

慢性间歇性缺氧条件下大鼠胰岛功能与 mTOR 通路相关蛋白表达的变化

裴 静,姚 蒙,焦 成,张敏娟,殷 敏*,程 雷

(南京医科大学第一附属医院耳鼻喉科,江苏 南京 210029)

[摘要] 目的:探讨慢性间歇性低氧(chronic intermittent hypoxia, CIH)条件下哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)及相关通路激活对大鼠胰岛 β 细胞增殖的影响及可能机制。方法:24只成年雄性SD大鼠按随机数字法平均分为两组。CIH组通过低氧舱造模,低氧条件(60 S/N₂, 60 S/空气,交替充入,保证舱内氧气浓度在5%~21%之间波动,每天8:30~16:30,共35 d)。酶联免疫法检测两组血糖、血清胰岛素水平并计算胰岛素抵抗指数(HOMA-IR)和 β 细胞胰岛素分泌功能(HOMA- β)。口服葡萄糖法检测两组大鼠糖耐量,免疫荧光法检测胰岛 β 细胞增殖情况,免疫印迹法检测胰腺组织 mTOR 及通路相关蛋白指标表达。结果:与对照组相比,CIH组大鼠空腹血糖、血清胰岛素水平及胰岛素抵抗指数升高($P < 0.01$);葡萄糖耐量、胰岛 β 细胞功能降低($P < 0.05$);ki67染色阳性的 β 细胞约增加了5倍;胰腺组织 mTOR 通路相关蛋白激活。结论:CIH条件下大鼠发生胰岛素抵抗、葡萄糖耐量降低、胰岛 β 细胞功能下降,而 mTOR 相关通路的激活可能在胰岛 β 细胞增殖中发挥作用。

[关键词] 慢性间歇性低氧(CIH);胰岛 β 细胞;细胞增殖;哺乳动物雷帕霉素靶蛋白

[中图分类号] R767.13

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2014)07-915-06

doi: 10.7655/NYDXBNS20140712

Changes of rat islet function and mammalian target of rapamycin pathway related protein expression under chronic intermittent hypoxia

Pei Jing, Yao Men, Jiao Cheng, Zhang Minjuan, Yin Min*, Chen Lei

(Department of Otolaryngology, the First Affiliated Hospital of NJMU, Nanjing 210029, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effect and possible mechanism of mammalian target of rapamycin (mTOR) protein and its related pathway on islet β cell proliferation in rats with chronic intermittent hypoxia (CIH). **Methods:** Twenty-four adult male Sprague-Dawley (SD) rats were randomly divided into two groups (the CIH group and the control group). The CIH group was fed in low oxygen cabins (60 s/N₂ and 60 s/air alternately, oxygen concentrations between 5% and 21%, between 8:30~16:30 each day) for 35 days. We detected blood glucose and serum insulin levels by ELISA and calculated the insulin resistance index (HOMA-IR) and β cell insulin secretory function (HOMA- β) of the two groups. Glucose tolerance was evaluated by oral glucose tolerance test. The proliferation of pancreatic β cells was tested by immunofluorescence assay and mTOR and related pathway protein expressions were tested by Western blotting assays. **Results:** The fasting blood glucose, serum insulin levels and insulin resistance index increased ($P < 0.01$), while glucose tolerance and pancreatic β -cell function decreased ($P < 0.05$), in comparison with the control group. The number of ki67 positive β cells increased about five-fold while the mTOR related pathway protein expression of pancreatic tissues was activated. **Conclusion:** The rats in CIH condition showed insulin resistance, glucose tolerance impairment and pancreatic β -cell dysfunction; meanwhile, the activated mTOR pathway may play an important role in pancreatic β -cell proliferation.

[Key words] chronic intermittent hypoxia; islets β cell; cell proliferation; mammalian target of rapamycin

[Acta Univ Med Nanjing, 2014, 34(07):915-920]

[基金项目] 南京医科大学第一附属医院创新团队基金(IRT-16),教育部留学回国人员科研启动基金(20101174)

*通信作者 (Corresponding author), E-mail: simisodo@hotmail.com

阻塞性睡眠呼吸暂停综合征 (obstructive sleep apnea syndrome, OSAS)在正常成人中发病率为2%~4%^[1],以睡眠过程中反复发生上气道阻塞为特点,导致呼吸暂停和睡眠片段化^[2],从而引发一系列并发症,如糖尿病、高血压等^[3-4]。临床调查研究显示在

OSAS人群中胰岛素抵抗、糖耐量异常、糖尿病发生率显著增加,而OSAS被认为是2型糖尿病发生的独立危险因素^[5]。我国的研究亦显示在成年人人群中OSAS患者糖尿病发生率明显高于普通人群^[6]。

慢性间歇性低氧(chronic intermittent hypoxia, CIH)模型是用来探索OSAS病理生理机制最常用的模型。研究显示FVB小鼠在经过仅4d的间歇低氧暴露后,就发生了胰岛素抵抗和明显的氧化应激反应,胰岛 β 细胞凋亡及增殖均明显增加,研究者认为间歇性低氧条件下胰岛 β 细胞凋亡增多主要与胰腺对氧化应激的高度敏感性有关,同时研究者观察到低氧后胰岛 β 细胞中细胞周期蛋白D2表达明显增多,但关于间歇性低氧条件下胰岛 β 细胞增殖的具体机制仍不清楚^[7]。近来有研究者用C57BL/6J小鼠慢性间歇性低氧研究发现低氧条件下胰岛 β 细胞增殖可能与雷帕霉素靶蛋白低氧诱导因子1/血管内皮生长因子A有关^[8]。

哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)属非典型丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶, mTOR以两种复合体形式存在: mTORC1和mTORC2。mTOR信号通路在进化上高度保守,能整合生长因子、能量、营养等多种细胞外刺激,参与细胞内多种信号通路的调节。mTORC1信号通路被认为是一个调节细胞周期和细胞生长的信号汇聚点,在基因转录、蛋白质翻译、核糖体合成等过程中发挥重要作用,对细胞增殖、生长分化起中心调控作用^[9]。mTORC2可激活AKT蛋白激酶,通过葡萄糖转运体4(GluT4)促使肌肉等组织摄取葡萄糖,同时还可能通过调节胰岛素受体底物1(IRS-1)调节胰岛素信号通路^[10]。mTOR信号通路亦与内质网应激、氧化应激等信号通路交叉相连。

本研究拟通过CIH大鼠模型探讨间歇性低氧条件下大鼠胰岛 β 细胞增殖的可能机制及与mTOR信号通路的关系。

1 材料和方法

1.1 材料

大鼠胰岛素ELISA试剂盒(ALPCO公司,美国),胰岛素抗体、eIF4E、山羊抗豚鼠IgG抗体(Abcam公司,英国),ki67、AKT、p-AKT、mTOR、S6、p-S6、 β -actin抗体(CST公司,美国),浓缩型SABC-Cy3(兔IgG)试剂盒(武汉博士德),凝胶试剂盒(杭州碧云天),细胞浆细胞核蛋白抽提试剂盒(南京凯基)。XF-YC06-T型低氧舱(南京新飞分析仪器制造

有限公司),血糖生化分析仪、酶标仪(Bio-Rad,美国),荧光倒置显微镜(Carl ZEISS公司,德国)。

1.2 方法

1.2.1 动物模型

24只8周龄清洁级健康成年雄性SD大鼠,体重190~220g,由江苏省实验动物中心提供。按随机数字法均分为对照组(Control组)和间歇性低氧组(CIH组)。Control组在常压、空气环境培养舱中饲养,自由进食、水。CIH组在低氧舱中饲养,低氧条件(60 s/ N_2 , 60 s/空气,交替充入,保证舱内氧气浓度在5%~21%之间波动),自由进食、水。保持饲养室内恒温恒湿。低氧时间为每天8:30~16:30,持续35d。本实验方案由南京医科大学实验动物伦理委员会批准。

1.2.2 口服糖耐量测试

CIH结束前一晚12:00开始禁食,最后1d间歇性低氧处理结束后立即按2g/kg体重行葡萄糖灌胃,断尾采血法分别测0、15、30、60、90、120min血糖。

1.2.3 实验取材和标本保存

CIH结束后取材前晚大鼠禁食12h以上,2%戊巴比妥钠按4mg/100g体重腹腔麻醉,固定。负压管心尖采血,室温放置2h以上,4℃离心机3000r/min离心15min,分装血清-20℃保存备用。生理盐水进行心脏灌流至流出液澄清时迅速打开腹腔,取2块适当大小的胰腺组织(尽量取胰腺尾部)放入4%多聚甲醛固定液中48h以上进行石蜡包埋。剩余胰腺组织迅速分装放入冻存管投入液氮中保存备用。

1.2.4 血清胰岛素和血糖水平检测

血清胰岛素水平用酶联免疫分析法(ELISA)检测。取预先分装保存的大鼠血清,按ELISA试剂盒说明书步骤进行,完成后在酶标仪上450nm波长处检测,计算血清胰岛素水平。取分装好的血清送医院检验科进行血糖水平检测。

根据上述得到的大鼠空腹血糖、血清胰岛素水平,按照稳态模式评估法计算胰岛素抵抗指数(HOMA-IR)和 β 细胞胰岛素分泌功能(HOMA- β)。HOMA-IR=空腹血糖水平(FPG, mmol/L)×空腹胰岛素水平(FINS, mU/L)/22.5,正常个体的HOMA-IR指数为1,随着胰岛素抵抗水平的升高,HOMA-IR指数将高于1。HOMA- β =20×空腹胰岛素水平(FINS, mU/L)/[空腹血糖水平(FPG, mmol/L)-3.5],100表示胰岛 β 细胞功能正常,降低表示胰岛 β 细胞功能降低,升高表示胰岛 β 细胞功能增强。

1.2.5 胰岛 β 细胞增殖水平检测(ki67+胰岛素双染)

取预先包埋好的胰腺组织石蜡包埋块进行组织切片,厚约 4 μm ,进行 HE 染色,直至看到形态完整的胰岛。把切片放入 65 $^{\circ}\text{C}$ 烘箱中过夜,然后二甲苯、梯度酒精脱蜡至水化,柠檬酸盐缓冲液微波抗原修复,用 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 蛋白酶 K 室温预处理 15 min 增加样本通透性,正常山羊血清封闭 30 min,TBS 漂洗,加入胰岛素一抗 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜,TBS 漂洗 3 次,山羊抗豚鼠二抗 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 30 min,TBS 漂洗 3 次,加入 ki67 抗体 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 1 h,TBS 漂洗 3 次,加入生物素化抗兔二抗 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 30 min,TBS 漂洗 3 次,加入 SABC-Cy3 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 30 min,TBS 漂洗 3 次(所有操作在暗盒中进行,实验过程中保持样本湿润,尽量减少光照)。加入 1 滴 DAPI 在荧光倒置显微镜下观察,ki67 染色阳性 β 细胞(细胞核红色),胰岛素染色 β 细胞(细胞浆绿色)。分别计算两组 β 细胞增殖率(每组随机选择 7 只大鼠,每只做 2 张切片,分别计数 ki67 染色阳性 β 细胞及对应的总 β 细胞数),比较对照组和缺氧组细胞增殖率。图像原始放大倍数 200 倍。

1.2.6 两组大鼠胰腺组织 AKT、p-AKT、mTOR、eIF4E、S6、p-S6 蛋白水平表达

取 50 mg 新鲜胰腺组织放入 0.5 ml 预冷的 Lysis Buffer (其中加入 5 μl 磷酸酶抑制剂,1 μl 蛋白酶抑制剂和 10 μl 100 mmol/L PMSF),匀浆器进行低速匀浆(冰上操作),静置数分钟离心,分别提取细胞浆和细胞核蛋白,测蛋白含量(BCA 法),加入上样缓冲液煮沸,分装保存。根据目的蛋白分子量配制 8%或 10%凝胶,按 Western blot 步骤进行电泳,转膜,5%脱脂奶粉封闭 2 h,按比例稀释一抗

(4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜),TBST 缓冲液摇床上漂洗 3 次,每次 5~10 min,根据不同的一抗加入相应的按比例稀释的二抗(37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 1 h),TBST 缓冲液摇床上漂洗 3 次,每次 5~10 min,按比例配制发光液,X 线片曝光显影。一抗主要有 AKT、p-AKT、mTOR、eIF4E、S6、p-S6 抗体。

1.3 统计学方法

ki67 染色阳性细胞,核密度等用 Adobe Photoshop CS5 计数及比较;Western blot 蛋白表达结果用 Image Lab 软件灰度值半定量;实验数据采用 SPSS18.0 统计软件进行分析,数据以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两组间比较采用独立样本 t 检验, $P \leq 0.05$ 认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 血清葡萄糖、胰岛素含量及 HOMA-IR、HOMA- β

实验后与 Control 组相比,CIH 组大鼠空腹血糖、胰岛素升高,并发生明显胰岛素抵抗,同时伴胰岛 β 细胞功能减低(表 1)。

2.2 口服糖耐量实验

行葡萄糖灌胃后约 30 min 两组大鼠血糖都达到一个高峰,但 CIH 组血糖平均值更高。灌胃 2 h 后 Control 组大鼠血糖基本恢复正常,而 CIH 组大鼠血糖明显升高。由口服糖耐量结果趋势可看出 CIH 组大鼠糖耐量明显减低(表 2)。

2.3 两组大鼠胰岛 β 细胞增殖比较

ki67 染色显示 CIH 组大鼠胰岛 β 细胞增殖明显增多,与 Control 组相比约升高了 5 倍(图 1A)。胰岛素染色阳性细胞面积统计亦提示 CIH 组大鼠胰岛素染色阳性面积明显增高,与 Control 组相比约升

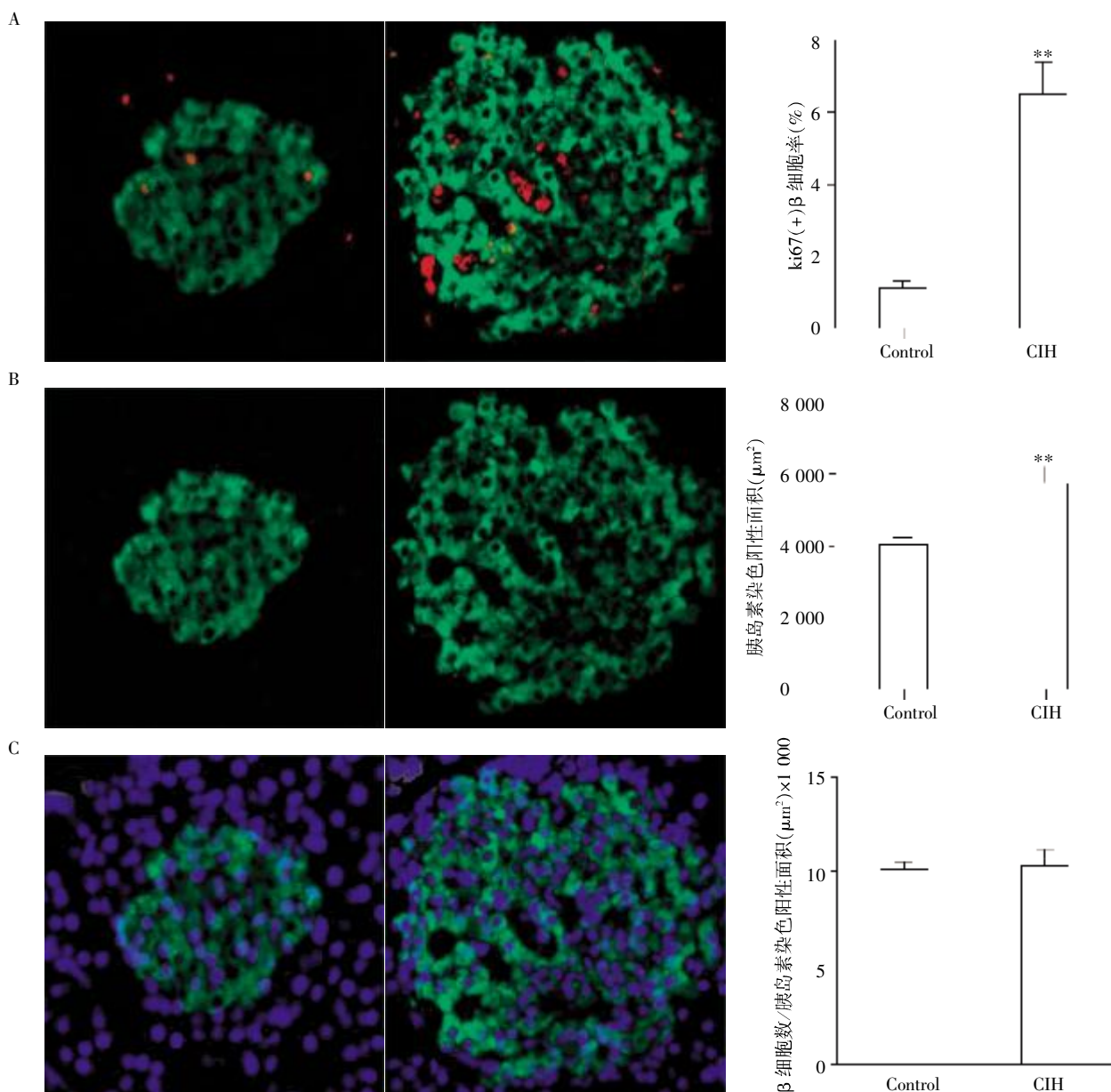
表 1 两组大鼠血清葡萄糖、胰岛素含量及胰岛素抵抗指数、胰岛 β 细胞功能比较

观察指标	Control 组	CIH 组	t 值	P 值
血糖 (mmol/L)	4.94 \pm 1.26	5.82 \pm 1.33	-5.803	0.000
胰岛素 (mU/L)	7.29 \pm 0.94	10.38 \pm 1.29	-4.886	0.003
HOMA-IR	1.60 \pm 0.14	2.69 \pm 0.48	-4.934	0.001
HOMA- β	101.38 \pm 7.07	89.80 \pm 6.03	2.787	0.024

表 2 两组大鼠口服糖耐量实验比较

组别	0 min	15 min	30 min	60 min	90 min	120 min
Control 组	4.25 \pm 0.98	6.08 \pm 1.31	8.57 \pm 1.65	7.48 \pm 1.40	5.83 \pm 0.70	4.90 \pm 0.73
CIH 组	5.27 \pm 0.51	8.58 \pm 2.45	12.40 \pm 2.70	10.92 \pm 2.30	8.58 \pm 1.76	7.42 \pm 1.04
t 值	-2.257	-2.205	-2.964	-3.121	-3.552	-4.865
P 值	0.048	0.052	0.014	0.011	0.005	0.001

高了 1.5 倍(图 1B)。胰岛 β 细胞平均核密度统计示 两组之间无统计学差异(图 1C)。



红色为 ki67 染色阳性的细胞核,绿色为胰岛 β 细胞浆,蓝色为细胞核。A:两组 ki67 染色阳性细胞比率比较;B:胰岛素染色阳性面积比较;C:平均每单位面积胰岛素染色阳性区域胰岛 β 细胞数比较。与 Control 组相比,** $P < 0.01$ 。

图 1 两组大鼠胰岛 β 细胞增殖情况比较

Figure 1 Comparison of islets β cell proliferation in the two groups

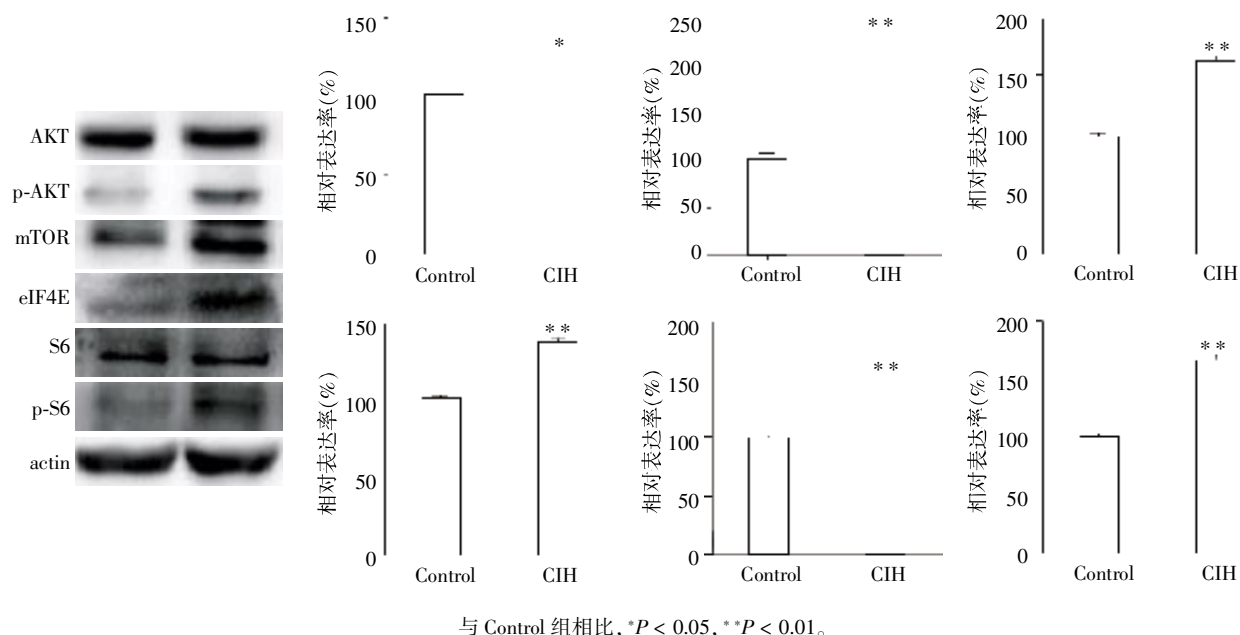
2.4 胰腺组织 AKT、p-AKT、mTOR、eIF4E、S6、p-S6 蛋白表达

结果如图所示,经过半定量分析发现 AKT、p-AKT、mTOR、eIF4E、S6、p-S6 蛋白表达在 CIH 组均明显升高,与 CIH 组 β 细胞增殖增多相一致(图2)。

3 讨论

糖耐量异常、胰岛素抵抗及胰岛 β 细胞功能损

伤是 2 型糖尿病发生的重要前奏。研究显示 OSA 是糖尿病的独立危险因素^[11],这可能与胰腺的抗氧化物质表达较低,对氧化应激比较敏感有关。德国学者^[12]通过对小鼠胰腺、肝脏、骨骼肌、肾、脑、肺等研究发现,小鼠胰腺组织内的超氧化物歧化酶、谷胱甘肽过氧化物酶等基因表达均低于其他组织,过氧化氢酶基因表达甚至检测不到,胰腺组织这种低水平的抗氧化酶基因表达提示胰腺 β 细胞在间歇性低氧过



与 Control 组相比, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

图 2 两组大鼠胰腺组织 mTOR 及相关通路蛋白表达

Figure 2 mTOR and related pathway proteins expression of rat pancreatic tissues in the two groups

程中更易损伤,这与健康成人志愿者在间歇性低氧下观察到的现象相吻合^[13]。同时胰岛素抵抗、糖耐量异常又需要机体产生更多的胰岛素。为进一步研究,有学者测定 CIH 小鼠(C57BL/6 小鼠,CIH 暴露 30 d)的基础胰岛素分泌,胰岛素抵抗指数和葡萄糖刺激胰岛素分泌试验,发现 CIH 可以明显损伤胰岛 β 细胞功能、增加胰岛素抵抗^[14],同时无论是短时(几天)还是中长期(30~50 d 左右)间歇性低氧暴露条件下胰岛 β 细胞增殖及凋亡均明显增加^[7-8,15]。这提示间歇性低氧条件下机体的损伤及保护机制是共存的。

CIH 条件下 SD 大鼠胰岛 β 细胞增殖增多。低氧结束后我们发现 CIH 组大鼠血糖、胰岛素明显升高,发生了胰岛素抵抗。随之进行葡萄糖灌胃糖耐量测试发现对照组大鼠血糖在约 30 min 时达高峰,2 h 后血糖基本降至空腹水平,而 CIH 组大鼠血糖高峰较对照组高,血糖下降缓慢,2 h 后血糖水平较空腹时明显增高。胰岛素抵抗、糖耐量下降同时刺激机体产生更多的胰岛素。我们通过 ki67 染色 + 胰岛素染色并进行统计分析发现 CIH 组大鼠胰岛 β 细胞增殖近 5 倍,胰岛素染色阳性面积明显增多,核密度与常氧组相比较无统计学差异。这一结果提示低氧条件下胰岛 β 细胞增殖可能是机体对低氧应激的保护机制之一。

间歇性低氧条件下 mTOR 相关通路激活。研究发现在低氧条件下,低氧诱导因子 1 增加,抑制肿瘤

抑制复合物(tumor sclerosis complex,TSC)的表达,TSC 负向调控的小 G 蛋白 Rheb 活性增高,Rheb 与 GTP 结合能增强 mTORC1、mTORC2 信号通路^[16]。最新研究表明 mTOR 信号通路与 PI3K/AKT、AMPK 信号通路关系密切,低氧条件下对氧敏感的胰岛素/胰岛素样生长因子信号通路表达增加,PI3K/AKT 表达增高,抑制 TSC 表达,Rheb 活性增高,增强 mTORC1、mTORC2 信号通路^[17]。间歇性低氧条件下,机体产生氧化应激,损伤线粒体功能,机体供氧不足,其中最重要一个环节就是 ATP 生成减少。AMP 相关蛋白激酶(AMPK)对 ATP 水平敏感,在低水平 ATP 时激活,激活的 AMPK 可以直接磷酸化 mTOR 阻止其与底物结合,也可以激活 TSC 间接抑制 mTOR 活性。另有研究发现 mTOR 信号通路除了与 PI3K/AKT 及 AMPK 信号通路关系密切,与内质网应激亦密切相关^[18]。间歇性低氧,内质网应激增加,丝裂原激活蛋白激酶的激酶(mitogen-activated protein kinase kinase,Raf/Mek)/细胞外信号调节酶(extracellular-signal-regulated kinase,Erk)激活,活化的 Erk 二聚体进入细胞核,可以增加葡萄糖摄取,调节细胞增殖、存活、分化凋亡等,同时也可通过 TSC 途径增加 mTOR 信号通路活化。4E-BP1 (eIF 4E binding protein)和 p70S6K(p70 ribosomal S6 protein kinase)是 mTOR 下游最重要的两个效应器,mTOR 通过磷酸化其下游靶蛋白核糖体 40 S 小亚基 S6 蛋白激酶,同时 mTOR 磷酸化 4E-BP1,降低 4E-BP1

与翻译起始因子(eIF 4E)结合,使 eIF 4E 能与其他翻译起始因子结合,共同调节 mRNA 转录和翻译,促进细胞合成及增殖等^[19]。

我们在既往研究基础上假设 CIH 通过激活 AKT/mTOR/eIF4E 相关通路,诱导大鼠胰岛 β 细胞增殖。通过蛋白免疫印迹法研究并进行半定量统计分析发现,低氧后 CIH 组大鼠胰腺组织内 AKT、p-AKT、mTOR、eIF4E、S6、p-S6 蛋白表达均明显升高,这与我们的假设相符。机体抗低氧损伤及 CIH 条件下胰岛 β 细胞增殖可能还有其他机制,有待今后进一步研究。

本研究证实 CIH 条件下大鼠发生胰岛素抵抗、葡萄糖耐量降低、胰岛 β 细胞功能下降,而 mTOR 相关通路的激活可能在胰岛 β 细胞增殖中发挥作用。

[参考文献]

- [1] Young T, Palta M, Dempsey J, et al. The occurrence of sleep-disordered breathing among middle-aged adults[J]. *N Engl J Med*, 1993, 328(17):1230-1235
- [2] Lopez-Jimenez F, Sert KF, Gami A, et al. Obstructive sleep apnea; implications for cardiac and vascular disease [J]. *Chest*, 2008, 133(3):793-804
- [3] Lesser DJ, Bhatia R, Tran WH, et al. Sleep fragmentation and intermittent hypoxemia are associated with decreased insulin sensitivity in obese adolescent Latino males [J]. *Pediatr Res*, 2012, 72(3):293-298
- [4] Fredheim JM, Rollheim J, Omland T, et al. Type 2 diabetes and pre-diabetes are associated with obstructive sleep apnea in extremely obese subjects; a cross-sectional study [J]. *Cardiovasc Diabetol*, 2011, 10:84
- [5] Muraki I, Tanigawa T, Yamagishi K, et al. Nocturnal intermittent hypoxia and the development of type 2 diabetes; the Circulatory Risk in Communities Study (CIRCS) [J]. *Diabetologia*, 2010, 53(3):481-488
- [6] Lam DC, Lui MM, Lam JC, et al. Prevalence and recognition of obstructive sleep apnea in Chinese patients with type 2 diabetes mellitus [J]. *Chest*, 2010, 138(5):1101-1107
- [7] Xu J, Long YS, Gozal D, et al. Beta-cell death and proliferation after intermittent hypoxia; role of oxidative stress [J]. *Free Radic Biol Med*, 2009, 46(6):783-790
- [8] Gu CJ, Li M, Li QY, et al. Chronic intermittent hypoxia increases beta cell mass and activates the mammalian target of rapamycin/hypoxia inducible factor 1/vascular endothelial growth factor A pathway in mice pancreatic islet [J]. *Chin Med J (Engl)*, 2013, 126(12):2368-2373
- [9] Hall BA, Kim TY, Skor MN, et al. Serum and glucocorticoid-regulated kinase 1 (SGK1) activation in breast cancer; requirement for mTORC1 activity associates with ER-alpha expression [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2012, 135(2):469-479
- [10] Kim SJ, Destefano MA, Oh WJ, et al. mTOR complex 2 regulates proper turnover of insulin receptor substrate-1 via the ubiquitin ligase subunit Fbw8 [J]. *Mol Cell*, 2012, 48(6):875-887
- [11] Gu CJ, Li M, Li QY, et al. Obstructive sleep apnea is associated with impaired glucose metabolism in Han Chinese subjects [J]. *Chin Med J (Engl)*, 2013, 126(1):5-10
- [12] Lenzen S, Drinkgern J, Tiedge M. Low antioxidant enzyme gene expression in pancreatic islets compared with various other mouse tissues [J]. *Free Radic Biol Med*, 1996, 20(3):463-466
- [13] Louis M, Punjabi NM. Effects of acute intermittent hypoxia on glucose metabolism in awake healthy volunteers [J]. *J Appl Physiol*, 2009, 106(5):1538-1544
- [14] Wang N, Khan SA, Prabhakar NR, et al. Impairment of pancreatic beta-cell function by chronic intermittent hypoxia [J]. *Exp Physiol*, 2013, 98(9):1376-1385
- [15] Yokoe T, Alonso LC, Romano LC, et al. Intermittent hypoxia reverses the diurnal glucose rhythm and causes pancreatic beta-cell replication in mice [J]. *J Physiol*, 2008, 586(3):899-911
- [16] Xie J, Herbert TP. The role of mammalian target of rapamycin (mTOR) in the regulation of pancreatic beta-cell mass; implications in the development of type-2 diabetes [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2012, 69(8):1289-1304
- [17] Johnson SC, Rabinovitch PS, Kaerberlein M. mTOR is a key modulator of ageing and age-related disease [J]. *Nature*, 2013, 493(7432):338-345
- [18] Appenzeller-Herzog C, Hall MN. Bidirectional crosstalk between endoplasmic reticulum stress and mTOR signaling [J]. *Trends Cell Biol*, 2012, 22(5):274-282
- [19] Cornu M, Albert V, Hall MN. mTOR in aging, metabolism, and cancer [J]. *Curr Opin Genet Dev*, 2013, 23(1):53-62

[收稿日期] 2014-03-01