

内分泌腺疾病及代谢病基础研究

DOI: 10.13406/j.cnki.cyx.002364

奥氮平诱导性肥胖大鼠糖、脂代谢紊乱及其影响机制研究

褚留杰¹, 谷 争¹, 韩亚琼¹, 张瑞岭²

(新乡医学院第二附属医院 1. 药学部; 2. 精神科, 新乡 453002)

【摘要】目的:探究奥氮平诱导大鼠的糖、脂代谢紊乱及其影响机制。**方法:**按照随机数字表法, 将 40 只健康成年雄性大鼠分为对照组与观察组, 每组各 20 只, 其中对照组采用常规饲养模式, 观察组在常规饲养的基础上, 增加灌胃奥氮平(1.2 mg/kg), 连续 4 周。比较 4 周后 2 组大鼠的体质量、血糖、血脂等指标的变化, 并测定胰腺中糖代谢关键基因葡萄糖激酶(glucokinase, GCK)、葡萄糖转运蛋白-2(glucose transporter-2, GLUT-2), 脂肪细胞中关键基因过氧化物酶体增殖物激活受体- γ (peroxisome proliferator activated receptor- γ , PPAR γ)和脂肪酸合成酶(fatty acid synthase, FAS)的表达水平。**结果:**实验 4 周后, 观察组的体质量超过对照组 23%, 并且从第 2 周开始, 观察组体质量明显高于对照组($P<0.05$); 观察组的空腹血糖、总胆固醇、甘油三酯、低密度脂蛋白(low density lipoprotein, LDL)均明显高于对照组($P<0.05$), 但其高密度脂蛋白(high density lipoprotein, HDL)低于对照组($P<0.05$)。观察组的 GCK、GLUT-2 基因 mRNA 表达水平明显低于对照组($P<0.05$), 而其 PPAR γ 、FAS 基因 mRNA 表达水平明显高于对照组($P<0.05$)。**结论:**奥氮平能够引起大鼠机体的糖、脂代谢紊乱, 其机制可能与下调糖代谢关键基因 GCK、GLUT-2, 上调脂肪细胞分化关键基因 PPAR γ 、FAS 有关。

【关键词】奥氮平; 肥胖; 糖代谢紊乱; 脂代谢紊乱**【中图分类号】**R114**【文献标志码】**A**【收稿日期】**2019-04-11

Glucose and lipid metabolism disorder in olanzapine-induced obesity rats and its influencing mechanism

Chu Liujie¹, Gu Zheng¹, Han Yaqiong¹, Zhang Ruiling²

(1. Department of Pharmacy; 2. Department of Psychiatry, The Second Affiliated Hospital of Xinxiang Medical College)

【Abstract】Objective: To investigate the disorder of glucose and lipid metabolism induced by olanzapine in rats and its influencing mechanism. **Methods:** According to the random digits table method, 40 healthy adult male rats were divided into the control group and the observation group, with 20 rats in each group. Rats in the control group were received normal food, while in the observation group were fed with olanzapine(1.2 mg/kg) on the basis of normal food for continuous four weeks. After four weeks, indicator changes of body weight, glycemia and lipidemia were compared. Additionally, pancreatic glycometabolism key kinase of glucokinase(GCK) and glucose transporter-2(GLUT-2), and lipocytes key kinase of peroxisome proliferator activated receptor- γ (PPAR γ) and fatty acid synthase(FAS) were measured. **Results:** After four weeks, the weight of rats in the observation group was 23% higher than that in the control group, and the weight of rats in the observation group was significantly higher than that in the control group from the second week($P<0.05$); fasting glucose, total cholesterol, triglyceride and low density lipoprotein(LDL) of rats in the observation group were significantly higher than those in the control group($P<0.05$), but the high density lipoprotein(HDL) of rats in the observation group was lower than that in the control group($P<0.05$). The mRNA expression levels of GCK and GLUT-2 in the observation group were significantly lower than those in the control group($P<0.05$), while the mRNA expression levels of PPAR γ and FAS genes were significantly higher than those in the control group($P<0.05$). **Conclusion:** Olanzapine can induce the disorder of glucose and lipid

作者介绍: 褚留杰, Email: chuliujie007@sina.com,

研究方向: 精神药物研究。

通信作者: 张瑞岭, Email: zhangruilingxx@163.com。

基金项目: 河南省卫生科技创新型人才工程专项资助项目(编号: 2011-2015 第 3052 号)。

优先出版: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20191127.1033.012.html>
(2019-11-27)metabolism in rats, and its mechanism may be related to the downregulating key glycometabolic genes of GCK and GLUT-2, and the upregulating lipocytes differentiation key genes of PPAR γ and FAS.**【Key words】**olanzapine; obesity; disorder of glucose metabolism; disorder of lipid metabolism

奥氮平是一种新型的非典型性抗精神病药物,临床上主要用于精神分裂症的治疗^[1]。相较于典型性抗精神病药物而言,奥氮平不仅能够改善精神病患者的阳性(妄想、幻觉、思维障碍、猜疑)及阴性(言语贫乏、感情淡漠、社会活动退缩)症状,还能够降低锥体外系反应、迟发性运动障碍等不良反应的发生率^[2-3]。尽管奥氮平在较大程度上改善了精神分裂症患者的治疗效果及预后情况,但也常引起其他不良反应。大量奥氮平不良反应案例分析表明,奥氮平会引起患者血糖、血脂等增加^[4-5],常常导致药源性肥胖出现。

药源性肥胖的出现可能与患者体内糖代谢紊乱的发生有关,葡萄糖激酶(glucokinase, GCK)和葡萄糖转运蛋白-2(glucose transporter-2, GLUT-2)是糖代谢过程中的重要蛋白,其中 GCK 主要分布在胰岛 β 细胞和肝细胞中,不仅能够促进胰岛素的释放,还能够促进肝脏对葡萄糖的利用;GLUT-2 可以将组织液中的葡萄糖转运至细胞内,加快葡萄糖利用速度。此外,药源性肥胖的出现还可能与患者体内的脂肪代谢紊乱发生有关,而脂肪细胞中关键基因过氧化物酶体增殖物激活受体- γ (peroxisome proliferator activated receptor γ , PPAR γ)和脂肪酸合成酶(fatty acid synthase, FAS)是脂肪代谢过程中的关键酶。为进一步探讨奥氮平引起的糖、脂代谢紊乱及其可能作用机制,本研究在奥氮平诱导性肥胖大鼠的基础上进行实验观察,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 实验动物

40 只健康成年雄性 SD 大鼠,体质量 250~300 g,饲养在自由饮水、摄食环境中,且温度控制在 22~24 $^{\circ}\text{C}$,湿度保持在 50%~70%。适应性培养一周后,按照随机数字表法将该 40 只大鼠划分为对照组与观察组,每组 20 只,其中对照组体质量为(278.5 $\pm$ 15.4) g,观察组体质量为(281.4 $\pm$ 14.9) g,2 组大鼠体质量在实验开始前无统计学差异($P>0.05$),具有可比性。

1.2 仪器与材料

实验药品:奥氮平购自江苏豪森药业股份有限公司。

实验仪器:全自动生化分析仪购自美国 Beckman Coulter 公司,型号 Becman-CX5。

1.3 方法

1.3.1 奥氮平诱导性肥胖大鼠模型的建立 观察组在给予常规饲料的基础上,每日还需以 1.2 mg/kg 灌胃奥氮平,每日 1 次;对照组仅给予常规饲料,每日灌胃与观察组等体积的

生理盐水,每日 1 次;连续 4 周后,观察组平均体质量超过对照组的 20%即为建模成功^[6]。

1.3.2 血糖、血脂测定 给药 4 周后的大鼠禁食 12 h,戊巴比妥(2%,40 mg/kg)腹腔麻醉大鼠,腹主动脉取血 4 mL 置于抗凝管内,离心(3 000 r/min,10 min)取上清,即得血浆,使用全自动生化分析仪进行检查分析。

1.3.3 糖、脂代谢关键基因的表达检测 精密称取大鼠胰岛组织和脂肪组织各 50 mg,使用 Trizol 法提取细胞总 mRNA。采用实时荧光定量聚合酶链式反应(real-time fluorescence quantitative PCR, RT-qPCR)对 GCK、GLUT-2、PPAR γ 及 FAS 进行定量分析。其中 GCK 引物(103 bp)序列 5'-TCACCTTCTCCTTCCCTGTG-3',反义序列:5'-ACGATGTTGTTCCTTCTGC-3';GLUT-2 引物(121 bp)序列:5'-GGTCGGAGA-TACCAGAGCAC-3',反义序列:5'-ATGAGGTTGGCTTTCA-GGAG-3';PPAR γ 引物(140 bp)序列:5'-CTGACCAATGG-TTGCTGATTAC-3',anti-sense:5'-GGACGCAGGCTCTAC-TTTGATC-3';FAS 引物(154 bp)序列:5'-CCAAGTTCGAC-GCCTCCTTTT-3',反义序列:5'-ACCCAGACGCCAGTGTT-CG-3'; β -actin 引物(463 bp)序列:5'-TGCTGTCCCTGTAT-GCCTCT-3',反义序列:5'-AGGTCTTTACGGATGTCAACG-3'。采用逆转录试剂盒合成相应 cDNA,加入至 PCR 反应体系中,进行 PCR 程序:95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 3 min;95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 10 s,65 $^{\circ}\text{C}$ 退火 30 s,68 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 30 s,共 40 个循环。mRNA 相对表达量以 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 表示, C_t =(实验组目的基因 C_t 值-实验组内参基因 C_t 值)-(对照组目的基因 C_t 值-对照组内参基因 C_t 值),内参基因与每只大鼠基因均重复测定 3 次,每组各 10 只大鼠。

1.4 统计学处理

实验所得数据均经 SPSS 23.0 软件处理分析,其中计量资料采用均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两组间比较采用两独立样本 t 检验,大鼠体质量对比采用重复测量方差分析,检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 2 组大鼠实验前后体质量变化

实验 4 周后,2 组大鼠体质量均呈上升趋势,采用重复测量方差分析对大鼠体质量进行分析,2 组大鼠体质量存在统计学差异($F_{\text{组别}}=200.461, P_{\text{组别}}=0.000; F_{\text{时间}}=89.582, P_{\text{时间}}=0.000; F_{\text{交互}}=37.163, P_{\text{交互}}=0.000$);第 4 周时,观察组的平均体质量超过对照组平均体质量的 23%;从第 2 周开始,观察组体质量明显高于对照组($P<0.05$),详见表 1。

2.2 2 组大鼠血糖、血脂比较

实验 4 周后,观察组的血糖明显高于对照组($P<0.05$),观察组的总胆固醇、甘油三酯及低密度脂蛋白(low density lipoprotein, LDL)均明显高于对照组($P<0.05$),而观察组的高密度(high density lipoprotein, HDL)脂蛋白低于对照组($P<0.05$),详见表 2。

表 1 2 组大鼠实验前后体质量变化 (g)

组别	第 0 周	第 1 周	第 2 周	第 3 周	第 4 周
对照组 ($n=20$)	278.5 ± 15.4	284.6 ± 14.8	289.7 ± 12.4	294.3 ± 13.6	298.4 ± 14.7
观察组 ($n=20$)	281.4 ± 14.9	293.3 ± 13.7	318.5 ± 15.7	340.5 ± 14.8	368.6 ± 13.9
t 值	0.605	1.929	7.534	12.472	16.328
P 值	0.549	0.061	0.000 ^a	0.000 ^a	0.000 ^a

注:a,与对照组相比, $P<0.05$

表 2 2 组大鼠实验前后体质量变化 (mmol/mL)

组别	血糖	总胆固醇	甘油三酯	LDL	HDL
对照组 ($n=20$)	4.12 ± 0.21	1.95 ± 0.14	0.81 ± 0.09	0.54 ± 0.08	2.68 ± 0.27
观察组 ($n=20$)	6.58 ± 0.48	3.04 ± 0.25	2.58 ± 0.23	1.01 ± 0.12	1.54 ± 0.19
t 值	20.998	17.012	32.050	14.574	15.442
P 值	0.000 ^a	0.000 ^a	0.000 ^a	0.000 ^a	0.000 ^a

注:a,与对照组相比, $P<0.05$

2.3 2 组大鼠胰腺组织中糖代谢相关基因 mRNA 表达水平比较

2 组大鼠胰腺中调控糖代谢关键基因 *GCK*、*GLUT-2* mRNA 的表达情况见表 3。从结果中可以看出,观察组中的 *GCK*、*GLUT-2* mRNA 表达水平明显下降($P<0.05$)。

表 3 2 组大鼠胰腺组织中 *GCK*、*GLUT-2* mRNA 的表达水平

组别	<i>GCK</i>	<i>GLUT-2</i>
对照组 ($n=20$)	3.12 ± 0.75	39.21 ± 4.82
观察组 ($n=20$)	0.93 ± 0.18	12.53 ± 3.25
t 值	12.698	20.525
P 值	0.000 ^a	0.000 ^a

注:a,与对照组相比, $P<0.05$

2.4 2 组大鼠脂肪组织中关键基因 mRNA 表达水平比较

2 组大鼠脂肪组织中关键基因 *PPAR γ* 、*FAS* mRNA 的表达情况见表 4。从结果中可以看出,观察组中的 *PPAR γ* 、*FAS* mRNA 表达水平明显上升($P<0.05$)。

表 4 2 组大鼠脂肪组织中 *PPAR γ* 、*FAS* mRNA 的表达水平

组别	<i>PPARγ</i>	<i>FAS</i>
对照组 ($n=20$)	8.32 ± 2.53	2.54 ± 0.59
观察组 ($n=20$)	34.21 ± 5.67	12.53 ± 3.14
t 值	18.648	13.984
P 值	0.000 ^a	0.000 ^a

注:a,与对照组相比, $P<0.05$

3 讨论

奥氮平是一种临床上常见的治疗精神分裂症的药物,其抗精神分裂等精神疾病的药理活性主要是通过多巴胺受体、5-HT₂ 受体及 H₁ 受体发生特异性结合实现,相较于传统的抗精神病类药物而

言,由于奥氮平与多巴胺受体结合无选择性,与多巴胺受体-2(DA₂)的结合率与其他亚型无差异,因此服用奥氮平的患者少有发生椎外系反应^[2-3]。但是临床调查研究显示,超过 20% 的奥氮平不良反应案例临床表现为患者血糖、血脂升高^[4-5]。这与本研究结果显示的奥氮平诱导性肥胖大鼠空腹血糖、总胆固醇、甘油三酯等反映糖脂代谢的指标均明显上升的结果一致。

为进一步探究奥氮平引起糖代谢紊乱的机制,本研究通过 RT-qPCR 技术定量分析奥氮平组大鼠胰岛组织中 *GCK*、*GLUT-2* mRNA 的表达水平。研究表明,这 2 种调控糖代谢的关键基因表达明显下调。其中,*GCK* 的主要生理功能为监测人体血糖变化,能够在人体血糖升高时催化葡萄糖转变为 6-磷酸葡萄糖,对血糖稳态维持具有重要意义^[7-8]; *GLUT-2* 的主要生理功能是将组织液或血液中的葡萄糖转运至细胞中,若该细胞为胰岛 B 细胞时, *GLUT-2* 与 *GCK* 共同组成葡萄糖刺激-应答反应级联体系,刺激胰岛素产生和分泌,共同维持血糖平衡^[9-10]。因此,奥氮平引起的糖代谢紊乱很可能与其下调胰岛组织中的 *GCK*、*GLUT-2* 表达水平、降低胰岛 B 细胞对血糖的敏感性、减少胰岛素的合成与分泌有关。

为进一步探究奥氮平引起脂代谢紊乱的机制,本研究同样通过 RT-qPCR 技术定量分析奥氮平组大鼠的脂肪组织中 *PPAR γ* 、*FAS* mRNA 的表达水平。研究表明,这 2 种脂肪细胞的关键基因表达明显上调。其中,PPAR γ 是调控脂肪细胞分化的

关键转录调节因子,在脂肪细胞分化、成熟过程中均扮演着重要角色^[11-12];而 FAS 主要存在于脂肪细胞的细胞质基质和线粒体中,能够为脂质合成提供必需的乙酰基,在脂质合成中发挥重要作用^[13-14]。因此,奥氮平引起的糖代谢紊乱很可能与其上调脂肪组织中的 PPAR γ 、FAS 表达水平、促进前脂肪细胞转变为脂肪细胞、增加体质量有关。

现有结果仅表明奥氮平在引起药源性肥胖的同时,引起机体 GCK、GLUT-2、PPAR γ 、FAS 基因表达增加,但是奥氮平是否直接通过 GCK、GLUT-2、PPAR γ 、FAS 基因引起糖、脂代谢紊乱还有待商榷。除本研究中涉及的调控糖代谢、脂肪细胞分化基因外,另有文献表明奥氮平通过作用于多巴胺受体、5-HT₂ 受体及 H1 受体进而治疗精神疾病,但这 3 类受体同样能够调节机体食欲,奥氮平与这 3 类受体结合后能够引起食欲增加,从而造成血糖、血脂水平提高^[15]。例如,彭道明和陈莹^[16]的研究结果显示,服用奥氮平的患者比服用氨磺必利的患者食欲增长 10%。因此,后续可能在基因多态性的基础上,探究不同多巴胺受体基因、5-HT₂ 受体基因及 H1 受体基因型患者对奥氮平引起糖脂代谢紊乱的敏感程度。

综上所述,奥氮平能够引起大鼠体内糖、脂代谢紊乱,造成血糖、血脂水平提升,其影响机制可能与奥氮平下调糖代谢关键基因 GCK、GLUT-2,上调脂肪细胞分化关键基因 PPAR γ 、FAS 有关。

参 考 文 献

- [1] Tohen M,Vieta E,Calabrese J,et al. Efficacy of olanzapine and olanzapine-fluoxetine combination in the treatment of bipolar I depression[J]. Arch Gen Psychiatry,2003,60(11):1079-1088.
- [2] Navari RM,Nagy CK,Gray SE. The use of olanzapine versus metoprolol for the treatment of breakthrough chemotherapy-induced nausea and vomiting in patients receiving highly emetogenic chemotherapy[J]. Support Care Cancer,2013,21(6):1655-1663.
- [3] Parasuraman S,Zhen KM,Banik U,et al. Ameliorative effect of curcumin on olanzapine-induced obesity in sprague-dawley rats[J]. Pharmacology Res,2017,9(3):247-252.
- [4] Guha P,Roy K,Sanyal D,et al. Olanzapine-induced obesity and diabetes in Indian patients;a prospective trial comparing olanzapine with typical antipsychotics[J]. J Indian Med Assoc,2005,103(12):660-664.
- [5] Castellani LN,Peppler WT,Sutton CD,et al. Exercise protects against olanzapine-induced hyperglycemia in male C57BL/6J mice[J]. Sci Rep,2018,8(1):772-782.
- [6] 买买提热夏提·吐尔逊,马晓洁,张文惠,等. 奥氮平诱导肥胖大鼠糖脂代谢紊乱对细胞因子和认知功能损伤的影响[J]. 中华行为医学与脑科学杂志,2014,23(7):591-593.
- [7] Grimsby J. Allosteric activators of glucokinase:potential role in diabetes therapy[J]. Science,2003,301(5631):370-373.
- [8] Danial NN,Gramm CF,Scorrano L,et al. BAD and glucokinase reside in a mitochondrial complex that integrates glycolysis and apoptosis[J]. Nature,2003,424(6951):952-956.
- [9] Freitas HS,Anhê GF,Melo KF,et al. Na⁺-glucose transporter-2 messenger ribonucleic acid expression in kidney of diabetic rats correlates with glycemic levels;involvement of hepatocyte nuclear factor-1 α expression and activity[J]. Endocrinology,2008,149(2):717-724.
- [10] Sole SS,Srinivasan BP. Aqueous extract of tamarind seeds selectively increases glucose transporter-2,glucose transporter-4,and islets' intracellular calcium levels and stimulates β -cell proliferation resulting in improved glucose homeostasis in rats with streptozotocin-induced diabetes mellitus[J]. Nutr Res,2012,32(8):626-636.
- [11] Tontonoz P,Spiegelman BM. Fat and beyond;the diverse biology of PPAR γ [J]. Annu Rev Biochem,2008,77(1):289-312.
- [12] Jonker JW,Suh JM,Atkins AR,et al. A PPAR γ -FGF1 axis is required for adaptive adipose remodelling and metabolic homeostasis[J]. Nature,2012,485(7398):391-394.
- [13] Menendez JA,Lupu R. Fatty acid synthase and the lipogenic phenotype in cancer pathogenesis[J]. Nat Rev Cancer,2007,7(10):763-777.
- [14] Flavin R,Peluso S,Nguyen PL,et al. Fatty acid synthase as a potential therapeutic target in cancer[J]. Future Oncol,2010,6(4):551-562.
- [15] Mitra P,Rastogi A,Rajpoot M,et al. A QSAR model of olanzapine derivatives as potential inhibitors for 5-HT_{2A} receptor[J]. Bioinformation,2017,13(10):339-342.
- [16] 彭道明,陈莹. 艾司西酞普兰合并氨磺必利或奥氮平治疗老年性抑郁症[J]. 神经损伤与功能重建,2014,9(4):349-350.

(责任编辑:冉明会)