赵田,汤雅迪,赵一楠,等. 肥胖及限食对胰岛素分泌调节异常的影响[J]. 中国比较医学杂志, 2019, 29(10): 3-10.
Zhao T, Tang YD, Zhao YN, et al. Effects of obesity and caloric restriction on insulin secretion [J]. Chin J Comp Med, 2019, 29 (10): 3-10.
doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2019.10.002

肥胖及限食对胰岛素分泌调节异常的影响

赵　田,汤雅迪,赵一楠,宗艾伦,史晓鹏,周迎生*

(首都医科大学附属北京安贞医院内分泌代谢科,北京市心肺血管疾病研究所,北京　100029)

【摘要】　目的　探讨饮食诱导肥胖及限食对 C57BL/6 小鼠血糖、胰岛 β 细胞分泌及形态学的影响。**方法**　8 周龄雄性 C57BL/6 小鼠随机分为正常对照($n=12$)、高脂肥胖($n=12$)及限食组($n=12$),连续观察 12 周。测定体重及血糖变化,通过腹腔胰岛素耐量实验、葡萄糖耐量实验、HE 染色观察小鼠的胰岛 β 细胞功能和形态学变化,行静态葡萄糖刺激的胰岛素分泌实验(GSIS)评估 β 细胞功能。**结果**　与对照组小鼠体重相比,高脂肥胖组增加 55.7%($P<0.05$),限食组下降 12.8%($P<0.05$)。高脂小鼠胰岛素敏感性显著下降($P<0.05$),GSIS 提示胰岛素分泌缺陷。限食组的空腹胰岛素分泌减少($P<0.05$),但早时相胰岛素分泌及 GSIS 胰岛素分泌正常,胰岛体积小($P<0.05$)。**结论**　肥胖小鼠表现出胰岛 β 细胞功能紊乱和胰岛素抵抗,限食不影响胰岛素分泌反应,但空腹血胰岛素水平降低。

【关键词】　肥胖;限食;血糖;胰岛素分泌
【中图分类号】R-33　　**【文献标识码】**A　　**【文章编号】**1671-7856(2019) 19-0003-08

Effects of obesity and caloric restriction on insulin secretion

ZHAO Tian, TANG Yadi, ZHAO Yinan, ZONG Ailun, SHI Xiaopeng, ZHOU Yingsheng*
(Department of Endocrinology and Metabolism, Beijing Anzhen Hospital, Capital Medical University, Beijing Institute of Heart, Lung, and Blood Vessel Diseases)

【Abstract】　Objective　To determine the effects of diet-induced obesity and caloric restriction on blood glucose, insulin secretion, and islet β-cell morphology in mice. **Methods**　Eight-week-old male C57BL/6 mice were randomly allocated to control, high-fat diet-fed obese, and calorie restriction groups. Their body masses and blood glucose concentrations were measured over a 12-week period. In addition, insulin tolerance testing (ITT), intraperitoneal glucose tolerance testing (IPGTT), and pathological examination using hematoxylin and eosin-staining of the pancreas were used to evaluate the glucose and insulin tolerance, and islet β-cell function and morphology. Glucose-stimulated insulin secretion (GSIS) was also assessed in isolated islets. **Results**　The body mass gain in the high-fat group was 55.7%, higher than in the control group ($P<0.05$), but that of the caloric restriction group was 12.8% less ($P<0.05$). Insulin sensitivity and GSIS were lower in the high-fat diet-fed than in control mice. In contrast, fasting insulin was lower in the caloric restriction group, and early phase insulin secretion and GSIS were normal. **Conclusions**　Obese mice exhibit an insulin-secretory deficit and insulin resistance, whereas caloric restriction is associated with normal insulin secretion and a low fasting insulin concentration.

【Keywords】　obesity; calorie restriction; blood glucose; insulin secretion

[**基金项目**]国家自然科学基金(81641027);北京市卫生系统高层次卫生技术人才项目(2013-2-006);北京市科委科研基金资助项目(Z131100004013044);北京市保健科研课题项目(京 15-11 号)。

[**作者简介**]赵田(1992—),女,博士研究生,研究方向:肥胖与 2 型糖尿病。E-mail: ztian0088@sina.com
[**通信作者**]周迎生(1965—),男,医学博士,主任医师,教授,博士生导师。E-mail: yszhou@ccmu.edu.cn

肥胖导致胰岛 β 细胞功能紊乱,葡萄糖刺激下的胰岛素分泌障碍,是 2 型糖尿病的主要危险因素。胰岛 β 细胞异常表现的早期为胰岛素分泌第一时相下降或消失[1]。既往研究表明,饮食控制减轻体重可以遏制或延缓肥胖向 2 型糖尿病进展。通过限食可以有效降低体重,引起机体适应性代谢改变,从而降低 2 型糖尿病、高血压、心血管疾病和癌症的患病风险[2-3]。然而,正常体重下的限食对体重及 β 细胞胰岛素分泌功能的影响如何,是否会显著改变胰岛素分泌水平和胰岛素敏感性对预防糖尿病有重要临床意义。因此,本研究通过对 C57BL/6 小鼠进行高脂肥胖或限食减重干预,观察胰岛 β 细胞功能及形态学变化,提供研究依据。

1 材料和方法

1.1 实验动物

SPF 级 C57BL/6 小鼠,雄性,8 周龄,购于北京维通利华实验动物技术有限公司[SCXK(京)2016-0006]。在首都医科大学附属北京安贞医院实验动物科学部实验动物房完成饲养[SYXK(京) 2016-0027],给予动物自由饮水,饲养环境温度 22℃ ~ 25℃,相对空气湿度维持在 45% ~ 65%,12 h 光照/黑暗交替环境。所有操作均符合实验动物伦理学要求(伦理审批号:AEEI-2017-107)。随机分为对照(n=12)、高脂肥胖(n=12)和限食组(n=12),分别给予普通(Research Diets D12450 J)、高脂饲料(Research Diets D12492)连续饲喂 12 周,限食组采用普通饲料(Research Diets D12450 J)进行饲喂,以正常对照组每日摄食量的 60% [4]作为限食组小鼠每日喂食量。实验进程中,每日观察小鼠的一般状况,各组小鼠每周禁食 12 h 之后称量小鼠体重一次。每隔 2 周,各组小鼠禁食不禁水 12 h 之后,通过在鼠尾静脉采血,使用便携式血糖仪测定各组小鼠空腹血糖。

1.2 主要试剂与仪器

胶原酶Ⅺ及胎牛血清购于 Sigma-Aldrich 公司,RPMI 1640 培养基、DMEM 培养基购于 Gibco 公司,生物合成人胰岛素注射液诺和灵 R 购于诺和诺德中国制药有限公司,苏木素、伊红等购于北京中杉金桥公司,小鼠超敏胰岛素 ELISA 试剂盒 (Alpco 公司,型号 80-INSMSU-E01),血糖仪(Bayer 公司,型号 Contour™TS),体视显微镜(重庆重光仪器公司,型号 SD111),二氧化碳培养箱(上海善治仪器设备有限公司,型号 HH. CT-P 型)全自动组织脱水机(Leica 公司,型号 TP1020),石蜡包埋机(Leica 公司,型号 EG1150 H),石蜡切片机(Leica 公司,型号 RM2235)。

1.3 实验方法

1.3.1 腹腔葡萄糖耐量试验(intra-peritoneal glucose tolerance test, IPGTT)

饲养 10 周后行腹腔葡萄糖耐量试验(IPGTT)[5]。小鼠禁食过夜 16 h,给予腹腔注射 25%葡萄糖 (2 g/kg),鼠尾采血,血糖仪测定 0 min 及糖负荷后 15 min、30 min、60 min、120 min 的血糖,同时用微量采血吸管(北京红星双北医疗器材公司)鼠尾采血 50 μL,4℃ 3000 r/min 离心 10 min,取上清,-80℃保存,ELISA 法待测血浆胰岛素浓度,并计算以下指标:

(1)胰岛素生成指数:用于评估早时相胰岛素分泌,计算公式如下[6]:[15 min 血浆胰岛素(μU/mL)-空腹血浆胰岛素] / [15 min 血糖(mmol/L)-空腹血糖]。

(2)胰岛素曲线下面积(area under the curve, AUCi):应用梯形面积法计算 120 min 胰岛素曲线下面积,用于评估第二时相胰岛素分泌。

1.3.2 胰岛素耐量实验(insulin tolerance test, ITT)

胰岛素耐量实验反映胰岛素敏感性。小鼠禁食不禁饮 6 h,按体重腹腔注射人短效胰岛素(0.75 mU/g),分别测定注射前、注射后 15 min、30 min、60 min 及 120 min 血糖水平,采用胰岛素注射后血糖除以基础血糖表示血糖变化程度,绘制血糖变化曲线,计算血糖曲线下面积(AUC)并进行统计分析。

1.3.3 小鼠胰岛的分离、纯化

小鼠禁食过夜,采用胶原酶消化分离胰岛,实验方法参照文献进行[1,7],胰岛过夜培养以使胰岛功能恢复,并用于胰岛素分泌实验及胞浆胰岛素含量测定实验。倒置显微镜拍照,测量胰岛直径。

1.3.4 葡萄糖刺激的胰岛素分泌实验(glucose-stimulated insulin secretion, GSIS)

胰岛置于 KRBH 缓冲液(0.5%BSA)中在 37℃ CO_2 培养箱中预孵育 1 h,取大小匹配的胰岛移入 24 孔板,每孔 10 个,加入含 2.8 mmol/L 或 16.7 mmol/L 葡萄糖的 KRBH 刺激液,每孔 2 mL,孵育 1 h。收集上清液用于胰岛素释放测定,根据既往研究中的方法完成小鼠胰岛的胰岛素分泌实验[4]。高糖刺激的胰岛素分泌/基础胰岛素分泌即为刺激

指数(stimulation index, SI),它常用于评估胰岛对葡萄糖的反应能力。

1.3.5　胰岛素浓度测定

采用小鼠超敏胰岛素试剂盒测定。从-80℃冰箱中取出样本,放置至室温,涡旋混匀 5 s,按照既往研究中方法测定胰岛素浓度[8]。

1.3.6　标本采集

小鼠禁食过夜 12 h,1%戊巴比妥钠 80 mg/kg 腹腔注射麻醉,测量体重、体长(鼻尖至肛门外沿的距离)、腹围,计算 Lee's 指数[9],Lee's 指数=体重(g)1/3/体长(cm)×1000。完整剪取双侧附睾脂肪、双侧肾周脂肪及重要器官组织,迅速称量湿重。

1.3.7　胰腺 HE 染色

胰腺组织脱水后石蜡包埋(EG1150 H, Leica 公司,德国),切片厚度 6 μm,室温下 30%乙醇中展片时间 2~3 min 后,80℃烤箱内烤 100 min,以防止组织后续染色中脱落。石蜡切片脱蜡,经苏木素、伊红染色,胶封片观察。

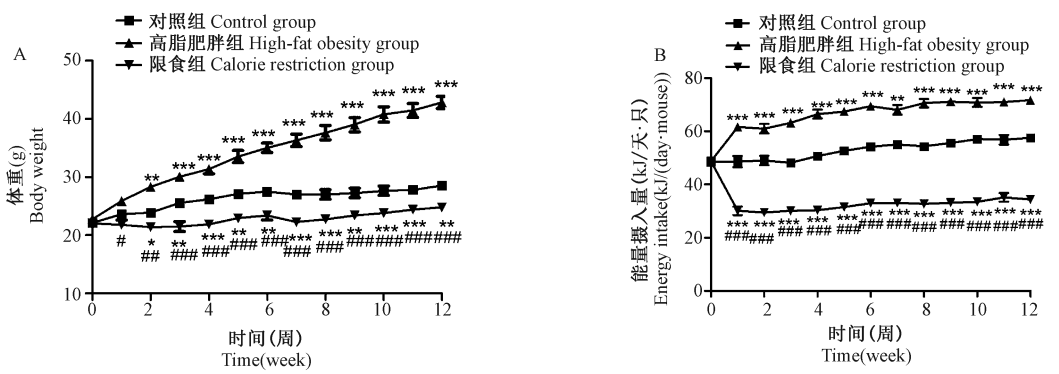
1.4　统计学方法

正态分布的数据采用平均值±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,两样本均数间的比较采用 t 检验,多组比较采用单因素方差分析和两两比较的 LSD 检验;计数资料用率表示,组间比较采用卡方检验。所有数据应用 SPSS 20 软件进行统计分析,以 $P<0.05$ 为差异有显著性。

2　结果

2.1　小鼠体重及能量摄入变化

8 周龄小鼠在喂养 1 周时,高脂肥胖组体重超过限食组,差异有统计学意义(25.9±0.6)g *vs* (22.8±0.8)g, ($P=0.019$),2 周后则高于正常对照组,差异有统计学意义(28.3±0.7)g *vs* (23.9±0.4)g, ($P<0.001$)。限食组小鼠在限食 2 周后,体重低于正常对照组(21.4±0.6)g *vs* (23.9±0.4)g, ($P=0.015$),见图 1A。限食组小鼠的摄入食物能量是正常对照组的 60%,根据对照组能量摄入调整限食组热量。经过 12 周的高脂喂养,高脂肥胖组小鼠的能量摄入量较对照组增加了 22.9% (70.6±1.2) kJ/(天·只) *vs* (54.4±1.4) kJ/(天·只), ($P<0.001$)(见图 1B)。



注:A. 小鼠体重变化;B. 小鼠能量摄入变化。与对照组相比,$^{*}P<0.05$, $^{**}P<0.01$, $^{***}P<0.001$;与高脂肥胖组相比,$^{\#}P<0.05$, $^{\#\#}P<0.01$, $^{\#\#\#}P<0.001$。

图 1　饮食影响小鼠体重及能量摄入变化

Note. A, Body weight changes in the mice. B, Energy intake changes in the mice. Compared with the control group, $^{*}P<0.05$, $^{**}P<0.01$, $^{***}P<0.001$. Compared with the high-fat obesity group, $^{\#}P<0.05$, $^{\#\#}P<0.01$, $^{\#\#\#}P<0.001$.

Figure 1　Body weight and energy intake changes in the mice

2.2　高脂及限食对小鼠体重及脂肪量的影响

实验终点时,高脂肥胖组小鼠的体重比对照组体重增加了 55.7%($P<0.001$),比限食组小鼠体重增加了 79%($P<0.001$),高脂喂养小鼠表现为显著腹型肥胖、腹围明显增加,体内胰腺、肝及脂肪组织(肾周、附睾旁)均显著增加($P<0.05$)。相反,限食组小鼠的体重、腹围以及肝、肾周脂肪重量均显著低于正常对照组($P<0.05$),但胰腺、附睾脂肪重量等与对照组的差别无统计学意义($P>0.05$)。高脂肥胖组空腹胰岛素是对照组的 3.6 倍($P<0.001$)。见表 1。

表 1 实验终点时小鼠的代谢参数($\bar{x}\pm s$)

Table 1 Metabolic parameters in the mice at the end of the intervention

组别 Groups	对照组 Control group	高脂肥胖组 High-fat obesity group	限食组 Calorie restriction
数量 Number	12	12	8
体重(g) Body weight	28.50±0.60	44.40±2.60***	24.80±0.97***###
腹围(cm) Abdominal circumference	8.2±0.3	9.2±0.3***	6.9±0.5***###
Lee 指数 Lee index	354.3±10.2	394.6±6.0**	336.4±7.8*###
胰腺重量(mg) Pancreas weight	251.3±25.4	378.0±73.5**	194.5±17.9##
肝重量(mg) Liver weight	1156.3±82.7	1749.5±117.9***	895.5±30.6*###
肾周脂肪(mg) Perirenal fat weight	253.0±11.6	572.4±42.7***	165.6±31.4*###
附睾脂肪(mg) Epididymal fat weight	432.1±66.4	2541.3±138.2***	260.6±34.2###
内脏脂肪比例(%) Visceral fat weight/ Body weight ratio	2.4±0.2	7.0±0.9***	1.7±0.1###
空腹血糖(mmol/L) Fasting blood glucose	5.9±0.7	8.3±1.1***	4.9±0.6*###
空腹胰岛素 (ng/mL) Fasting plasma insulin	0.20±0.07	0.72±0.11***	0.12±0.05**###

注:与对照组相比,* $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$;与高脂肥胖组相比,# $P<0.05$,## $P<0.01$,### $P<0.001$。

Note. Compared with the control group, * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$. Compared with high-fat obesity group, # $P<0.05$, ## $P<0.01$, ### $P<0.001$.

2.3 高脂及限食对胰岛素敏感性的影响

经过 8 周饲养,采用胰岛素耐量实验评估高脂及限食对胰岛素的敏感性。高脂小鼠对胰岛素的敏感性降低,血糖下降的比例低于对照组和限食组,胰岛素耐量血糖下面积大于对照组和限食组。限食组相比于对照组无明显差异,在 120 min 时血糖低于对照组(3.0±0.3) mmol/L *vs* (4.2±0.4) mmol/L($P<0.05$),胰岛素注射后血糖与基础血糖的比值在各时间段均无明显统计学差异,见图 2。

2.4 高脂及限食对小鼠糖耐量、早时相及第二时相胰岛素分泌影响

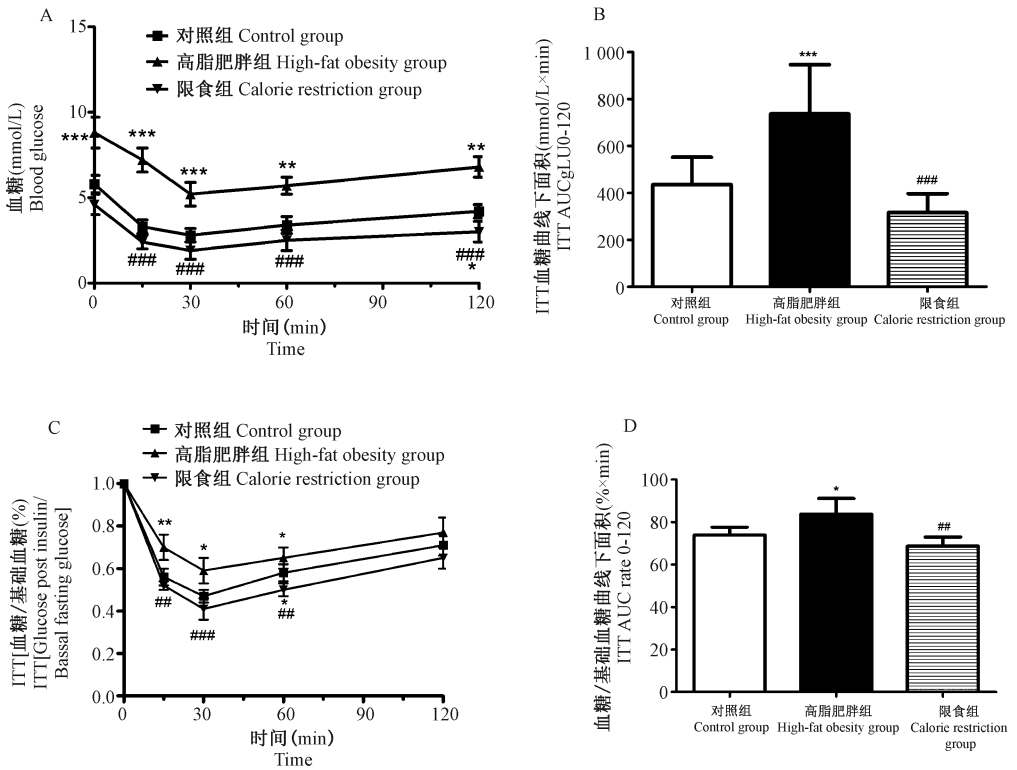
采用 IPGTT 实验评估高脂及限食对胰腺 β 细胞分泌胰岛素功能的影响。高脂肥胖组小鼠的空腹血糖及血糖曲线下面积比对照组分别增加 44.6%($P<0.01$)、45.4%($P<0.001$),胰岛素曲线下面积增加了 1.2 倍($P<0.001$),比限食组增加了 1.7 倍。而限食组小鼠各时间点的血浆胰岛素水平和早相胰岛素分泌与正常对照组的差别无统计学意义($P>0.05$),但血糖曲线下面积相比于对照组降低了 70.8%($P<0.05$),见图 3。

2.5 高脂及限食对胰岛形态的影响

实验终点胰腺组织 HE 染色显示如图 4A 所示。高脂肥胖组的小鼠染色结果显示胰岛体积明显肥大,同一视野下胰岛及其内分泌细胞数量明显增加。限食组小鼠染色结果显示胰岛形态规则完整,结构清晰,同一视野下胰岛及其内分泌细胞数量明显减少。研究终点体外分离胰岛,定量分析测量胰岛直径,结果如图 4B 所示,高脂肥胖组胰岛直径比正常对照组增加了 9.5% (173.6±15.2) μm *vs* (158.2±13.5) μm,($P<0.001$),比限食组增加了 21.2% (173.6±15.2) μm *vs* (143.2±8.6) μm,($P<0.001$)。限食组小鼠的胰岛直径最小,比正常对照组减少了 10.1%($P<0.05$)。

2.6 离体胰岛的葡萄糖刺激胰岛素分泌实验(GSIS)

高脂肥胖组的基础胰岛素分泌比对照组增加了 23.5%($P<0.05$),比限食组增加了 61.5%($P<$



注 A、B：ITT 血糖及血糖曲线下面积的比较。C、D：血糖/基础血糖(%)及曲线下面积的比较。与对照组相比，$^{*}P<0.05$，$^{**}P<0.01$，$^{***}P<0.001$；与高脂肥胖组相比，$^{\#}P<0.05$，$^{\#\#}P<0.01$，$^{\#\#\#}P<0.001$。

图 2　高脂及限食对胰岛素敏感性的影响。

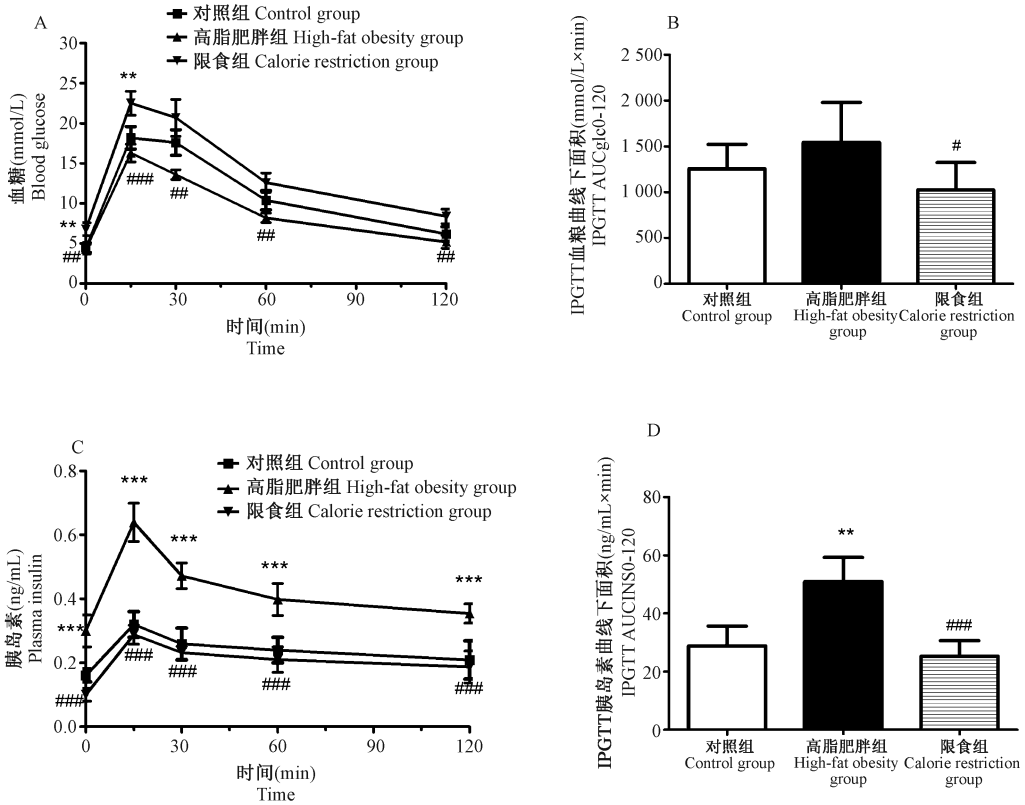
Note. A, B, The ITT blood glucose levels and the area under the blood glucose curve in the control, high-fat obesity, and calorie restriction groups. C, D, Ratio (%) of blood glucose to basal glucose concentrations in ITT (C) and the area under the curve (D) among groups. Compared with the control group, $^{*}P<0.05$, $^{**}P<0.01$, $^{***}P<0.001$. Compared with the high-fat obesity group, $^{\#}P<0.05$, $^{\#\#}P<0.01$, $^{\#\#\#}P<0.001$.

Figure 2　Effects of high fat and calorie restriction on insulin sensitivity

0.01)，而高糖刺激的胰岛素分泌降低了 25.3%($P<0.05$)，比限食组降低了 28.1%($P<0.001$)，提示高脂肥胖组小鼠胰岛表现为葡萄糖刺激时胰岛素分泌降低。限食组小鼠高糖刺激的胰岛素分泌与对照组相比无无统计学意义的差别($P>0.05$)，见图 5A。限食组的刺激指数最高，比正常对照组增加了 34.8%($P=0.012$)，比高脂肥胖组增加了 1.2 倍($P<0.001$)，见图 5B。

3　讨论

本研究中高脂肥胖组小鼠经过 12 周喂养出现显著肥胖，腹围、Lee 指数、脏器(附睾脂肪、肝、胰腺)重量增加，糖耐量受损和胰岛素抵抗加重，伴有胰岛代偿性肥大，与既往文献报道一致[10-13]。胰岛 β 细胞是生成和释放胰岛素的部位。离体胰岛实验显示高脂肥胖组胰岛素含量增加，但存在胰岛素分泌缺陷，即在 2.8 mmol/L 葡萄糖刺激时基础胰岛素分泌增加而 16.7 mmol/L 葡萄糖刺激的胰岛素分泌降低，提示高脂肥胖组小鼠的 β 细胞功能紊乱并非由于胰岛素储备不足，而是由于缺陷性的分泌。肥胖可引起外周胰岛素抵抗，会导致胰岛 β 细胞的功能紊乱，表现为胰岛素分泌双时相正常，而胰岛素分泌水平增加。在葡萄糖钳夹试验中，胰岛素分泌表现为第一时相和第二时相分泌；在血糖升高数分钟内，胰岛素分泌急剧增加后快速下降，形成第一时相；随之出现胰岛素缓慢增加，持续至血糖下降到基线水平，形成第二时相[14]。本研究中高脂肥胖组早时相胰岛素分泌趋向降低，但第二时相胰岛素分泌显著升高。这种现象常见于糖耐量减低及早期的 T2DM 患者，随着病情进展，到了 T2DM 后期第二分泌相也较低平[15]。在胰岛 β 细胞仅有分泌功能障碍，而未出现显著的组织学改变之前，早期干



注:A、B: IPGTT 实验中血糖水平及血糖曲线下面积。C、D: IPGTT 实验中胰岛素水平及胰岛素曲线下面积。与对照组相比, * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$;与高脂肥胖组相比, # $P<0.05$, ## $P<0.01$, ### $P<0.001$。

图 3 高脂及限食对糖耐量、早时相和第二时相胰岛素分泌的影响($n=8$)

Note. A, B, The IPGTT blood glucose levels and the area under the blood glucose curve among groups. C, D, The IPGTT blood plasma insulin levels and the area under the plasma insulin curve among groups. Compared with the control group, * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$. Compared with high-fat obesity group, # $P<0.05$, ## $P<0.01$, ### $P<0.001$.

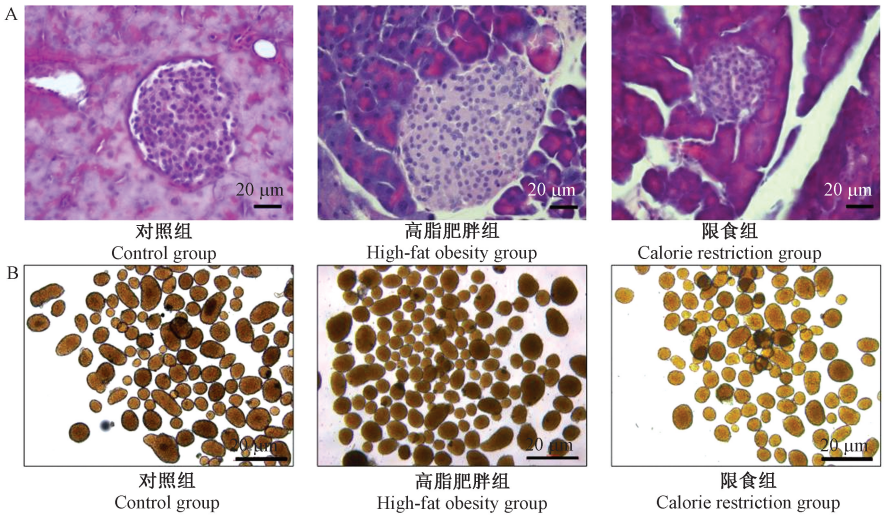
Figure 3 Effects of high fat and calorie restriction on glucose tolerance, early phase and second phase insulin secretion

预,胰岛功能受损是可逆的[16]。

饮食控制能量摄入可以有效减低体重,长期摄入足够营养素的限食会引起适应性代谢改变[2-3]。对 C57BL/6J 小鼠进行正常饮食和禁食各 24 h 交替的间断禁食 12 周,胰岛素敏感性增加,糖耐量改善[17]。限食已被证明可以延长啮齿动物和灵长类动物的健康状况和寿命[18]。限食对于小鼠胰岛 β 细胞的功能影响尚无具体研究。本课题组对 C57BL/6 小鼠进行限食研究其胰岛功能改变。小鼠经 40%的限食后,胰岛面积比对照组变小,胞浆胰岛素含量降低,但葡萄糖刺激的胰岛素分泌仍正常,提示正常限食后胰岛素储备而非胰岛素分泌减少。限食组小鼠糖负荷后血糖降低,而血浆胰岛素水平正常,这一结果与既往研究一致[19-20]。限食减轻体质量、改善血糖水平的原因可能是长期供能不足,限食组小鼠的胰岛素敏感性升高,糖负荷后可以快速利用葡萄糖。

在动物研究中,减少大鼠和小鼠热量摄入 20%~50%,可将其中位和最大生存时间延长 50%,并可预防或延迟多种慢性疾病如肥胖、2 型糖尿病、肾病、心肌病的发病[21]。Gao 等[4]发现经过 3 周 40%的限食干预,高脂饮食转为限食组的小鼠体重降至正常,并且糖耐量、胰岛素敏感性、胰岛素分泌和胞浆胰岛素含量均完全恢复正常。而高脂饮食转为普通饮食 3 周后小鼠的糖耐量恢复正常,体重有所降低但未恢复正常,早时相胰岛素分泌及离体胰岛的高糖刺激的胰岛素分泌较高脂肥胖组并无改善[4]。

高脂饮食增加小鼠体质量,出现糖耐量受损和胰岛素抵抗,胰岛代偿性肥大伴随胰岛素分泌缺陷,而中度的限食能明显降低小鼠体质量和血糖,不影响胰岛素分泌反应,但空腹血胰岛素水平降

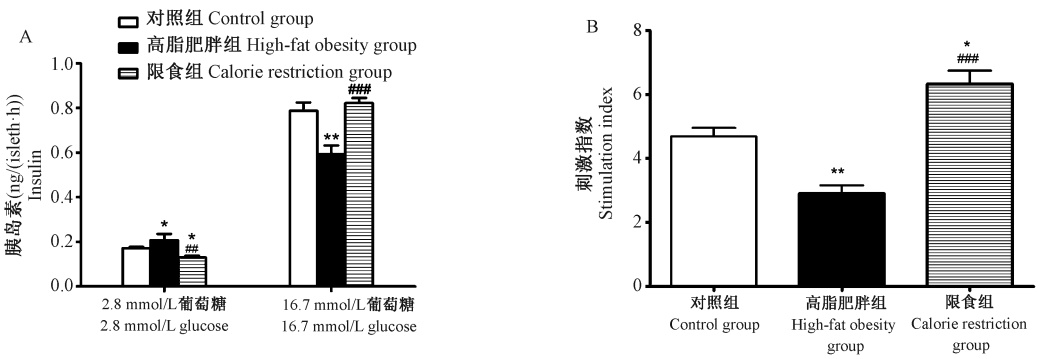


注：A：三组小鼠胰腺切片的代表性 HE 染色图像（×400）。B：三组小鼠胰岛分离结果，每组测量 4 只小鼠的胰岛。

图 4　高脂及限食对胰岛形态的影响。

Note. A, Representative HE-stained images of pancreatic tissue (×400). B, Results of islet isolation in three groups of mice. The islets of 4 mice were measured in each group.

Figure 4　Effect of high fat and calorie restriction on islet morphology



注：A：离体胰岛在 2.8 mmol/L 葡萄糖和 16.7 mmol/L 葡萄糖刺激下的胰岛素分泌。B：胰岛的刺激指数。与对照组相比，$^{*}P<0.05$，$^{**}P<0.01$，$^{***}P<0.001$；与高脂肥胖组相比，$^{\#}P<0.05$，$^{\#\#}P<0.01$，$^{\#\#\#}P<0.001$。

图 5　高脂及限食对离体小鼠胰岛 GSIS 的影响（$n=5$）

Note. A, Glucose-stimulated insulin secretion was measured in isolated islets at 2.8 and 16.7 mmol/L glucose. B, The stimulation index calculated by dividing insulin secretion in response to 16.7 mmol/L glucose by that in response to 2.8 mmol/L glucose. Compared with the control group, $^{*}P<0.05$, $^{**}P<0.01$, $^{***}P<0.001$. Compared with high-fat obesity group, $^{\#}P<0.05$, $^{\#\#}P<0.01$, $^{\#\#\#}P<0.001$.

Figure 5　Effect of high fat and calorie restriction on glucose-stimulated insulin secretion in isolated islets

低。本研究已经发现高脂肥胖对胰岛素分泌的损伤作用，但其损伤机制的分子生物学研究，尚需进一步实验探讨。

参考文献：

[1] Yan D, Zhao Y, Gao X, et al. Acute intravenous glucose load impairs early insulin secretion and insulin content in islet beta cells in mice [J]. Life Sci, 2016, 144: 148-155.

[2] Bales CW, Kraus WE. Caloric restriction: implications for human cardiometabolic health [J]. J Cardiopulm Rehabil Prev, 2013, 33(4): 201-208.

[3] Rizza W, Veronese N, Fontana L. What are the roles of calorie restriction and diet quality in promoting healthy longevity? [J]. Ageing Res Rev, 2014, 13: 38-45.

[4] Gao X, Yan D, Zhao Y, et al. Moderate calorie restriction to

achieve normal weight reverses beta-cell dysfunction in diet-induced obese mice: involvement of autophagy [J]. Nutr Metab (Lond), 2015, 12: 34.

[5] 宗艾伦, 周迎生. 体重波动对小鼠血糖水平的影响 [J]. 中国实验动物学报, 2018, 26(6): 721-733.

[6] Delghingaro-Augusto V, Decary S, Peyot ML, et al. Voluntary running exercise prevents beta-cell failure in susceptible islets of the Zucker diabetic fatty rat [J]. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2012, 302(2): E254-264.

[7] 颜迪恩, 周迎生, 高秀莹, 等. 小鼠胰岛分离纯化方法研究 [J]. 器官移植, 2015, 5(2): 111-115.

[8] 赵一楠, 周迎生, 颜迪恩, 等. 急性高血糖影响小鼠第一时相胰岛素分泌的机制 [J]. 中国实验动物学报, 2017, 25(5): 479-485.

[9] Pagano AF, Py G, Bernardi H, et al. Autophagy and protein turnover signaling in slow-twitch muscle during exercise [J]. Med Sci Sports Exerc, 2014, 46(7): 1314-1325.

[10] Wang HT, Liu CF, Tsai TH, et al. Effect of obesity reduction on preservation of heart function and attenuation of left ventricular remodeling, oxidative stress and inflammation in obese mice [J]. J Transl Med, 2012, 10: 145.

[11] Yang Y, Smith DL, Jr., Keating KD, et al. Variations in body weight, food intake and body composition after long-term high-fat diet feeding in C57BL/6J mice [J]. Obesity (Silver Spring), 2014, 22(10): 2147-2155.

[12] Monarca RI, da Luz Mathias M, Wang D, et al. Predation risk modulates diet-induced obesity in male C57BL/6 mice [J]. Obesity (Silver Spring), 2015, 23(10): 2059-2065.

[13] 胡健萍, 闫熙, 杨志伟, 等. 饮食诱导代谢综合征小鼠模型的建立 [J]. 中国比较医学杂志, 2009, 6(19): 34-38.

[14] 赵一楠, 周迎生. 胰岛素分泌泡合成和转运及胞吐的临床作用机制研究进展 [J]. 中国医药, 2017, 12(10): 1590-1593.

[15] 何清华, 周迎生. 老年人胰岛素分泌功能衰退的研究进展 [J]. 中华老年医学杂志, 2007, 26(4): 311-313.

[16] Weir GC, Bonner-Weir S. Islet beta cell mass in diabetes and how it relates to function, birth, and death [J]. Ann N Y Acad Sci, 2013, 1281: 92-105.

[17] 马澜婧, 张浩浩, 丁美玲, 等. 小鼠间断性禁食模型的建立及其对葡萄糖内稳态的影响 [J]. 中国比较医学杂志, 2017, 27 (7): 24-28.

[18] Most J, Tosti V, Redman LM, et al. Calorie restriction in humans: An update[J]. Ageing Res Rev, 2017, 39: 36-45.

[19] Fok WC, Zhang Y, Salmon AB, et al. Short-term treatment with rapamycin and dietary restriction have overlapping and distinctive effects in young mice [J]. J Gerontol A Biol Sci Med Sci, 2013, 68(2): 108-116.

[20] 赵志炜, 马丽娜, 王蓉, 等. 热量限制对 C57 小鼠糖脂代谢的影响 [J]. 中国比较医学杂志, 2013, 23 (8): 20-23.

[21] Heilbronn LK, Ravussin E. Calorie restriction and aging: review of the literature and implications for studies in humans [J]. Am J Clin Nutr, 2003, 78(3): 361-369.

〔收稿日期〕2019-08-30