

· 原 著 ·

宫内发育迟缓出生后追赶生长大鼠脂肪组织 LRP6/ β -catenin通路表达变化

曹秋丽,黎小炜,禩秀萍,黄松,谢雪梅

广西医科大学第一附属医院内分泌科,广西南宁 530021

[摘要] **目的:**探讨宫内发育迟缓出生后追赶生长(CG-IUGR)大鼠脂肪组织低密度脂蛋白受体相关蛋白6(LRP6)/ β -联蛋白(β -catenin)通路表达变化。**方法:**随机将SD孕鼠分为两组,一组孕鼠全程限食喂养,生产后通过减少喂养子鼠数量,建立子鼠CG-IUGR模型(CG-IUGR组);另一组孕鼠正常喂养,生产的子鼠作为对照组。为排除性别因素的干扰,CG-IUGR组和对照组均选取雄性子鼠。CG-IUGR组和对照组在12周龄时进行葡萄糖耐量试验,并取肾周脂肪组织标本,通过苏木素-伊红染色观察脂肪结构,共聚焦显微镜下观察脂肪组织LRP6、 β -catenin及胰岛素受体底物1(IRS-1)的免疫活性,蛋白质印迹法检测LRP6、 β -catenin、IRS-1蛋白表达。**结果:**CG-IUGR组在60 min时血糖浓度及曲线下面积均大于对照组(均 $P<0.05$),表明CG-IUGR组葡萄糖耐量受损。CG-IUGR组脂肪细胞面积较对照组增大,脂肪组织中LRP6、 β -catenin和IRS-1免疫活性较对照组降低(均 $P<0.05$)。**结论:**CG-IUGR大鼠脂肪组织胰岛素抵抗可能与LRP6/ β -catenin通路表达下调有关。



[关键词] 宫内发育迟缓;追赶生长;脂肪组织;胰岛素抵抗;LRP6/ β -catenin通路;大鼠

[中图分类号] R589.2;R725 **[文献标志码]** A

Changes of LRP6/ β -catenin pathway in adipose tissue of rats with intrauterine growth restriction with catch-up growth

CAO Qiuli, LI Xiaowei, XUAN Xiuping, HUANG Song, XIE Xuemei (Department of Endocrinology, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, China)

Corresponding author: XIE Xuemei, E-mail: xiexuemei1234@163.com, <https://orcid.org/0000-0001-7752-1128>

[Abstract] **Objective:** To investigate the expression of low-density lipoprotein

收稿日期:2021-06-27 接受日期:2021-10-30

基金项目:国家自然科学基金(81660268)

第一作者:曹秋丽,硕士研究生,主要从事胎儿健康发育起源及糖代谢异常研究;E-mail:qiulicao1995@163.com;<https://orcid.org/0000-0001-6669-8948>

通信作者:谢雪梅,主治医师,硕士生导师,主要从事胎儿健康发育起源及糖代谢异常研究;E-mail:xiexuemei1234@163.com;<https://orcid.org/0000-0001-7752-1128>

receptor-related protein 6 (LRP6)/ β -catenin pathway related proteins in adipose tissue of rats with intrauterine growth restriction with catch-up growth (CG-IUGR). **Methods:** SD rats were randomly divided into nutrition-restriction rats and normal feed rats during pregnancy. CG-IUGR model was established by reducing the number of offspring in the nutrition-restriction rats (CG-IUGR group); while the rats in the control group were offspring of the normal feed pregnant rats. In order to exclude the interference of gender, male offspring mice were selected in both the CG-IUGR group and the control group in the following studies. The CG-IUGR group and the control group were subjected to glucose tolerance test at 12 weeks of age, and the perirenal adipose tissue samples were taken to observe the adipose structure by HE staining. Expression of LRP6, β -catenin and insulin receptor substrate 1 (IRS-1) in adipocytes were examined by confocal microscopy. Protein expression of LRP6, β -catenin and IRS-1 were measured by Western blotting. **Results:** Blood glucose level and the area under the curve of CG-IUGR group were significantly higher than that of control group (both $P < 0.05$). Adipocyte size in the CG-IUGR group was significantly larger than that of control group, and the expression of LRP6, β -catenin and IRS-1 protein in adipose tissue of the CG-IUGR group was significantly lower than that of control group (all $P < 0.05$). **Conclusion:** The expression of LRP6/ β -catenin pathway related proteins is reduced in the adipose tissue in CG-IUGR rats, probably contributing to the insulin resistance in these rats.

[**Key words**] Intrauterine growth restriction; Catch-up growth; Adipose tissue; Insulin resistance; LRP6/ β -catenin pathway; Rats

[**缩略语**] 宫内发育迟缓(intrauterine growth restriction, IUGR); 宫内发育迟缓出生后追赶生长(IUGR with catch-up growth, CG-IUGR); 低密度脂蛋白受体相关蛋白(low-density lipoprotein receptor-related protein, LRP); 哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR); 胰岛素受体底物(insulin receptor substrate, IRS); 胰岛素样生长因子 I 受体(insulin-like growth factor- I receptor, IGF- I R); 异硫氰酸荧光素(fluorescein isothiocyanate, FITC); 苏木素-伊红染色(hematoxylin and eosin staining, HE 染色); 磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline, PBS)

IUGR 是由于解剖结构或功能障碍导致胎儿低于或偏离预期的生长模式, 是导致胎儿围产期死亡的主要原因^[1]。全世界每年有约 3000 万新生儿发生 IUGR, 占有新生儿的 23.8%^[2]。IUGR 个体出生后往往会出现追赶生长, 即 CG-IUGR。追赶生长一方面可使 IUGR 个体尽量接近正常发育水平, 降低 IUGR 患儿住院率和死亡率, 并促进神经系统正常发育; 但另一方面, 追赶生长本身会加重其远期胰岛素抵抗, 导致成年后患糖尿病和冠心病等代谢相关疾病的风险增加^[3-4]。目前, CG-IUGR 个体发生胰岛素抵抗的具体机制仍未

明确。

研究表明, 葡萄糖耐量受损及胰岛素抵抗与 Wnt 信号通路失调密切相关^[5]。在经典 Wnt 信号中, Wnt 配体与 LRP5/LRP6 共受体结合后, 可稳定 β -联蛋白(β -catenin) 并使其在细胞质中富集, 进而进入细胞核, 激活下游靶基因表达, 调控多种生长与代谢相关基因的表达^[5-6]。LRP6 作为 Wnt 信号通路不可或缺的共受体, 在 LRP6 介导的 Wnt 信号通路中起到极其重要的作用。如 LRP6 突变引起的 Wnt 信号受损可导致糖耐量异常和胰岛素信号受损^[7-9]。LRP6 介导的 Wnt 信号通路也可通过激活

mTOR/S6K降低胰岛素敏感性^[10]。但截至目前,LRP6对胰岛素敏感性影响的具体作用仍不明确,LRP6/ β -catenin信号通路受损是否与CG-IUGR个体发生胰岛素抵抗有关也未明确。

脂肪组织是胰岛素的重要靶器官,其葡萄糖代谢和脂质代谢紊乱是胰岛素抵抗的重要因素^[11]。本研究团队前期研究发现,CG-IUGR成年大鼠出现明显的胰岛素抵抗表型,包括其脂肪组织胰岛素信号受损^[12-13]。本研究通过建立CG-IUGR模型,旨在检测CG-IUGR大鼠脂肪组织中LRP6/ β -catenin信号及胰岛素信号关键分子IRS-1表达的改变,探讨CG-IUGR大鼠脂肪组织胰岛素抵抗的可能机制。

1 材料与方法

1.1 材料、试剂与仪器

RIPA裂解液为碧云天生物技术有限公司产品;抗 β -catenin抗体、抗IGF-1R抗体为美国GeneTex公司产品;抗LRP6抗体为美国Santa公司产品;抗IRS-1抗体为沈阳万类生物科技有限公司产品;抗 β -actin抗体为江苏亲科生物研究中心有限公司产品;辣根过氧化物酶标记驴抗兔IgG抗体为武汉博士德生物工程有限公司产品;FITC标记驴抗山羊IgG抗体、CY3标记驴抗小鼠IgG抗体、CY3标记驴抗兔IgG抗体为武汉赛维尔生物科技有限公司产品。电泳仪(Mini-PROTEAN Tetra)为美国Bio-Rad公司产品;共聚焦显微镜(TCS SP8 CASR)为德国Leica公司产品。

1.2 CG-IUGR大鼠模型的构建

选取健康成年SD雌性大鼠12只,体重200~250 g;雄性大鼠4只,体重300~350 g,所有大鼠及饲料均由广西医科大学动物实验中心提供,所有实验操作均严格遵守广西医科大学动物实验中心关于动物实验的伦理要求。适应性喂养1周后,按雌雄大鼠3:1合笼过夜交配,次日早上8点取合笼雌性大鼠进行阴道涂片,若显微镜下观察到精子,记为妊娠第1天,孕鼠单只喂养。用随机数字表法将孕鼠分为两组:其中一组每日每只孕鼠予约7.5 g(约为正常喂养孕鼠食量的1/3)饲料限食喂养,另一组正常喂养,限食喂养孕鼠和正常喂养孕鼠均不限制饮水^[12]。新生子鼠出生后立即称量体重。限食喂养孕鼠生产的子鼠体重低于正常喂养孕鼠生产的子鼠平均体重两个标准差为IUGR

子鼠,每只限食喂养母鼠喂养5只IUGR子鼠(CG-IUGR组),每只正常喂养母鼠喂养8只正常子鼠(对照组),通过相对增加哺乳期每只IUGR子鼠所获得的营养以达到生长追赶目的。哺乳期间母鼠均不限制摄食和饮水。为排除性别因素的干扰,本研究后续实验所用大鼠均为雄性子鼠。所有纳入研究的子鼠于出生时及出生后每周固定时间用电子天平称量体重,精确到0.1 g。

1.3 糖耐量试验检查血糖调节功能

CG-IUGR组和对照组在12周龄时禁食12 h后予腹腔注射葡萄糖2 g/kg,分别于0、30、60、120 min检测鼠尾血糖,并计算血糖曲线下面积。

1.4 HE染色观察脂肪细胞面积

CG-IUGR组和对照组在12周龄时,腹腔注射10%水合氯醛(400 mg/kg)麻醉,麻醉后采用颈椎脱臼法处死大鼠,将大鼠仰卧位固定于解剖板上,分层开腹取肾周脂肪组织,包埋切片,经二甲苯、梯度乙醇脱蜡至水化后,苏木素染色60 s,冲洗10 min后,伊红染色25 s,自来水中浸泡10 s至玻片无明显伊红残留,甩干后置于逆梯度乙醇各3~5 s,晾干至组织无肉眼水滴后置于二甲苯透明5 min,中性树胶封片。通风晾干2 h后,显微镜下观察脂肪细胞HE染色并拍照,每张切片选择三个视野,利用ImageJ计算脂肪细胞面积^[14-15]。

1.5 共聚焦显微镜定性检测LRP6、 β -catenin及IRS-1表达

分别取CG-IUGR组和对照组肾周脂肪组织包埋切片,经二甲苯、梯度乙醇脱蜡至水化后,切片浸泡于枸橼酸钠缓冲液中,放置于微波炉中中高火抗原修复10 min,待恢复至室温后用10%驴血清37 °C封闭1 h。加入用10%驴血清稀释的一抗,于湿盒4 °C孵育过夜。37 °C复温1 h,PBS漂洗三次,每次5 min。加入FITC或CY3标记的二抗37 °C避光孵育1 h,PBS漂洗三次,每次5 min;加入4',6-二脒基-2-苯基吲哚,PBS漂洗同上,加入抗荧光淬灭剂,用无色指甲油、盖玻片封片。用共聚焦显微镜观察并拍照。

1.6 蛋白质印迹法定量检测LRP6、 β -catenin及IRS-1表达

分别取CG-IUGR组和对照组肾周脂肪组织,加入RIPA裂解液裂解30 min后将组织碎片和裂解液移至1.5 mL EP管(整个操作在冰上进行),1200×g离心5 min,注意避免吸到上层白色油脂。

BCA 显色法测定蛋白浓度,30 μg 蛋白上样,经电泳、转膜、封闭、4 ℃一抗过夜孵育、二抗孵育及扫膜,通过 ImageJ 软件分析条带灰度值。

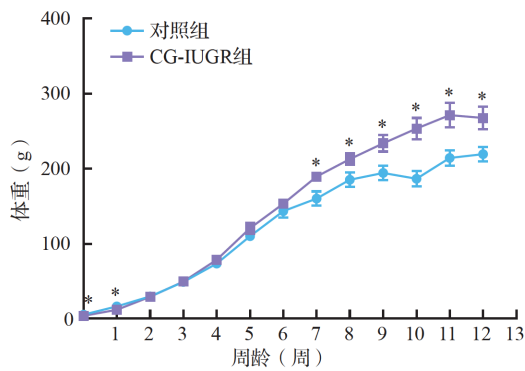
1.7 统计学方法

采用 SPSS 22.0 软件进行统计分析。正态分布的计量资料采用均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,两组间比较采用两独立样本 *t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 CG-IUGR 大鼠模型成功建立

受孕母鼠共 10 只,其中限食喂养 7 只,正常喂养 3 只。限食喂养孕鼠共生产子鼠 61 只,其中 IUGR 子鼠 53 只, IUGR 发生率为 86.9%。CG-IUGR 组共纳入 9 只雄性子鼠,对照组共纳入 6 只雄性子鼠,两组出生体重分别为 (4.46 ± 0.58) g 和 (5.94 ± 0.50) g, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。出生后 CG-IUGR 组即出现追赶生长,至第 2 周时两组体重差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。此后,CG-IUGR 组持续追赶生长,至第 7 周开始 CG-IUGR 组体重显著高于对照组 ($P < 0.05$),见图 1,表明 CG-IUGR 模型成功建立。



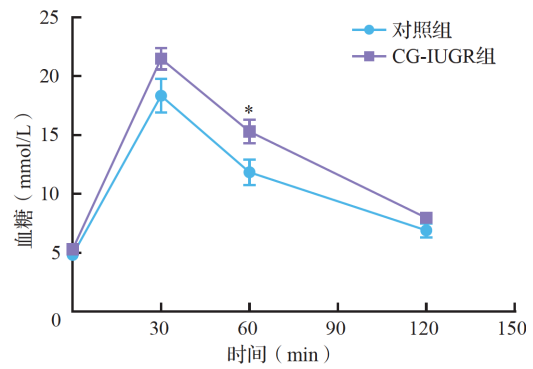
与对照组比较,* $P < 0.05$ 。CG-IUGR: 宫内发育迟缓出生后追赶生长。

图 1 两组出生后体重变化

Figure 1 Postnatal body weight changes of offspring rats in two groups

2.2 CG-IUGR 大鼠血糖调节能力下降

两组 12 周龄注射葡萄糖后 30 min 均出现血糖高峰,60 min 时 CG-IUGR 组血糖浓度大于对照组 ($P < 0.05$),CG-IUGR 组血糖曲线下面积也大于对照组 (1652 ± 258 和 1363 ± 329 , $P < 0.05$),见图 2。结果提示,CG-IUGR 组血糖调节能力下降。



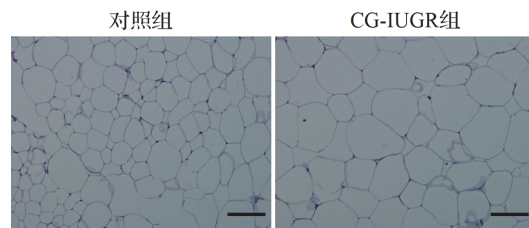
与对照组比较,* $P < 0.05$ 。CG-IUGR: 宫内发育迟缓出生后追赶生长。

图 2 两组 12 周龄时糖耐量试验结果

Figure 2 Results of glucose tolerance tests of 12-week-old rats in two groups

2.3 CG-IUGR 大鼠脂肪细胞面积变大

12 周龄时,与对照组比较,CG-IUGR 组脂肪细胞面积增大,分别为 (4620 ± 3581) 和 (25655 ± 17400) μm^2 ($P < 0.05$),见图 3。结果提示,CG-IUGR 组脂肪细胞对胰岛素的敏感性降低。



CG-IUGR 组雄性大鼠肾周脂肪组织较对照组显著增大。CG-IUGR: 宫内发育迟缓出生后追赶生长。标尺=100 μm。

图 3 两组 12 周龄时肾周脂肪组织 HE 染色结果

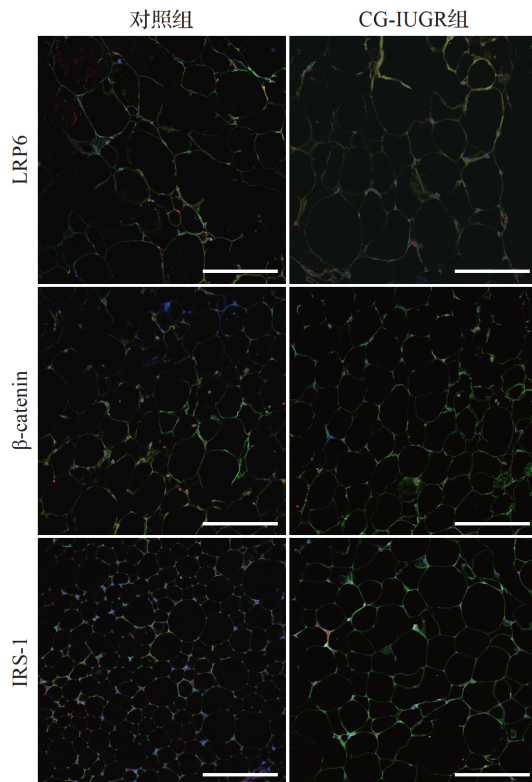
Figure 3 HE staining of perirenal adipose tissue of 12-week-old rats in two groups

2.4 CG-IUGR 大鼠 IRS-1、LRP6/β-catenin 表达下调

12 周龄时,与对照组比较,CG-IUGR 组肾周脂肪组织中 IRS-1、LRP6、β-catenin 表达均减少(灰度值分别为 0.6587、0.5253、0.5590 和 0.2920、0.0793、0.1927,均 $P < 0.05$),见图 4、图 5。结果提示,CG-IUGR 组脂肪组织胰岛素信号受损。

3 讨论

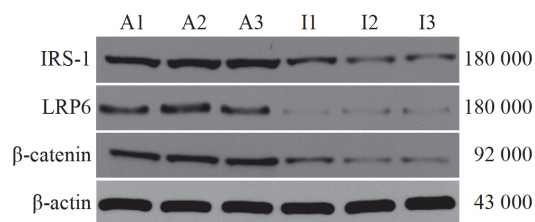
CG-IUGR 大鼠成年后极易出现代谢紊乱,发生胰岛素抵抗相关疾病的风险显著增高^[3-4]。然而,CG-IUGR 个体发生胰岛素抵抗的具体机制目



LRP6主要在细胞膜上表达, β -catenin主要在细胞质及细胞核表达,IRS-1在细胞质表达,均呈红色。对照组LRP6、 β -catenin、IRS-1表达高于CG-IUGR组。CG-IUGR:宫内发育迟缓出生后追赶生长;IRS-1:胰岛素受体底物1;LRP6:低密度脂蛋白受体相关蛋白6。标尺=75 μ m。

图 4 两组12周龄时肾周脂肪组织LRP6、 β -catenin、IRS-1免疫荧光检测结果

Figure 4 Immunofluorescence assay of LRP6, β -catenin and IRS-1 in perirenal adipose tissue of 12-week-old rats in two group.



A1、A2、A3为对照组;I1、I2、I3为CG-IUGR组。CG-IUGR:宫内发育迟缓出生后追赶生长;IRS-1:胰岛素受体底物1;LRP6:低密度脂蛋白受体相关蛋白6。

图 5 两组12周龄时肾周脂肪组织LRP6、 β -catenin、IRS-1蛋白表达电泳图

Figure 5 Electropherogram of LRP6, β -catenin and IRS-1 protein expression in perirenal adipose tissue of 12-week-old rats in two groups

前尚不清楚。LRP6是Wnt信号通路的关键分子,LRP6突变可以导致糖耐量异常及胰岛素信号受损,但LRP6也可通过激活mTOR/S6K信号降低胰

岛素敏感性^[7-9]。目前,LRP6对胰岛素敏感性的作用仍不明确,且LRP6/ β -catenin信号通路受损与CG-IUGR发生胰岛素抵抗是否有关也须进一步探究。脂肪组织代谢紊乱是系统胰岛素抵抗的重要因素^[11]。本研究成功建立了CG-IUGR大鼠模型,糖耐量试验结果提示CG-IUGR大鼠葡萄糖耐量受损,与前期研究结果一致^[16-18]。本研究选择CG-IUGR大鼠脂肪组织检测LRP6/ β -catenin信号通路及胰岛素信号通路关键分子IRS-1表达改变。

脂肪细胞的功能与其大小有直接关系,体积小的脂肪细胞对胰岛素更敏感,脂肪细胞体积的增加与全身胰岛素抵抗加重有关^[19]。研究发现,肥胖女性减肥手术后,相比脂肪质量的减小,脂肪细胞体积减小对胰岛素敏感性改善作用更强^[20]。肥大的脂肪细胞HE染色脂肪细胞面积增大^[21],因此本研究通过测量脂肪细胞面积来判断其体积大小。结果显示,CG-IUGR组脂肪细胞较对照组增大,提示CG-IUGR大鼠脂肪细胞对胰岛素的敏感性减低。

IRS-1是胰岛素信号通路关键分子,不管是在细胞还是组织中,高胰岛素血症时IRS-1的表达水平降低^[22];且抑制糖尿病患者和糖尿病动物模型IRS-1蛋白的表达可加重胰岛素抵抗^[23-24]。可见,IRS-1表达水平的改变与胰岛素抵抗的发生密切相关。脂肪细胞中,胰岛素通过IRS-1/PI3K/AKT轴促进脂肪细胞内GLUT4转位,进而促进脂肪细胞对葡萄糖的摄取^[25-26]。研究发现,下调大鼠原代脂肪细胞IRS-1基因表达可导致其胰岛素刺激葡萄糖摄取功能降低^[26]。本文资料显示,CG-IUGR大鼠脂肪组织胰岛素信号关键分子IRS-1表达下调,提示其胰岛素信号受损,出现了胰岛素抵抗。

Wnt信号通路和胰岛素信号有交互作用,有助于增强胰岛素敏感性^[27-31]。LRP6是经典Wnt信号LRP6/ β -catenin通路中不可或缺的共受体,是葡萄糖代谢的重要调节因子。研究发现,LRP6突变可能导致胰岛素信号受损和糖耐量异常^[9]。本文资料中,CG-IUGR大鼠在体重增加、糖耐量受损、脂肪体积增大以及脂肪组织IRS-1表达下调的同时,其脂肪组织LRP6、 β -catenin的表达水平也明显降低,提示CG-IUGR大鼠出现了胰岛素抵抗,且其胰岛素信号通路与LRP6/ β -catenin信号通路同时受损。我们推测,CG-IUGR大鼠脂肪组织胰

胰岛素抵抗和糖耐量受损可能与LRP6/ β -catenin信号通路表达下调有关,进一步深入研究相关机制有可能为CG-IUGR个体胰岛素抵抗相关疾病治疗提供潜在的靶点。

综上所述,CG-IUGR大鼠脂肪组织胰岛素抵抗可能与LRP6/ β -catenin信号通路表达下调有关,LRP6/ β -catenin信号通路与胰岛素信号通路表达变化的具体机制还有待进一步研究。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] LEVINE T A, GRUNAU R E, MCAULIFFE F M, et al. Early childhood neurodevelopment after intrauterine growth restriction: a systematic review[J]. *Pediatrics*, 2015, 135(1): 126-141.
- [2] SHARMA D, SHASTRI S, FARAHBAKHS N, et al. Intrauterine growth restriction – part 1[J]. *J Matern-Fetal Neonatal Med*, 2016, 29(24): 3977-3987.
- [3] MARCELINO H, VEYRAT-DUREBEX C, SUMMER-MATTER S, et al. A role for adipose tissue de novo lipogenesis in glucose homeostasis during catch-up growth[J]. *Diabetes*, 2013, 62(2): 362-372.
- [4] CHEN L L, HU X, ZHENG J, et al. Lipid over-accumulation and drastic insulin resistance in adult catch-up growth rats induced by nutrition promotion after undernutrition[J]. *Metabolism*, 2011, 60(4): 569-578.
- [5] ABOU ZIKI M D, MANI A. The interplay of canonical and noncanonical Wnt signaling in metabolic syndrome[J]. *Nutr Res*, 2019, 70: 18-25.
- [6] AU D T, MIGLIORINI M, STRICKLAND D K, et al. Macrophage LRP1 promotes diet-induced hepatic inflammation and metabolic dysfunction by modulating wnt signaling[J]. *Mediators Inflamm*, 2018, 2018: 7902841.
- [7] WANG Z M, LUO J Q, XU L Y, et al. Harnessing low-density lipoprotein receptor protein 6 (LRP6) genetic variation and Wnt signaling for innovative diagnostics in complex diseases[J]. *Pharmacogenomics J*, 2018, 18(3): 351-358.
- [8] SINGH R, SMITH E, FATHZADEH M, et al. Rare nonconservative *LRP6* mutations are associated with metabolic syndrome[J]. *Hum Mutat*, 2013, 34(9): 1221-1225.
- [9] SINGH R, DE AGUIAR R B, NAIK S, et al. LRP6 enhances glucose metabolism by promoting TCF7L2-dependent insulin receptor expression and IGF receptor stabilization in humans[J]. *Cell Metab*, 2013, 17(2): 197-209.
- [10] LIU W, SINGH R, CHOI C S, et al. Low density lipoprotein (LDL) receptor-related protein 6 (LRP6) regulates body fat and glucose homeostasis by modulating nutrient sensing pathways and mitochondrial energy expenditure[J]. *J Biol Chem*, 2012, 287(10): 7213-7223.
- [11] KAHN C R, WANG G, LEE K Y. Altered adipose tissue and adipocyte function in the pathogenesis of metabolic syndrome[J]. *J Clin Invest*, 2019, 129(10): 3990-4000.
- [12] YE J, ZHENG R, WANG Q, et al. Downregulating SOCS3 with siRNA ameliorates insulin signaling and glucose metabolism in hepatocytes of IUGR rats with catch-up growth[J]. *Pediatr Res*, 2012, 72(6): 550-559.
- [13] ZHENG R D, LIAO L H, YE J, et al. Effects of SOCS 1/3 gene silencing on the expression of C/EBP α and PPAR γ during differentiation and maturation of rat preadipocytes[J]. *Pediatr Res*, 2013, 73(3): 263-267.
- [14] ZHOU H, WANG H, YU M, et al. IL-1 induces mitochondrial translocation of IRAK2 to suppress oxidative metabolism in adipocytes[J]. *Nat Immunol*, 2020, 21(10): 1219-1231.
- [15] ZHANG Y, XIE L, GUNASEKAR S K, et al. SWELL1 is a regulator of adipocyte size, insulin signalling and glucose homeostasis[J]. *Nat Cell Biol*, 2017, 19(5): 504-517.
- [16] BERENDS L M, DEARDEN L, TUNG Y C L, et al. Programming of central and peripheral insulin resistance by low birthweight and postnatal catch-up growth in male mice[J]. *Diabetologia*, 2018, 61(10): 2225-2234.
- [17] LIAO L, ZHENG R, WANG C, et al. The influence of down-regulation of suppressor of cellular signaling proteins by RNAi on glucose transport of intrauterine growth retardation rats[J]. *Pediatr Res*, 2011, 69(6): 497-503.
- [18] 郑锐丹, 汪无尽, 应艳琴, 等. 生长追赶宫内发育迟缓大鼠早期糖脂代谢及脂肪细胞功能的改变[J]. *中国当代儿科杂志*, 2012, 14(7): 543-547.
ZHENG Ruidan, WANG Wujin, YING Yanqin, et al. Effects of intrauterine growth retardation with catch-up growth on sugar-lipid metabolism and adipocyte function in young rats[J]. *Chinese Journal of Contemporary Pediatrics*, 2012, 14(7): 543-547. (in Chinese)
- [19] ALLISTER-PRICE C, CRAIG C M, SPIELMAN D, et al. Metabolic markers, regional adiposity, and adipose cell size: relationship to insulin resistance in African-American as compared with Caucasian women[J]. *Int J Obes*, 2019, 43(6): 1164-1173.
- [20] ANDERSSON D P, ERIKSSON HOGGLING D, THORELL A, et al. Changes in subcutaneous fat cell volume and insulin sensitivity after weight loss[J]. *Diabetes Care*, 2014, 37(7): 1831-1836.

- [21] GUMBILAI V, EBIHARA K, AIZAWA-ABE M, et al. Fat mass reduction with adipocyte hypertrophy and insulin resistance in heterozygous PPAR γ mutant rats [J]. *Diabetes*, 2016, 65(10): 2954-2965.
- [22] HIRASHIMA Y, TSURUZOE K, KODAMA S, et al. Insulin down-regulates insulin receptor substrate-2 expression through the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt pathway[J]. *J Endocrinol*, 2003, 179(2): 253-266.
- [23] SHIMOMURA I, MATSUDA M, HAMMER R E, et al. Decreased IRS-2 and increased SREBP-1c lead to mixed insulin resistance and sensitivity in livers of lipodystrophic and ob/ob mice[J]. *Mol Cell*, 2000, 6(1): 77-86.
- [24] TANIGUCHI C M, EMANUELLI B, KAHN C R. Critical nodes in signalling pathways: insights into insulin action[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2006, 7(2): 85-96.
- [25] TOKARZ V L, MACDONALD P E, KLIP A. The cell biology of systemic insulin function[J]. *J Cell Biol*, 2018, 217(7): 2273-2289.
- [26] PETERSEN M C, SHULMAN G I. Mechanisms of insulin action and insulin resistance[J]. *Physiol Rev*, 2018, 98(4): 2133-2223.
- [27] CHENG P W, CHEN Y Y, CHENG W H, et al. Wnt signaling regulates blood pressure by downregulating a GSK-3 β -mediated pathway to enhance insulin signaling in the central nervous system[J]. *Diabetes*, 2015, 64(10): 3413-3424.
- [28] LI R, OU J, LI L, et al. The Wnt signaling pathway effector TCF7L2 mediates olanzapine-induced weight gain and insulin resistance[J]. *Front Pharmacol*, 2018, 9: 379.
- [29] KARCZEWSKA-KUPCZEWSKA M, STEFANOWICZ M, MATULEWICZ N, et al. Wnt signaling genes in adipose tissue and skeletal muscle of humans with different degrees of insulin sensitivity[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2016, 101(8): 3079-3087.
- [30] PALSGAARD J, EMANUELLI B, WINNAY J N, et al. Cross-talk between insulin and Wnt signaling in preadipocytes[J]. *J Biol Chem*, 2012, 287(15): 12016-12026.
- [31] YOON J C, NG A, KIM B H, et al. Wnt signaling regulates mitochondrial physiology and insulin sensitivity[J]. *Genes Dev*, 2010, 24(14): 1507-1518.

[本文编辑 沈敏余方]

· 学术动态 ·

杨帆研究员团队等计算设计靶向TRPM8通道的激活模式特异性环肽抑制剂用于镇痛

浙江大学基础医学院生物物理学系的杨帆研究员团队与浙江大学脑科学与脑医学学院徐贞仲研究员团队以及东北林业大学杨仕隆教授团队合作通过运用基于瞬时受体电位M通道8(TRPM8)结构的热点中心计算设计策略,得环状短肽抑制剂DeC-1.2。成果于2021年10月17日发表在《先进科学》(*Advanced Science*)“Rational design of a modality-specific inhibitor of TRPM8 channel against oxaliplatin-induced cold allodynia”(DOI:10.1002/advs.202101717)。

在奥沙利铂诱导的冷痛觉敏化小鼠模型中,伤害性背根神经节神经元中TRPM8通道的表达水平显著升高。在TRPM8敲除鼠中,奥沙利铂未使其出现冷痛觉敏化反应。因此,TRPM8离子通道是治疗奥沙利铂诱导的冷痛觉敏化的有效药物靶点。研究人员基于TRPM8的高分辨率三维冷冻电镜结构,运用热点中心策略理性设计获得了一系列多肽类调控分子。通过两轮设计优化和功能验证后,获得了一条环状短肽DeC-1.2。DeC-1.2在体外电生理验证中能够高效抑制薄荷醇(TRPM8配体)激活而不影响其冷激活。研究人员运用单通道电生理等方法,验证了DeC-1.2的激活模式特异性以及亚基选择性。最后,DeC-1.2在奥沙利铂诱导的冷痛觉敏化模型鼠中减轻模型鼠的冷痛,且不影响小鼠的基础体温。

阿尔孜古丽·艾尔肯博士研究生、谢亚凯博士以及东北林业大学的董文琪博士研究生为论文第一作者。研究得到了国家自然科学基金、浙江省自然科学基金等资助。