• 系統編號	RN9511-2400
• 計畫中文名稱	過度糖化最終產物對胰島素訊息傳遞的影響(II)
• 計畫英文名稱	Effects of Advanced Glycosylation End Products on Insulin-induced Signal Transduciton Pathway (II)
• 主管機關	行政院國家科學委員會
• 計畫編號	NSC92-2314-B038-039
• 執行機構	臺北醫學大學醫事技術學系
• 本期期間	9208 ~ 9307
• 報告頁數	11 頁
• 使用語言	中文
• 研究人員	李宏謨 Lee, Horng-Mo
• 中文關鍵字	--
• 英文關鍵字	Keywords: Dipyridamole, NOS, LPS, NF-kappa B, RAW 264.7 macrophages
• 中文摘要	本研究以分化之 3T3-L1 脂肪細胞，研究 AGEs 對胰島素所引發的訊息傳遞路徑和葡萄糖運送的影響。過去二年我們以 BSA-AGEs(300？g/ml)處理分化過之 3T3-L1 脂肪細胞 24 小時後，可發現胰島素所刺激的[3H]2-去氧葡萄糖之運送受到抑制。以 AGEs 處理 3T3-L1 脂肪細胞二小時後 IRS-1 出現 doublet，同時大幅誘導 IRS-2 的蛋白表現。由於 AGEs 亦可增加 PPAR-gamma 的表現，而 PPAR-gamma 的活化亦可以增加 IRS-2 的蛋白表現，我們推測 IRS-2 的 upregulation 可能導因於 AGEs 誘導 PPAR-gamma 的表現所致。除此之外，epsilon-carboxyl-methyllysine(CML)亦可抑制胰島素所刺激的 [3H]2-去氧葡萄糖之運送約 40%。以 CML 處理 3T3-L1 細胞二十四小時後，可以發現 Akt/PKB 的磷酸化和 Akt/PKB 的酵素活性均有明顯的減低。因爲對胰島素敏感的葡萄糖輸送者(insulin-sensitive glucose transporter)，GLUT-4，即在 Akt/PKB 的下游；很可能 AGEs 是透過抑制 Akt/PKB 的活性而影響 glucose transporter 的表現及轉位，並進一步影響 [3H]2-去氧葡萄糖之運送。爲了進一步了解 Akt/PKB 在 AGEs 之抑制作用中所扮演的角色，我們製備了過度表現 Akt/PKB 及 kinase dead 的 Akt/PKB 突變基因，送入細胞後 Akt/PKB 的蛋白表現和磷酸化情形都能依照預期的增減。但過度表現 Akt/PKB 的 3T3-L1 細胞並無法逆轉 AGEs 的作用。我們目前的結論是 AGEs 可以透過調節 IRS-1 及 IRS-2 的訊息傳遞來影響 [3H]2-去氧葡萄糖之運送，但和 PI 3-kinase 的訊息傳遞無關。最近的研究報告顯示 protein phosphatase-2C (PP2-C)可以造成 PI 3-kinase 的 p85 之去磷酸化並活化[3H]2-去氧葡萄糖之運送(J Biol Chem, 279: 22715-22726)，因此或許 AGEs 並非調控 PI 3-kinase 的下游，我們正針對 AGEs 是否調控 PP-2C 進一步的研究。除了上述計畫，過去一年我們還執行了一個成果相當 promising 的計畫，其中有數項重要的新發現，僅將此計畫部分成果摘要於後：Dipyridamole 是一個核甘運送的抑制劑，也是一個非選擇性的 phosphodiesterase 的

	抑制劑，因此能夠藉由抑制 phosphodiesterase 的機制來增加細胞內 cAMP 以及 cGMP 的濃度。第四型的 phosphodiesterase 已經在許多實驗中被證實具有抗發炎的功能，本研究所要探討的主題就是， 在 RAW 264.7 巨噬細胞中 Dipyridamole 是否可以抑制 Lipopolysaccharide (LPS) 誘導的 iNOS 以及 COX-2 的表現。以 LPS 處理 RAW 264.7 巨噬細胞會造成 iNOS 以及 COX-2 以劑量依存性及時間依存性表現。若以 Dipyridamole 前處理細胞則可以阻斷 LPS 所誘導的 iNOS 及 COX-2 表現。藉由抑制 IkappaB phosphorylation 、degradation 、p65 NF-kappaB translocation 以及 reporter gene 的轉錄作用的方式來證明 Dipyridamole 會抑制 NF-kappaB 路徑的活化。.
• 英文摘要	Dipyridamole is a nucleoside transport inhibitor and a non-selective phosphodiesterase inhibitor that increases intracellular level of cAMP and cGMP through phosphodiesterase inhibition. Type 4 phosphodiesterase has been demonstrated to have anti-inflammatory effects in many experimental systems. This study investigates whether dipyridamole inhibits lipopolysaccharide (LPS)-induced inducible nitric oxide (iNOS) and cyclooxygenase (COX-2) expression in RAW 264.7 macrophages. Treatment of RAW 264.7 macrophages with LPS caused dose- and time-dependent increases in iNOS and COX-2 expression. Treatment of cells with dipyridamole blocked the LPS-induced iNOS and COX-2 expression. Dipyridamole inhibited NF-kappaB activation as demonstrated by inhibition of IkappaB phosphorylation, IkappaB degradation, p65 NF-kappaB transloction and the transcription of reporter gene. Dipyridamole also inhibited LPS-stimulated p38 MAPK and IKK-beta activities in RAW264.7 cells. A p38 mitogen-activated protein kinase (MAPK) inhibitor, SB203580, inhibited LPS-stimulated iNOS expression and IKK-beta activation suggesting LPS may activate NF-kappaB signaling pathway via upstream p38 MAPK activation. Furthermore, dipyridamole stimulated a transient activation of mitogen-activated protein kinase phosphatase 1 (MKP-1), a potent inhibitor of p38 MAPK. Taken together, these data suggest that dipyridamole exerts anti-inflammatory effect via activation of MKP-1, which dephosphorylates and inactivates p38 MAPK. Inactivation of p38 MAPK in turn inhibits IKK-beta activation and subsequent NF-kappaB signaling pathway that mediates LPS-induced iNOS and COX-2 expression in RAW 264.7 cells. These results support the notion that dipyridamole may have anti-inflammatory effects