

• 论 著 •

短链脂肪酸通过激活 GPR43 上调 AMPK 信号通路抑制小鼠胰岛 β 细胞凋亡^{*}

张春雪¹, 王晨菲², 靳 瑾^{2△}

新疆医科大学第五附属医院: 1. 体检与健康管理科; 2. 内分泌科, 新疆乌鲁木齐 830000

摘要:目的 探究短链脂肪酸对小鼠胰岛 β 细胞的调节作用及相关机制。方法 将 C57BL/6J 小鼠随机分为正常组、模型组、乙酸钠治疗组、丙酸钠治疗组, 每组 10 只。其中模型组、乙酸钠治疗组、丙酸钠治疗组腹腔注射链脲佐菌素(STZ)诱导 1 型糖尿病。乙酸钠治疗组、丙酸钠治疗组分别每日灌胃乙酸钠和丙酸钠, 正常组、模型组灌胃同等剂量生理盐水。监测各组小鼠体重、血糖变化、口服糖耐量和血清中胰岛素水平。实时荧光定量聚合酶链反应(RT-qPCR)检测小鼠胰岛 GPR43、bcl-2、caspase3 表达水平, Western blotting 检测小鼠胰岛 GPR43、AMPK、p-AMPK、bcl-2、caspase3 表达水平。体外培养小鼠胰岛 β 细胞系 min6, 通过脂质体转染法将 si-GPR43 和 si-NC 转染至 min6 细胞, 给予乙酸钠和丙酸钠共孵育, 分组为 si-NC 组、si-NC+乙酸钠和丙酸钠组、si-GPR43 组、si-GPR43+乙酸钠和丙酸钠组。RT-qPCR 和 Western blotting 检测各组细胞 bcl-2、caspase3 表达水平, Annexin V-FITC 流式细胞术检测各组细胞凋亡水平。**结果** 与正常组相比, 模型组小鼠体重、口服糖耐量和胰岛素水平降低、血糖升高($P<0.05$); 胰岛中 caspase3 表达水平升高, GPR43、bcl-2 表达水平降低, p-AMPK 蛋白表达水平降低($P<0.05$)。与模型组相比, 乙酸钠治疗组和丙酸钠治疗组小鼠体重、口服糖耐量和胰岛素水平升高、血糖降低($P<0.05$); 胰岛中 caspase3 表达水平降低, GPR43、bcl-2 表达水平升高, p-AMPK 蛋白表达水平升高($P<0.05$)。与 si-NC 组相比, si-GPR43 组 p-AMPK 蛋白表达水平降低($P<0.05$)。与 si-NC 组相比, si-NC+乙酸钠和丙酸钠组 caspase3 表达水平降低, bcl-2 表达水平升高, 细胞凋亡率降低($P<0.05$)。与 si-NC 组、si-NC+乙酸钠和丙酸钠组相比, si-GPR43 组、si-GPR43+乙酸钠和丙酸钠组 caspase3 表达水平升高, bcl-2 表达水平降低, 细胞凋亡率升高($P<0.05$)。**结论** 短链脂肪酸可通过激活 GPR43 上调 AMPK 信号通路, 从而抑制小鼠胰岛 β 细胞凋亡, 缓解 1 型糖尿病。

关键词:短链脂肪酸; 短链脂肪酸受体; 1 型糖尿病; 胰岛 β 细胞

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2023.09.018 **中图法分类号:**R587.1

文章编号:1673-4130(2023)09-1110-07 **文献标志码:**A

Short-chain fatty acid activation of GPR43 upregulates AMPK signaling pathway and inhibits apoptosis of mouse islet β cells^{*}

ZHANG Chunxue¹, WANG Chenfei², JIN Jin^{2△}

1. Department of Physical Examination and Health Management; 2. Department of Endocrinology, the Fifth Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi, Xinjiang 830000, China

Abstract: **Objective** To investigate the regulation of short chain fatty acids on mouse islet β cells and its related mechanism. **Methods** C57BL/6J mice were randomly divided into 4 groups: normal group, model group, sodium acetate treatment group and sodium propionate treatment group, with 10 mice in each group. Model group, sodium acetate treatment group, sodium propionate treatment group intraperitoneal injection of streptozotocin (STZ) induced type 1 diabetes. Sodium acetate treatment group and sodium propionate treatment group were gastric injected with sodium acetate and sodium propionate, respectively, while normal group and model group were gastric injected with the same dose of normal saline. Body weight, blood glucose, oral glucose tolerance and serum insulin level were monitored. Real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction (RT-qPCR) was used to detect the expression levels of GPR43, bcl-2 and caspase3 in the islets of mice, and Western blotting was used to detect the expression levels of GPR43, AMPK, p-AMPK, bcl-2 and

* 基金项目:新疆维吾尔自治区自然科学基金项目(2022D01C318)。

作者简介:张春雪,女,主治医师,主要从事糖尿病及其并发症方向的研究。△ 通信作者, E-mail:jinjin@xjmu.edu.cn。

caspase3 in the islets of mice. Mouse islet β cell line min6 was cultured in vitro, si-GPR43 and si-NC were transfected into min6 by liposome transfection method, and co-incubated with sodium acetate and sodium propionate. The cells were divided into si-NC group, si-NC + sodium acetate and sodium propionate group, si-GPR43 group, si-GPR43 + sodium acetate and sodium propionate group. The expression levels of bcl-2 and caspase3 were detected by RT-qPCR and Western blotting, and apoptosis levels were detected by Annexin V-FITC flow cytometry. **Results** Compared with normal group, body weight, oral glucose tolerance and insulin level of model group were decreased, and blood glucose was increased ($P < 0.05$). The expression level of caspase3 increased, the expression level of GPR43 and bcl-2 decreased, and the expression level of p-AMPK protein decreased in islets ($P < 0.05$). Compared with model group, body weight, oral glucose tolerance and insulin level were increased and blood glucose was decreased in sodium acetate and sodium propionate treatment groups ($P < 0.05$). The expression level of caspase3 was decreased, the expression level of GPR43 and bcl-2 was increased, and the expression level of p-AMPK protein was increased ($P < 0.05$). Compared with si-NC group, p-AMPK protein expression level in si-GPR43 group was decreased ($P < 0.05$). Compared with si-NC group, the expression level of caspase3 was decreased, the expression level of bcl-2 was increased, and the apoptosis rate was decreased in si-NC + sodium acetate and sodium propionate groups ($P < 0.05$). Compared with si-NC group, si-NC + sodium acetate and sodium propionate group, the expression level of caspase3 in si-GPR43 group, si-GPR43 + sodium acetate and sodium propionate group was increased, the expression level of Bcl-2 was decreased, and the apoptosis rate was increased ($P < 0.05$). **Conclusion** Short-chain fatty acids could inhibit the apoptosis of mouse islet β cells and alleviate type 1 diabetes by activating GPR43 and upregulating AMPK signaling pathway.

Key words: short chain fatty acids; short-chain fatty acid receptor; type 1 diabetes mellitus; islet β cells

据报道,糖尿病是全球范围内 10 大疾病相关死亡原因之一,2019 年约有 400 万 20~79 岁的人死于糖尿病^[1]。研究发现,胰岛 β 细胞凋亡进而导致胰岛的功能损害是 1 型糖尿病(T1D)发病的原因之一^[2]。目前针对 T1D 及其并发症尚无理想的治疗方法^[3],因此寻找更好的生物治疗靶点来控制 T1D 至关重要。

肠道微生物能够发酵难以消化的食物,如膳食纤维等,最终产生短链脂肪酸^[4],短链脂肪酸是指低于 6 个碳原子的脂肪酸盐,如醋酸盐、丙酸盐和丁酸盐等^[5]。研究表明,仅口服和膳食补充丁酸盐可以预防高脂肪饮食引起的肥胖和胰岛素抵抗^[6],MOON 等^[7]研究发现,短链脂肪酸水平降低与 T1D 患者风险增加相关。同时有研究表明,增加短链脂肪酸的摄取可以缓解 1 型糖尿病患者的症状^[8]。G 蛋白偶联受体 43(GPR43)是一种 G 蛋白偶联受体,主要在免疫细胞、肠内分泌细胞和脂肪细胞中表达,可识别短链脂肪酸^[9]。胰岛 β 细胞凋亡是 T1D 的关键致病因素,PINGITORE 等^[10]研究发现,短链脂肪酸在体外刺激胰岛素分泌并减少小鼠和人类胰岛细胞凋亡。目前,短链脂肪酸抑制胰岛 β 细胞凋亡的分子机制仍缺乏进一步的研究。本研究通过对 T1D 小鼠口服灌胃乙酸钠和丙酸钠治疗,探究短链脂肪酸对小鼠胰岛

β 细胞的调节作用及相关机制。

1 材料与方法

1.1 材料来源 40 只 SPF 级雄性 C57BL/6J 小鼠(6~8 周龄,20~25 g)购自新疆医科大学实验动物中心,生产许可证号为 SCXK(新)2018-0002。所有小鼠于室温 25℃,自然光暗周期的环境中饲养,实验期间自由饮食、饮水。

1.2 细胞与主要试剂 链脲佐菌素(STZ)购自美国 SigmaAldrich 公司,乙酸钠、丙酸钠购自上海谱振生物有限公司,胰岛素 ELISA 检测试剂盒购自上海酶联生物科技有限公司,胶原酶 V 购自北京沃卡威生物技术有限公司,Ficoll 分离液、Hanks 平衡盐溶液购自上海士锋生物科技有限公司,min6 细胞购于上海谷研生物科技有限公司,RPMI 1640 培养基、胎牛血清、胰酶购自赛默飞世尔科技(中国)有限公司。si-NC、si-GPR43、LipofectamineTM 2000 购自美国 Invitrogen 公司,TRIzol、逆转录试剂盒和 SYBR Green 试剂购自上海翌圣公司,GPR43 抗体、AMPK 抗体、p-AMPK 抗体、bcl-2 抗体、caspase3 抗体购自英国 abcam 公司,辣根过氧化物酶(HRP)标记的山羊抗兔 IgG 抗体购自广州硕谱生物科技有限公司,RIPA 组织细胞快速裂解液购自北京索莱宝科技有限公司,ECL 试剂盒购自美国 Millipore 公司,Annexin V

FITC 试剂盒购自武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司。GPR43、bcl-2、caspase3 的 PCR 引物由上海生物工程技术有限公司合成。

1.3 实验方法

1.3.1 动物造模、分组与给药 将 40 只 C57BL/6J 小鼠随机分为 4 组:正常组、模型组、乙酸钠治疗组、丙酸钠治疗组,每组 10 只。其中模型组、乙酸钠治疗组、丙酸钠治疗组小鼠混在一起造模,给予一次性腹腔注射 STZ(120 mg/kg),于 1 周后小鼠尾静脉取血糖,空腹血糖 >13.8 mmol/L,则确认模型成功,随后再随机将这些小鼠分为模型组、乙酸钠治疗组和丙酸钠治疗组。乙酸钠治疗组、丙酸钠治疗组分别每日灌胃乙酸钠(2 000 mg/kg)和丙酸钠(2 000 mg/kg),正常组、模型组灌胃同等剂量生理盐水。4 组小鼠均每日灌胃给药,1 周后检测各组小鼠体重和血糖水平。

1.3.2 葡萄糖耐量试验 于干预 1 周后,将小鼠禁食 8 h,取小鼠尾静脉血,用微量血糖仪检测空腹血糖,随后给予 0.04 mL/kg 50%葡萄糖溶液灌胃,于灌胃后 0.0、0.5、1.0、2.0 h 取尾静脉血,检测血糖水平,并计算血糖曲线下面积(AUC)。

1.3.3 血清胰岛素水平检测 将小鼠眼眶取血,离心,取上清液,按照酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒说明书,用多功能酶标仪检测吸光度,计算血清胰岛素水平。

1.3.4 胰岛的提取 麻醉后脱颈处死小鼠,打开腹腔,暴露术野。用丝线结扎胆总管汇入十二指肠处后,用胶原酶 V (1 mg/mL)2~3 mL 充分灌注小鼠胰腺,37 °C 恒温静置消化 15 min。然后,用含 10%FBS 的预冷 Hanks 平衡盐溶液终止消化。使用 Ficoll 密度梯度离心法纯化小鼠胰岛(密度 1.108、1.096、1.069 和 1.037 g/mL)。

1.3.5 细胞培养 min6 细胞采用含 10% FBS 的 RPMI 1640 培养基培养,在 5% CO₂、37 °C 恒温培养箱培养。细胞达 80%汇合时,胰酶消化细胞,显微镜下观察大部分细胞变圆时终止消化,加入新鲜培养基,每隔两天更换一次新鲜的培养基。待细胞生长密度达到 80%时进行消化和传代,取对数生长期的细胞进行实验。

1.3.6 细胞转染和分组 将 min6 细胞分为 si-NC 组(转染 si-NC)、si-NC+乙酸钠和丙酸钠组(转染 si-NC,添加乙酸钠和丙酸钠)、si-GPR43 组(转染 si-GPR43)、si-GPR43+乙酸钠和丙酸钠组(转染 si-GPR43,添加乙酸钠和丙酸钠)。按照 Lipofectamine 2000 说明书步骤进行转染。调整 min6 细胞数量并接种于 6 孔板,使用不含抗菌药物的完全培养基培

养,使转染时细胞达 70%左右生长密度。制备 si-GPR43 特异性 si-RNA(si-GPR43)与脂质体复合物,同时制备 si-RNA(si-NC)与脂质体复合物,将复合物加入 6 孔板相应孔内。乙酸钠和丙酸钠组的终浓度均为 100 μ mol/L。

1.3.7 RT-qPCR 检测 GPR43、Bcl-2、caspase3 表达水平 TRIzol 试剂提取各组胰岛组织和各组 min6 细胞中的总 RNA,酶标仪检测总 RNA 的纯度和含量。RT-qPCR 反应体系:cDNA 模板 2 ng,上、下游引物各 0.4 μ L,SYBR Primix Ex Taq™ 5 μ L,ddH₂O 补充至 10 μ L。PCR 反应条件:95 °C 30 s 预变性后,变性 95 °C 7 s,退火 55 °C 30 s,72 °C 15 s,共 40 个循环。扩增结果根据 2^{- $\Delta\Delta$ Ct} 法计算 mRNA 的相对表达量。PCR 引物序列:GAPDH-F 为 5'-CCCTTAA-GAGGGATGCTGCC-3',GAPDH-R 为 5'-ACTGT-GCCGTTGAATTTGCC-3';GPR43-F 为 5'-AAT-CAGAAGACAGAAAAGGAGCTG-3',GPR43-R 为 5'-TCTGGGGTCATTCTCCTTGG-3';Bcl-2-F 为 5'-AGCATGCGACCTCTGTTTGA-3',Bcl-2-R 为 5'-GCCACACGTTTCTTGGCAAT-3';caspase3-F 为 5'-GAGCTTGGAACGGTACGCTA-3',caspase3-R 为 5'-CCGTACCAGAGCGAGATGAC-3'。

1.3.8 Western blotting 检测 GPR43、AMPK、p-AMPK、Bcl-2、caspase3 表达水平 收集各组胰岛组织和各组 min6 细胞,使用 RIPA 裂解提取总蛋白。样品变性后通过 SDS-PAGE 凝胶电泳分离等量蛋白转至 PVDF 膜。5%脱脂牛奶 4 °C 封闭 1 h,TBST 洗膜 5 min,3 次,加入 GPR43 抗体(1:1 000)、AMPK 抗体(1:1 000)、p-AMPK 抗体(1:1 000)、Bcl-2 抗体(1:1 000)、caspase3(1:1 000),4 °C 摇床孵育过夜。TBST 洗膜 5 min,3 次,加入 HRP 标记的羊抗兔的二抗(1:1 000)37 °C 孵育 1 h,TBST 洗膜 5 次,每次 5 min。显影曝光,利用 Image-Pro Plus 图像分析系统对蛋白条带的灰度值进行分析。

1.3.9 流式细胞术检测各组细胞凋亡情况 根据试剂盒检测说明,收集 4 组 min6 细胞,采用细胞计数板计算细胞数目,选取 3×10^5 个重悬的细胞,离心弃上清,PBS 洗涤 1 次,加入 500 μ L 稀释的 1 $\times$ Annexin V Binding Buffer 工作液重悬细胞。细胞悬液中加入 5 μ L 的 Annexin-V-FITC 和 5 μ L PI 染色液。轻柔涡旋混匀后,室温避光孵育 20 min,采用流式细胞仪检测细胞凋亡率。

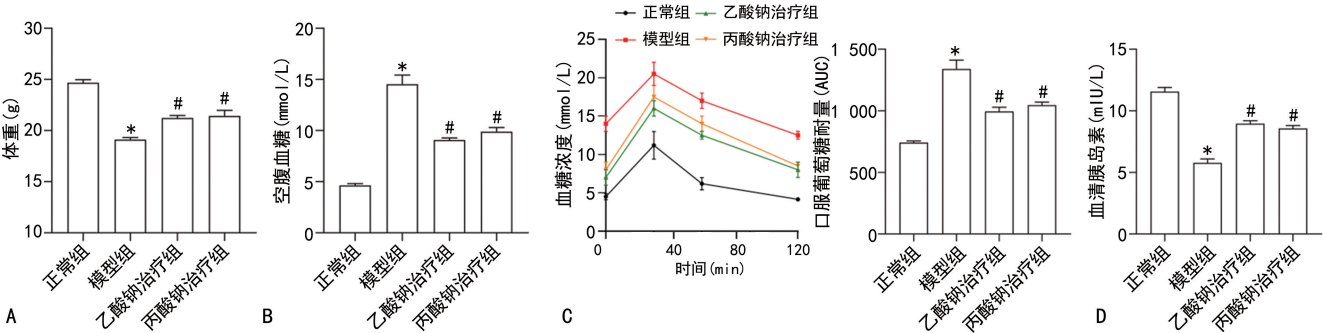
1.4 统计学处理 采用 SPSS19.0 和 GraphPad Prism 8.0 软件进行数据统计分析。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差

分析,组间两两比较采用 LSD-*t* 检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 短链脂肪酸改善小鼠 T1D 疾病症状 结果显示,与正常组比较,模型组小鼠体重降低,空腹血糖浓

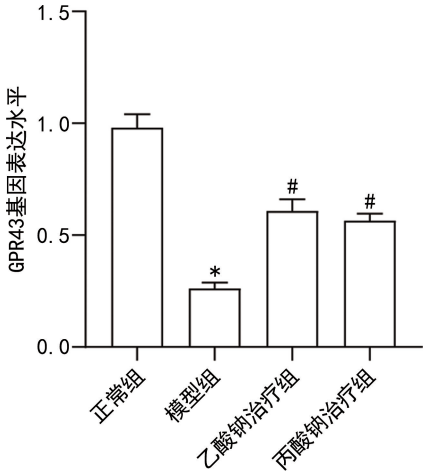
度升高,且高于 13.8 mmol/L,口服葡萄糖耐量减弱,胰岛素水平降低($P<0.05$),说明 STZ 造模成功。与模型组比较,乙酸钠治疗组和丙酸钠治疗组小鼠体重升高,空腹血糖浓度降低,口服葡萄糖耐量增加,胰岛素水平升高($P<0.05$),见图 1。



注:A 为体重比较;B 为空腹血糖比较;C 为口服葡萄糖耐量比较;D 为血清胰岛素比较;与正常组比较,* $P<0.05$;与模型组比较,# $P<0.05$ 。

图 1 短链脂肪酸改善 STZ 诱导的小鼠 T1D 疾病

2.2 短链脂肪酸激活小鼠胰岛 GPR43 及 AMPK 信号通路 RT-qPCR 结果显示,与正常组比较,模型组小鼠胰岛 GPR43 mRNA 表达水平降低($P<0.05$)。与模型组比较,乙酸钠治疗组和丙酸钠治疗组小鼠胰岛 GPR43 mRNA 表达水平升高($P<0.05$),见图 2。Western blotting 结果显示,与正常组比较,模型组小鼠胰岛 GPR43、p-AMPK 蛋白表达水平降低($P<0.05$)。与模型组比较,乙酸钠治疗组和丙酸钠治疗组小鼠胰岛 GPR43、p-AMPK 蛋白表达水平升高($P<0.05$),见图 3。



注:与正常组比较,* $P<0.05$;与模型组比较,# $P<0.05$ 。

图 2 短链脂肪酸促进胰岛 GPR43 基因表达

2.3 短链脂肪酸抑制小鼠胰岛细胞凋亡 RT-qPCR 和 Western blotting 结果显示,与正常组比较,模型组小鼠胰岛 caspase3 mRNA 和蛋白表达水平升高($P<0.05$),bcl-2 mRNA 和蛋白表达水平降低($P<0.05$)。与模型组比较,乙酸钠治疗组和丙酸钠治疗组小鼠胰岛 caspase3 mRNA 和蛋白表达水平降低($P<0.05$),bcl-2 mRNA 和蛋白表达水平升高($P<$

0.05),见图 4、5。

2.4 沉默 GPR43 抑制 AMPK 信号通路 RT-qPCR 结果显示,与 si-NC 组比较,si-GPR43 组 GPR43 mRNA 表达水平降低($P<0.05$),见图 6A。Western blotting 结果显示,与 si-NC 组比较,si-GPR43 组 GPR43 和 p-AMPK 蛋白表达水平降低($P<0.05$),见图 6B。

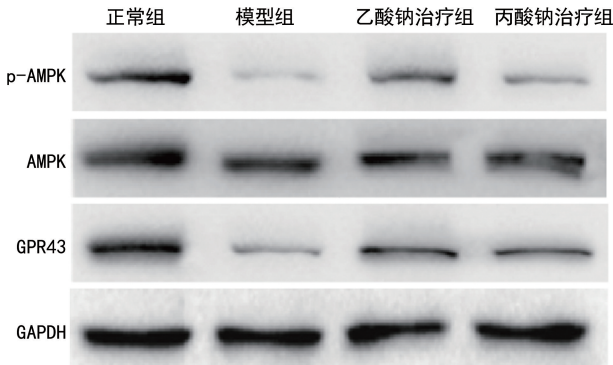
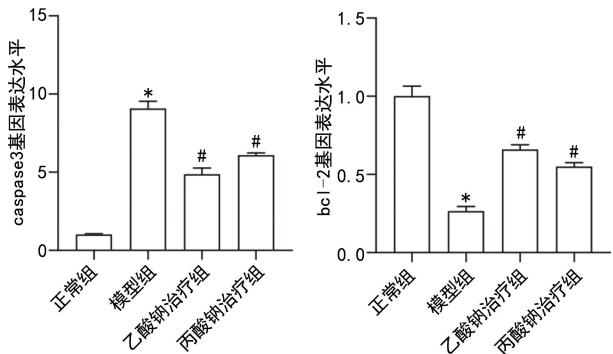


图 3 短链脂肪酸促进胰岛 GPR43 和 p-AMPK 蛋白表达



注:与正常组比较,* $P<0.05$;与模型组比较,# $P<0.05$ 。

图 4 短链脂肪酸对凋亡相关基因表达的影响

2.5 短链脂肪酸通过 GPR43 抑制 min6 细胞凋亡

RT-qPCR 和 Western blotting 结果显示,与 si-NC 组比较,si-NC+乙酸钠和丙酸钠组 caspase3 mRNA 和蛋白表达水平降低,bcl-2 表达水平升高($P<0.05$)。与 si-NC 组、si-NC+乙酸钠和丙酸钠组相比,si-GPR43 组、si-GPR43+乙酸钠和丙酸钠组 caspase3 mRNA 和蛋白表达水平升高,bcl-2 mRNA 和蛋白表达水平降低($P<0.05$)。见图 7、8。流式细胞术结果显示,与 si-NC 组比较,si-NC+乙酸钠和丙酸钠组细胞凋亡率降低($P<0.05$)。与 si-NC 组、si-NC+乙酸钠和丙酸钠组相比,si-GPR43 组、si-GPR43+乙酸钠和丙酸钠组细胞凋亡率升高($P<0.05$)。见图 9。

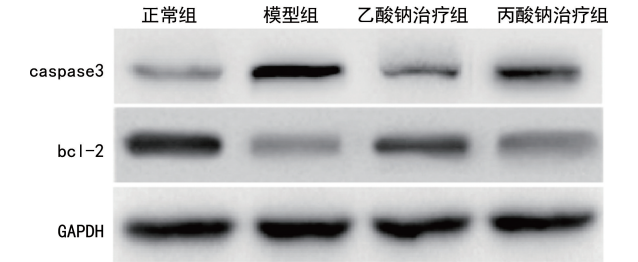
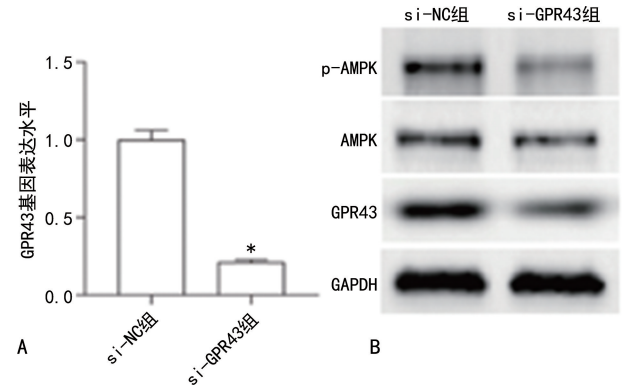
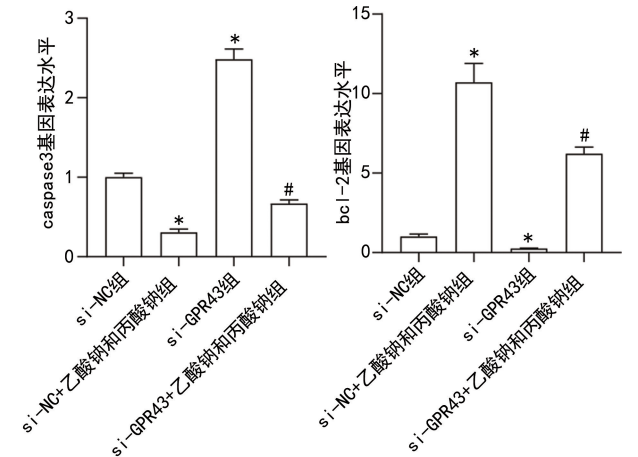


图 5 短链脂肪酸对凋亡相关蛋白表达的影响



注:A 为 RT-qPCR 检测 GPR43 基因表达;与 si-NC 组比较,* $P<0.05$;B 为 Western blotting 检测 GPR43、p-AMPK 蛋白表达。

图 6 沉默 GPR43 抑制 GPR43 基因和蛋白表达



注:与 si-NC 组比较,* $P<0.05$;与 si-NC+乙酸钠和丙酸钠组比较,# $P<0.05$ 。

图 7 沉默 GPR43 拮抗短链脂肪酸对细胞凋亡相关基因的抑制作用

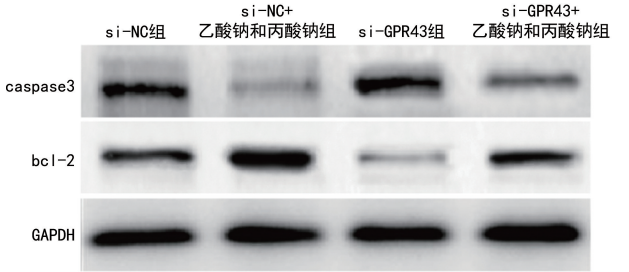
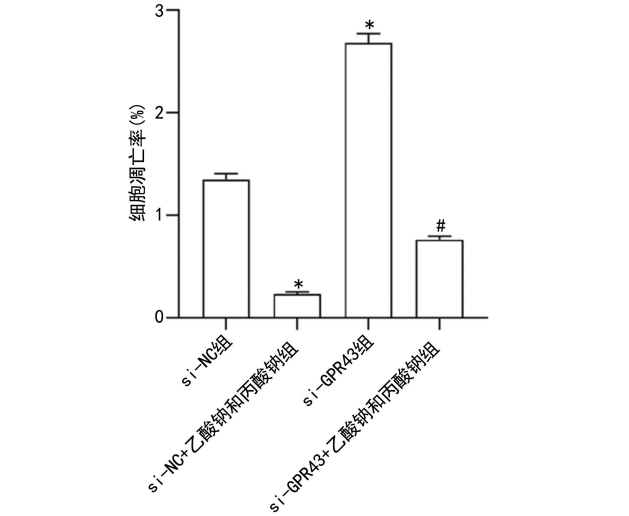


图 8 沉默 GPR43 拮抗短链脂肪酸对细胞凋亡相关蛋白的抑制作用



注:与 si-NC 组比较,* $P<0.05$;与 si-NC+乙酸钠和丙酸钠组比较,# $P<0.05$ 。

图 9 沉默 GPR43 拮抗短链脂肪促凋亡能力

3 讨 论

一项流行病学研究表明,全球 T1D 发病率正以每年 3%~4% 的速度增加,尤其是在年幼的儿童中^[11]。尽管胰岛素输送治疗和血糖监测方法有所改进,但绝大多数 T1D 患者血糖并未达到理想的控制水平。

短链脂肪酸是将膳食纤维与肠道健康联系起来的代谢物。短链脂肪酸在促进健康方面发挥着重要作用,MIYAMOTO 等^[12]发现短链脂肪酸可以调节血压,有益于心血管系统。另外有研究发现,乙酸盐通过分泌胰高血糖素样肽 1 和肽 YY 等肠道激素对宿主能量和底物代谢产生有益影响,如增加能量消耗和脂肪氧化、调节体重和葡萄糖稳态等^[13]。本研究通过腹腔注射 STZ 诱导小鼠 T1D 模型,然后给予乙酸钠和丙酸钠灌胃治疗,结果发现乙酸钠和丙酸钠治疗显著升高了小鼠体重、口服葡萄糖耐量和胰岛素水平,降低了空腹血糖浓度,表明短链脂肪酸口服治疗可以改善小鼠 T1D 疾病症状。

一般来说,短链脂肪酸可通过多种不同的方式进入细胞发挥作用,第 1 种是被动扩散,第 2 种是通过载体介导的转运,第 3 种是激活 G 蛋白偶联细胞表面受体。GPR43 作为 G 蛋白偶联受体的一种,可以结合短链脂肪酸协助其进入细胞,根据吸收部位的不

同,分散到骨骼肌、肝脏、脂肪组织等外周组织中发挥作用^[14]。最近的研究发现,人体摄入的膳食纤维可能会通过短链脂肪酸介导的 GPR43 和 GPR109A 作用来预防糖尿病肾病^[15]。另外有研究表明,短链脂肪酸介导的 GPR43 激活可以抑制脂肪细胞中的胰岛素信号传导,从而抑制脂肪组织中的脂肪堆积,并促进其他组织中的脂质和葡萄糖代谢水平^[16]。在本研究中,乙酸钠治疗组和丙酸钠治疗组小鼠胰岛 GPR43 mRNA 和蛋白表达水平升高,提示短链脂肪酸发挥作用可能是通过激活 GPR43 实现的。

T1D 作为一种自身免疫性疾病,胰岛 β 细胞的增殖与凋亡的相对比例失调可导致胰岛 β 细胞自身抗原的产生,导致促炎细胞因子、趋化因子、活性氧中间体和其他促凋亡刺激物浓度增加,从而诱导胰岛 β 细胞凋亡^[17]。HU 等^[18]采用乙酸盐和丁酸盐两种短链脂肪酸均能防止 STZ 诱导的 min6 细胞凋亡、活力降低、线粒体功能障碍,表明短链脂肪酸在维持胰岛 β 细胞代谢和促进胰岛 β 细胞在应激条件下的存活等方面发挥着重要作用。PINGITORE 等^[19]研究发现,结肠递送丙酸盐可以改善胰岛 β 细胞的胰岛素分泌,可通过抑制细胞凋亡来增强葡萄糖刺激的胰岛素释放和维持胰岛 β 细胞的功能。AMPK 在细胞内许多生理和病理过程的调节中发挥重要作用,也被认为是治疗糖尿病和其他代谢疾病的重要靶点,AMPK 是一种异源三聚体蛋白,由一个催化 α 亚基和两个调节亚基 β 和 γ 组成^[20]。研究表明,调节 AMPK 活性可以诱导或抑制细胞凋亡^[21]。在本研究中,通过检测凋亡相关蛋白 caspase3 和 bcl-2 的 mRNA 和蛋白表达,发现乙酸钠治疗组和丙酸钠治疗组小鼠胰岛细胞凋亡率降低,p-AMPK 蛋白表达水平升高,以上结果表明短链脂肪酸通过激活 AMPK 信号通路来抑制小鼠胰岛细胞的凋亡。为了探究短链脂肪酸是否通过激活 GPR43 对 AMPK 信号通路的调节来发挥作用,本研究通过沉默 GPR43 抑制 AMPK 信号通路后,凋亡相关蛋白 caspase3 和 bcl-2 的 mRNA 和蛋白表达水平均升高,表明细胞的凋亡水平增加,而当使用乙酸钠和丙酸钠进行治疗后抑制了细胞的凋亡。以上结果表明短链脂肪酸通过激活 GPR43,从而上调 AMPK 信号通路来抑制胰岛 β 细胞凋亡。

综上所述,本研究结果发现,短链脂肪酸口服治疗可以改善小鼠 T1D 疾病症状,短链脂肪酸可通过激活 GPR43 上调 AMPK 信号通路,从而抑制小鼠胰岛 β 细胞凋亡,缓解 T1D。以上结果初步明确了短链脂肪酸在 T1D 治疗中的作用,提示增加短链脂肪酸的摄取可能是预防及治疗 T1D 的一种有价值的策略,可能为探索糖尿病的治疗提供新的思路。

参考文献

[1] FARHADIPUR M, FALLAHZADEH H, GHADIRI-

- ANARI A, et al. Evaluation of the risk factors for type 2 diabetes using the generalized structure equation modeling in Iranian adults based on shahedieh cohort study[J]. J Diabetes Metab Disord, 2022, 21(1): 919-930.
- [2] MEUSEL L A, KANSAL N, TCHISTIAKOVA E, et al. A systematic review of type 2 diabetes mellitus and hypertension in imaging studies of cognitive aging: time to establish new norms[J]. Front Aging Neurosci, 2014, 6: 148.
- [3] ZHU T, LI M, ZHU M, et al. Epigallocatechin-3-gallate alleviates type 2 diabetes mellitus via β -cell function improvement and insulin resistance reduction[J]. Iran J Basic Med Sci, 2022, 25(4): 483-488.
- [4] RATAJCZAK W, RYL A, MIZERSKI A, et al. Immunomodulatory potential of gut microbiome-derived short-chain fatty acids (SCFAs)[J]. Acta Biochim Pol, 2019, 66(1): 1-12.
- [5] VAN DE WOUW M, BOEHME M, LYTE J M, et al. Short-chain fatty acids: microbial metabolites that alleviate stress-induced brain-gut axis alterations[J]. J Physiol, 2018, 596(20): 4923-4944.
- [6] MCNABNEY S M, HENAGAN T M. Short chain fatty acids in the colon and peripheral tissues: a focus on butyrate, colon cancer, obesity and insulin resistance[J]. Nutrients, 2017, 9(12): 1348.
- [7] MOON S, TSAY J J, LAMPERT H, et al. Circulating short and medium chain fatty acids are associated with normoalbuminuria in type 1 diabetes of long duration[J]. Sci Rep, 2021, 11(1): 8592.
- [8] YAP Y A, MARIÑO E. Dietary SCFAs immunotherapy: reshaping the gut microbiota in diabetes[J]. Adv Exp Med Biol, 2021, 1307: 499-519.
- [9] LU J, CHEN P P, ZHANG J X, et al. GPR43 deficiency protects against podocyte insulin resistance in diabetic nephropathy through the restoration of AMPK α activity[J]. Theranostics, 2021, 11(10): 4728-4742.
- [10] PINGITORE A, GONZALEZ-ABUIN N, RUZ-MALDONADO I, et al. Short chain fatty acids stimulate insulin secretion and reduce apoptosis in mouse and human islets in vitro: Role of free fatty acid receptor 2[J]. Diabetes Obes Metab, 2019, 21(2): 330-339.
- [11] RAMOS-RODRÍGUEZ M, PÉREZ-GONZÁLEZ B, PASQUALI L. The β -cell genomic landscape in T1D: implications for disease pathogenesis[J]. Curr Diab Rep, 2021, 21(1): 1.
- [12] MIYAMOTO J, KASUBUCHI M, NAKAJIMA A, et al. The role of short-chain fatty acid on blood pressure regulation[J]. Curr Opin Nephrol Hypertens, 2016, 25(5): 379-383.
- [13] HERNÁNDEZ M A G, CANFORA E E, (下转第 1120 页)

- 急性冠状动脉综合征情况分析[J]. 心脑血管病防治, 2021, 21(6): 592-594.
- [5] SHIYOVICH A, SKALSKY K, STEINMETZ T, et al. Incidence, determinants and impact of acute kidney injury in ACS patients with versus without diabetes mellitus [J]. *Eur Heart J*, 2021, 42(1): ehab724. 1137.
- [6] 马智会, 朱永武. 冠状动脉血管内超声钙化特征联合血清 miRNA-1、miRNA-208b 对 NSTE-ACS 患者 PCI 术后冠状动脉再狭窄的预测价值[J]. *临床心血管病杂志*, 2019, 35(9): 795-800.
- [7] 吴悦, 季宏, 陈华山, 等. 化痰清眩汤联合前列地尔治疗血管源性眩晕的疗效及其对脑血流灌注和血管内皮功能的影响研究[J]. *实用心脑血管病杂志*, 2020, 28(8): 110-115.
- [8] 李小静, 闫卫军. 血清可溶性白介素-6 受体、基质金属蛋白酶-9 和白介素-18 水平对急性 ST 段抬高心肌梗死合并心力衰竭患者左心功能的影响[J]. *内科急危重症杂志*, 2020, 26(4): 321-324.
- [9] 曾文, 蒙臣, 王雪, 等. 肝素结合样表皮生长因子在机体各组织器官损伤中的修复作用研究进展[J]. *山东医药*, 2020, 60(30): 100-104.
- [10] 陈绍良. 急性冠状动脉综合征: 理论与实践最前沿[M]. 沈阳: 辽宁科学技术出版社, 2005: 21-22.
- [11] 原鹏. 冠状动脉数字减影血管造影术与 CT 冠状动脉成像对急性冠状动脉综合征的诊断价值研究[J]. *中国药物与临床*, 2020, 20(21): 3569-3570.
- [12] 何文飞, 林泽获, 刘远辉, 等. 血清超敏 C 反应蛋白浓度与非 ST 段抬高型 ACS 合并多支血管病变接受 PCI 治疗患者长期预后的关系[J]. *岭南心血管病杂志*, 2021, 27(3): 259-264.
- [13] 王银燕, 袁良, 杨帆, 等. 调脾护心方对急性心肌缺血模型大鼠心肌 Ang II、ACE、AGTR1 蛋白及 AGT、AGTR1、ET-1 mRNA 表达的影响[J]. *中国中西医结合杂志*, 2019, 39(4): 87-91.
- [14] 贺少辉, 刘美林, 张一凡, 等. 血清内皮素-1 联合血红蛋白对心肌梗死患者经皮冠状动脉介入术近期预后的预测效能研究[J]. *血栓与止血学*, 2020, 26(6): 913-915.
- [15] 尹锐, 贾国渠, 陈巍, 等. ACS 患者 PCI 术前后血管内皮功能及炎症因子变化的临床意义[J]. *中国实验诊断学*, 2021, 25(2): 304-307.
- [16] 宁庆, 尹浩军, 孙广锋, 等. 血清 Lp-PLA2、MMP-9 表达水平与缺血性脑卒中患者血管性痴呆的相关性[J]. *中南医学科学杂志*, 2020, 48(6): 572-575.
- [17] 冯艳林, 李毅, 马瑞, 等. 老年冠状动脉粥样硬化性心脏病合并糖尿病患者经皮冠状动脉介入术后应用替格瑞洛和氯吡格雷的临床疗效比较[J]. *中国医药*, 2020, 15(2): 178-182.
- [18] 王蕊, 张鹏祥, 李飞星, 等. PCI 治疗对急性冠脉综合征患者血浆可溶性 CD40 配体及基质金属蛋白酶-9 的影响[J]. *基因组学与应用生物学*, 2019, 38(10): 4837-4841.
- [19] 王全河, 翟关群. 微小核糖核酸-21、金属基质蛋白酶-9、骨桥蛋白水平变化在 PCI 患者术后再狭窄中的预测价值[J]. *中国循证心血管医学杂志*, 2018, 10(5): 611-614.
- [20] 李高宇. 血清 HB-EGF、HMGB1 水平与冠状动脉支架植入术后支架内再狭窄的关系[J]. *实用临床医学*, 2019, 20(11): 16-18.
- [21] 郑梅, 李树仁, 孙明超, 等. 不同处理方式对并发多支血管病变非 ST 段抬高型心肌梗死患者远期预后的影响及相关因素分析[J]. *岭南心血管病杂志*, 2019, 25(4): 376-379.

(收稿日期: 2022-09-28 修回日期: 2023-02-02)

(上接第 1115 页)

- JOCKEN J W E, et al. The short-chain fatty acid acetate in body weight control and insulin sensitivity[J]. *Nutrients*, 2019, 11(8): 1943.
- [14] SUN M, WU W, LIU Z, et al. Microbiota metabolite short chain fatty acids, GPCR, and inflammatory bowel diseases [J]. *J Gastroenterol*, 2017, 52(1): 1-8.
- [15] LI YJ, CHEN X, KWAN T K, et al. Dietary fiber protects against diabetic nephropathy through short-chain fatty acid-mediated activation of G protein-coupled receptors GPR43 and GPR109A[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2020, 31(6): 1267-1281.
- [16] KIMURA I, OZAWA K, INOUE D, et al. The gut microbiota suppresses insulin-mediated fat accumulation via the short-chain fatty acid receptor GPR43[J]. *Nat Commun*, 2013, 4: 1829.
- [17] SALA E, VIVED C, LUNA J, et al. CDK11 promotes cytokine-induced apoptosis in pancreatic beta cells independently of glucose concentration and is regulated by inflammation in the NOD mouse model[J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 634797.
- [18] HU S, KUWABARA R, DE HAAN B J, et al. Acetate and butyrate improve β -cell metabolism and mitochondrial respiration under oxidative stress[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(4): 1542.
- [19] PINGITORE A, CHAMBERS ES, HILL T, et al. The diet-derived short chain fatty acid propionate improves beta-cell function in humans and stimulates insulin secretion from human islets in vitro [J]. *Diabetes Obes Metab*, 2017, 19(2): 257-265.
- [20] ZHANG M H, FANG X S, GUO J Y, et al. Effects of AMPK on apoptosis and energy metabolism of gastric smooth muscle cells in rats with diabetic gastroparesis [J]. *Cell Biochem Biophys*, 2019, 77(2): 165-177.
- [21] KRISHAN S, SAHNI S, LECK L Y W, et al. Regulation of autophagy and apoptosis by Dp44mT-mediated activation of AMPK in pancreatic cancer cells[J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2020, 1866(5): 165657.

(收稿日期: 2022-08-09 修回日期: 2022-12-21)