

运动诱导的 Irisin 表达改善 2 型糖尿病大鼠的肾脏损伤

周凤敏^{1,4}, 郭艳菊^{1,3}, 陈宁^{1,2}

武汉体育学院¹运动医学院,²运动训练监控湖北省重点实验室,湖北 武汉 430079;³广西师范大学体育与健康学院,广西 桂林 541006;⁴江苏省荣军医院康复科,江苏 无锡 214000

摘要:目的 探讨 Irisin 在运动改善 2 型糖尿病大鼠肾功能中的作用及其可能机制。方法 采用随机数表法从 40 只 4~6 周龄的雄性 SD 大鼠中,选取 8 只作为正常对照组(NC 组),剩余大鼠用于构建 2 型糖尿病疾病模型。将造模成功后的大鼠再次按照随机数表法分为糖尿病模型组(DM 组)、糖尿病运动组(DE 组)、糖尿病 Irisin 组(DI 组),8 只/组。DE 组进行 8 周的跑台运动干预,DI 组进行 8 周的外源性 Irisin 注射干预。干预结束后取材,试剂盒检测相关生化指标;HE、Masson、PAS 染色观察肾脏组织病理学形态;采用 Western blotting 检测大鼠肾脏相关蛋白表达水平。结果 与 NC 组相比,DM 组大鼠空腹胰岛素、总胆固醇、甘油三酯、肌酐、尿素氮含量升高($P<0.05$),血清 Irisin 含量降低($P<0.05$);与 DM 组相比,DE 组与 DI 组总胆固醇、甘油三酯、肌酐、尿素氮含量均下降($P<0.05$),血清 Irisin 含量增加($P<0.05$)。与 NC 组相比,DM 组大鼠肾脏结构紊乱,胶原纤维沉积严重;而 DE 组与 DI 组肾脏结构较 DM 组大鼠均有不同程度的改善,胶原纤维沉积减少。与 NC 组相比,DM 组大鼠肾脏组织 FNDC5、LC3-II/I、Atg7、Beclin-1、p-AMPK、AMPK、SIRT1 蛋白表达水平下降($P<0.05$),p62 蛋白表达升高($P<0.05$)。与 DM 组相比,DE 组与 DI 组大鼠肾脏组织 FNDC5、LC3-II/I、Atg7、Beclin-1、p-AMPK、AMPK、SIRT1 蛋白表达水平升高($P<0.05$),p62 蛋白表达下降($P<0.05$)。结论 运动与外源性 Irisin 两种方式均对 2 型糖尿病大鼠的肾脏起到保护作用,其机制可能与 Irisin 激活肾脏组织中 AMPK/SIRT1 通路,进而促进肾脏自噬有关。

关键词:运动;Irisin;2 型糖尿病大鼠;肾脏;自噬;AMPK/SIRT1 信号通路

Exercise promotes irisin expression to ameliorate renal injury in type 2 diabetic rats

ZHOU Fengmin^{1,4}, GUO Yanju^{1,3}, CHEN Ning^{1,2}

¹College of Sport Medicine, ²Hubei Key Laboratory for Exercise Training and Monitoring, Wuhan Sports University, Wuhan 430079, China; ³College of Physical Education and Health, Guangxi Normal University, Guilin 541006, China; ⁴Department of Rehabilitation, Jiangsu Rongjun Hospital, Wuxi 214000, China

Abstract: Objective To investigate the role of irisin in exercise-induced improvement of renal function in type 2 diabetic rats. **Methods** Forty male SD rats aged 4-6 weeks were randomized into normal control group, type 2 diabetes mellitus model group, diabetic exercise (DE) group and diabetic irisin (DI) group ($n=8$). The rats in DE group were trained with treadmill running for 8 weeks, and those in DI group were given scheduled irisin injections for 8 weeks. After the treatments, blood biochemical parameters of the rats were examined, and renal histopathology was observed with HE, Masson and PAS staining. Western blotting was used to detect the protein expression levels in the rats' kidneys. **Results** The diabetic rats showed significantly increased levels of fasting insulin, total cholesterol, triglyceride, serum creatinine and blood urea nitrogen with lowered serum irisin level (all $P<0.05$). Compared with those in DM group, total cholesterol, triglyceride, serum creatinine and blood urea nitrogen levels were decreased and serum irisin levels were increased in both DE and DI groups (all $P<0.05$). The rats in DM group showed obvious structural disorders and collagen fiber deposition in the kidneys, which were significantly improved in DE group and DI group. Both regular exercises and irisin injections significantly ameliorated the reduction of FNDC5, LC3-II/I, Atg7, Beclin-1, p-AMPK, AMPK and SIRT1 protein expressions and lowered of p62 protein expression in the kidneys of the diabetic rats (all $P<0.05$). **Conclusion** Both exercise and exogenous irisin treatment improve nephropathy in type 2 diabetic rats possibly due to irisin-mediated activation of the AMPK/SIRT1 pathway in the kidneys to promote renal autophagy.

Keywords: exercise; irisin; type 2 diabetic rat; kidney; autophagy; AMPK/SIRT1 signaling pathway

糖尿病肾病(DKD)是糖尿病最常见的微血管并发症之一,30%~40%的糖尿病患者合并DKD^[1]。DKD的早期病理阶段以肾小球基底膜的增厚、系膜基质的积累

与蛋白尿为主要特征^[2],而规律的有氧运动已被国际糖尿病联盟与改善全球肾病预后协会列为DKD患者的管理基石^[3]。Irisin是运动时所分泌的一种肌肉因子,循环于机体血液中,以自分泌或旁分泌的形式连接运动与器官保护^[4]。多项临床研究报道糖尿病与DKD患者的血清Irisin含量明显降低,低水平Irisin可能参与了DKD的发生发展^[5-7]。研究发现,运动对糖尿病大鼠肾脏的保护作用可能是由体内Irisin水平升高所介导的,阻断Irisin受体后其肾保护作用消失^[8]。肌肉PGC-1 α 过表达

收稿日期:2023-11-24

基金项目:国家自然科学基金(31771318);广西教育厅科研资助项目(2021KY0066)

Supported by National Natural Science Foundation of China (31771318).

作者简介:周凤敏,在读硕士研究生,E-mail: 2019786289@qq.com

通信作者:郭艳菊,博士,实验师,E-mail: guoyj_2520@163.com;陈宁,

博士,教授,E-mail: nchen510@gmail.com

转基因糖尿病小鼠循环 Irisin 含量升高,蛋白尿与肾小球病理损伤显著减轻^[9]。这提示 Irisin 可能对糖尿病患者肾脏发挥有益作用。

近年研究发现 DKD 发病机制除了慢性炎症、缺氧与氧化应激等,自噬失调可能也参与在内^[10,11]。其中 AMP 活化蛋白激酶(AMPK)/沉默信息转录调节因子 1(SIRT1)是自噬主要调节通路之一^[12]。有研究表明 AMPK/SIRT1 通路在包括 DKD 在内的多种肾脏疾病中发挥保护作用,其具体机制可能与调节自噬相关^[13,14]。此外 Irisin 已被证实可以激活 AMPK 磷酸化调节葡萄糖利用与胰岛素抵抗,从而改善糖尿病等在内的多种代谢性疾病^[15,16]。然而,运动所诱导的内源性 Irisin 能否介导 AMPK/SIRT1 通路进而激活自噬在 2 型糖尿病肾损伤中发挥保护作用,目前尚无报道。本研究通过高脂饮食联合低剂量链脲佐菌素(STZ)构建 2 型糖尿病大鼠模型,探讨跑台运动与外源性 Irisin 两种干预方式对大鼠肾脏的保护效果以及 Irisin 在其中的作用机制,并期望为外源性 Irisin 作为一种运动模拟药物在预防与治疗 2 型糖尿病肾损伤方面提供一定的实验数据支撑。

1 材料和方法

1.1 实验动物

40 只 4~6 周龄的 SPF 级雄性 SD 大鼠,体质量 110~130 g,购于湖南斯莱克景达实验动物有限公司,于环境温度 22~25 °C、湿度 45%~65%的武汉体育学院 SPF 级实验动物房进行饲养,12 h 昼夜交替照明。实验方案已通过武汉体育学院伦理委员会审查与批准(S0087-20220315-04)。

1.2 主要试剂与仪器

STZ(北京博爱港生物公司,B2001);血肌酐(SCr)、尿素氮(BUN)试剂盒(南京建成生物研究所);血清 Irisin、总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、胰岛素(FINS)试剂盒(Elabscience);FNDC5 抗体、p62 抗体(abcam)、LC3- II / I 抗体、Atg7 抗体、AMPK 抗体、p-AMPK 抗体(CST)、Beclin-1 抗体(Abmart)、SIRT1 抗体(万类生物);超敏荧光化学发光成像仪(上海勤翔有限公司);超低温型研磨仪(赛维尔生物)、正置光学显微镜(尼康)。

1.3 2 型糖尿病模型构建及分组

所有大鼠适应性喂养 1 周,采用随机数字表法选取 8 只作为正常对照组(NC 组),予以普通饲料喂养,其余 32 只大鼠用于 2 型糖尿病疾病造模,予以高脂饲料喂养,4 周后按 30 mg/kg 剂量腹腔注射新鲜配置的 1% STZ,于注射后第 3、7、14 天尾静脉取血测量空腹血糖,连续 3 次均 ≥ 11.1 mmol/L 判定为造模成功。最终 24 只大鼠造模成功,造模率为 75%。将造模成功的大鼠再次采用随机数字表法分为糖尿病模型组(DM 组)、糖尿病运动组(DE 组)、糖尿病 Irisin 组(DI 组),8 只/组。

1.4 干预方案

DE 组大鼠实施无坡度跑台运动干预,参考文献^[17]的运动方案,先进行 1 周的适应性跑台训练,之后开始正式运动干预,速度为 15 m/min,60 min/次,5 次/周,周四与周日休息,共计 8 周。DI 组参考文献^[18]的实验方案,每周根据所称量的空腹体质量,腹腔注射 500 μ g/kg 剂量的纯化 Irisin 溶液,5 次/周,共计 8 周。

1.5 实验动物取材

8 周干预完成后进行取材,取材前所有大鼠禁食不禁水 12 h。注射麻醉剂使大鼠昏迷,于腹主动脉处取血,血液静置 2 h,低温离心机离心 20 min,收集上层血清用于相关生化指标检测。生理盐水进行心脏灌注,解剖取出肾脏,剔除周围脂肪与被膜,滤纸吸干水分,左右肾称重记录,通过公式肾质量(mg)/体质量(g)计算肾质量指数(KW/BW)。左肾纵切一半,置于多聚甲醛液中进行固定。剩余组织切成小块保存于-80 °C 冰箱。

1.6 体质量与空腹血糖的测定

实验期间每周日下午固定时间对大鼠进行体质量与空腹血糖的测定。于当日早上对所有大鼠禁食不禁水,8 h 后称重大鼠,并对其尾静脉取血,血糖仪测定空腹血糖。

1.7 生化指标检测

将收集于-80 °C 冰箱的血清取出,4 °C 解冻,按照试剂盒说明书测定肾功能指标 SCr、BUN 的含量。使用 ELISA 试剂盒检测大鼠血清 Irisin、FINS、TC、TG 的含量。并通过公式空腹血糖 \times FINS/22.5 计算胰岛素抵抗指数(HOMA-IR)。

1.8 肾脏组织病理学形态观察

取出固定于多聚甲醛液中至少 24 h 的肾脏组织,经酒精与二甲苯脱水处理后,石蜡包埋长期保存。后续石蜡切片进行 HE、Masson、PAS 染色,光镜观察肾脏组织病理结构。

1.9 肾脏组织相关蛋白表达水平检测

称取一定克重的肾脏组织,加入配置好的相应一抗溶液:FNDC5(1:2000)、LC3- II / I (1:1000)、Atg7 (1:1000)、p62 (1:1000)、Beclin-1 (1:500)、AMPK (1:1000)、p-AMPK (1:1000)、SIRT1 (1:500),4 °C 摇床孵育过夜。次日 TBST 快速清洗 3 次后加入 1:10 000 稀释的二抗溶液常温孵育 1 h,滴加 ECL 化学发光液进行曝光显影,使用 Image J 软件对其灰度值与表达量进行分析。

1.10 统计学分析

采用 SPSS25.0 软件进行数据分析,GraphPad Prism 8.0 软件进行数据作图,计量资料以均数 \pm 标准差表示,组间差异采用单因素方差分析;采用 Pearson 法分析血清 Irisin 水平与 SCr、BUN 的相关性。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 运动与外源性Irisin对各组大鼠体质量、空腹血糖的影响

与NC组相比,DM组大鼠体质量下降($P<0.01$),

空腹血糖上升($P<0.01$)。与DM组相比,8周干预后DE组与DI组大鼠体质量均增加($P<0.05$),空腹血糖均下降($P<0.01$,表1)。

表1 各组大鼠体质量与空腹血糖的比较

Tab.1 Comparison of body weight and fasting blood glucose of the rats ($n=6$, Mean±SD)

Index	NC group	DM group	DE group	DI group
Weight (g)	595.3±37.8	365.3±40.8 [#]	421.5±24.3*	422.8±56.3*
Fasting blood glucose (mmol/L)	5.0±0.50	27.0±4.38 [#]	20.2±3.10**	20.4±2.80**

NC group: Normal control group; DM group: Diabetic model group; DE group: Diabetic exercise group; DI group: Diabetic irisin group. [#] $P<0.05$, [#] $P<0.01$ vs NC group; * $P<0.05$, ** $P<0.01$ vs DM group.

2.2 运动与外源性Irisin对各组大鼠糖脂代谢相关指标的影响

与NC组相比,DM组大鼠体内FINS、HOMA-IR、TC、TG均升高($P<0.05$)。与DM组相比,DE组与DI组大

鼠HOMA-IR、TC、TG均有不同程度的降低($P<0.01$)。DE组FINS显著降低($P<0.05$),DI组FINS虽有所降低,但差异无统计学意义($P>0.05$,表2)。

表2 各组大鼠糖脂代谢相关指标的比较

Tab.2 Comparison of glycolipid metabolism-related indexes of the rats ($n=6$, Mean±SD)

Index	NC group	DM group	DE group	DI group
FINS (mU/L)	5.76±1.39	20.39±13.66 [#]	9.07±2.79*	14.42±2.43
HOMA-IR	1.19±0.27	28.32±13.50 [#]	9.92±5.02**	16.18±2.52**
TC (mmol/L)	1.54±0.15	1.87±0.16 [#]	1.55±0.20**	1.51±0.26**
TG (mmol/L)	0.48±0.18	0.73±0.23 [#]	0.41±0.07**	0.36±0.16**

FINS: Fasting insulin; HOMA-IR: Homeostasis model assessment of insulin resistance; TC: Total cholesterol; TG: Triglyceride. [#] $P<0.01$ vs NC group; * $P<0.05$, ** $P<0.01$ vs DM group.

2.3 运动与外源性Irisin对各组大鼠肾功能指标的影响

与NC组相比,DM组大鼠SCr、BUN、KW/BW显

著升高($P<0.01$);与DM组相比,DE组与DI组大鼠SCr、BUN、KW/BW均显著降低($P<0.05$,表3)。

表3 各组大鼠肾功能指标的比较

Tab.3 Comparison of renal function indexes of the rats ($n=6$, Mean±SD)

Index	NC group	DM group	DE group	DI group
SCr ($\mu\text{mol/L}$)	33.41±5.44	58.93±10.61 [#]	39.66±4.86**	34.91±4.66**
BUN (mmol/L)	4.50±0.50	9.08±1.07 [#]	7.76±1.32*	7.64±0.69*
KW/BW (mg/g)	5.37±0.85	10.63±0.87 [#]	8.97±0.73**	8.82±0.71**

SCr: Serum creatinine; BUN: Blood urea nitrogen; KW/BW: Kidney weight/body weight. [#] $P<0.01$ vs NC group; * $P<0.05$, ** $P<0.01$ vs DM group.

2.4 运动与外源性Irisin对各组大鼠肾脏病理形态的影响

HE染色结果显示,与NC组相比,DM组肾小球体积肿大,外观呈分叶状,系膜基质与细胞增生,肾小管扩张甚至空泡化;与DM组相比,DE组与DI组肾小球肿胀减轻,系膜细胞轻度增生。PAS染色结果显示,与NC

组相比,DM组肾小球基底膜增厚,刷状缘消失,系膜基质增生。与DM组相比,DE组与DI组较DM组肾结构明显改善。Masson染色结果显示,与NC组相比,DM组可见大块成片蓝色胶原纤维沉积,肾小管空泡化严重。8周干预后DE组与DI组较DM组相比,肾组织蓝色沉积均有所减少,纤维化程度减轻(图1)。

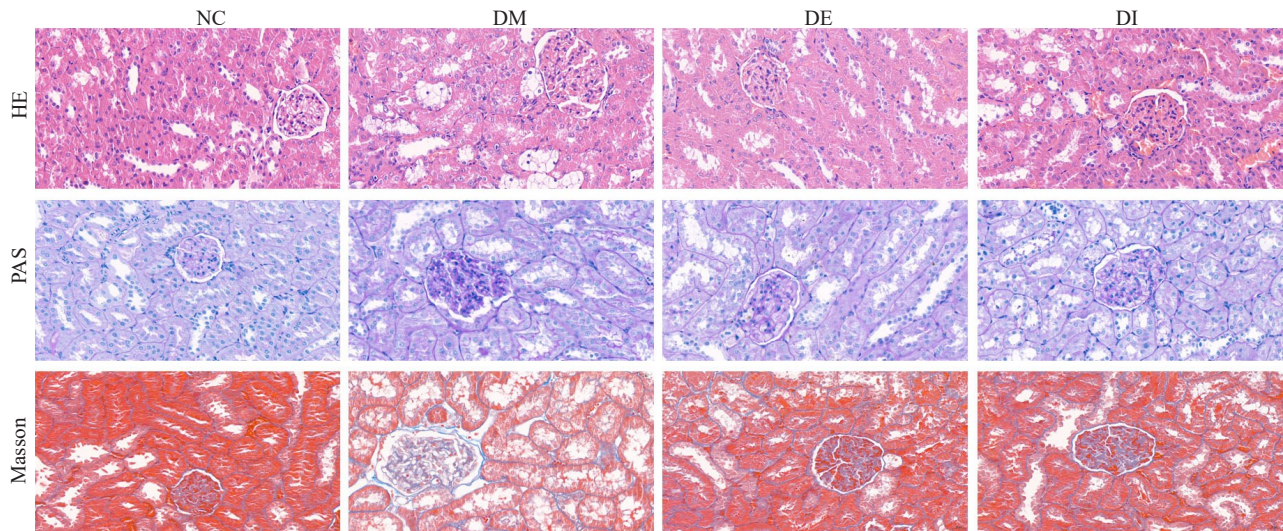


图1 各组大鼠肾脏病理形态的比较

Fig.1 Comparison of renal pathomorphology of the rats among different groups (Original magnification: ×400).

2.5 运动与外源性Irisin对各组大鼠肾脏FNDC5蛋白与血清Irisin水平的影响

Western blotting 与 ELISA 结果显示,与 NC 组相比,DM 组大鼠肾脏组织 FNDC5 蛋白表达水平与血清

Irisin 含量均下降($P<0.05$);与 DM 组相比,8 周干预后 DE 组与 DI 组大鼠肾组织 FNDC5 蛋白表达与血清 Irisin 含量均上升($P<0.05$,图2)。

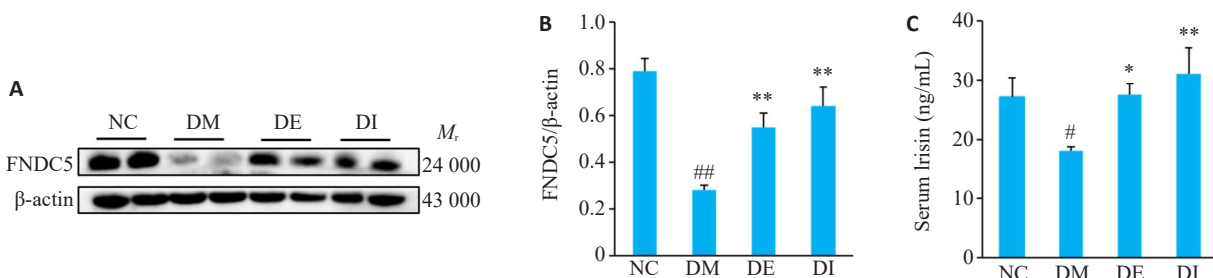


图2 各组大鼠肾脏FNDC5蛋白与血清Irisin水平的比较

Fig.2 Renal FNDC5 protein expression and serum irisin level in the 4 groups. A: Western blotting of FNDC5. B: Relative expression level of FNDC5 protein. C: Serum irisin level. [#] $P<0.05$, ^{##} $P<0.01$ vs NC group; * $P<0.05$, ** $P<0.01$ vs DM group.

2.6 血清Irisin与SCr、BUN的Pearson相关性分析

Pearson 相关分析结果显示,血清 Irisin 水平与 SCr ($r=-0.467, P<0.05$)、BUN ($r=-0.410, P<0.05$) 均呈负相关。

2.7 运动与外源性Irisin对各组大鼠肾脏自噬蛋白表达水平的影响

Western blotting 结果显示,与 NC 组相比,DM 组 LC3- II / I 比值、Atg7 与 Beclin-1 蛋白表达下降($P<0.05$), p62 表达增加($P<0.05$)。与 DM 组相比,8 周干预后 DE 组与 DI 组 LC3- II / I 比值、Atg7 与 Beclin-1 蛋白表达均上升($P<0.05$), p62 蛋白表达均下降($P<0.05$,图3)。

2.8 运动与外源性Irisin对各组大鼠肾脏AMPK/SIRT1通路蛋白表达水平的影响

Western blotting 结果显示,与 NC 组相比,DM 组 p-AMPK/AMPK 比值与 SIRT1 蛋白表达下降($P<0.05$)。与 DM 组相比,8 周干预后 DE 组与 DI 组 p-AMPK/AMPK 比值与 SIRT1 蛋白表达均增加($P<0.05$,图4)。

3 讨论

糖尿病全球发病率日益增高,其中约90%为2型糖尿病,其并发症可涉及心、脑、肾等全身多个组织或器官,而DKD是继心、脑血管病后死亡率最高的并发症之一^[19]。有氧运动作为一种非药物治疗方法,在一定程度上可以防治糖尿病及包括DKD等在内的并发症^[20,21],但运动在改善糖尿病诱导的肾脏病变中的作用机制目前尚不明确。与既往研究^[22]结论一致,本实验结果显示,

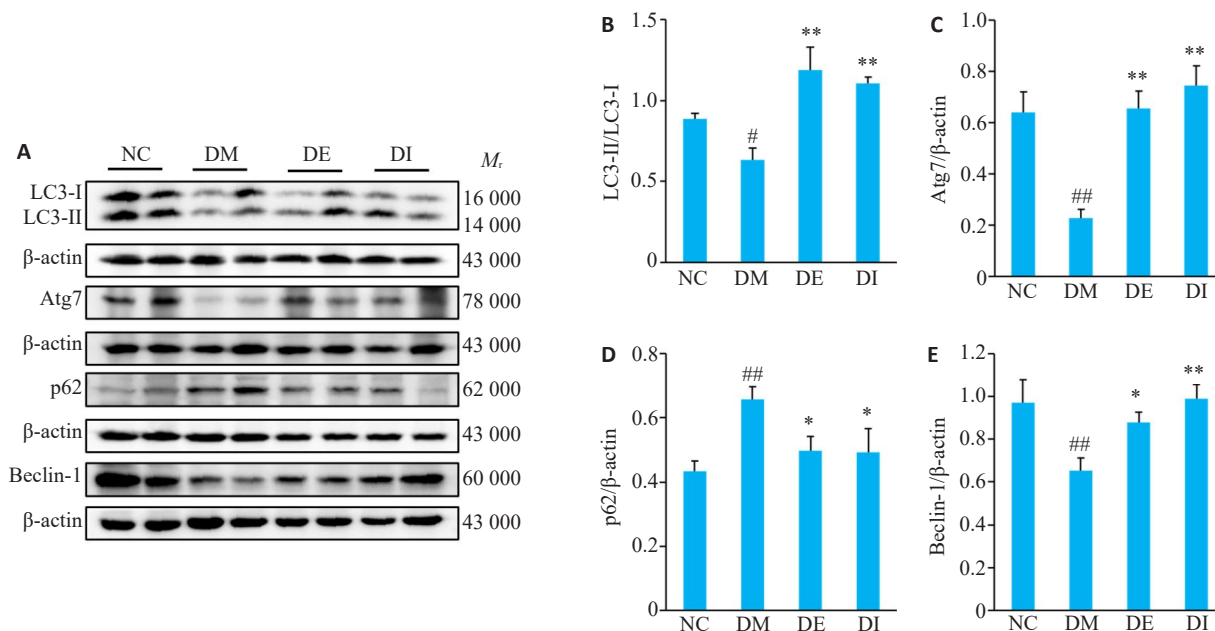


图3 各组大鼠肾脏自噬相关蛋白表达的比较

Fig.3 Comparison of renal autophagy-related protein expressions among the 4 groups. A: Western blots of autophagy-related proteins. B-E: Relative expression levels of LC3- II/ I , Atg7, p62 and Beclin-1. [#]*P*<0.05, ^{##}*P*<0.01 vs NC group; ^{*}*P*<0.05, ^{**}*P*<0.01 vs DM group.

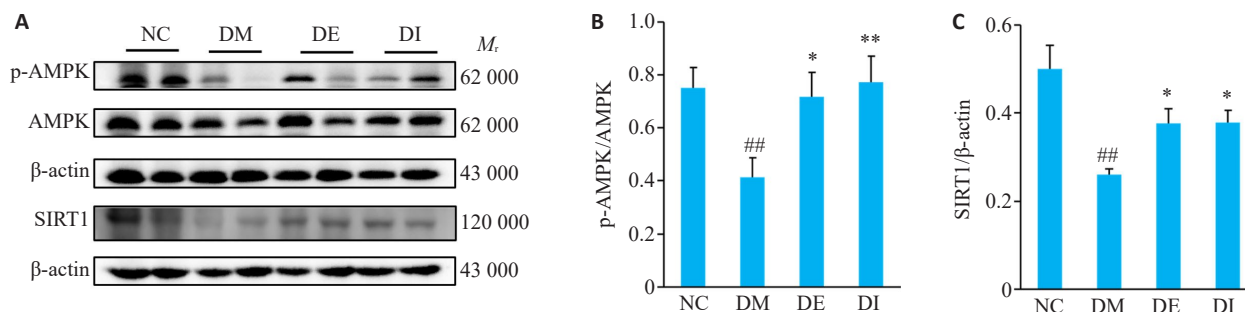


图4 各组大鼠肾脏AMPK/SIRT1通路蛋白表达的比较

Fig.4 Comparison of renal AMPK/SIRT1 pathway protein expressions among the 4 groups. A: Western blots of p-AMPK, AMPK and SIRT1 proteins. B, C: Relative expression levels of p-AMPK/AMPK and SIRT1. ^{##}*P*<0.01 vs NC group; ^{*}*P*<0.05, ^{**}*P*<0.01 vs DM group.

DM组大鼠糖脂代谢紊乱,肾脏结构与功能明显损伤,表现为SCr、BUN与肾质量指数明显升高,胶原纤维沉积严重,肾小球系膜基质与细胞增生,肾小管肿胀与空泡化;而经8周的运动干预后,DE组大鼠糖脂代谢与肾功能相关指标均有所改善,肾脏胶原纤维沉积减少,肾脏病理损伤减轻。另外,因外源性Irisin在代谢性疾病中表现出积极的防治效果,有学者提出开发模拟运动的“Irisin药片”,但目前关于外源性Irisin干预糖尿病肾损伤的研究仅2篇^[9, 23],数据较少,且因实验动物品种、Irisin注射剂量与频次等的不同,缺乏统一性。本研究对同一批2型糖尿病大鼠进行了外源性Irisin与跑台运动的直接比较,发现外源性Irisin在改善糖尿病肾损伤方面能达到与跑台运动相似的干预效果,两种方式无显

著差异。

Irisin是运动时由骨骼肌、心肌与肾脏等组织器官所分泌的一种循环因子^[16],因在调节能量代谢与白色脂肪棕色化等方面发挥积极的生物学效应,Irisin被认为是治疗多种代谢性疾病的潜在生物靶点^[24, 25]。研究报道,2型糖尿病患者循环Irisin浓度显著降低^[26],且血清Irisin与尿白蛋白肌酐比值呈负相关^[27]。本实验发现DM组大鼠血清Irisin含量降低,肾脏Irisin前体蛋白FNDC5表达下降,这与上述研究结果一致;而运动与外源性Irisin干预后,DE组与DI组的血清Irisin与肾组织FNDC5蛋白表达水平显著上升。对2型糖尿病大鼠的血清Irisin水平与肾损伤指标SCr、BUN进行Pearson相关性分析发现,Irisin与二者均呈负相关关系。由此推

断, Irisin 可能与 2 型糖尿病患者肾功能密切相关, 运动与外源性 Irisin 对 2 型糖尿病大鼠的肾保护作用可能是由体内 Irisin 升高所介导的。

自噬是由溶酶体所介导的一种高保守的细胞分解代谢过程, 通过清除功能紊乱的细胞器和错误折叠的蛋白质以维持细胞稳态^[28]。自噬失调导致糖尿病肾脏中受损的大分子物质与活性氧的累积, 加剧肾细胞的损伤与凋亡, 促进 DKD 发展^[29]。文献报道, STZ 诱导的早期糖尿病大鼠肾脏自噬功能出现受损^[30], 而 8 周的跑台运动可以逆转 db/db 小鼠的肾脏 LC3- II / I 下调与 p62 上调, 激活肾脏细胞自噬, 有效减轻肾功能损伤^[31]。研究证实, Irisin 在发挥其积极生物学效应中, 诱导细胞自噬是分子机制的重要组成部分^[32]。Irisin 以剂量依赖性的方式刺激胰岛素抵抗肌细胞自噬从而促进葡萄糖摄取^[33]。高糖诱导的足细胞经 Irisin 处理后自噬通量得以恢复, 足细胞损伤明显减轻^[9]。本实验检测肾脏自噬相关蛋白发现, DM 组大鼠 LC3- II / I 比值、Beclin-1 与 Atg7 蛋白表达下降, p62 表达增加。而经运动与外源性 Irisin 干预后, DE 组与 DI 组 LC3- II / I 比值、Beclin-1 与 Atg7 表达均上升, p62 表达下降。提示 2 型糖尿病大鼠肾脏自噬水平降低, 自噬受到抑制, 而运动与外源性 Irisin 二者可能通过 Irisin 介导, 增强大鼠肾脏自噬。有研究在骨骼肌 PGC-1 α 过表达转基因糖尿病小鼠中也观察到足细胞自噬体数量的增多^[9], 但其没有从动物实验层面进一步探究 Irisin 的分子机制。此外, 相比 Irisin 水平明确升高的转基因动物模型, 本实验所采用的跑台运动更能模拟疾病人群的运动方式, 且允许个体差异、环境与温度等混杂因素对 Irisin 分泌的影响。

自噬可以通过多种途径调节, 其中 AMPK/SIRT1 是重要通路之一。AMPK 与 SIRT1 不仅是调节糖脂代谢及能量状态的关键传感器, 也是自噬途径的正向调控因子, 可相互调节^[34]。研究报道, AMPK/SIRT1 通路的激活可恢复受损的自噬, 缓解糖尿病大鼠的糖脂代谢紊乱与肾功能损伤^[35]。同时 Irisin 可以激活 AMPK 磷酸化保护高糖状态下的近端小管上皮细胞损伤^[8]。然而 Irisin 能否上调 AMPK/SIRT1 通路在糖尿病动物模型肾脏中发挥作用尚不清楚。本研究结果发现, DM 组大鼠肾脏 p-AMPK/AMPK 比值与 SIRT1 蛋白表达明显下降, 而运动与外源性 Irisin 二者均可促进 AMPK 磷酸化与 SIRT1 蛋白水平升高, 这与上述自噬激活的研究结果一致, 表明 2 型糖尿病大鼠肾脏自噬水平的增强可能依赖于 Irisin 介导的 AMPK/SIRT1 通路。

综上所述, 运动与外源性 Irisin 均对 2 型糖尿病大鼠的肾脏起到了保护作用, 其机制可能与 Irisin 介导肾脏 AMPK/SIRT1 信号通路, 进而促进自噬有关, 但后续还需添加 Irisin 基因敲除小鼠以进一步验证这一假设。

同时, 本实验发现外源性 Irisin 在预防与治疗 2 型糖尿病肾损伤方面能达到与运动训练相似效果, 这为开发 Irisin 作为一种预防与治疗性药物提供了一些数据支撑, 但其能否成为运动模拟物, 还待进一步研究证实。

参考文献:

- [1] Alicic RZ, Rooney MT, Tuttle KR. Diabetic kidney disease: challenges, progress, and possibilities [J]. Clin J Am Soc Nephrol, 2017, 12(12): 2032-45.
- [2] Kato M, Natarajan R. Epigenetics and epigenomics in diabetic kidney disease and metabolic memory [J]. Nat Rev Nephrol, 2019, 15(6): 327-45.
- [3] de Boer IH, Khunti K, Sadusky T, et al. Diabetes management in chronic kidney disease: a consensus report by the American Diabetes Association (ADA) and Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) [J]. Kidney Int, 2022, 102(5): 974-89.
- [4] Boström P, Wu J, Jedrychowski MP, et al. A PGC1- α -dependent myokine that drives brown-fat-like development of white fat and thermogenesis [J]. Nature, 2012, 481(7382): 463-8.
- [5] Hu W, Wang R, Li J, et al. Association of irisin concentrations with the presence of diabetic nephropathy and retinopathy [J]. Ann Clin Biochem, 2016, 53(pt 1): 67-74.
- [6] 张晓艳, 范志宏, 王亚楠, 等. 脂肪因子鸢尾素、趋化素在糖尿病肾病中的作用研究 [J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2021, 19(11): 1887-91.
- [7] Liu JJ, Wong MDS, Toy WC, et al. Lower circulating irisin is associated with type 2 diabetes mellitus [J]. J Diabetes Complications, 2013, 27(4): 365-9.
- [8] Formigari GP, Dátalo MN, Varela B, et al. Renal protection induced by physical exercise may be mediated by the irisin/AMPK axis in diabetic nephropathy [J]. Sci Rep, 2022, 12(1): 9062.
- [9] Lai WY, Luo D, Li Y, et al. Irisin ameliorates diabetic kidney disease by restoring autophagy in podocytes [J]. FASEB J, 2023, 37(10): e23175.
- [10] Turkmen K. Inflammation, oxidative stress, apoptosis, and autophagy in diabetes mellitus and diabetic kidney disease: the Four Horsemen of the Apocalypse [J]. Int Urol Nephrol, 2017, 49(5): 837-44.
- [11] Jung CY, Yoo TH. Pathophysiologic mechanisms and potential biomarkers in diabetic kidney disease [J]. Diabetes Metab J, 2022, 46(2): 181-97.
- [12] Chang CM, Su H, Zhang DH, et al. AMPK-dependent phosphorylation of GAPDH triggers Sirt1 activation and is necessary for autophagy upon glucose starvation [J]. Mol Cell, 2015, 60(6): 930-40.
- [13] Li LH, Chen J, Zhou Y, et al. Artesunate alleviates diabetic retinopathy by activating autophagy via the regulation of AMPK/SIRT1 pathway [J]. Arch Physiol Biochem, 2023, 129(4): 943-50.
- [14] Siddhi J, Sherkhane B, Kalavala AK, et al. Melatonin prevents diabetes-induced nephropathy by modulating the AMPK/SIRT1 axis: focus on autophagy and mitochondrial dysfunction [J]. Cell Biol Int, 2022, 46(12): 2142-57.
- [15] 林俊杰, 赵仁清, 周亚兰, 等. 鸢尾素在运动改善胰岛素抵抗中作用的分子机制 [J]. 中国运动医学杂志, 2022, 41(8): 637-42.
- [16] Rabiee F, Lachinani L, Ghaedi S, et al. New insights into the cellular

- activities of Fndc5/Irisin and its signaling pathways[J]. *Cell Biosci*, 2020, 10: 51.
- [17] Bedford TG, Tipton CM, Wilson NC, et al. Maximum oxygen consumption of rats and its changes with various experimental procedures[J]. *J Appl Physiol Respir Environ Exerc Physiol*, 1979, 47(6): 1278-83.
- [18] Alzoughool F, Al-Zghoul MB, Al-Nassan S, et al. The optimal therapeutic irisin dose intervention in animal model: a systematic review[J]. *Vet World*, 2020, 13(10): 2191-6.
- [19] Tuttle KR, Agarwal R, Alpers CE, et al. Molecular mechanisms and therapeutic targets for diabetic kidney disease[J]. *Kidney Int*, 2022, 102(2): 248-60.
- [20] 中华医学会糖尿病学分会. 中国2型糖尿病防治指南(2020年版)(上)[J]. *中国实用内科杂志*, 2021, 41(8): 668-95.
- [21] 中华医学会糖尿病学分会. 中国2型糖尿病防治指南(2020年版)(下)[J]. *中国实用内科杂志*, 2021, 41(9): 757-84.
- [22] Zhou ZY, Ying CJ, Zhou XY, et al. Aerobic exercise training alleviates renal injury in db/db mice through inhibiting Nox4-mediated NLRP3 inflammasome activation[J]. *Exp Gerontol*, 2022, 168: 111934.
- [23] 罗阳燕, 高芳, 魏梦婷, 等. 鸢尾素对糖尿病肾病大鼠 p38 MAPK/NF- κ B 通路及肾损伤的影响[J]. *中国中西医结合肾病杂志*, 2022, 23(9): 764-7, 848.
- [24] Fatouros IG. Is irisin the new player in exercise-induced adaptations or not? A 2017 update[J]. *Clin Chem Lab Med*, 2018, 56(4): 525-48.
- [25] 牟川, 陈庆果. 有氧运动抑制胰岛素抵抗小鼠肝脏糖异生及 FNDc5/Irisin 调控研究[J]. *西安体育学院学报*, 2022, 39(3): 345-54.
- [26] Liu JJ, Liu S, Wong MDS, et al. Relationship between circulating irisin, renal function and body composition in type 2 diabetes[J]. *J Diabetes Complications*, 2014, 28(2): 208-13.
- [27] 张又之, 梁泽容, 肖娟, 等. 糖尿病肾脏疾病患者血清几丁质酶 1、鸢尾素水平变化及影响因素的研究[J]. *中国糖尿病杂志*, 2023, 31(6): 409-12.
- [28] Koch EAT, Nakhoul R, Nakhoul F, et al. Autophagy in diabetic nephropathy: a review[J]. *Int Urol Nephrol*, 2020, 52(9): 1705-12.
- [29] Gonzalez CD, Carro Negueruela MP, Nicora Santamarina C, et al. Autophagy dysregulation in diabetic kidney disease: from pathophysiology to pharmacological interventions[J]. *Cells*, 2021, 10(9): 2497.
- [30] Ebrahim N, Ahmed IA, Hussien NI, et al. Mesenchymal stem cell-derived exosomes ameliorated diabetic nephropathy by autophagy induction through the mTOR signaling pathway[J]. *Cells*, 2018, 7(12): 226.
- [31] 牛梦竹, 朱悦, 张源源, 等. Notch/PTEN/AKT 信号通路在跑台运动减轻 db/db 小鼠肾纤维化中的作用及机制研究[J]. *中国病理生理杂志*, 2023, 39(5): 863-73.
- [32] Pesce M, Ballerini P, Paolucci T, et al. Irisin and autophagy: first update[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(20): 7587.
- [33] Ye X, Shen YM, Ni C, et al. Irisin reverses insulin resistance in C2C12 cells via the p38-MAPK-PGC-1 α pathway[J]. *Peptides*, 2019, 119: 170120.
- [34] Parmar UM, Jalgaonkar MP, Kulkarni YA, et al. Autophagy-nutrient sensing pathways in diabetic complications[J]. *Pharmacol Res*, 2022, 184: 106408.
- [35] Ren HW, Shao Y, Wu C, et al. Metformin alleviates oxidative stress and enhances autophagy in diabetic kidney disease via AMPK/SIRT1-FoxO1 pathway[J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2020, 500: 110628.

(编辑:郎朗)