

内分泌专题

DOI: 10.13406/j.cnki.cyx.001571

沙格列汀对糖尿病小鼠动脉粥样硬化和脂肪性肝炎的影响

吴明霞, 冷蔚玲, 雷小添, 潘航, 陈刘, 吴绮楠, 梁自文

(陆军军医大学第一附属医院内分泌科, 重庆 400038)

【摘要】目的:探讨二肽基肽酶 4(dipeptidyl peptidase 4, DPP4)抑制剂沙格列汀对 2 型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)小鼠合并动脉粥样硬化和脂肪性肝病的影响及其机制。**方法:**ApoE^{-/-}小鼠高脂喂养、高脂喂养+小剂量链脲佐菌素分别构建非糖尿病、T2DM 合并动脉粥样硬化和脂肪性肝病小鼠模型,分为非糖尿病治疗组(HS, n=8)、对照组(HF, n=8),糖尿病治疗组(DS, n=8)、对照组(DM, n=8)。HS、DS 组予以沙格列汀 15 mg/(kg·d)灌胃治疗,对照组等量生理盐水灌胃,12 周后观察主动脉斑块、肝脏脂肪沉积、炎症浸润、纤维化程度以及炎症小体 NLRP3 活化和炎症介质 IL-1 β 表达变化。**结果:**DS 组较 DM 组血浆血糖、游离脂肪酸、甘油三酯和 ALT、AST 水平明显降低($P<0.01$),肝重比明显减小($P<0.01$),肝脏脂肪沉积、巨噬细胞浸润及纤维化程度显著减轻($P<0.01$),肝组织内 NLRP3 炎症小体及 IL-1 β 表达明显减少($P<0.01$),HS 组较 HF 组上述部分指标也出现明显降低,但 HS、DS 组较对照组动脉粥样硬化斑块均无明显变化。**结论:**沙格列汀通过降低血浆血糖和 FFA 水平,抑制肝脏巨噬细胞聚集、减少 NLRP3 炎症小体活化等作用抑制糖尿病性脂肪肝的发生和发展,但对动脉粥样硬化没有治疗作用。

【关键词】2 型糖尿病;沙格列汀;脂肪肝;炎症小体**【中图分类号】**R587.1**【文献标志码】**A**【收稿日期】**2017-08-24

Effects and mechanism of Saxagliptin on the atherosclerosis and fatty liver disease in diabetic mice

Wu Mingxia, Leng Weiling, Lei Xiaotian, Pan Hang, Chen Liu, Wu Qinan, Liang Ziwen

(Department of Endocrinology, Southwest Hospital, Third Military Medical University)

【Abstract】Objective: To study the effects of saxagliptin, a dipeptidyl peptidase 4(DPP4) inhibitor, on the atherosclerosis and fatty liver disease in the diabetic ApoE^{-/-} mice. **Methods:** Male diabetic ApoE^{-/-} mice model was established by feeding on a high fat diet and streptozotocin injection, which received the DPP4 inhibitor saxagliptin[15(mg/kg)](DS, n=8) or saline as a placebo(DM, n=8) once a day by gavage for 12 weeks. Male ApoE^{-/-} mice feeding on a high fat diet as a non-diabetic control group, also divided into saxagliptin treatment group(HS, n=8) and control group(HF, n=8). Structural changes in the artery and liver, the degree of liver fibrosis and inflammation were evaluated by oil red O and hematoxylin-eosin staining, immunohistochemistry and Western blot. **Results:** In the diabetic group, saxagliptin intervention significantly reduced the levels of free fat acid(FFA), triglyceride(TG), alanine aminotransferase(ALT), aspartate transaminase(AST) in plasma, also have the same trend of the liver index and IL-1 β , NLRP3 protein in the liver($P<0.01$) and blood glucose. Lipid droplets in the hepatocytes, liver fibrosis and inflammation were significantly improved($P<0.01$) in the group. As contrary, there was no significant changes in plaque area. **Conclusion:** Saxagliptin has a liver protective effect on diabetic mice, the mechanism may caused by effectively lowering blood glucose and the levels of FFA, TG in plasma, inhibiting the accumulation of macrophages in the liver and the activation of NLRP3 inflammasome, reducing inflammation of the liver. However, no obvious effect was observed on the atherosclerosis.

【Key words】type 2 diabetes mellitus; Saxagliptin; fatty liver; inflammasome

作者介绍: 吴明霞, Email: MingxiaWu66@163.com,

研究方向: 糖尿病脂代谢紊乱、糖尿病足。

通信作者: 梁自文, Email: ziwenliang99@163.com。

基金项目: 中华国际医学交流基金会青年医生糖尿病研究项目(编号: 2015-N-08)。

优先出版: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20180403.0910.002.html>
(2018-04-03)

糖尿病是世界范围内的常见病、多发病,因糖尿病并发心血管疾病和肝肾功能障碍是导致糖尿病患者死亡的主要原因。动脉粥样硬化是大血管并发症的主要表现形式,而肝脏脂肪变是糖尿病性肝损害的常见原因。动脉粥样硬化和肝脏脂肪变是威胁人类健康的慢性疾病^[1-2],然而,动脉粥样硬化发病机制较复杂,且争议较多,目前比较认可的机制是以“脂质沉积、炎细胞浸润及平滑肌细胞增殖”为特征的慢性炎症反应^[3],血浆中的脂代谢产物如低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDL-C)、极低密度脂蛋白(very low density lipoprotein cholesterol, VLDL)及其氧化产物、游离脂肪酸(free fatty acid, FFA)等均有致炎作用,可促进粘附因子的表达、促进单核巨噬细胞在内膜聚集,从而造成血管内壁的炎症损伤,导致动脉粥样硬化的发生发展^[4]。而肝脏脂肪变的发病机制来源于二次打击学说^[5]。第一次打击即脂肪在肝脏实质细胞内的过度聚集,使肝脏逐渐发展为脂肪性肝炎;第二次打击为氧化应激反应,即在首次打击的基础上,发生在肝脏实质细胞内的炎症反应。循环中甘油三酯(triglyceride, TG)、FFA 浓度的升高在诱导肝脏炎症反应的过程中起着重要作用^[6-7]。氧化应激、炎症的激活对肝细胞脂肪变性的发生、发展均起着重要的促进作用^[8-10]。

高血糖可以加速动脉粥样硬化斑块和脂肪性肝炎的发生、发展,在 2 型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)患者中动脉粥样硬化、脂肪性肝炎和肝硬化的发生风险较高^[11-12]。二肽基肽酶 4(dipeptidyl peptidase 4, DPP4)抑制剂是近年来在临床广泛应用的一类降糖药物,主要通过抑制肠促胰岛素 GLP-1 及 GIP 降解,增加体内胰岛素分泌、抑制胰高糖素分泌来发挥降糖作用^[13]。既往研究表明 DPP4 抑制剂可能具有抑制动脉粥样硬化和保护肝脏的作用^[14-17]。沙格列汀是 DPP4 抑制剂中的一种,其降糖效果稳定,但其对于糖尿病小鼠动脉粥样硬化和肝脏脂肪变的作用仍不清楚。因此,本实验旨在观察沙格列汀对糖尿病和非糖尿病小鼠动脉粥样硬化和肝脏脂肪变的影响并探讨其可能机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物及模型建立

高脂饲料喂养联合小剂量链脲佐菌素(STZ)腹腔注射

ApoE^{-/-}小鼠构建 T2DM 并发动脉粥样硬化和肝脏脂肪变性小鼠模型^[18-20]。本实验取 32 只 6 周龄雄性 ApoE^{-/-}小鼠(北京华阜康生物科技有限公司)及 8 只雄性 C57 小鼠(陆军军医大学动物中心),适应一周后, C57 小鼠作为正常对照组给予普通饲料喂养, ApoE^{-/-}小鼠给予高脂饲料(83.9%普通饲料+15%脂肪+1%胆固醇+0.1%胆酸钠,陆军军医大学第三附属医院动物中心提供)喂养, 12 周龄时,随机数法挑选 16 只 ApoE^{-/-}小鼠连续 3 d 腹腔注射小剂量 STZ(50 mg/kg, Sigma 公司), 1 周后测随机血糖大于 16.7 mol/L, 为 T2DM 建模成功,继续高脂饲料喂养 4 周待血糖稳定, 16 周龄时将非糖尿病 ApoE^{-/-}小鼠随机分为高脂对照组(HF, *n*=8)和高脂+沙格列汀治疗组(HS, *n*=8),糖尿病鼠随机分为糖尿病对照组(DM, *n*=8),糖尿病+沙格列汀治疗组(DS, *n*=8), HS 组和 DS 组予以沙格列汀(阿斯利康中国有限公司馈赠)15 mg/(kg·d)灌胃, C57 组、HF 组和 DM 组予以等量生理盐水灌胃 12 周。每周监测小鼠的血糖和体质量。动物饲养于陆军军医大学第一附属医院中心实验室动物房 SPF 级清洁笼具内。本研究所有动物实验符合陆军军医大学实验动物伦理委员会制定的伦理学标准。

1.2 组织的收集及处理

建模成功后灌胃治疗 12 周,小鼠禁食 8~12 h 后予以戊巴比妥钠(40 mg/kg)腹腔注射麻醉,眼眶取血,离心取上清液,由陆军军医大学第一附属医院检验科动物专用生化分析仪测定 TG、总胆固醇(total cholesterol, TC)、LDL-C、高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein cholesterol, HDL-C)和 FFA、丙氨酸转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、天冬氨酸转氨酶(aspartate transaminase, AST);预冷 PBS 经心脏灌注后,分离主动脉,取下肝脏称重,在肝中叶同一位置取肝脏组织 3 块(5 mm×5 mm×5 mm)分别予以 10%福尔马林固定、OCT 包埋、液氮冻存。

1.3 主动脉油红 O 染色,肝脏免疫组化及油红 O 染色

主动脉 10%福尔马林固定后行油红 O 染色,观察斑块形成情况。将肝组织石蜡切片(4 μm)行 HE 染色;石蜡切片经烤片、脱蜡处理后,分别进行 α-SMA(NOVUS 公司兔抗鼠多抗, 1:50)、MOMA2 (Abcam 公司大鼠抗小鼠单抗, 1:50)免疫组化染色;新鲜肝组织 OCT 包埋后行冰冻切片(5 μm 厚度),油红 O(Sigama 公司)染色,观察脂质沉积情况,图片采用 Image-Pro Plus 6.0 软件进行分析。

1.4 肝脏组织 Western blot 检测炎症小体 NLRP3 和炎症介质 IL-1β 表达

肝脏组织加入蛋白裂解液提取组织蛋白定量分析,经电泳、转膜后分别予以 NLRP3、IL-1β(NOVUS 公司兔抗鼠多抗, NLRP3 1:1 000 稀释, IL-1β 1:2 000 稀释)一抗 4℃孵育过夜,山羊抗兔二抗(中杉金桥公司, 1:1 000 稀释)室温孵育 2 h, Image Lab 软件分析 NLRP3 蛋白和炎症介质 IL-1β 的表达。

1.5 统计方法

采用 SPSS 19.0 统计软件进行统计分析,所得数值以均值 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。糖尿病及非糖尿病组内两参数进行比较时采用独立样本 t 检验方法;多组动脉粥样硬化斑块面积均数比较采用单因素方差分析,两两比较采用 LSD- t 法。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 沙格列汀对小鼠体质量、血糖及血脂的影响

沙格列汀治疗 12 周后,糖尿病治疗组血糖下降明显 ($t=10.149, P=0.000$),非糖尿病治疗组血糖无明显变化 ($t=0.435, P=0.670$),如图 1 所示;糖尿病组血浆 TG ($t=8.68, P=0.000$)、FFA ($t=5.030, P=0.000$) 浓度明显降低, HDL-C 浓度升高 ($t=-3.17, P=0.007$), TC ($t=1.910, P=0.082$)、LDL-C ($t=2.110, P=0.053$) 有下降趋势;非糖尿病组中 FFA 浓度 ($t=0.570, P=0.022$) 下降明显, TC ($t=0.458, P=0.654$)、TG ($t=1.970, P=0.069$)、

LDL-C ($t=2.110, P=0.053$) 均有下降趋势,见表 1。沙格列汀治疗后,糖尿病 ($t=-1.039, P=0.316$) 与非糖尿病 ($t=-1.962, P=0.070$) 小鼠较对照组相比体质量均无明显差异。

2.2 沙格列汀对动脉粥样硬化的影响

主动脉行油红 O 染色结果显示,高脂饲料喂养后小鼠动脉斑块较普通饲料组明显增加 ($t_0=-7.770, P=0.000$),而糖尿病组较非糖尿病组动脉斑块明显增加 ($t_0=-6.920, P=0.000$),然而,沙格列汀治疗后,糖尿病组 ($t=0.568, P=0.579$) 及非糖尿病组小鼠 ($t=0.351, P=0.731$) 动脉斑块无明显差异 (图 2)。

2.3 沙格列汀对肝重、肝重比和肝功能的影响

沙格列汀治疗后明显降低了糖尿病组肝重 ($t=6.260, P=0.000$)、肝重比 ($t=4.560, P=0.000$),改善了血浆 ALT ($t=4.89, P=0.000$)、AST ($t=6.280, P=0.000$) 浓度;而非糖尿病组治疗后肝重 ($t=1.220, P=0.218$)、肝重比 ($t=1.970, P=0.069$) 有降低趋势,血浆 ALT ($t=3.730, P=0.002$)、AST ($t=5.070, P=0.000$) 浓度明显降低 (表 2)。

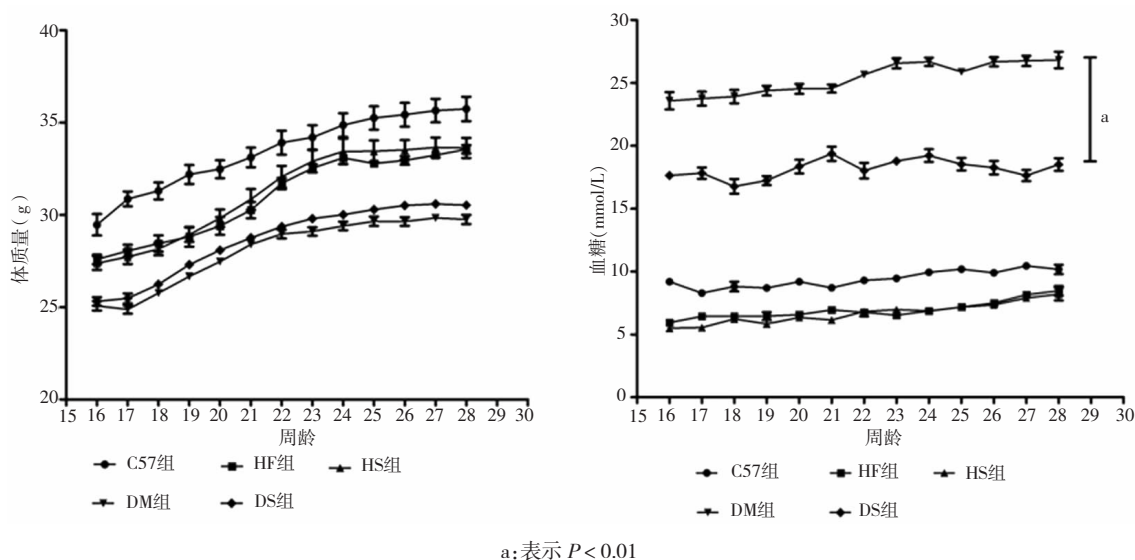


图 1 沙格列汀治疗后各组小鼠体质量和血糖变化情况 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

Fig.1 The weight and blood glucose in each group after the treatment of saxagliptin ($\bar{x} \pm s, n=8$)

表 1 各组小鼠血脂变化情况 ($\bar{x} \pm s, n=8, \text{mmol/L}$)

Tab.1 Data on the blood lipid in each group ($\bar{x} \pm s, n=8, \text{mmol/L}$)

组别		TC	TG	LDL-C	HDL-C	FFA
C57组		2.41 ± 0.43	0.45 ± 0.09	0.47 ± 0.11	1.73 ± 0.25	0.38 ± 0.09
HF组		20.44 ± 1.88	1.01 ± 0.26	20.46 ± 3.73	1.12 ± 0.22	0.66 ± 0.16
HS组		19.79 ± 3.51	0.81 ± 0.15	17.05 ± 2.64	1.09 ± 0.14	0.49 ± 0.10 ^a
DM组		53.81 ± 9.49	5.16 ± 0.82	29.96 ± 1.67	0.99 ± 0.26	0.85 ± 0.23
DS组		46.39 ± 5.51	2.30 ± 0.44 ^b	27.43 ± 2.93	1.38 ± 0.28 ^b	0.38 ± 0.13 ^b
HF组 vs. HS 组	<i>t_D</i> 值	1.285	1.594	0.185	2.119	1.417
	<i>P</i> 值	0.276	0.227	0.673	0.168	0.254
DM 组 vs. DS 组	<i>t_D</i> 值	4.749	0.440	1.122	0.437	1.388
	<i>P</i> 值	0.047	0.518	0.307	0.519	0.258

注:a, HF 与 HS 组相比, $P < 0.05$; b, DM 组与 DS 组相比, $P < 0.01$

2.4 沙格列汀对肝组织脂肪沉积的影响

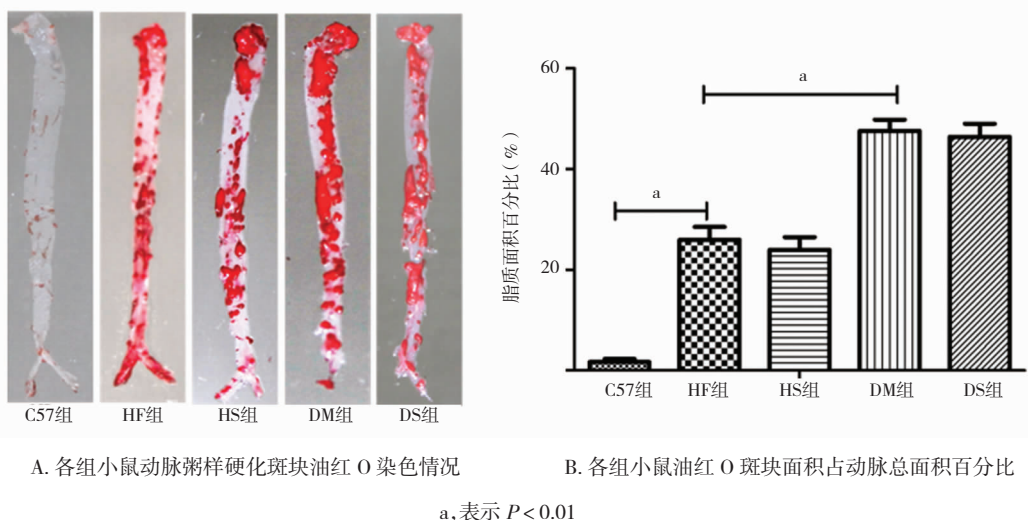
肉眼可见 C57 小鼠肝脏体积正常,质软,色暗红;糖尿病组小鼠肝脏体积明显增大,质地较硬,色黄,有油腻感,非糖尿病组小鼠肝脏体积增大,质地偏硬,色偏黄;沙格列汀治疗后肝组织体积缩小,色泽偏暗,油腻感明显减弱。HE 染色和油红 O 染色显示:C57 组小鼠肝细胞形态正常,胞质清晰,肝小叶结构正常,肝细胞排列呈条索状放射样排列;糖尿病组肝细胞内见大量脂肪空泡形成,脂肪沉积明显,肝细胞重度变性,大量炎细胞浸润,肝窦狭窄甚至消失,肝组织结构紊乱;沙格列汀治疗后脂肪变性程度(含脂滴肝细胞数/总肝细胞数)明显减轻($t=4.800, P=0.000$),脂质沉积(油红 O 面积/肝脏面积)明显降低($t=11.00, P=0.000$),炎细胞浸润及细胞变性明显减少。非糖尿病组肝细胞内出现大小不一的空泡,伴水样变性,有少量炎性细胞浸润,沙格列汀治疗后脂肪变性程度明显减轻($t=3.970, P=0.001$),脂质沉积明显减少($t=3.230, P=0.006$)(图 3)。

2.5 沙格列汀对肝组织纤维化及炎症浸润的影响

取肝脏组织石蜡切片进行免疫组化检测,非糖尿病 HF 组、糖尿病 DM 组与 C57 组相比,小鼠肝组织 α -SMA 的表达和巨噬细胞的聚集明显增加(黄色部分)。沙格列汀治疗后,糖尿病组 α -SMA 的表达($t=5.730, P=0.000$)和巨噬细胞的聚集明显下降($t=4.040, P=0.001$),非糖尿病肝内纤维化程度减轻, α -SMA 积分 IOD 值($t=1.800, P=0.093$)呈下降趋势,肝内炎症浸润明显减轻($t=2.410, P=0.030$)(图 4)。

2.6 肝脏组织 NLRP3 蛋白及炎症介质 IL-1 β 的表达

肝脏脂肪变性的发生主要与慢性炎症的激活相关,我们检测了各组动物肝脏组织 NLRP3 活化及炎症介质 IL-1 β 表达的变化,结果显示:与 C57 正常对照组相比,非糖尿病组及糖尿病组小鼠肝组织 NLRP3、IL-1 β 的表达均增加。沙格列汀治疗后糖尿病组肝组织 NLRP3($t=5.790, P=0.040$)、IL-1 β ($t=6.250, P=0.003$)蛋白表达明显下降。非糖尿病组中,HS 组与 HF 组相比,NLRP3($t=-0.539, P=0.618$)、IL-1 β ($t=0.000, P=1.000$)的表达无明显差异(图 5)。

图 2 各组小鼠动脉粥样硬化斑块油红 O 染色情况 ($\bar{x} \pm s, n=8$)Fig.2 The oil red O staining of atherosclerotic plaques in each group ($\bar{x} \pm s, n=8$)表 2 各组小鼠肝重、肝重比、ALT、AST 变化情况 ($\bar{x} \pm s, n=8$)Tab.2 Data on liver weight, liver index, and the level of ALT and AST in serum in each group ($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	肝重 (g)	肝重比 (%)	ALT (mmol/L)	AST (mmol/L)
C57组	1.70 $\pm$ 0.18	4.76 $\pm$ 0.41	25.62 $\pm$ 5.39	111.40 $\pm$ 22.63
HF组	2.01 $\pm$ 0.16	6.22 $\pm$ 0.58	85.29 $\pm$ 17.60	315.41 $\pm$ 55.93
HS组	1.91 $\pm$ 0.17	5.68 $\pm$ 0.51	54.09 $\pm$ 15.85 ^a	196.84 $\pm$ 35.33 ^a
DM组	2.68 $\pm$ 0.13	8.93 $\pm$ 0.40	163.91 $\pm$ 27.25	548.16 $\pm$ 90.25
DS组	2.24 $\pm$ 0.15 ^b	7.63 $\pm$ 0.70 ^b	108.10 $\pm$ 17.41 ^b	306.25 $\pm$ 61.07 ^b
HF组 vs. HS组 t_D 值	1.218	1.966	3.726	5.070
P 值	0.243	0.069	0.002	0.000
DM组 vs. DS组 t_D 值	6.257	4.557	4.882	6.279
P 值	0.000	0.000	0.000	0.000

注:a, HF 与 HS 组相比, $P<0.01$; b, DM 组与 DS 组相比, $P<0.01$

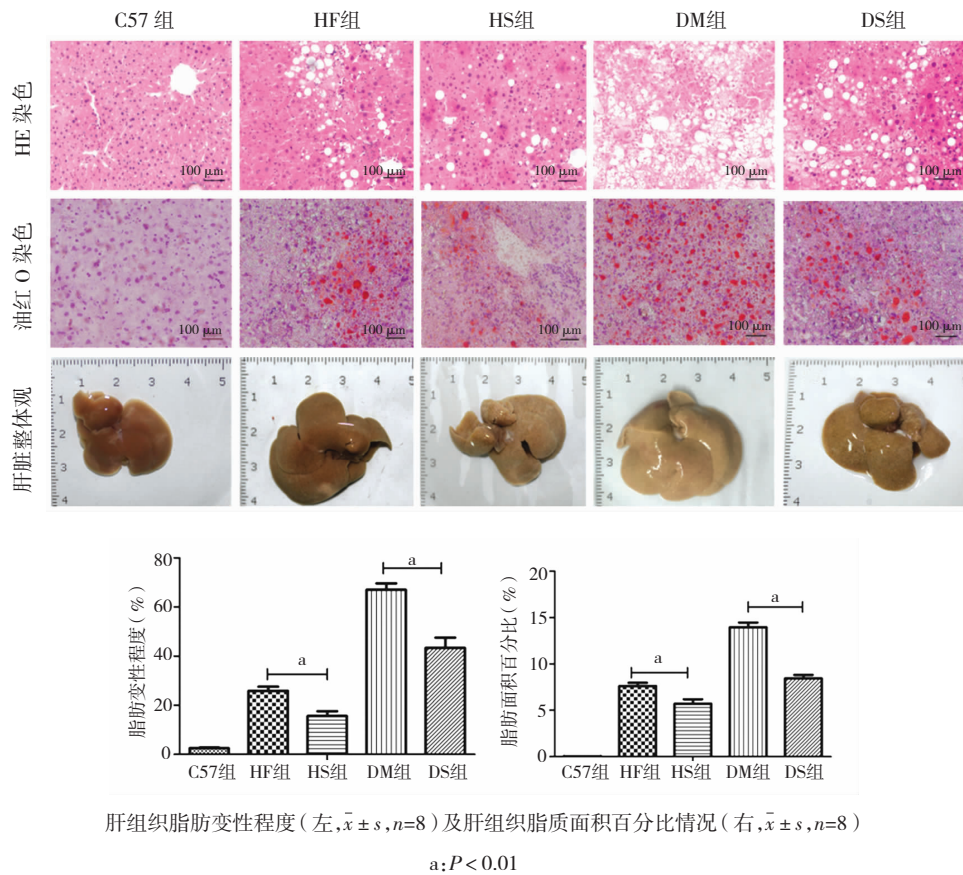
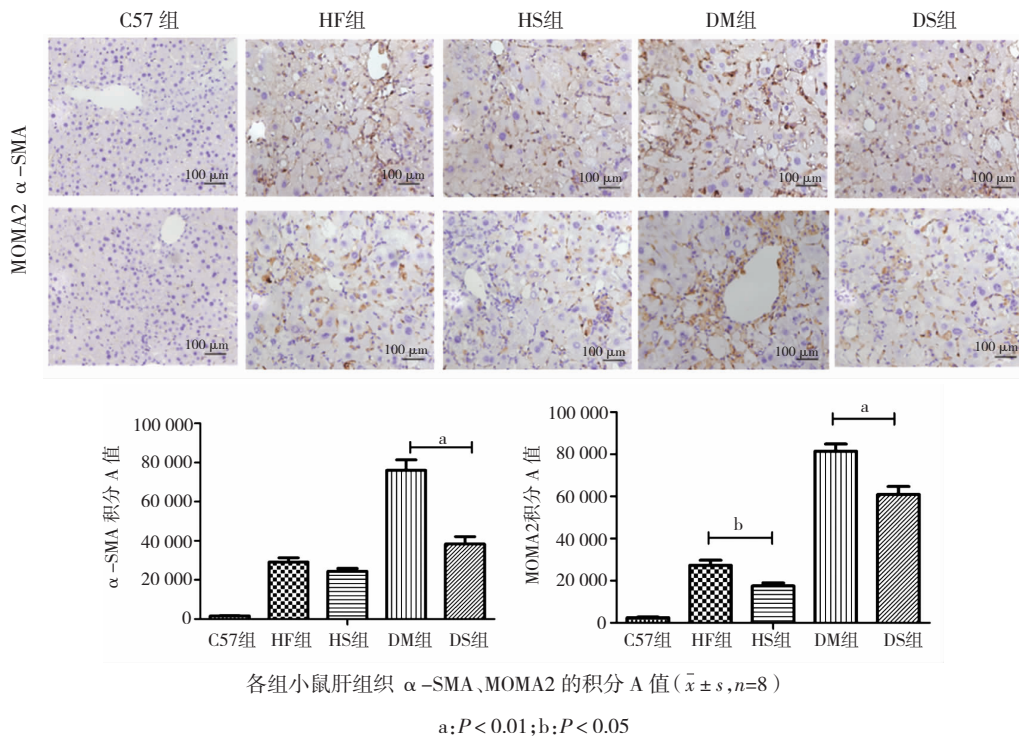


图3 HE、油红O染色观察各组小鼠肝脏脂肪沉积情况

Fig.3 HE and oil red O staining used to observe the liver fat deposition in each group

图4 各组小鼠肝脏组织免疫组化检测 α -SMA 及 MOMA2 表达 (200 ×)Fig.4 The expression of α -SMA and MOMA2 detected by immunohistochemistry in each group liver tissue (200 ×)

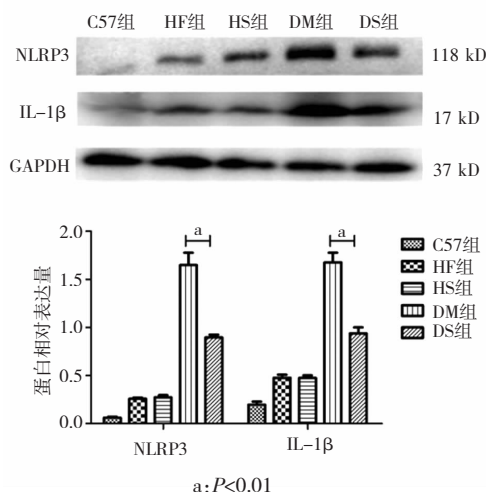


图5 Western blot 检测 NLRP3 和 IL-1 β 在各组肝组织中的表达 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig.5 The expression of NLRP3 and IL-1 β detected by Western blot in each group liver tissue ($\bar{x} \pm s, n=3$)

3 讨论

动脉粥样硬化和肝脏脂肪变性是体内脂代谢紊乱的主要结果,糖尿病的发生加重这一病理改变并使其成为糖尿病的主要并发症。现有的临床降糖措施在降低糖尿病微血管并发症方面取得明显效果,但对大血管并发症无显著效果。本研究结果观察到沙格列汀具有明显的降糖和调脂作用,但对动脉粥样硬化斑块的形成影响不大,提示糖尿病动脉粥样硬化的发生机制复杂,除血糖、血脂影响外,还可能与内皮细胞受损、氧化应激等作用有关,需更进一步研究。然而,有趣的是,课题组发现沙格列汀能够改善糖尿病肝脏脂肪变性。肝脏是脂肪代谢的主要场所,长期高脂膳食使肝脏摄取脂肪增多,酯化作用加强,当脂肪过载并出现代谢障碍时,未被氧化的脂质会沉积在肝细胞内,导致肝细胞发生脂肪变性^[21]。本实验中高脂饲料喂养的糖尿病组及非糖尿病组均发生不同程度的肝脏脂肪变性及炎症浸润。沙格列汀治疗后,糖尿病组和非糖尿病组肝功明显改善,肝内脂肪沉积明显降低,肝内纤维化程度与炎症聚集程度明显减轻,表明沙格列汀对非糖尿病和糖尿病小鼠均可抑制肝脏脂肪变性发生、发展起到保护肝功能的作用,其作用是独立于降糖作用之外。本实验结果与已报道的 DPP4 抑制剂对肝脏有保护作用的结果相一致,预示着 DPP4 抑制剂可能成为治疗糖尿病肝脏脂肪病变的新希望^[22]。

糖尿病和脂肪肝关系密切,两者相互影响,血糖

升高可以促进肝脏脂肪病变炎症浸润^[23],而肝脏脂肪变性可加重胰岛素抵抗。此外,血脂异常扰乱了肝脏脂代谢平衡,如血浆中的 FFA 浓度升高,进入肝脏的 FFA 增多,过量的 FFA 在肝内积聚是肝脏发生脂肪变性的激发因素^[24-25],促进肝细胞脂肪沉积^[26]。脂肪性肝炎与慢性炎症的关系密切,既往研究发现,减少肝组织内巨噬细胞的浸润,可以改善肝脏脂肪变性程度,减轻肝组织纤维化^[27]。NLRP3 炎症小体是一种存在于细胞质中的蛋白复合物,巨噬细胞、肝细胞均可作为 NLRP3 炎症小体活化的来源^[28]。NLRP3 在病原菌相关模式分子(PAMPs)和组织损伤相关模式分子(DAMPs)刺激下,招募接头蛋白 ASC 和 pro-caspase-1,组装成为炎症体,进一步活化 caspase-1,进而促进 IL-1 β 和 IL-18 的成熟和分泌,发挥炎症效应^[29]。IL-1 β 能促进甘油三酯在肝细胞内聚集^[30],同时增加肝脏炎症细胞聚集、刺激肝星状细胞活化,加重肝纤维化^[31]。研究表明,NLRP3 及其下游分子的表达升高与脂肪肝的发展密切相关^[32],抑制 NLRP3 基因表达后减轻了肝细胞脂肪变性、肝组织炎症以及肝纤维化程度^[33]。高糖、高胆固醇、高 FFA 等作为内源性危险信号可激活细胞内 NLRP3 炎症小体,释放炎症因子^[34]。本研究发现沙格列汀治疗后,糖尿病组 NLRP3 及其下游 IL-1 β 表达明显降低,而非糖尿病组中表达无明显变化,这可能与沙格列汀同时降低了糖尿病小鼠血糖及血浆 FFA、TG 水平,而对非糖尿病组小鼠血糖和 TG 影响不明显有关。本实验发现,沙格列汀治疗后,肝组织内巨噬细胞浸润明显减少,NLRP3 和 IL-1 β 表达减少,肝脏脂肪沉积、纤维化程度明显减轻,同时伴有 ALT、AST 明显改善,说明沙格列汀至少部分抑制了糖尿病及非糖尿病小鼠肝脏巨噬细胞浸润和 NLRP3 炎症小体活化,从而缓解了糖尿病脂肪性肝炎的进一步发展。

本研究结果清楚地表明沙格列汀治疗通过有效控制糖尿病血糖,降低血浆 FFA、TG 浓度,抑制肝脏巨噬细胞聚集、NLRP3 炎症小体活化等作用起到改善肝功能、降低肝脏脂肪沉积、抑制肝纤维化的作用,但不能缓解动脉粥样硬化的形成,其原因推测与血糖、血脂对肝脏脂肪病变的发生、发展较动脉粥样硬化影响更大有关,但具体机制仍需进一步研究。

致谢

此研究在阿斯利康投资(中国)有限公司的支持下完成。

参 考 文 献

- [1] Watanabe S, Hashimoto E, Ikejima K, et al. Evidence-based clinical practice guidelines for nonalcoholic fatty liver disease/nonalcoholic steatohepatitis[J]. *Hepato Res*, 2015, 45(4): 363–377.
- [2] Fishbein MC, Fishbein GA. Arteriosclerosis: facts and fancy[J]. *Cardiovasc Pathol*, 2015, 24(6): 335–342.
- [3] Montecucco F, Liberale L, Bonaventura A, et al. The role of inflammation in cardiovascular outcome[J]. *Curr Atheroscler Rep*, 2017, 19(3): 11.
- [4] Bradley RL, Fisher FF, Maratosflier E. Dietary fatty acids differentially regulate production of TNF- α and IL-10 by murine 3T3-L1 adipocytes[J]. *Obesity*, 2008, 16(5): 938–944.
- [5] Day CP, James OF. Steatohepatitis: a tale of two “hits”?[J]. *Gastroenterology*, 1998, 114(4): 842–845.
- [6] Torres DM, Williams CD, Harrison SA. Features, diagnosis, and treatment of nonalcoholic fatty liver disease[J]. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2012, 10(8): 837–858.
- [7] Zou Y, Du H, Yin M, et al. Effects of high dietary fat and cholesterol on expression of PPAR α , LXR α , and their responsive genes in the liver of apoE and LDLR double deficient mice[J]. *Mol Cell Biochem*, 2009, 323(1–2): 195–205.
- [8] Tiniakos DG, Vos MB, Brunt EM. Nonalcoholic fatty liver disease: pathology and pathogenesis[J]. *Annu Rev Pathol*, 2010, 5: 145–171.
- [9] Tilg H, Moschen AR. Evolution of inflammation in nonalcoholic fatty liver disease: the multiple parallel hits hypothesis[J]. *Hepatology*, 2010, 52(5): 1836–1846.
- [10] Mahady SE, George J. Management of nonalcoholic steatohepatitis: an evidence-based approach[J]. *Clin Liver Dis*, 2012, 16(3): 631–645.
- [11] Leite NC, Villelaogueira CA, Pannain VL, et al. Histopathological stages of nonalcoholic fatty liver disease in type 2 diabetes: prevalences and correlated factors[J]. *Liver Int*, 2011, 31(5): 700–706.
- [12] 朱小虎, 刘 兰, 黄 杨. 超声心动图评价心外膜脂肪组织与 2 型糖尿病并发冠心病的相关性[J]. *成都医学院学报*, 2014, 9(2): 180–183.
- [13] Aschner P, Kipnes MS, Luncford JK, et al. Effect of the dipeptidyl peptidase-4 inhibitor sitagliptin as monotherapy on glycemic control in patients with type 2 diabetes[J]. *Diabetes Care*, 2006, 29(12): 2632–2637.
- [14] Terasaki M, Nagashima M, Nohtomi K, et al. Preventive effect of dipeptidyl peptidase-4 inhibitor on atherosclerosis is mainly attributable to incretin's actions in nondiabetic and diabetic apolipoprotein E-null mice[J]. *PLoS One*, 2013, 8(8): e70933.
- [15] Sujishi T, Fukunishi S, Li M, et al. Sitagliptin can inhibit the development of hepatic steatosis in high-fructose diet-fed ob/ob mice[J]. *J Clin Biochem Nutr*, 2015, 57(3): 244–253.
- [16] Mashitani T, Noguchi R, Okura Y, et al. Efficacy of alogliptin in preventing non-alcoholic fatty liver disease progression in patients with type 2 diabetes[J]. *Biomed Rep*, 2016, 4(2): 183–187.
- [17] Takayasu I, Yohei S, Tsuneyuki M, et al. The dipeptidyl peptidase-4 inhibitor teneligliptin attenuates hepatic lipogenesis via ampk activation in non-alcoholic fatty liver disease model mice[J]. *Int J Mol Sci*, 2015, 16(12): 29207–29218.
- [18] Lohmann C, Schäfer N, Von LT, et al. Atherosclerotic mice exhibit systemic inflammation in periaortic and visceral adipose tissue, liver, and pancreatic islets[J]. *Atherosclerosis*, 2009, 207(2): 360–367.
- [19] Sinhaikim I, Sinhaikim AP, Shen R, et al. A novel cysteine based antioxidant attenuates oxidative stress and hepatic steatosis in diet-induced obese mice[J]. *Exp Mol Pathol*, 2011, 91(1): 419–428.
- [20] Poucher SM, Cheetham S, Francis J, et al. Effects of saxagliptin and sitagliptin on glycaemic control and pancreatic β -cell mass in a streptozotocin-induced mouse model of type 2 diabetes[J]. *Diabetes Obes Metab*, 2012, 14(10): 918–926.
- [21] Sanyal AJ, Campbellsargent C, Mirshahi F, et al. Nonalcoholic steatohepatitis: association of insulin resistance and mitochondrial abnormalities[J]. *Gastroenterology*, 2001, 120(5): 1183–1192.
- [22] Michurina SV, Ishenko IJ, Klimontov VV, et al. Linagliptin alleviates fatty liver disease in diabetic db/db mice[J]. *World J Diabetes*, 2016, 7(19): 534–546.
- [23] Dyson J, Jaques B, Chattopadhyay D, et al. Hepatocellular cancer: the impact of obesity, type 2 diabetes and a multidisciplinary team[J]. *J Hepatol*, 2014, 60(1): 110–117.
- [24] Pagliassotti MJ. Endoplasmic reticulum stress in nonalcoholic fatty liver disease[J]. *Annu Rev Nutr*, 2012, 32(1): 17–33.
- [25] Polyzos SA, Kountouras J, Zavos C. Nonalcoholic fatty liver disease: the pathogenetic roles of insulin resistance and adipocytokines[J]. *Curr Mol Med*, 2009, 9(3): 299–314.
- [26] Melania G, Mariangela M, Emma B, et al. Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and its connection with insulin resistance, dyslipidemia, atherosclerosis and coronary heart disease[J]. *Nutrients*, 2013, 5(5): 1544–1560.
- [27] Olteanu S, Kandelkfir M, Shaish A, et al. Lack of interleukin-1 α in Kupffer cells attenuates liver inflammation and expression of inflammatory cytokines in hypercholesterolaemic mice[J]. *Dig Liver Dis*, 2014, 46(5): 433–439.
- [28] Szabo G, Csak T. Inflammasomes in liver diseases[J]. *J Hepatol*, 2012, 57(3): 642–654.
- [29] Latz E. The inflammasomes: mechanisms of activation and function[J]. *Curr Opin Immunol*, 2010, 22(1): 28–33.
- [30] Petrask J, Bala S, Csak T, et al. IL-1 receptor antagonist ameliorates inflammasome-dependent alcoholic steatohepatitis in mice[J]. *J Clin Invest*, 2012, 122(10): 3476–3489.
- [31] Miura K, Kodama Y, Inokuchi S, et al. Toll-like receptor 9 promotes steatohepatitis by induction of interleukin-1 β in mice[J]. *Gastroenterology*, 2010, 139(1): 323.
- [32] Wree A, McGeough MD, Peña CA, et al. NLRP3 inflammasome activation is required for fibrosis development in NAFLD[J]. *J Mol Med*, 2014, 92(10): 1069–1082.
- [33] Pihlajamäki J, Kuulasmaa T, Kaminska D, et al. Serum interleukin 1 receptor antagonist as an independent marker of non-alcoholic steatohepatitis in humans[J]. *J Hepatol*, 2012, 56(3): 663–670.
- [34] Wen H, Gris D, Lei Y, et al. Fatty acid-induced NLRP3-ASC inflammasome activation interferes with insulin signaling[J]. *Nat Immunol*, 2011, 12(5): 408–415.