

赵延辉, 解成霞. Exendin-4 对 STZ 诱导的糖尿病肾病大鼠的干预效果及作用机制研究 [J]. 中国比较医学杂志, 2021, 31 (9): 51-58.

Zhao YH, Xie CX. Effects and mechanisms of Exendin-4 on streptozotocin-induced diabetic nephropathy in rats [J]. Chin J Comp Med, 2021, 31(9): 51-58.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856. 2021. 09. 008

Exendin-4 对 STZ 诱导的糖尿病肾病大鼠的干预效果及作用机制研究

赵延辉, 解成霞*

(青海红十字医院, 西宁 810000)

【摘要】 目的 研究 Exendin-4 对链脲佐菌素 (streptozotocin, STZ) 诱导的糖尿病肾病大鼠的干预效果及可能的作用机制。**方法** 选取无特定病原体级 60 只 SD 健康大鼠, 将 45 只大鼠建立糖尿病肾病大鼠模型并随机分为模型组、贝那普利组、Exendin-4 低、中和高剂量组, 空白组为健康大鼠, 每组各 9 只。建模成功后, 贝那普利组灌胃 10 mg/kg 贝那普利片, Exendin-4 低、中和高剂量组分别皮下注射 Exendin-4 4、20、100 $\mu\text{g/kg}$, 正常组和模型组灌胃给予纯净水。给药 1 周后检测各组的总胆固醇 (total cholesterol, TG)、甘油三酯 (triglycerides, TC)、高密度脂蛋白胆固醇 (high-density lipoprotein cholesterol, HDL)、低密度脂蛋白胆固醇 (low-density lipoprotein cholesterol, LDL)、淀粉酶 (amylase, AMY)、血糖 (blood glucose, BG)、糖化血红蛋白 (hemoglobin, HbA1c)、空腹血清胰岛素 (fasting serum insulin, FINS)、体重、肾脏指数 (renal index, RI)、肾小球面积、肾小球直径以及肾组织的晚期糖基化终末产物 (glycation end products, AGEs)、PDK1、p-Akt、p-mTOR 蛋白表达量。**结果** Exendin-4 中、高剂量组大鼠 TG、TC、LDL、BG、HbA1c、FINS、AGEs、体重、RI、肾小球面积、肾小球直径、PDK1、p-Akt、p-mTOR 蛋白表达量均低于 Exendin-4 低剂量组, HDL 高于 Exendin-4 低剂量组, 具有显著性差异 ($P < 0.05$); Exendin-4 高剂量组大鼠 TG、TC、HDL、LDL、BG、HbA1c、FINS、AGEs、RI、肾小球面积、肾小球直径、PDK1、p-Akt、p-mTOR 蛋白表达量均低于 Exendin-4 中剂量组, HDL 高于 Exendin-4 中剂量组, 其中 TC、HDL、LDL、AMY、HDL、体重、RI、肾小球面积具有显著性差异 ($P < 0.05$)。**结论** Exendin-4 能够减轻 STZ 诱导的糖尿病肾病大鼠的炎症水平, 改善其 BG、血脂及胰腺功能, 其作用机制可能与 PDK1/Akt/mTOR 通路受到抑制有关。本研究为临床上治疗糖尿病肾病等其他炎症病症提供了新的方向。

【关键词】 Exendin-4; 糖尿病肾病; STZ 诱导

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2021) 09-0051-08

Effects and mechanisms of Exendin-4 on streptozotocin-induced diabetic nephropathy in rats

ZHAO Yanhui, XIE Chengxia*

(Qinghai Red Cross Hospital, Xining 810000, China)

【Abstract】 Objective To study the effects and mechanisms of Exendin-4 on streptozotocin-induced diabetic nephropathy in rats. **Methods** 60 SD healthy rats without specific pathogen level were selected. 45 rats were established to establish diabetic nephropathy model. They were randomly divided into model group, benazepril group, Exendin-4 low,

[基金项目] 青海省科技计划项目 (2014-NS-123)。

[作者简介] 赵延辉 (1982—), 男, 主治医师, 本科, 研究方向: 糖尿病。E-mail: 49673753@qq.com

[通信作者] 解成霞 (1983—), 女, 主治医师, 本科, 研究方向: 妇科肿瘤。E-mail: qhxchx@163.com

medium and high dose group, and the blank group was healthy rats with 9 rats in each group. After successful modeling, benazepril group was given 10 mg/kg benazepril tablets by gavage, exendin-4 low, medium and high dose groups were injected subcutaneously with Exendin-4 4, 20 and 100 g/kg respectively, and the normal group and model group were given purified water by gavage. One week after administration, total cholesterol (TG), triglycerides (TC), high-density lipoprotein cholesterol (HDL), low-density lipoprotein cholesterol (LDL), amylase (AMY) and blood glucose (BG) were measured, hemoglobin (HbA1c), fasting serum insulin (FINS), body mass, renal index (RI), glomerular area, glomerular diameter and the expression of advanced glycation end products (AGEs), PDK1, p-Akt and p-mTOR proteins in renal tissue. **Results** The expression of TG, TC, LDL, BG, HbA1c, fins, ages, body mass, RI, glomerular area, glomerular diameter, PDK1, p-Akt, p-mTOR protein expression in the middle and high dose groups were lower than that in the low dose group ($P < 0.05$). The expressions of TG, TC, HDL, LDL, BG, HbA1c, FINS, AGEs, RI, glomerular area, glomerular diameter, PDK1, p-Akt and p-mTOR protein in Exendin-4 high dose group were lower than those in Exendin-4 medium dose group, and HDL was higher than that in Exendin-4 medium dose group. There were significant differences in TC, HDL, LDL, AMY, HDL, body mass, RI and glomerular area ($P < 0.05$). **Conclusion** Exendin-4 can reduce inflammation levels in streptozotocin-induced diabetic nephropathy rats and improve their BG, lipid levels, and pancreas function. The mechanisms underlying these effects may be related to inhibition of the PDK1/Akt/mTOR pathway. These findings provide a new direction for the clinical treatment of diabetic nephropathy and other inflammatory diseases.

[Keywords] Exendin-4; diabetic nephropathy; STZ induction

糖尿病肾病 (diabetic nephropathy, DN) 是糖尿病 (diabetes mellitus, DM) 严重的并发症之一, 可导致严重肾衰竭。糖尿病肾病一旦出现持续性蛋白尿病情将无法逆转, 直至终末期肾衰竭, 且糖尿病肾病的患病率逐年增加^[1-2]。糖尿病代谢异常会直接导致肾小球硬化, 进而导致肾功能损伤, 因此临床通过强化血糖控制来降低糖尿病肾病发生的风险。Exendin-4 是一种肠降糖素类似物, 由 39 个氨基酸组成的多肽, 主要产生于蜥蜴 (Gila monster lizard) 的唾液腺中, 能够减轻体重, 改善胰岛细胞功能, 呈剂量依赖性促进胰岛素分泌, 可发挥治疗糖尿病肾病的作用^[2-4], 但 Exendin-4 对于糖尿病所致肾病的作用研究较少。大量文献报道激活的 PDK1/Akt/mTOR 通路参与了糖尿病肾病的发病过程, 许多用于治疗糖尿病肾病的药物均与调控该通道相关^[5-6]。因此在本文拟采用 Exendin-4 对链脲佐菌素 (streptozotocin, STZ) 诱导的糖尿病肾病大鼠进行干预治疗, 为 Exendin-4 的临床应用提供理论参考。

1 材料和方法

1.1 实验动物

无特定病原体动物 (specific pathogen free animal, SPF) 级 SD 健康雄性大鼠 54 只, 体重 (219.7 ± 8.5) g, 鼠龄 (3.5 ± 0.2) 月; 均购于湖南斯莱克景达实验动物有限公司 [SCXK (湘) 2019-0004]。在青海大学医学院动物实验室 [SYXK (青) 2019-0001] 中将 SD 大鼠均养殖在干净笼子里, 室温 (22.1 ± 1.8) °C, 相

对湿度 35%~40%, 每天光照 12 h, 自由饮用纯净水, 适应性饲养 1 周后开展实验。本文研究所做实验均获得青海红十字医院伦理委员会批准 (E20190015), 并满足动物实验学中的 3R 要求。

1.2 主要试剂与仪器

ME104E 型电子分析天平 (美国梅特勒-托利多公司); SZX12-3111 型显微镜 (日本奥林巴斯公司); DOTOP 型全自动生化仪 (广州东唐电子科技有限公司); Exendin-4 (浙江鸿拓生物技术有限公司); 链脲佐菌素 (streptozotocin, STZ, 美国 Sigma); 总胆固醇 (total cholesterol, TG)、甘油三酯 (triglycerides, TC)、高密度脂蛋白胆固醇 (high-density lipoprotein cholesterol, HDL)、低密度脂蛋白 (low-density lipoprotein cholesterol, LDL)、淀粉酶 (amylase, AMY) 试剂盒 (上海抚生实业有限公司); 血糖 (blood glucose, BG) 试剂盒 (上海钰博生物科技有限公司-仪器信息网); 糖化血红蛋白 (hemoglobin, HbA1c) 和空腹血清胰岛素 (fasting serum insulin, FINS) 试剂盒均购自南京基蛋生物科技有限公司; 兔抗鼠晚期糖基化终末产物 (advanced glycation end products, AGEs, 艾美捷科技有限公司)、兔抗鼠 PDK1 抗体 (艾美捷科技有限公司); 兔抗鼠 p-Akt 抗体 (厦门研科生物技术有限公司); 兔抗鼠 p-mTOR 抗体 (上海安研商贸有限公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 分组、建模及给药

随机选取 60 只大鼠中 9 只作为正常组, 其余大

鼠参照邵晓丽等^[7]方法建立糖尿病肾病模型,对大鼠腹腔一次性注射 STZ 60 mg/kg,当 BG $\geq$ 16.7 mmol/L,尿糖为++++以上表明糖尿病肾病大鼠模型建立成功。将糖尿病肾病大鼠随机分为模型组、贝那普利组、Exendin-4 低、中和高剂量组,每组各 9 只。贝那普利组灌胃 10 mg/kg 贝那普利片,Exendin-4 低、中和高剂量组大鼠分别皮下注射 Exendin-4 4、20、100 μ g/kg,正常组和模型组灌胃给予纯净水,灌胃或注射体积均为 20 μ L/g。所有大鼠均连续给药 1 周。

1.3.2 TG、TC、HDL、LDL 水平检测

给药结束后,给予全麻,抽取腹主动脉血 5 mL 置于抗凝管,5000 r/min 离心 10 min,取血浆,使用 DOTOP 型全自动生化仪检测 TG、TC、HDL、LDL 水平。

1.3.3 BG、HbA1c 和 FINS

抽取腹主动脉血 5 mL,5000 r/min 离心 10 min,取血清,采用葡萄糖氧化酶法检测 BG;采用酶法检测 HbA1c;采用放射免疫法检测 FINS。

1.3.4 体重和肾脏指数(renal index, RI)、肾小球面积及肾小球直径

给药前及给药结束称量体重。给药结束,取血结束,安乐处死大鼠,开腹取左肾和右肾,测重量,取左肾,采用 10% 的中性福尔马林溶液固定,常规制片,光镜下测量左肾和右肾的肾小球的直径和面积,计算 $RI = (\text{左肾重量} + \text{右肾重量}) / \text{体重} \times 100\%$ 。

1.3.5 切片及染色

取“1.3.4”项下切片,脱水透明,浸蜡包埋,脱蜡、HE 染色,镜下观察大鼠肾组织病理学表现。

1.3.6 AGEs 及 PDK1/Akt/mTOR 通路蛋白检测

取“1.3.4”项下右肾,使用 Western blot 检测 AGEs、PDK1、p-Akt、p-mTOR 通路蛋白,提取肾组织中的样品总蛋白,与上样缓冲液按比例混合,煮沸 5 min 后,进行电泳,并将蛋白电转至 PVDF 膜,使用 5% 的脱脂奶粉封闭 1~2 h,然后加入一抗溶液 TBST (AGEs、PDK1、p-Akt、p-mTOR 按照 1:1000 稀释),在 4℃ 条件下震荡过夜,再次洗涤,放入二抗,室内震荡 120 min 后,洗涤,显色成像,使用软件分析蛋白条带灰度值。内参蛋白是 GAPDH。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 19.0 统计软件包进行统计分析处理。计量资料采用平均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)描述,多组间比较采用单因素方差分析,两组间比较采用 SNK 检验, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 病理组织学观察

如图 1 所示,空白组肾小管结构正常,肾间质未见明显的炎性细胞增生,模型组肾小球上皮细胞变性,肾小管周围明显炎性细胞浸润,肾间质增宽,管腔内可见坏死脱落的上皮细胞,小管空泡变性萎缩;贝那普利组肾间质炎性细胞浸润减少,肾小管上皮细胞肿胀和坏死程度减轻;Exendin-4 各组的肾间质炎性细胞减少,管腔内坏死脱落的上皮细胞减少,小管变性萎缩空泡减少,其中 Exendin-4 中剂量组肾间质偶见炎性细胞,管腔内坏死脱落的上皮细胞明显减少,肾病变改善明显。

2.2 六组大鼠 TG、TC、HDL、LDL、AMY 水平比较

如表 1 所示,模型组、贝那普利组、Exendin-4 低、中和高剂量组大鼠血清 TG、TC、LDL、AMY 水平均高于空白组,HDL 均低于空白组,具有显著性差异($P < 0.05$);贝那普利组、Exendin-4 低、中和高剂量组大鼠 TG、TC、LDL、AMY 水平均低于模型组,HDL 均高于模型组,具有显著性差异($P < 0.05$);Exendin-4 低、中和高剂量组大鼠 TG、TC、LDL、AMY 水平均低于贝那普利组,HDL 均高于贝那普利组,具有显著性差异($P < 0.05$);Exendin-4 中和高剂量组大鼠 TG、TC、LDL、AMY 水平均低于 Exendin-4 低剂量组,HDL 均高于 Exendin-4 低剂量组,具有显著性差异($P < 0.05$);Exendin-4 高剂量组大鼠 TG、TC、LDL、AMY 水平均低于 Exendin-4 中剂量组,HDL 均高于 Exendin-4 中剂量组,其中 TC、HDL、LDL、AMY、HDL 具有显著性差异($P < 0.05$)。

2.3 六组大鼠 BG、HbA1c、FINS 水平比较

如表 2 所示,模型组、贝那普利组、Exendin-4 低、中和高剂量组大鼠 BG、HbA1c、FINS 水平均高于空白组,具有显著性差异($P < 0.05$);贝那普利组、Exendin-4 低、中和高剂量组大鼠 BG、HbA1c、FINS 水平均低于模型组,具有显著性差异($P < 0.05$);Exendin-4 低、中和高剂量组大鼠 BG、HbA1c、FINS 水平均低于贝那普利组,具有显著性差异($P < 0.05$);Exendin-4 中和高剂量组大鼠 BG、HbA1c、FINS 水平均低于 Exendin-4 低剂量组,具有显著性差异($P < 0.05$);Exendin-4 高剂量组大鼠 BG、HbA1c、FINS 水平均低于 Exendin-4 中剂量组,但无显著性差异($P > 0.05$)。

2.4 六组大鼠体重、RI、AGEs、肾小球面积、肾小球直径比较

如表 3 和表 4 所示,模型组、贝那普利组、Exendin-4 低、中和高剂量组体重、RI、AGEs、肾小球面积、肾小球直径均高于空白组,具有显著性差异 ($P<0.05$);贝那普利组、Exendin-4 低、中和高剂量组大鼠体重、RI、AGEs、肾小球面积、肾小球直径低于模型组,具有显著性差异 ($P<0.05$);Exendin-4

低、中和高剂量组大鼠体重、RI、AGEs、肾小球面积、肾小球直径低于贝那普利组,具有显著性差异 ($P<0.05$);Exendin-4 中、高剂量组大鼠体重、RI、AGEs、肾小球面积、肾小球直径低于 Exendin-4 低剂量组,具有显著性差异 ($P<0.05$);Exendin-4 高剂量组大鼠体重、RI、AGEs、肾小球面积、肾小球直径低于 Exendin-4 中剂量组,其中体重、RI、肾小球面积具有显著性差异 ($P<0.05$)。

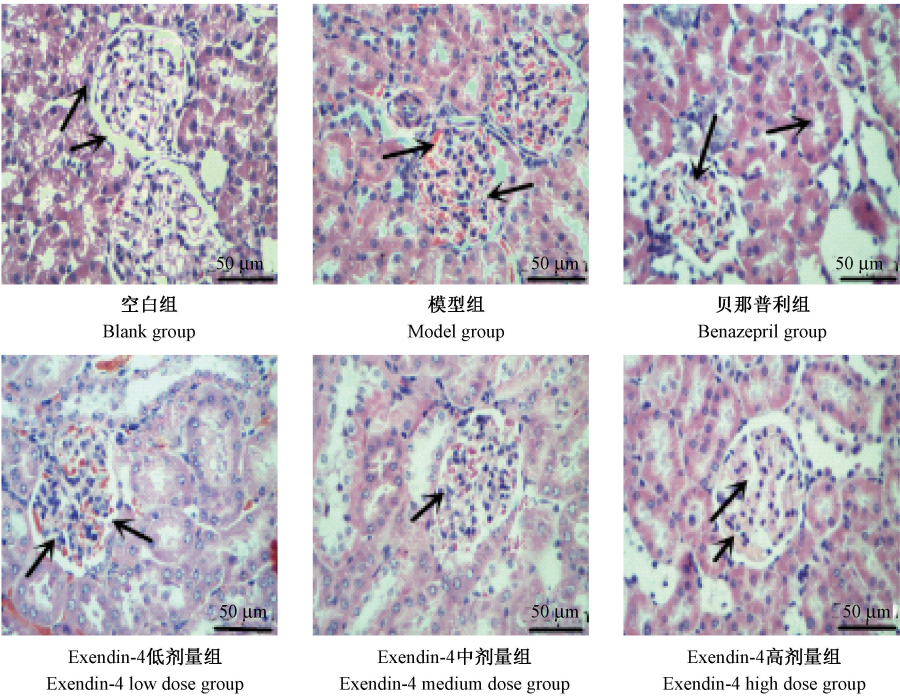


图 1 六组大鼠肾组织损伤情况 HE 染色图

Figure 1 HE staining of renal tissue injury in six groups of rats

表 1 六组大鼠 TG、TC、HDL、LDL、AMY 水平比较 ($\bar{x}\pm s, n=9$)

组别 Groups	总胆固醇 (mmol/L) TG	甘油三酯 (mmol/L) TC	高密度脂蛋白 (mmol/L) HDL	低密度脂蛋白 (mmol/L) LDL	淀粉酶 (U/L) AMY
空白组 Blank group	1.35±0.11	0.93±0.06	2.99±0.15	2.19±0.06	1035.26±536.24
模型组 Model group	19.56±2.56 ¹⁾	3.89±0.15 ¹⁾	1.78±0.12 ¹⁾	4.99±0.15 ¹⁾	5698.35±658.69 ¹⁾
贝那普利组 Benazepril group	18.11±2.33 ¹⁾²⁾	3.75±0.13 ¹⁾²⁾	1.98±0.11 ¹⁾²⁾	4.71±0.12 ¹⁾²⁾	3125.26±625.39 ¹⁾²⁾
Exendin-4 低剂量组 Exendin-4 low dose group	17.21±2.15 ¹⁾²⁾³⁾	3.21±0.11 ¹⁾²⁾³⁾	2.11±0.09 ¹⁾²⁾³⁾	3.86±0.11 ¹⁾²⁾³⁾	2435.26±513.24 ¹⁾²⁾³⁾
Exendin-4 中剂量组 Exendin-4 medium dose group	13.15±1.56 ¹⁾²⁾³⁾⁴⁾	2.25±0.06 ¹⁾²⁾³⁾⁴⁾	2.55±0.11 ¹⁾²⁾³⁾⁴⁾	3.11±0.08 ¹⁾²⁾³⁾⁴⁾	1835.14±489.36 ¹⁾²⁾³⁾⁴⁾
Exendin-4 高剂量组 Exendin-4 high dose group	12.89±1.46 ¹⁾²⁾³⁾⁴⁾⁵⁾	2.01±0.08 ¹⁾²⁾³⁾⁴⁾⁵⁾	2.89±0.11 ¹⁾²⁾³⁾⁴⁾⁵⁾	2.98±0.07 ¹⁾²⁾³⁾⁴⁾⁵⁾	1335.24±399.86 ¹⁾²⁾³⁾⁴⁾⁵⁾
F	31.980	82.449	166.574	77.992	88.409
P	0.001	0.001	0.000	0.001	0.000

注:与空白组相比,¹⁾ $P<0.05$;与模型组相比,²⁾ $P<0.05$;与贝那普利组相比,³⁾ $P<0.05$;与 Exendin-4 低剂量组相比,⁴⁾ $P<0.05$;与 Exendin-4 中剂量组相比,⁵⁾ $P<0.05$ 。
Note. Compared with blank group, ¹⁾ $P<0.05$. Compared with model group, ²⁾ $P<0.05$. Compared with benazepril group, ³⁾ $P<0.05$. Compared with Exendin-4 low dose group, ⁴⁾ $P<0.05$. Compared with Exendin-4 medium dose group, ⁵⁾ $P<0.05$.

2.5 六组大鼠肾组织 PDK1/Akt/mTOR 信号通路蛋白表达量比较

如表 5、图 2 所示,模型组、贝那普利组、Exendin-4 低、中和高剂量组大鼠 PDK1、p-Akt、p-mTOR 蛋白表达量均高于空白组,具有显著性差异 ($P<0.05$);贝那普利组、Exendin-4 低、中和高剂量组大鼠 PDK1、p-Akt、p-mTOR 蛋白表达量低于模型

组,具有显著性差异 ($P<0.05$);Exendin-4 低、中和高剂量组大鼠 PDK1、p-Akt、p-mTOR 蛋白表达量低于贝那普利组,具有显著性差异 ($P<0.05$);Exendin-4 中和高剂量组大鼠 PDK1、p-Akt、p-mTOR 蛋白表达量低于 Exendin-4 低剂量组,具有显著性差异 ($P<0.05$);Exendin-4 高剂量组大鼠 PDK1、p-Akt、p-mTOR 蛋白表达量低于 Exendin-4 中剂量组,但差异无显著性差异 ($P>0.05$)。

表 2 六组大鼠 BG、HbA1c、FINS 水平比较($\bar{x}\pm s, n=9$)
Table 2 Comparison of BG, HbA1c and FINS levels in six groups of rats

组别 Groups	血糖 (mmol/L) BG	糖化血红蛋白 (%) HbA1c	空腹血清胰岛素 (μ U/mL) FINS
空白组 Blank group	8.62 $\pm$ 1.26	28.46 $\pm$ 3.11	15.26 $\pm$ 2.13
模型组 Model group	29.88 $\pm$ 1.89 ¹⁾	37.89 $\pm$ 3.26 ¹⁾	33.69 $\pm$ 6.88 ¹⁾
贝那普利组 Benazepril group	21.56 $\pm$ 3.11 ¹⁾²⁾	33.15 $\pm$ 3.15 ¹⁾²⁾	29.88 $\pm$ 4.15 ¹⁾²⁾
Exendin-4 低剂量组 Exendin-4 low dose group	19.88 $\pm$ 2.15 ¹⁾²⁾³⁾	30.11 $\pm$ 2.10 ¹⁾²⁾³⁾	26.15 $\pm$ 3.12 ¹⁾²⁾³⁾
Exendin-4 中剂量组 Exendin-4 medium dose group	12.56 $\pm$ 1.15 ¹⁾²⁾³⁾⁴⁾	29.88 $\pm$ 2.56 ¹⁾²⁾³⁾⁴⁾	19.51 $\pm$ 2.13 ¹⁾²⁾³⁾⁴⁾
Exendin-4 高剂量组 Exendin-4 high dose group	12.11 $\pm$ 1.21 ¹⁾²⁾³⁾⁴⁾	29.16 $\pm$ 2.11 ¹⁾²⁾³⁾⁴⁾	19.01 $\pm$ 1.89 ¹⁾²⁾³⁾⁴⁾
<i>F</i>	42.118	9.418	11.515
<i>P</i>	0.001	0.001	0.001

注:与空白组相比,¹⁾ $P<0.05$;与模型组相比,²⁾ $P<0.05$;与贝那普利组相比,³⁾ $P<0.05$;与 Exendin-4 低剂量组相比,⁴⁾ $P<0.05$ 。
Note. Compared with blank group, ¹⁾ $P<0.05$. Compared with model group, ²⁾ $P<0.05$. Compared with benazepril group, ³⁾ $P<0.05$. Compared with Exendin-4 low dose group, ⁴⁾ $P<0.05$.

表 3 六组大鼠体重、RI 比较($\bar{x}\pm s, n=9$)
Table 3 Comparison of weight, RI in six groups of rats

组别 Groups	给药前体重 (g) Quality before administration	给药结束体重 (g) End body mass	肾脏指数 RI
空白组 Blank group	219.12 $\pm$ 8.65	244.36 $\pm$ 8.67	0.21 $\pm$ 0.02
模型组 Model group	221.52 $\pm$ 9.02	296.95 $\pm$ 8.34 ¹⁾	0.59 $\pm$ 0.11 ¹⁾
贝那普利组 Benazepril group	215.96 $\pm$ 7.98	265.69 $\pm$ 8.29 ¹⁾²⁾	0.42 $\pm$ 0.09 ¹⁾²⁾
Exendin-4 低剂量组 Exendin-4 low dose group	221.09 $\pm$ 7.46	284.36 $\pm$ 7.36 ¹⁾²⁾³⁾	0.38 $\pm$ 0.02 ¹⁾²⁾³⁾
Exendin-4 中剂量组 Exendin-4 medium dose group	221.09 $\pm$ 7.36	276.34 $\pm$ 8.15 ¹⁾²⁾³⁾⁴⁾	0.25 $\pm$ 0.03 ¹⁾²⁾³⁾⁴⁾
Exendin-4 高剂量组 Exendin-4 high dose group	219.46 $\pm$ 7.15	263.25 $\pm$ 8.16 ¹⁾²⁾³⁾⁴⁾⁵⁾	0.24 $\pm$ 0.02 ¹⁾²⁾³⁾⁴⁾⁵⁾
<i>F</i>	0.611	45.135	15.295
<i>P</i>	0.692	0.000	0.001

注:与空白组相比,¹⁾ $P<0.05$;与模型组相比,²⁾ $P<0.05$;与贝那普利组相比,³⁾ $P<0.05$;与 Exendin-4 低剂量组相比,⁴⁾ $P<0.05$;与 Exendin-4 中剂量组相比,⁵⁾ $P<0.05$ 。
Note. Compared with blank group, ¹⁾ $P<0.05$. Compared with model group, ²⁾ $P<0.05$. Compared with benazepril group, ³⁾ $P<0.05$. Compared with Exendin-4 low dose group, ⁴⁾ $P<0.05$. Compared with Exendin-4 medium dose group, ⁵⁾ $P<0.05$.

3 讨论

糖尿病肾病是糖尿病患者进行肾移植常见原因,其病理特点为肾小球大量堆积、肾小管底膜增厚,导致肾小球硬化、肾小管纤维化,直至肾功能衰竭^[8-10]。

Exendin-4 能够通过抑制胰高血糖素的分泌,延缓胃排空和食物的摄取量,进而减轻体重,本研究显示,与糖尿病肾病模型组相比,给予不同剂量的 Exendin-4 可明显减轻糖尿病肾病大鼠的体重,且呈 Exendin-4 剂量依赖性减低趋势,进一步佐证 Exendin-4 可减轻体重。研究表明,Exendin-4 可抑制 TNF- α 诱导的系膜细胞氧化应激和 TGF- β 1 表达^[11],另外,Exendin-4 能够激活 PPAR- α 受体,减少载脂蛋白的合成,进而增加血浆中的脂肪降解和清除力度来调节脂代谢紊乱^[12-13]。Exendin-4 能够通过增加胰岛 β 细胞对葡萄糖的敏感性,促进血糖胰岛素的分泌,改善糖代谢及脂代谢紊乱^[14-15]。本研究显示,Exendin-4 中、高剂量组大鼠 TG、TC、LDL、AMY 水平均低于 Exendin-4 低剂量组,且 Exendin-4 高剂量组大鼠 TG、TC、LDL 水平均低于 Exendin-4 中剂量组,HDL 的变化趋势相反,该结果表明,Exendin-4 可有效降低糖尿病肾病大鼠血液的 TG、TC、LDL、AMY 水平,提高 HDL,且呈 Exendin-4 剂量依赖性趋势,可见 Exendin-4 在改善脂代谢紊乱具有明确的效果。研究表明,Exendin-4 可明显抑制 TNF- α 诱导的系膜细胞 MCP-1 mRNA 的表达,并以剂量和时间依赖的方式抑制 TNF- α 诱导的系膜细胞培养上清内 MCP-1、FN 的含量,提示 Exendin-4 可能会对肾具有一定保护作用^[16]。本研究显示 Exendin-4 可显著降低糖尿病肾病大鼠 RI、肾小球面积、肾小球直径,提示 Exendin-4 可改善肾功能。HbA1c 能够衡量血糖控制情况的重要指标,其可作为临床评定糖尿病病情及治疗预后的重要诊断依据^[17]。本研究显示,Exendin-4 中、高剂量组大鼠 BG、HbA1c、FINS、AGEs 水平均低于 Exendin-4 低剂量组,且 Exendin-4 高剂量组大鼠 BG、HbA1c、FINS、AGEs 水平均低于 Exendin-4 中剂量组,该结果表明,Exendin-4 能够有效改善各组大鼠的血糖水平,可用于改善糖尿病肾病的糖代谢紊乱。

PDK1 作为 PI3K 信号通路的重要传导分子,是

AGC 蛋白激酶家族的一个苏氨酸激酶,其与 PIP3 的结合能够激活 Akt 等激酶,并且能够通过调节 AGC 蛋白控制细胞的应答,在细胞的生长增殖和存活中发挥着重要作用^[18-19]。p-mTOR 属于 PI3K 家族中的一员,其对调节细胞周期、蛋白质的合成发挥着重要的作用,在糖尿病发生时,高血糖能够激活 Akt 而增加 mTOR 的活性,mTOR 活性增加会促进肾小球和肾小管肥大^[20-21]。本研究显示,不同剂量 Exendin-4 干预大鼠,大鼠的 PDK1、p-Akt、p-mTOR 蛋白表达呈现与 Exendin-4 剂量负相关的趋势,可见 Exendin-4 可在一定程度上通过调节 PDK1、p-Akt、p-mTOR 表达达到治疗糖尿病肾病的目的。类似的报道,如 Vasu 等^[22]认为 Exendin-4 作为多肽,可通过调节 PDK1 蛋白表达来降低高脂饮食诱导的 β 细胞增殖和凋亡。Zhang 等^[23]通过免疫印迹方法显示,给衰老的成骨细胞 Exendin-4 干预,Exendin-4 通过调节 p-Akt 表达,促进衰老成骨细胞的增殖,进而可用于预防老年性骨质疏松症。Yu 等^[24]研究认为 Exendin-4 可通过调节 mTOR 表达来缓和葡萄糖对心肌细胞的毒性作用。

综上所述,Exendin-4 能够减轻 STZ 诱导的糖尿病肾病大鼠的炎症水平,改善其血糖、血脂水平,其作用机制可能与 PDK1/Akt/mTOR 通路受到抑制有关,为临床上治疗糖尿病肾病等其他炎症病症提供了新的方向。

参考文献:

- [1] 赵黎君. 代谢组学在糖尿病肾病研究中的应用进展 [J]. 重庆医学, 2019, 48(17): 2996-3000.
- [2] 蒋坚, 贾晓玲, 邓志丹, 等. 血清胎球蛋白 A 对糖尿病肾病早期诊断的临床意义 [J]. 中国老年学杂志, 2019, 39(18): 4426-4429.
- [3] Wu X, Liang W, Guan H, et al. Exendin-4 promotes pancreatic β -cell proliferation via inhibiting the expression of Wnt5a [J]. Endocrine, 2017, 55(2): 398-409.
- [4] Rocha-Ferreira E, Poupon L, Zelco A, et al. Neuroprotective exendin-4 enhances hypothermia therapy in a model of hypoxic-ischaemic encephalopathy [J]. Brain, 2018, 141(10): 2925-2942.
- [5] Han F, Xue M, Chang Y, et al. Triptolide suppresses glomerular mesangial cell proliferation in diabetic nephropathy is associated with inhibition of PDK1/Akt/mTOR pathway [J]. Int J Biol Sci, 2017, 13(10): 1266-1275.

- [6] Xue R, Zhai R, Xie L, et al. Xuesaitong protects podocytes from apoptosis in diabetic rats through modulating PTEN-PDK1-Akt-mTOR pathway [J]. *J Diabetes Res*, 2020(1): 9309768.
- [7] 邵晓丽, 余江毅, 倪卫惠. 芪葵颗粒对 STZ 诱导糖尿病肾病大鼠的肾脏保护作用及机制研究 [J]. *中药材*, 2017, 40(10): 2437-2440.
- [8] 王爱雪, 许珊珊, 张丽英. 2 型糖尿病肾病患者血清胎盘生长因子水平及其影响因素分析 [J]. *中国现代医学杂志*, 2019, 29(18): 90-94.
- [9] 王蕴倩, 薛磊, 李慧聪, 等. miR-92a-3p 靶向 GPR124 调控糖尿病肾病足细胞损伤的机制 [J]. *中国老年学杂志*, 2019, 39(19): 4789-4793.
- [10] 陈慧, 华文进. 视黄醇结合蛋白和脂联素与老年糖尿病肾病患者肾损伤的关系 [J]. *中华老年医学杂志*, 2019, 38(8): 861-863.
- [11] Kaeppli SAM, Schibli R, Mindt TL, Behe M. Comparison of desferrioxamine and NODAGA for the gallium-68 labeling of exendin-4 [J]. *EJNMMI Radiopharm Chem*, 2019, 4(1): 9.
- [12] Fudim M, White J, Pagidipati NJ, et al. Effect of once-weekly exenatide in patients with type 2 diabetes mellitus with and without heart failure and heart failure-related outcomes: insights from the EXSCEL trial [J]. *Circulation*, 2019, 140(20): 1613-1622.
- [13] Gao M, Liu D. Controlling obesity and metabolic diseases by hydrodynamic delivery of a fusion gene of exendin-4 and $\alpha 1$ antitrypsin [J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 13427.
- [14] 陈思, 文进, 李方方, 等. Exendin-4 促进小鼠脂肪干细胞向成骨细胞分化 [J]. *基础医学与临床*, 2019, 39(8): 1152-1156.
- [15] 张启财, 张赛, 王永阁, 等. Exendin-4 对颅脑创伤大鼠认知功能及 Nrf2 信号通路的影响 [J]. *中华行为医学与脑科学杂志*, 2019, 28(1): 33-37.
- [16] 赵飞, 徐会友, 马柯, 等. Exendin-4 对成年小鼠脑室下区神经干细胞分化作用的体外研究 [J]. *中国应用生理学杂志*, 2019, 35(3): 262-267.
- [17] Yahagi N. Fingertip screen using POCT hbA1c analyzer at community pharmacies is effective for early recognition of diabetes [J]. *Rinsho Byori*, 2016, 64(5): 564-566.
- [18] 姚莎莎, 尚文雯, 徐睿, 等. 沉默 PDK1 基因抑制卵巢癌细胞系 SKOV3 的增殖及侵袭 [J]. *基础医学与临床*, 2019, 39(10): 1381-1387.
- [19] 孙晓璐, 王乐, 袁卫平, 等. PDK1 在内皮细胞向造血细胞转换中的作用研究 [J]. *中华血液学杂志*, 2018, 39(9): 709-716.
- [20] 沈莹, 柳湘洁, 雷超, 等. 黄芪总苷通过介导 mTOR 信号通路抑制 H₂O₂ 诱导的大鼠心肌细胞自噬和凋亡 [J]. *中国病理生理杂志*, 2019, 35(9): 1620-1624.
- [21] 庄欣琪, 蒋毅, 杨曼, 等. mTOR-自噬通路对脓毒症小鼠海马小胶质细胞表型的影响 [J]. *天津医药*, 2019, 47(7): 705-708.
- [22] Vasu S, Ojo OO, Moffett RC, et al. Anti-diabetic actions of esculentin-2Cha (1-30) and its stable analogues in a diet-induced model of obesity-diabetes [J]. *Amino Acids*, 2017, 49(10): 1705-1717.
- [23] Zhang M, Xie Y, Zhou Y, et al. Exendin-4 enhances proliferation of senescent osteoblasts through activation of the IGF-1/IGF-1R signaling pathway [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2019, 516(1): 300-306.
- [24] Yu W, Zha W, Ren J. Exendin-4 and liraglutide attenuate glucose toxicity-induced cardiac injury through mTOR/ULK1-dependent autophagy [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2018, 2018(4): 5396806.

[收稿日期] 2019-12-31