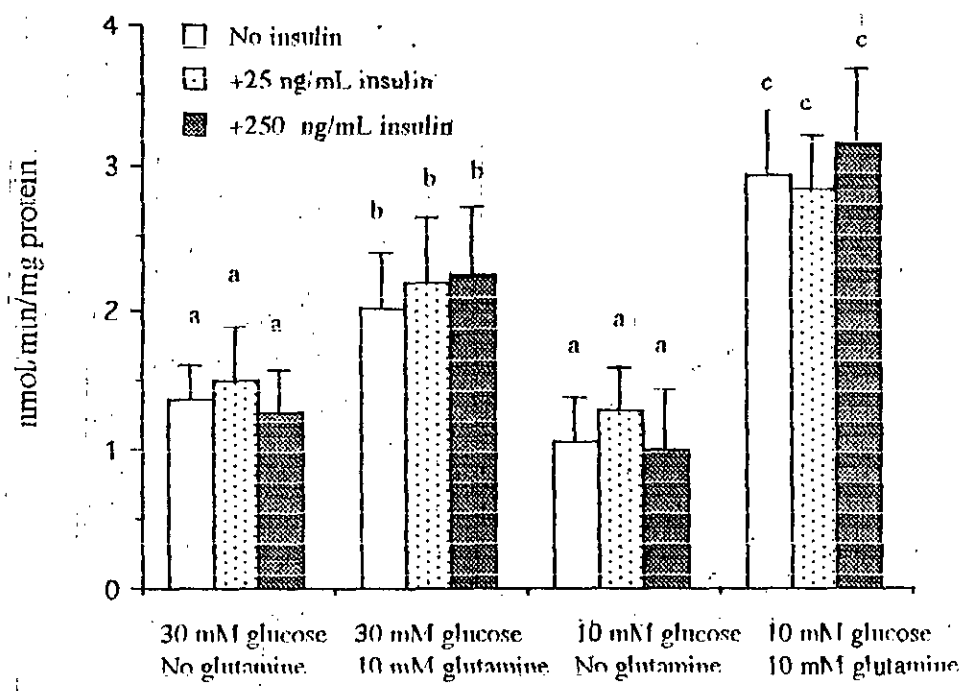
參考文獻

1. Ardawi, M.S.M. and Newsholme, E.A. 1982. Maximum activities of some enzymes of glycolysis, the tricarboxylic acid cycle ketone-body and glutamine utilization pathways in lymphocytes of the rat. *Biochem. J.* 208, 743.
2. Ardawi, M.S.M. and Newsholme, E.A. 1983. Glutamine metabolism in lymphocytes of the rat. *Biochem. J.* 212, 835.
3. Ardawi, M.S.M. and Newsholme, E.A. 1985. Metabolism in lymphocytes and its importance in the immune response, *Essays Biochem.* 21, 1.
4. Baron, A.D., Zhu, J-S., Zhu, J-H., Welldon, H., Maianu, L., and Garvey, W.T. 1995. Glucosamine induces insulin resistance in vivo by affecting GLUT4 translocation in skeletal muscle. *J. Clin. Invest.* 96, 2792.
5. Bergman, R.N., Finegood, D.T. and Ader, M. 1985. Assessment of insulin sensitivity in vivo. *Endocrin Rev.* 1, 45.
6. Burde, D.J., Alverdy, J.C., Aoy, E. and Moss, G.S. 1989. Glutamine-supplemented total parenteral nutrition improves gut immune function. *Arch. Surg.* 124, 1396.
7. DeFronzo, R.A., Hendler, R. and Simonson, D. 1982. Insulin resistance is a prominent feature of insulin dependent diabetes. *Diabetes*, 31, 795.
8. Helderman, J.H. and Strom, T.B. 1977. Emergence of insulin receptors upon alloimmune T cells in the rat. *J. Clin. Invest.* 59, 338.
9. Helderman, J.H. and Strom, T.B. 1978. The specific insulin binding site on T and B lymphocytes: a marker of cell activation. 274, 62.
10. Helderman, J.H. and Strom, T.B. 1979. Role of protein and RNA synthesis in the development of insulin binding sites on activated thymic derived lymphocytes. *J. Biol. Chem.* 254, 7203.
11. Helderman, J.H., Strom, T.B. and Garovoy, M.R. 1981. Rapid mixed lymphocyte culture testing by analysis of the insulin receptor on alloactivated T lymphocytes. *J. Clin. Invest.* 67, 509.

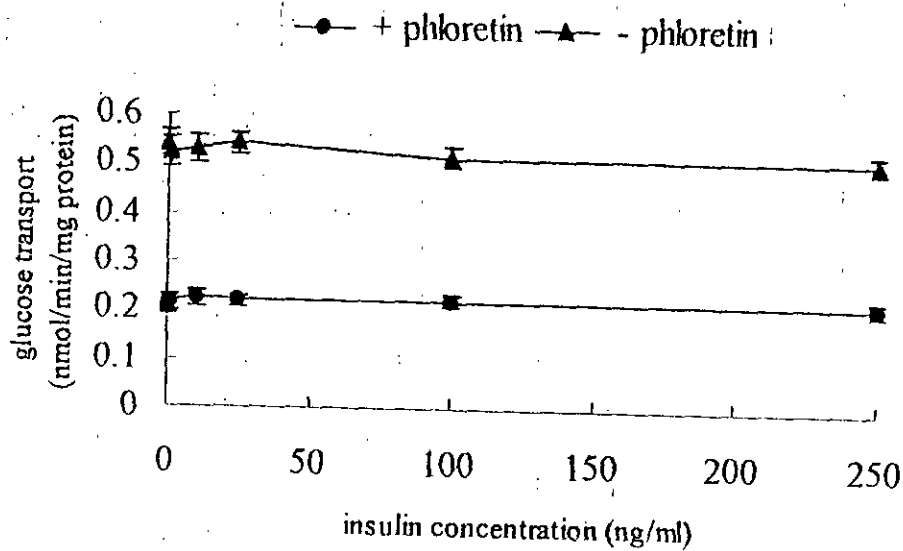
12. Imamura, T., Koffler, M. and Helderman, J.G. 1988. Severe diabetes induced in subtotally depancreatized dogs by sustained hyperglycemia. *Diabetes*. 37, 600.
13. Kamagai, J-I., Akiyama, H., Iwashita, S., Iida, H. and Yahara, I. 1981. In vitro regeneration of resting lymphocytes from stimulated lymphocytes and its inhibition by insulin, *J. Immunol.* 126, 1249.
14. Drug, U., Krug, F. and Cuatrecasas, P. 1972. Emergence of insulin receptors on human lymphocytes during in vitro transformation. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 69, 2604.
15. Marshall, S., Bacote, V. and Tranxinger, R.R. 1991. Discovery of a metabolic pathway mediating glucose-induced desensitization of the glucose transport system. *J. Biol. Chem.* 266, 4706.
16. Marshall, S., Garvey, W.T. and Tranxinger, R.R. 1991. New insights into the metabolic regulation of insulin action and insulin resistance: role of glucose and amino acids. *FASEB J.* 5, 3031.
17. McKeehan, W.L. 1982. Glycolysis, glutaminolysis and cell proliferation. *Cell Bio. Int. Rep.* 6, 635.
18. Newsholme, E.A., Crabtree, B. and Ardawi, M.S.M. 1985. The role of high rate of glycolysis and glutamine utilization in rapidly-dividing cells. *Biosci. Rep.* 4, 393.
19. Olefsky, J.M. and Molina, J.M. 1991. Insulin resistance in man. In "Ellenberg and Rifkin's Diabetes Mellitus Theory and Practice" 4th ed. By Rifkin, H. and Prte, D. Elsevier, pp. 121-153.
20. Parry-Billings, M., Evans, J., Calder, P. and Newsholme, E.A. 1990. Does glutamine contribute to immunosuppression after major burns? *Lancet*, 336, 523.
21. Revers, R.R., Kolterman, O.G. and Scarlett, J.A. 1984. Lack or in vivo insulin resistance in controlled insulin-dependent, type I, Diabetic patients. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 58(2), 353.
22. Yki-Jarvinen, H. 1992. Glucose toxicity. *Endocr. Rev.* 13, 415.
23. Yki-Javinen, H., Helve, E. and Koivisto, V.A. 1987. Hyperglycemia decreases glucose uptake in type I diabetes. *Diabetes* 36, 892.
24. Helderman, J.H. 1981. Role of insulin in the intermediary metabolism of the activated thymic-derived lymphocyte. *J. Clin. Invest.* 67, 1636.
25. Ghoult, G.W. and Holman, G.D. 1993. The glucose transporter family: structure, function and tissue-specific expression. *Biochem. J.* 295, 329.
26. Chakrabarti, R., Jung, C.Y., Lee, T.P., Liu, H. and Mookerjee, B.K. 1994. Changes in glucose transport and transporter isoforms during the activation of human peripheral blood lymphocytes by phytohemagglutinin. *J. Immunol.* 152, 2660.
27. Curto, M., Piccinini, M., Marino, C., Mostert, M., Bruno, R. and Rinaudo, M.T. 1990. Pyruvate dehydrogenase activation by insulin in human circulating lymphocytes and the possible pathway involved. *Int. J. Biochem.* 22, 99.
28. Tu, K.Y., Ju, H.S., Pettit, F., Sheve, W., Toek, N.H., Matthews, R. and Matthews, K. 1995. Glycerol-3-phosphate dehydrogenase activity in human lymphocytes: effects of insulin, obesity and weight loss. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 207, 183.
29. Rohde, T., Maclean, D.A. and Klarlund, P. 1996. Glutamine, lymphocyte proliferation and cytokine production. *Scand. J. Immunol.* 44, 648.
30. Traxinger, R.R. and Marchall, S. 1990. Suitability of 2-deoxyglucose for measuring initial rates of glucose uptake in isolated adipocytes. *Biochem. Int.* 22, 607.

表一、活化之淋巴細胞培養液中添加胰島素對其葡萄糖利用率之影響

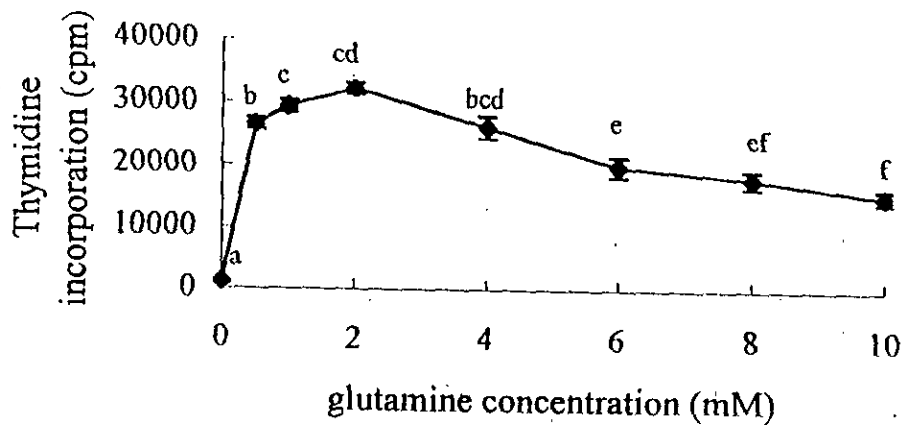
添加胰島素濃度	葡萄糖利用率及乳酸生成率(nmol/h/mg protein)	
ng/mL	葡萄糖利用率	乳酸生成率
0	-523.5±52.3 ^a	+1086±63 ^a
10	-517.4±20.3 ^a	+1153±80 ^a
25	-836.2±9.71 ^b	+1357±74 ^b
250	-793.8±74.5 ^b	+1238±87 ^b



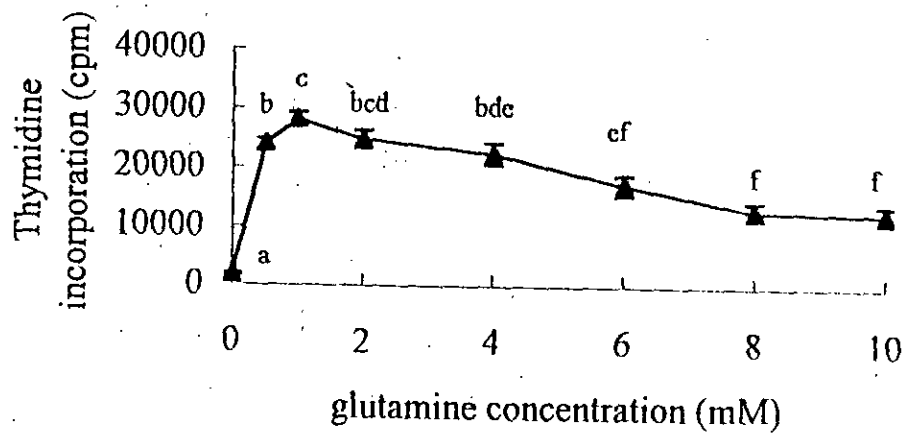
圖一、不同胰島素濃度對於活化淋巴細胞葡萄糖運輸速率之影響。初代淋巴細胞經以Con A活化24 hr後，在不同胰島素濃度(0, 1, 10, 25, 100, 250 ng/mL)下培養30分鐘後，加入含 $[^3\text{H}]2\text{-deoxyglucose}$ 之培養液，觀察細胞葡萄糖運輸初速率。-phloretin表示總葡萄糖運輸初速率，未扣除經phloretin抑制下的速率；+phloretin表示已經扣除非經transporter運輸之淨葡萄糖運輸初速率。數據表示法為平均值±標準差。不同胰島素濃度間無顯著差異。



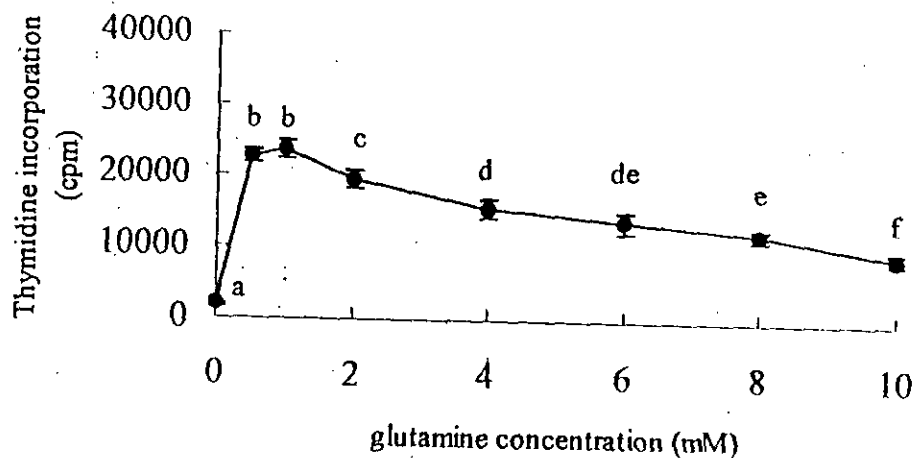
圖三、不同葡萄糖與穀氨醯氨濃度對活化淋巴細胞葡萄糖運輸初速率之影響。初代淋巴細胞經以Con A活化24 hr後，各組以圖中所示四組不同葡萄糖與穀氨醯氨濃度之培養液預培養6 hr。然後清洗細胞並於不同胰島素濃度(0, 25, 250 ng/mL)下培養30分鐘後，加入含 $[^3\text{H}]2\text{-deoxyglucose}$ 之培養液，觀察細胞葡萄糖運輸初速率。此圖結果已扣除經phloretin抑制下之葡萄糖運輸速率。數據表示法為平均值±標準差。同一胰島素濃度下a, b, c符號不同者表數據間有顯著差異($P < 0.05$)。



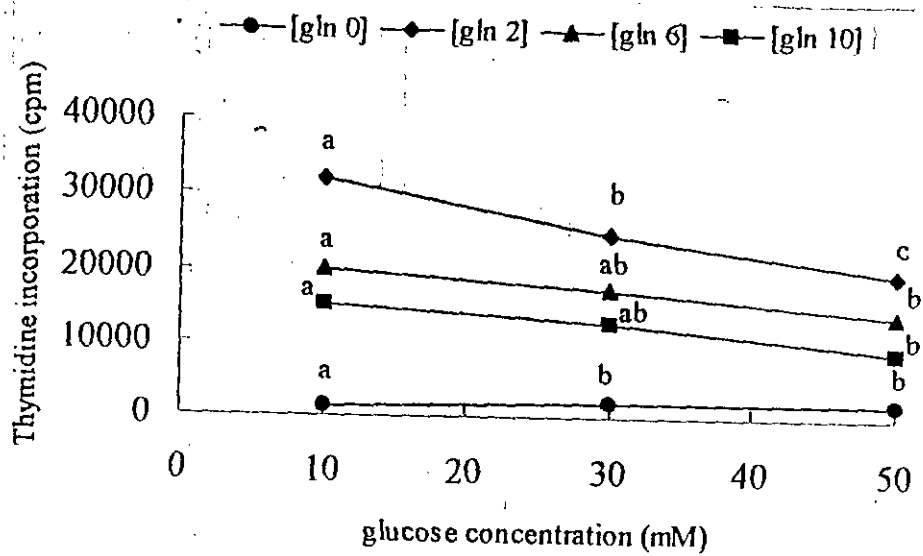
圖四、於10 mmol/L葡萄糖濃度下添加不同濃度穀氨醯氨之淋巴細胞複製率。細胞培養於96孔盤中，每孔含 5×10^5 個細胞，培養液以RPBI-1640為基質，其中含有10% FBS，1%抗生素，另外添加0至10 mmol/L穀氨醯氨。培養48 hr後加入 $[6-^3\text{H}]$ thymidine再繼續培養18 hr。收細胞測 ^3H 併入細胞內之量以cpm表示。數據表示法為平均值±標準差。a, b, c, d, e, f符號不同者表數據間有顯著差異($P < 0.05$)。



圖五、於30 mmol/L葡萄糖濃度下添加不同濃度穀氨醯氨之淋巴細胞複製率。細胞培養於96孔盤中，每孔含 5×10^5 個細胞，培養液以RPBI-1640為基質，其中含有10% FBS，1%抗生素，另外添加0至10 mmol/L穀氨醯氨。培養48 hr後加入 $[6-^3\text{H}]$ thymidine再繼續培養18 hr。收細胞測 ^3H 併入細胞內之量以cpm表示。數據表示法為平均值±標準差。a, b, c, d, e, f符號不同者表數據間有顯著差異($P < 0.05$)。



圖六、於50 mmol/L葡萄糖濃度下添加不同濃度穀氨醯氨之淋巴細胞複製率。細胞培養於96孔盤中，每孔含 5×10^5 個細胞，培養液以RPBI-1640為基質，其中含有10% FBS, 1%抗生素，另外添加0至10 mmol/L穀氨醯氨。培養48 hr後加入 $[6-^3\text{H}]$ thymidine再繼續培養18 hr。收細胞測 ^3H 併入細胞內之量以cpm表示。數據表示法為平均值±標準差。a, b, c, d, e, f符號不同者表數據間有顯著差異($P < 0.05$)。



圖七、於不同穀氨醯氨濃度下添加不同濃度葡萄糖之淋巴細胞複製率。曲線 [gln 0] 表示穀氨醯氨濃度為 0，曲線 [gln 2] 表示穀氨醯氨濃度為 2 mmol/L，曲線 [gln 6] 表示穀氨醯氨濃度為 6 mmol/L，曲線 [gln 10] 表示穀氨醯氨濃度為 10 mmol/L。數據取自圖四、五、六。a, b, c 符號不同者表數據間有顯著差異 ($P < 0.05$)。