



胰岛素增敏剂罗格列酮升高血液中镍纹样蛋白水平

徐飞, 陈瑾, 李志勇

The increasement of blood METRN protein by insulin sensitizer rosiglitazone

XU Fei, CHEN Jin, LI Zhiyong

在线阅读 View online: <http://yxsj.smmu.edu.cn/cn/article/doi/10.12206/j.issn.2097-2024.202308053>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

西格列汀联合预混胰岛素治疗脆性糖尿病伴高脂血症疗效和安全性的回顾性研究

Retrospective study on efficacy and safety of combination therapy of sitagliptin and premixed insulin in the treatment of brittle diabetes with hyperlipidemia

药学实践与服务. 2018, 36(5): 468-470 DOI: 10.3969/j.issn.1006-0111.2018.05.020

胰岛素超多孔水凝胶控释制剂的制备及其检测

Preparation and detection of controlled release insulin ultra-porous hydrogel

药学实践与服务. 2021, 39(1): 44-48, 76 DOI: 10.12206/j.issn.1006-0111.202005030

小鼠Metrn单克隆抗体的制备及鉴定

Preparation and characterization of monoclonal antibodies against mouse Metrn

药学实践与服务. 2017, 35(2): 126-129, 192 DOI: 10.3969/j.issn.1006-0111.2017.02.007

肥胖2型糖尿病药物研究进展

Research progress on obesity type 2 diabetes mellitus drug

药学实践与服务. 2019, 37(2): 97-102 DOI: 10.3969/j.issn.1006-0111.2019.02.001

来曲唑联合45%高脂饲料诱导生殖内分泌及代谢表型异常的多囊卵巢综合征大鼠模型研究

Effects of letrozole and 45% high-fat diet on induction of rat model of polycystic ovary syndrome with reproductive and metabolic disorder

药学实践与服务. 2019, 37(5): 422-426 DOI: 10.3969/j.issn.1006-0111.2019.05.007

基于药物相互作用软件评价降糖药物的相互作用

Evaluation of hypoglycemic drug-drug interactions by software

药学实践与服务. 2018, 36(2): 166-169 DOI: 10.3969/j.issn.1006-0111.2018.02.014



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

· 论著 ·

胰岛素增敏剂罗格列酮升高血液中镍纹样蛋白水平

徐 飞¹, 陈 瑾², 李志勇¹ (1. 海军军医大学药理学系药理教研室, 上海 200433; 2. 海军军医大学第一附属医院内分泌科, 上海 200082)

[摘要] 目的 探讨胰岛素增敏剂罗格列酮对血液中镍纹样蛋白(METRNL)水平的影响。方法 高脂饮食3个月诱导胰岛素抵抗的肥胖小鼠, 给予罗格列酮治疗1个月, 葡萄糖耐量实验检测罗格列酮对小鼠糖耐量的作用, 酶联免疫吸附实验检测血清中 METRNL 水平, 实时定量 PCR 检测肌肉、肝脏、白色脂肪、棕色脂肪、脑、脾脏、肾脏等组织中 METRNL 的表达, 以及棕色脂肪中线粒体蛋白的表达。结果 罗格列酮治疗改善了高脂饮食动物的糖耐量, 同时血液中 METRNL 浓度也显著增高; 罗格列酮治疗增加了棕色脂肪和肾脏组织中 METRNL 的表达, 对肌肉、肝脏、白色脂肪、脑、脾脏的 METRNL 表达没有影响; 罗格列酮治疗增加了棕色脂肪线粒体相关蛋白的表达。结论 胰岛素增敏剂罗格列酮可能通过提高棕色脂肪和肾脏组织的 METRNL 表达升高血清 METRNL 水平, 提示 METRNL 可能参与了罗格列酮对糖尿病的治疗作用。

[关键词] 胰岛素增敏剂; 罗格列酮; 镍纹样蛋白; 胰岛素抵抗

[文章编号] 2097-2024(2024)04-0165-04

[DOI] 10.12206/j.issn.2097-2024.202308053

The increasement of blood METRNL protein by insulin sensitizer rosiglitazone

XU Fei¹, CHEN Jin², LI Zhiyong¹ (1. Department of Pharmacology, School of Pharmacy, Naval Medical University, Shanghai 200433, China; 2. Department of Endocrinology, First Affiliated Hospital of Naval Medical University, Shanghai 200082, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the effect of insulin sensitizer rosiglitazone on blood METRNL levels. **Methods** After fed with high fat diet (HFD) for 3 months, obese mice were treated with rosiglitazone for 1 month. Glucose tolerance was tested with glucose tolerance test (GTT), and METRNL levels in blood were measured by ELISA. Real time fluorescence quantitative PCR was used to detect the expression of METRNL in various tissues such as muscle, liver, white fat, brown fat, brain, spleen and kidney, as well as the expression of mitochondrial proteins in brown adipose tissue. **Results** Glucose tolerance of animals fed a high-fat diet was improved in rosiglitazone group, and blood METRNL levels were also increased significantly in this group. Rosiglitazone treatment increased the expression of METRNL in brown fat and kidney tissue. There was no effect on METRNL expression in muscle, liver, white fat, brain and spleen. Rosiglitazone increased the expression of mitochondrial-associated proteins in brown adipose tissue. **Conclusion** The insulin sensitizer rosiglitazone might increase the serum METRNL level by increasing the METRNL expression in brown fat and kidney tissue, suggesting that METRNL may be involved in the therapeutic effect of rosiglitazone on diabetes.

[Key words] insulin sensitizer; rosiglitazone; METRNL; insulin resistance

METRNL (Metrn-like) 蛋白是近年来发现和证实的新的分泌蛋白^[1-2], 其与 METRN 构成了一个两蛋白的新蛋白家族。虽然最初的研究表明, 该家族蛋白均可促进神经细胞轴突的生长^[2-4], 但两者表达差异很大, METRN 在中枢神经系统中高特异性表达, 而 METRNL 则在全身较为广泛地表达, 提示其可能具有更广泛的生理功能^[1-2, 5-6]。

最近的研究发现, METRNL 对代谢具有重要的调节作用。其在脂肪组织中表达较高, 特别是皮下脂肪, 被认为是一种新的脂肪因子^[1]。研究发现, 该蛋白可以调节脂肪细胞的分化, 脂肪细胞中 METRNL 过表达可提高全身胰岛素敏感性, 减少脂肪炎症扩大脂肪细胞的体积等^[7]。也有研究发现, METRNL 可以在运动后由肌肉组织增加分泌, 促进脂肪组织棕色化, 从而提高代谢率, 减轻体重和改善胰岛素敏感性^[8]。这些研究提示, METRNL 可能与提高胰岛素敏感性相关。

噻唑烷二酮类药物, 如罗格列酮, 可以通过激动 PPAR γ 受体, 提高胰岛素增敏性, 被称为胰岛素增敏剂。但是这类药物与 METRNL 蛋白之间的关

[基金项目] 上海市科技创新行动计划(201409004600), 上海市自然科学基金(23ZR1477400)

[作者简介] 徐 飞, 硕士研究生, 研究方向: 心血管药理学, Tel: 18561794598, Email: xufei18561794598@163.com

[通信作者] 李志勇, 博士, 副教授, 硕导, 研究方向: 心脑血管药理学, Email: lizhiyong0811@aliyun.com

系,至今尚不清楚。我们前期的研究发现,白色脂肪组织中 METRNL 过表达可以提高 PPAR γ 的表达,促进脂肪重构,降低白色脂肪炎症,但是激动 PPAR γ 对 METRNL 表达的影响尚未有报道。

本研究拟通过高脂饮食(HFD)诱导的胰岛素抵抗小鼠模型,检测血液 METRNL 的浓度变化;通过给予胰岛素增敏剂罗格列酮治疗,构建胰岛素增敏动物模型,检测血液中 METRNL 的水平变化,从而明确激动 PPAR γ 对血液 METRNL 水平影响,通过实时定量 PCR 检测不同组织中 METRNL 的表达,明确 PPAR γ 通过何种组织调控 METRNL 的表达与血液浓度。

1 材料和方法

1.1 动物处理

12周龄的雄性 C57BL/6 小鼠与小鼠饲料,均购自上海斯莱克实验动物有限公司。为检测胰岛素抵抗对 METRNL 表达的影响,分两组小鼠,每组 8 只,分别给予正常饮食(NCD)和 HFD,均饲养 4 个月;为了检测胰岛素增敏对于 METRNL 表达的影响,分两组小鼠,每组 8 只,两组均先 HFD 饲养 3 个月,而后实验组的饲料中加入药物罗格列酮(胰岛素增敏组),剂量为 10 mg/kg·d,治疗 1 个月,

对照组继续 HFD 饲养 1 个月。

1.2 糖耐量实验

小鼠禁食 18 h,腹腔注射 30% 葡萄糖溶液(2 g/kg),分别在 0、30、60、90、120 min 取尾静脉血,采用强生血糖仪(OneTouch Ultra)检测小鼠血糖水平。

1.3 酶联免疫吸附实验(ELISA)

戊巴比妥钠麻醉小鼠后(80 mg/kg),心脏取血收集血液,室温静置 2 h,3 000 r/min 离心 20 min,取上清液。采用小鼠 METRNL ELISA 试剂盒(购自美国 R&D biosystem 公司)检测血清中 METRNL 浓度。操作步骤参照试剂盒说明书。

1.4 荧光实时定量 PCR 实验

取小鼠附睾周围白色脂肪、肩胛骨间棕色脂肪、肝脏、腓肠肌、脑组织、肾脏、脾脏组织,采用 TRIzol 试剂(购自美国 Invitrogen 公司),按照说明书抽提组织总 RNA,用 RT-PCR 逆转录试剂盒(购自中国 TARARA 公司)逆转录为 cDNA。1 μ g 的 cDNA 用于检测 METRNL 的表达,GAPDH 作为内参。采用 2^{- $\Delta\Delta$ CT} 法与 SYBR® Green PCR Master Mix(Applied Biosystems)试剂,反应条件为,95 $^{\circ}$ C, 5 min, 1 个循环;95 $^{\circ}$ C, 15 s, 60 $^{\circ}$ C, 30 s, 72 $^{\circ}$ C, 30 s, 40 个循环。相关引物序列见表 1。

表 1 相关引物序列

基因	上游序列(5'—3')	下游序列(5'—3')
METRNL	CTGGAGCAGGGAGGCTTATTT	GGACAACAAAGTCACTGGTACA
GAPDH	GTATGACTCCACTCACGGCAAAA	GGTCTCGCTCCTGGAAGATG
ERR α	GCCG CGATGTCCTTTTGTG	CTGTACTCGATGCTCCCTGC
UCP-1	CACGGGGACCTACAATGCTT	ACAGTAAATGGCAGGGGACG
clecl10a	TGGTGTCTTGGTTTCCGTC	AGCTCTAGCTCTCCTTGGC
Mrc-1	CTCTGTTACAGTATTGGACGC	TGGCACTCCCAAACATAATTTGA
Lipe	GTTATGAGTGCCTCCGAGA	GAGCAAAGCTAGAGTCGGGG
LPL	GGTTGCGCGTAGAGAGGATG	CTCACGCTCTGACATGCCTTC
FABP4	AAGGTGAAGAGCATCATAACCCCT	TCACGCCTTTCATAACACATTCC
CD36	ATGGGCTGTGATCGGAACCTG	TTTGCCACGTATCTGGGTTT

1.5 统计学处理

所有数据均用($\bar{x} \pm s$)表示,用 SPSS 10.0 处理。两样本均数比较采用 *t* 检验。

2 结果

2.1 胰岛素增敏剂罗格列酮治疗改善了高脂饮食诱导的胰岛素抵抗

对 HFD 3 个月的小鼠采用罗格列酮治疗 1 个月,葡萄糖耐量实验检测其糖耐量情况如

图 1 所示,罗格列酮治疗组给予葡萄糖后 30、60、90、120 min 的血糖浓度均明显低于单纯 HFD 组($P < 0.01$),说明罗格列酮治疗明显改善了小鼠的糖耐量,提高了机体胰岛素敏感性。

2.2 胰岛素增敏剂罗格列酮治疗升高了胰岛素抵抗小鼠血液中 METRNL 的水平

取正常对照组、HFD 组、HFD 罗格列酮治疗组小鼠的血清,ELISA 检测 METRNL 的水平,结果如图 2 所示,罗格列酮组血清中 METRNL 的浓

度为(6 632±358) pg/ml, 是单纯 HFD 组(4 271±310) pg/ml 的 1.6 倍($P<0.05$)。

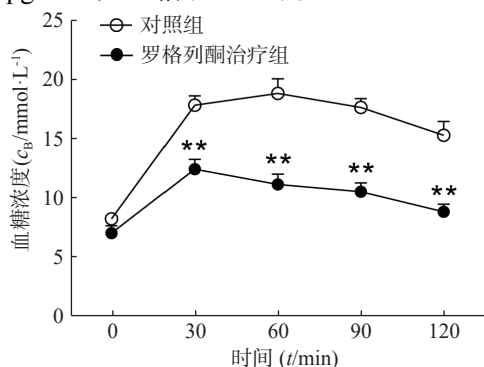


图1 罗格列酮对全身葡萄糖耐量的影响
 $**P<0.01$, 与对照组比较。

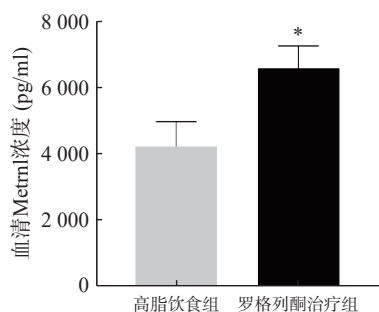


图2 罗格列酮对血清 METRNL 水平的影响
 $*P<0.05$, 与高脂饮食组比较。

2.3 胰岛素增敏剂罗格列酮治疗增加棕色脂肪组织和肾脏 METRNL 的表达

实时荧光定量 PCR 检测肌肉、肝脏、白色脂肪、棕色脂肪、脑、脾脏、肾脏等组织中 METRNL 的表达, 结果如图 3 所示, 与单纯 HFD 组相比, 罗格列酮治疗组棕色脂肪组织 METRNL 表达升高 1.6 倍, 肾脏组织 METRNL 表达升高 1.3 倍。

2.4 罗格列酮治疗促进了棕色脂肪代谢与棕色脂肪标记蛋白的表达

实时荧光定量 PCR 检测棕色脂肪组织代谢与棕色脂肪标记蛋白等 mRNA 表达情况, 结果如图 4 所示, 与单纯 HFD 组相比, 罗格列酮治疗组 ERR α 、

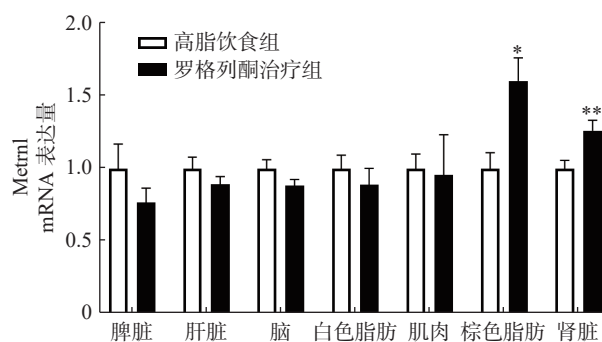


图3 罗格列酮对各组织 METRNL 表达影响
 $*P<0.05$, $**P<0.01$, 与高脂饮食组比较。

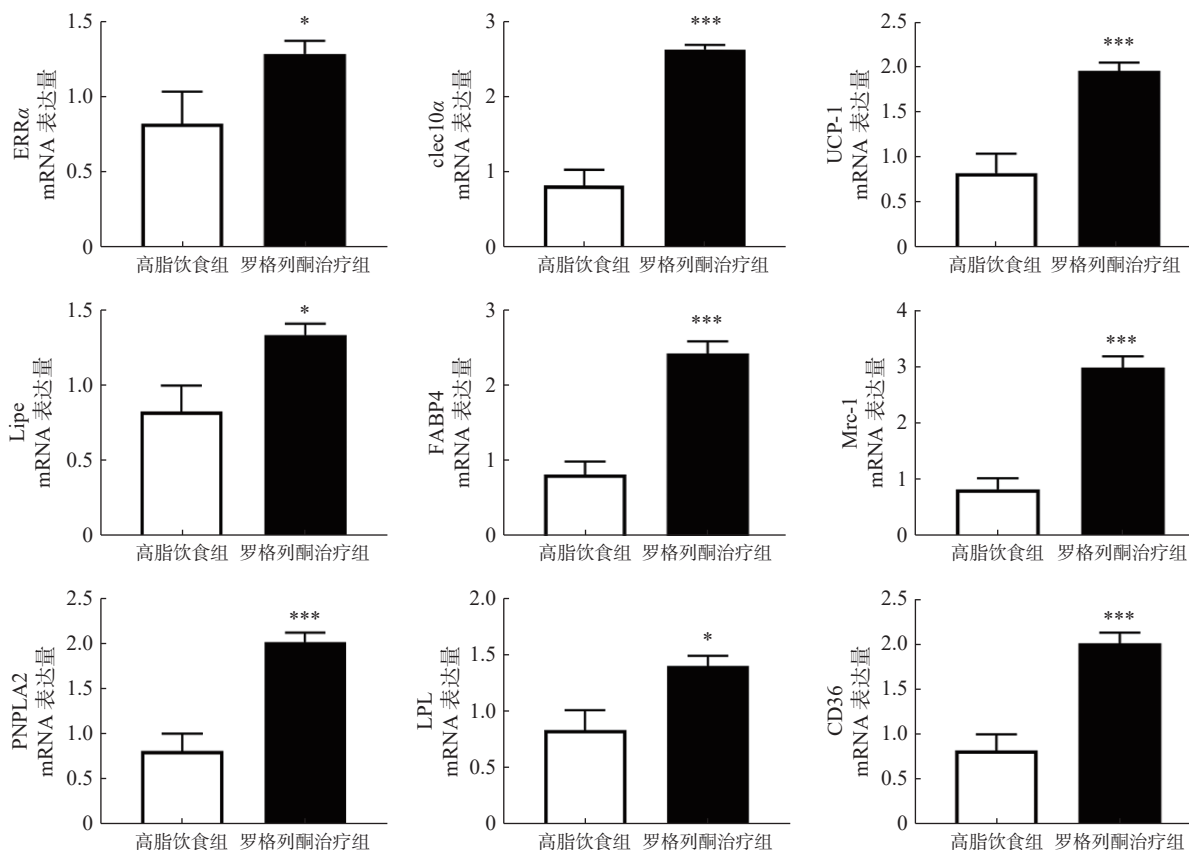


图4 罗格列酮治疗促进了棕色脂肪中代谢与棕色脂肪标记蛋白的表达
 $*P<0.05$, $***P<0.001$, 与高脂饮食组比较。

UCP-1、clec10a、Mrc-1、Lipe、LPL、FABP4、CD36、PNPLA2 等因子表达显著升高。

3 讨论

本研究通过 HFD 诱导胰岛素抵抗的肥胖小鼠,发现 HFD 可以导致 METRNL 血液水平升高。对肥胖小鼠不同组织 METRNL 表达的检测显示,脂肪组织 METRNL 表达显著升高。HFD 诱导的胰岛素抵抗小鼠,给予胰岛素增敏剂罗格列酮治疗后,小鼠糖耐量改善,同时,血清 METRNL 的浓度也升高。这些结果说明, METRNL 并非胰岛素敏感性的特异性指标,脂肪可能是使血液 METRNL 水平改变的主要组织之一。

Li 等研究发现,肥胖小鼠的脂肪组织 METRNL 表达增加^[7]。本研究也表明, METRNL 的血液浓度在高脂诱导肥胖后升高。Löffler 等研究发现, METRNL 与脂肪细胞的肥大相关,而脂肪细胞肥大被认为与 PPAR γ 活性的降低相关,是胰岛素抵抗的重要标志之一,进而认为 METRNL 是机体胰岛素抵抗的标志^[9]。然而,在本研究中,胰岛素增敏剂罗格列酮治疗后小鼠胰岛素敏感性提高,同时 METRNL 表达也显著升高,可见 METRNL 血液浓度的升高并不能代表胰岛素抵抗的增加。

罗格列酮可以显著提高胰岛素的敏感性,故也称为胰岛素增敏剂。本研究表明,其可以显著提高 METRNL 的表达,而 METRNL 又具有促进白色脂肪棕色化和提高胰岛素敏感性的作用,所以 METRNL 可能参与介导了罗格列酮的胰岛素增敏作用。

我们前期的研究表明,增加白色脂肪表达可以提高血液中 METRNL 的水平。本研究发现,罗格列酮未促进高脂条件下白色脂肪 METRNL 的表达,在检测的 7 种组织中,罗格列酮显著提高了棕色脂肪和肾脏 METRNL 的表达,但是对脾脏、肝脏、肌肉、白色脂肪、脑组织 METRNL 的表达没有影响,说明罗格列酮可能主要通过棕色脂肪和肾脏提高血液 METRNL 浓度。此外,进一步实验发现,罗格列酮促进了棕色脂肪中代谢和棕色脂肪标记蛋白的表达,这与以往的研究结果一致^[10],既往研究表明, METRNL 可促进白色脂肪棕色化,提示罗

格列酮促进棕色脂肪代谢的作用可能有 METRNL 蛋白参与。

本研究发现了胰岛素增敏剂罗格列酮治疗可能通过提高棕色脂肪和肾组织的 METRNL 表达来升高血清 METRNL 水平,提示 METRNL 可能参与了罗格列酮对糖尿病的治疗过程。

【参考文献】

- [1] LI Z Y, ZHENG S L, WANG P, et al. Subfatin is a novel adipokine and unlike Meteorin in adipose and brain expression[J]. *CNS Neurosci Ther*, 2014, 20(4): 344-354.
- [2] JØRGENSEN J R, FRANSSON A, FJORD-LARSEN L, et al. Cometin is a novel neurotrophic factor that promotes neurite outgrowth and neuroblast migration in vitro and supports survival of spiral ganglion neurons in vivo[J]. *Exp Neurol*, 2012, 233(1): 172-181.
- [3] NISHINO J, YAMASHITA K, HASHIGUCHI H, et al. Meteorin: a secreted protein that regulates glial cell differentiation and promotes axonal extension[J]. *EMBO J*, 2004, 23(9): 1998-2008.
- [4] JØRGENSEN J R, THOMPSON L, FJORD-LARSEN L, et al. Characterization of Meteorin: an evolutionary conserved neurotrophic factor[J]. *J Mol Neurosci*, 2009, 39(1-2): 104-116.
- [5] LI Z Y, FAN M B, ZHANG S L, et al. Intestinal Metrn released into the gut lumen acts as a local regulator for gut antimicrobial peptides[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2016, 37(11): 1458-1466.
- [6] USHACH I, BURKHARDT A M, MARTINEZ C, et al. METEORIN-LIKE is a cytokine associated with barrier tissues and alternatively activated macrophages[J]. *Clin Immunol*, 2015, 156(2): 119-127.
- [7] LI Z Y, SONG J, ZHENG S L, et al. Adipocyte metrn antagonizes insulin resistance through PPAR γ signaling[J]. *Diabetes*, 2015, 64(12): 4011-4022.
- [8] RAO R R, LONG J Z, WHITE J P, et al. Meteorin-like is a hormone that regulates immune-adipose interactions to increase beige fat thermogenesis[J]. *Cell*, 2014, 157(6): 1279-1291.
- [9] LÖFFLER D, LANDGRAF K, ROCKSTROH D, et al. METRNL decreases during adipogenesis and inhibits adipocyte differentiation leading to adipocyte hypertrophy in humans[J]. *Int J Obes*, 2017, 41(1): 112-119.
- [10] MIAO Z W, HU W J, LI Z Y, et al. Involvement of the secreted protein Metrn in human diseases[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2020, 41(12): 1525-1530.

【收稿日期】 2023-08-25 【修回日期】 2024-02-13

【本文编辑】 陈盛新