



SHANGHAI JIAO TONG  
UNIVERSITY  
SCHOOL OF MEDICINE

# 学者介绍

胡耀敏 HU Yao-min  
博士 M.D, Ph. D



主任医师、博士生导师

Chief Physician, Doctoral Supervisor

ORCID ID: 0000-0002-9174-7518



胡耀敏（1970—），上海交通大学医学院附属仁济医院内分泌科副主任、仁济南院内分泌科执行主任。2005 年获四川大学华西临床医学院医学博士学位。曾赴牛津大学（2005—2006 年）、哈佛大学（2015—2016 年）做访问学者。现任中国垂体腺瘤协作组委员、中国医师协会下丘脑功能损伤与重塑专委会委员、欧洲糖尿病研究协会会员。

多年来致力于糖尿病及血脂代谢异常发病机制及其早期防治研究，通过临床研究与基础研究相结合，深入探讨脂毒性在 2 型糖尿病发病中的作用机制。以第一作者或通信作者在国内外学术期刊发表论文 100 余篇，主编专著 2 部。主持国家自然科学基金 4 项，国际合作课题 1 项。参与的课题“代谢综合征脂代谢基础及临床研究”分别获得 2008 年教育部高等学校自然科学奖一等奖和 2009 年中华医学科技奖二等奖。

该研究依托上海交通大学医学院“双一流”暨高水平地方高校建设“一流学科——临床医学-临床科研支撑体系建设”项目。

**HU Yao-min** born in 1970, deputy director of Department of Endocrinology, Renji Hospital, and executive director of Department of Endocrinology, south campus of Renji Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine. She got her doctoral degree in medicine from West China School of Medicine, Sichuan University in 2005. As a visiting scholar, she worked in Oxford University in 2005—2006 and Harvard University in 2015—2016. Now, she is the member of China Pituitary Adenoma Specialist Council, Special Committee on Hypothalamus Functional Injury and Remodeling of Chinese Medical Doctor Association and European Association for the Study of Diabetes.

Dr. HU's team has been devoted to the research on the pathogenesis and early prevention and treatment of diabetes and dyslipidemia, and the mechanism of lipotoxicity in the pathogenesis of type 2 diabetes through the combination of clinical research and basic research for many years. She had published more than 100 papers as the first author or corresponding author, and 2 monographs as the chief editor. She has been in charge of several projects, including 4 National Natural Science Foundation of China and 1 international cooperation project. The project of Basis and Clinical Study of Lipid Metabolism in Metabolic Syndrome that she took part in was awarded the first prize of Natural Science Award of Higher Institution by Ministry of Education in 2008 and the second prize of National Medical Science and Technology Progress Award in 2009.

The research relies on the project of Clinical Research Supporting System, Clinical Medicine, First-Class Discipline of "National Double First-Class" and "Shanghai-Top-Level" high education initiative at Shanghai Jiao Tong University School of Medicine.



## 论著·基础研究

## 基因芯片筛选脂蛋白脂酶基因杂合敲除小鼠的差异表达基因和通路

陈宁欣, 韩亭亭, 郑爽, 刘伟, 胡耀敏

上海交通大学医学院附属仁济医院内分泌科, 上海 200127

**[摘要]** **目的**·筛选脂蛋白脂酶 (lipoprotein lipase, *Lpl*) 基因杂合敲除 (*Lpl*<sup>+/-</sup>) 小鼠和野生型 (wild type, WT) 小鼠的胰岛组织中差异表达基因 (differentially expressed genes, DEGs) 和通路, 探讨脂毒性介导 2 型糖尿病 (type 2 diabetes mellitus, T2DM) 发病过程中的分子机制。**方法**·将 *Lpl*<sup>+/-</sup> 小鼠和 WT 小鼠的胰岛进行分离纯化。通过基因芯片分析获得 DEGs, 并对其进行 GO (Gene Ontology) 功能分析和 KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes) 通路分析。采用实时荧光定量 PCR (quantitative real-time PCR, qPCR) 对关键基因表达进行验证。**结果**·共筛选出 187 个 DEGs。GO 功能分析和 KEGG 通路分析显示, DEGs 主要富集于免疫细胞增殖分化、炎症信号通路及细胞黏附等生物过程。在 *Lpl*<sup>+/-</sup> 小鼠和 WT 小鼠的表达差异最为显著的前 10 个基因中, gremlin 1 (*Grem1*) 基因与胰岛  $\beta$  细胞功能密切相关, 且经 qPCR 验证与基因芯片的结果一致。**结论**·脂毒性介导 T2DM 的过程涉及多个信号通路的参与, 其可能是通过抑制 *Grem1* 表达导致胰岛  $\beta$  细胞功能障碍。

**[关键词]** 脂蛋白脂酶; 胰岛  $\beta$  细胞; 基因芯片; 差异表达基因

**[DOI]** 10.3969/j.issn.1674-8115.2020.06.006 **[中图分类号]** R587.1 **[文献标志码]** A

## Identification of differentially expressed genes and pathways in lipoprotein lipase gene heterozygous knockout mice through gene microarray analysis

CHEN Ning-xin, HAN Ting-ting, ZHENG Shuang, LIU Wei, HU Yao-min

Department of Endocrinology, Renji Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200127, China

**[Abstract]** **Objective**·To screen the differentially expressed genes (DEGs) and pathways in the islet tissues of lipoprotein lipase (*Lpl*) gene heterozygous knockout (*Lpl*<sup>+/-</sup>) mice and wild type (WT) mice, and explore the molecular mechanism of pathogenesis of type 2 diabetes mellitus (T2DM) mediated by lipotoxicity. **Methods**·The islets of *Lpl*<sup>+/-</sup> mice and WT mice were isolated and purified. DEGs were screened by gene microarray analysis. Gene Ontology (GO) function analysis and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway analysis of DEGs were performed. The expressions of key genes were verified by quantitative real-time PCR (qPCR). **Results**·A total of 187 DEGs were identified. GO functional analysis and KEGG pathway analysis showed that DEGs were mainly involved in the biological processes such as immune cell proliferation and differentiation, inflammatory signaling pathways and cell adhesion. Among the top 10 DEGs screened from *Lpl*<sup>+/-</sup> mice and WT mice, gremlin 1 (*Grem1*) gene was closely related to the function of islet  $\beta$  cells, while the result of qPCR was consistent with that of gene microarray analysis. **Conclusion**·Multiple signaling pathways are involved in the process of T2DM mediated by lipotoxicity, which may lead to the dysfunction of islet  $\beta$  cells by inhibiting *Grem1* expression.

**[Key words]** lipoprotein lipase (LPL); islet  $\beta$  cell; gene microarray; differentially expressed gene (DEG)

随着社会经济的发展及人们生活水平的提高,罹患糖尿病的人群数量呈快速攀升的趋势。2013 年全国流行病学调查结果显示,我国 18 岁及以上人群的糖尿病及糖尿病前期的患病率分别为 10.9% 和 35.7%<sup>[1]</sup>。糖尿病的发生可增加各类慢性并发症的风险,不仅会危害人们的生命健康,也给国家带来了较重的医疗负担。因此,阐明

糖尿病的发病机制对于该疾病的预防和治疗具有重大意义。目前,脂毒性在 2 型糖尿病 (type 2 diabetes mellitus, T2DM) 的发生与发展中扮演重要角色。Banting 科学成就奖获得者 McGarry 教授<sup>[2]</sup>提出,脂代谢障碍是 T2DM 的原发病理生理改变,T2DM 糖代谢紊乱的根源即为脂代谢异常,甚至还将 T2DM 称为“糖脂病”。流行病学研

**[基金项目]** 国家自然科学基金 (81870554, 81270946)。

**[作者简介]** 陈宁欣 (1994—), 女, 硕士生; 电子信箱: ningxin\_chen@hotmail.com。

**[通信作者]** 胡耀敏, 电子信箱: amin99@163.com。

**[Funding Information]** National Natural Science Foundation of China (81870554, 81270946)。

**[Corresponding Author]** HU Yao-min, E-mail: amin99@163.com。



究调查结果显示, 高甘油三酯血症 (hypertriglyceridemia, HTG) 是 T2DM 发病的独立危险因素<sup>[3]</sup>。脂蛋白脂酶 (lipoprotein lipase, LPL) 是催化乳糜微粒 (chylomicron, CM) 和极低密度脂蛋白 (very low-density lipoprotein, VLDL) 中三酰甘油 (triacylglycerol, TAG) 水解的关键酶, 其结构和功能的异常可引发 HTG<sup>[4]</sup>。本课题组的前期研究<sup>[5-6]</sup>发现, *Lpl* 基因敲除的杂合 (*Lpl*<sup>+/-</sup>) 小鼠可通过 HTG 直接诱发糖代谢异常; 随后, 进一步研究<sup>[7]</sup>发现 *Lpl*<sup>+/-</sup> 小鼠出现了胰岛脂肪沉积, 经胰岛  $\beta$  细胞葡萄糖刺激后, 其胰岛素分泌能力出现明显下降。继而推测, 脂毒性可通过引起胰岛  $\beta$  细胞功能障碍来诱发糖代谢异常, 但其具体的分子机制尚需进一步探索。

基因芯片具有高通量及高灵敏度的优点, 能够高效率地筛选正常组织和病理组织中差异表达的基因, 有助于深入认识疾病发生的分子机制, 以达到对疾病的早期诊断及干预。本研究通过基因芯片筛选 *Lpl*<sup>+/-</sup> 小鼠和野生型 (wild type, WT) C57BL/6 小鼠的胰岛组织中的差异表达基因 (differentially expressed genes, DEGs), 并利用生物信息学分析对这些基因进行聚类和功能富集分析, 以期为寻找脂毒性介导 T2DM 的发病过程中的新的分子机制提供参考和依据。

## 1 对象和方法

### 1.1 实验动物及主要试剂

40 周龄 SPF 级雄性 *Lpl*<sup>+/-</sup> 小鼠及 WT C57BL/6 小鼠由北京大学医学部实验动物科学部提供 [生产许可证号为 SCXK (京) 2016-2018], 体质量为 (25 $\pm$ 5)g。所有动物饲养于上海交通大学医学院附属仁济医院动物房清洁级屏障系统中, 使用许可证号为 SYXK (沪) 2011-2021。小鼠饲以标准饲料, 分笼喂养, 自由进食和饮水。饲养条件如下: 照明周期为 12 h/12 h, 温度为 21 $^{\circ}$ C, 湿度为 50%~55%。所有动物相关操作均遵循国家及上海交通大学医学院附属仁济医院有关动物伦理规定及条例。

胶原酶 V (Sigma, 美国), 1640 培养基 (Gibco, 美国), 胎牛血清 (Gibco, 美国), TRIzol 试剂 (Invitrogen, 美国), 反转录试剂盒 (TaKaRa, 日本), SYBR Premix Ex Taq 试剂盒 (TaKaRa, 日本)。

### 1.2 研究方法

**1.2.1 胰岛的分离及纯化** 麻醉后取小鼠仰卧位固定, 显微镜下找到小鼠胆总管近肝门处, 经胆总管插管逆行注入 0 $^{\circ}$ C 胶原酶 V 消化液。待胰腺缓慢膨胀后, 摘除整个胰

腺, 后经胶原酶 V 消化、密度梯度离心法分离胰岛。于显微镜下手工挑选完整胰岛, 加入 1640 培养基 (含 10% 胎牛血清), 在 37 $^{\circ}$ C、5% CO<sub>2</sub> 培养箱中孵育 24 h 后更换培养基, 用于后续实验。

**1.2.2 微阵列芯片杂交与数据分析** 微阵列芯片杂交实验委托上海慧算生物技术有限公司完成。使用 STAR 软件统计基因的原始序列计数, 使用 R 语言中 DESeq2 筛选 *Lpl*<sup>+/-</sup> 小鼠及 WT 小鼠胰岛组织中 DEGs。基因表达的差异用 *P* 值和差异倍数 (fold change, FC) 的对数 (log<sub>2</sub>FC) 表示。将 *P*<0.05 且 |log<sub>2</sub>FC|>2 的基因视为 DEGs。使用 R 语言中的 clusterProfiler 包对 DEGs 进行 GO (Gene Ontology) 功能分析和 KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genome) 通路分析, 分析结果以 *P*<0.05 为入选标准。

**1.2.3 RNA 抽提及实时荧光定量 PCR 检测** 将离体培养的胰岛组织收集于离心管中, 低速离心获得沉淀。向其中加入磷酸盐缓冲液漂洗后, 立即加入总 RNA 抽提试剂 TRIzol, 并依照产品说明书操作提取总 RNA。而后, 采用超微量分光光度计对 RNA 浓度进行测定, 分装后冻存于 -80 $^{\circ}$ C 备用。采用实时荧光定量 PCR (quantitative real-time PCR, qPCR) 对 DEGs 中与胰岛  $\beta$  细胞功能最密切相关的基因进行验证。根据反转录试剂盒说明书, 将相关试剂与 0.5  $\mu$ g 总 RNA 混合均匀 (总体积为 10  $\mu$ L, 加入 RNA 体积根据浓度计算) 进行反应, 条件如下: 37 $^{\circ}$ C 15 min, 85 $^{\circ}$ C 5 s, 4 $^{\circ}$ C 5 min。而后使用 SYBR Premix Ex Taq 试剂盒, 将 1  $\mu$ L cDNA 与相关试剂混合配置 10  $\mu$ L 反应体系进行 qPCR 反应, 条件如下: 95 $^{\circ}$ C 30 s; 95 $^{\circ}$ C 5 s, 60 $^{\circ}$ C 20 s, 共 20 个循环。以甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, *Gapdh*) 为内参, 基因的相对表达量用 2<sup>- $\Delta\Delta$ CT</sup> 进行分析。所有数据均进行 3 次分析 (即设置 3 个复孔)。Gremlin 1 (*Grem1*)、骨形态形成蛋白 2 (bone morphogenetic protein 2, *Bmp-2*)、*Bmp-4* 及 *Gapdh* 引物均由上海冠泰生物科技有限公司合成, 引物序列见表 1。

表 1 qPCR 引物序列

Tab 1 Primer sequences for qPCR

Gene	Primer sequence (5' $\rightarrow$ 3')
<i>Grem1</i>	F: CAA CAG CCG CAC TAT CAT CAA
	R: AAG GAG CAA GAC TGA AAG GAC C
<i>Bmp-2</i>	F: GGA CTG TGA GGT CAA CAA CAA
	R: CTT TAG ACA CTG TGG TCG TGG
<i>Bmp-4</i>	F: CAC CTC AAC TCA ACC AAC C
	R: CAA CAC CAC CTT GTC ATA CTC



Continued Tab

Gene	Primer sequence (5' → 3')
Gapdh	F: AAA TGG TGA AGG TCG GTG TG
	R: AGG TCA ATG AAG GGG TCG TT

1.3 统计学方法

采用 GraphPad Prism 7.0 软件对研究数据进行统计分析。qPCR 数据用  $\bar{x} \pm s$  表示, 采用  $t$  检验进行比较。 $P < 0.05$  表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 筛选 DEGs

本研究采用 R 语言中 DESeq2 对  $Lpl^{+/-}$  小鼠及 WT 小鼠胰岛组织中的 DEGs 进行筛选, 并采用火山图和聚类热图进行分析。结果显示共筛选出 187 个 DEGs, 上调基因 6 个、下调基因 181 个 (图 1、2); 其中, 表达差异最为显著的前 10 个基因见表 2。

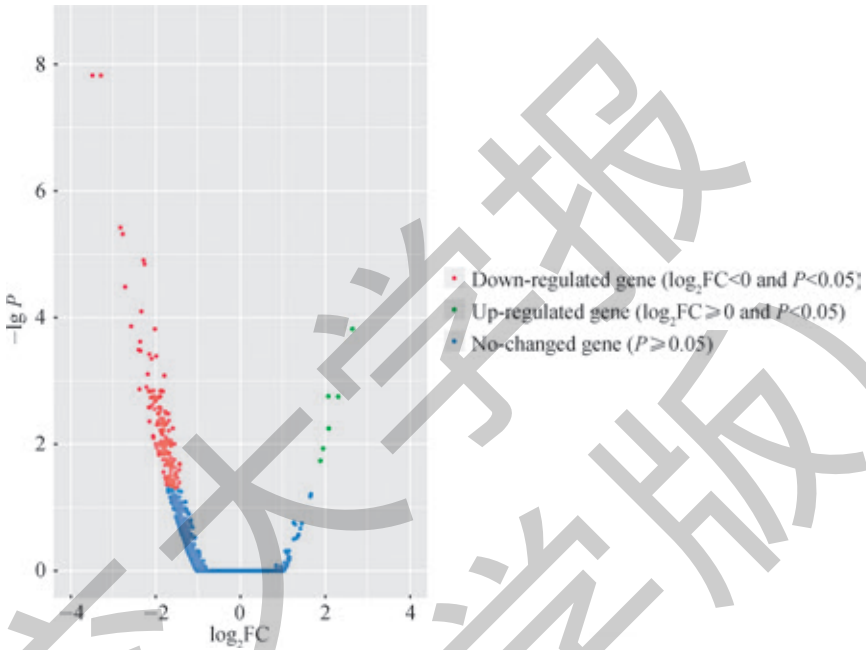
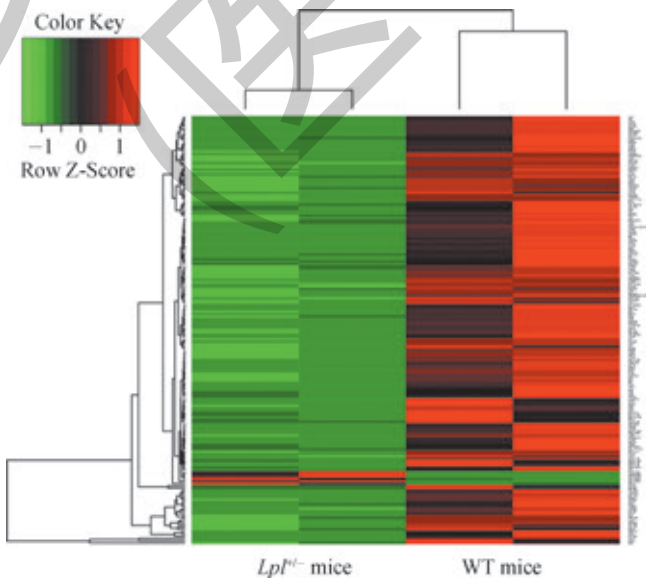


图 1  $Lpl^{+/-}$  小鼠与 WT 小鼠 DEGs 的火山图分析  
Fig 1 Volcano plot of DEGs between  $Lpl^{+/-}$  mice and WT mice



**Note:** Red—up-regulation of gene expression level; Green—down-regulation of gene expression level. Shades of color indicates the degree of change in the expression.

图 2  $Lpl^{+/-}$  小鼠与 WT 小鼠 DEGs 的聚类热图  
Fig 2 Heat map of DEGs between  $Lpl^{+/-}$  mice and WT mice



表 2 DEGs 中排名前 10 的基因列表  
Tab 2 Top 10 genes of DEGs

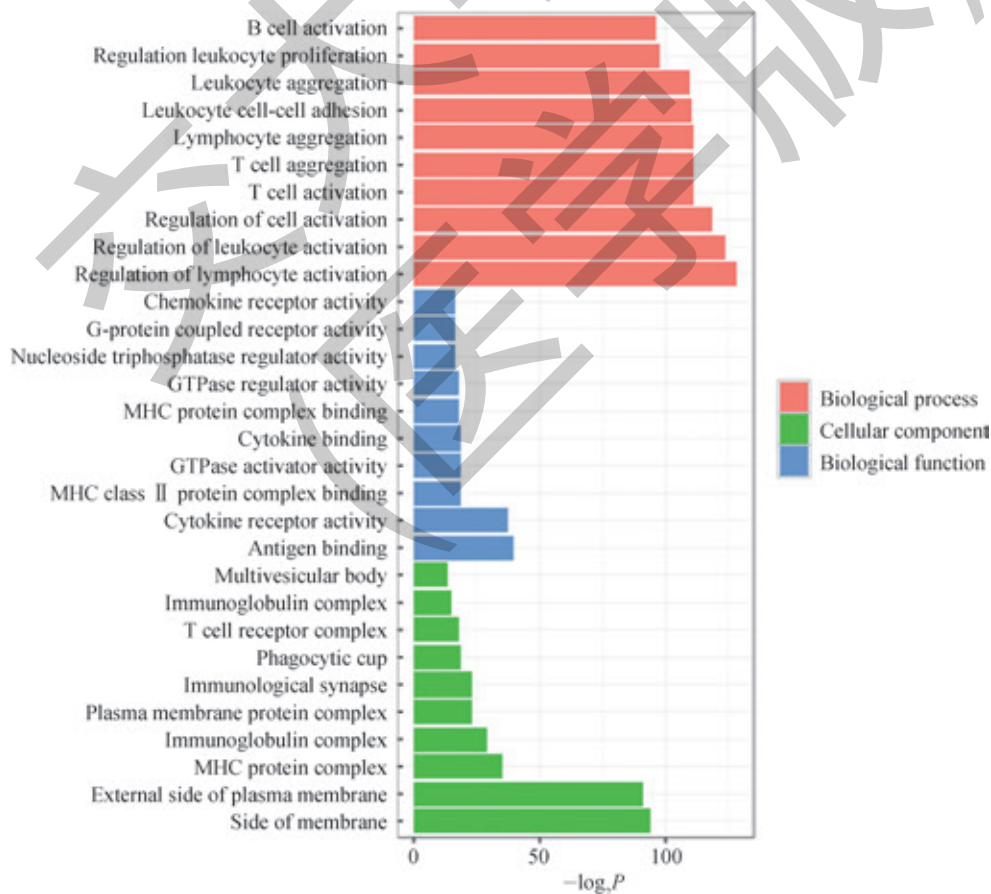
Gene ID	Gene symbol	Gene name	Gene function
380792	<i>Ighe</i>	Immunoglobulin heavy constant epsilon	B cell receptor signaling pathway, immune response, phagocytosis
26388	<i>Ifi202b</i>	Interferon activated gene 202B	Cellular response to interferon-β
24108	<i>Ubd</i>	Ubiquitin D	Proteasome binding, protein binding
16017	<i>Ighg1</i>	Immunoglobulin heavy constant gamma 1	Antigen binding, immunoglobulin receptor binding
23892	<i>Grem1</i>	Gremlin 1	Cytokine activity, transmembrane receptor protein tyrosine kinase activator activity, heparan sulfate proteoglycan binding, vascular endothelial growth factor receptor 2 binding, bone morphogenetic protein antagonist
17381	<i>Mmp12</i>	Matrix metalloproteinase 12	Calcium ion binding, hydrolase activity
16016	<i>Ighg2b</i>	Immunoglobulin heavy constant gamma 2B	Antigen binding, immunoglobulin receptor binding
17329	<i>Cxcl9</i>	Chemokine (C-X-C motif) ligand 9	Chemokine receptor binding, chemokine activity, cytokine activity
83408	<i>Gimap3</i>	GTPase (IMAP family member 3)	GTP binding, nucleotide binding
434025	<i>Igkv9-120</i>	Immunoglobulin kappa chain variable 9-120	Immune response, immunoglobulin production

**Note:** IMAP—immunity-associated protein; GTP—guanosine triphosphate.

2.2 GO 功能分析

本研究采用 R 语言中的 clusterProfiler 包进行 GO 功能分析，以  $P<0.05$  进行筛选，结果（图 3）显示 DEGs

主要富集在与 T 细胞、B 细胞等免疫细胞激活和侵袭以及细胞黏附相关的生物过程，同时与细胞质膜蛋白等细胞组成和细胞因子受体活性调节等生物功能密切相关。



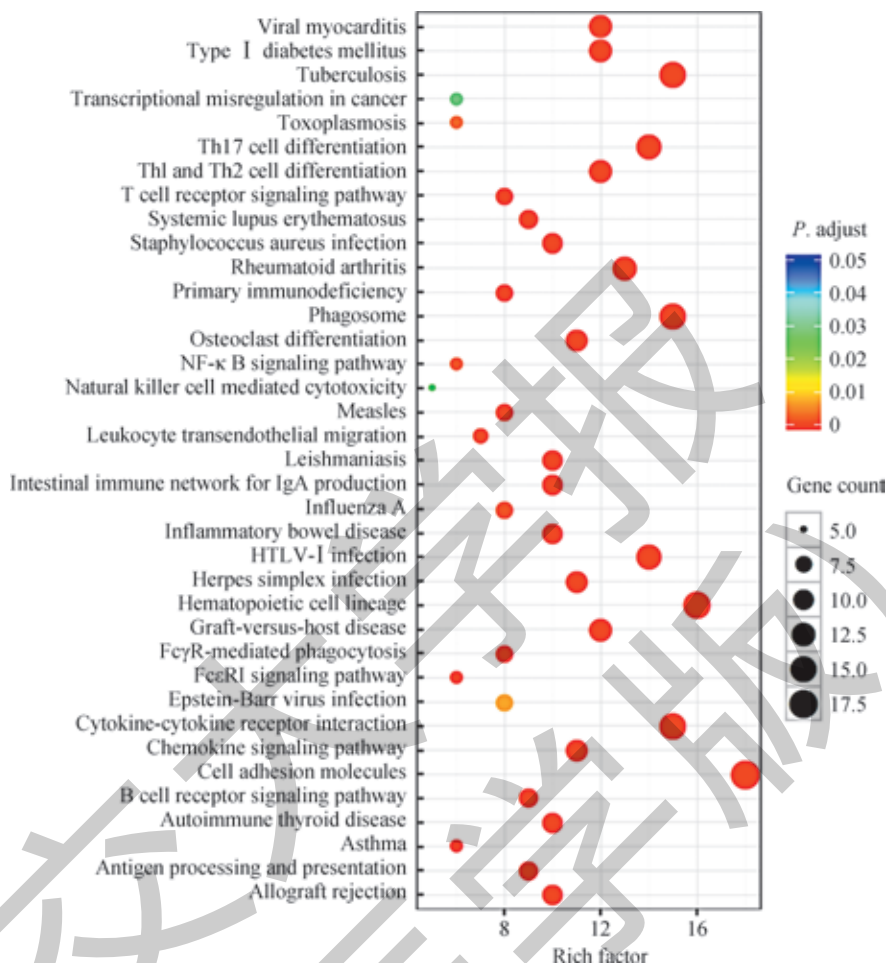
**Note:** MHC—major histocompatibility complex.

图 3 DEGs 的 GO 功能分析  
Fig 3 GO function analysis of DEGs

## 2.3 KEGG 通路分析

随后, 本研究使用 KEGG 对 DEGs 进行通路富集分析, 结果 (图 4) 显示这些基因主要富集在免疫细胞增殖

分化、炎症信号通路、血管形成和细胞黏附相关通路上, 且与  $Lpl^{+/-}$  小鼠的胰岛  $\beta$  细胞功能障碍相关。



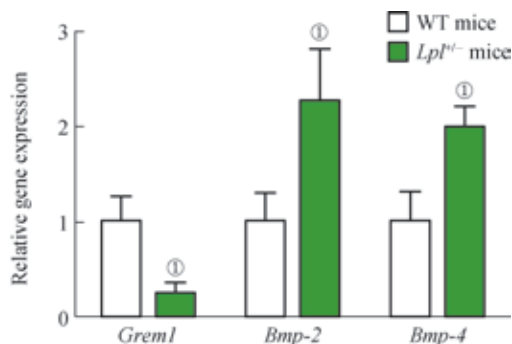
Note: Th17—interleukin-17-producing T helper; HTLV—human T cell lymphotropic virus.

图 4 DEGs 的 KEGG 通路分析

Fig 4 KEGG pathway analysis of DEGs

## 2.4 关键基因的表达验证

在上述罗列的前 10 个 DEGs 中, *Grem1* 编码的蛋白 gremlin 1 为 BMP 拮抗剂家族的成员<sup>[8]</sup>, 该蛋白可通过与 BMP-2、BMP-4 蛋白的直接结合阻断 BMP 作用的信号通路。研究<sup>[9]</sup>发现, BMP 可参与胚胎期胰腺生长、增殖及分化的调节, 与胰岛  $\beta$  细胞功能有密切关系。基于此, 本研究选择 *Grem1* 进行验证; 结果 (图 5) 显示, 与 WT 小鼠相比,  $Lpl^{+/-}$  小鼠胰岛组织中 *Grem1* 的表达量下降了 75%, 而 *Bmp-2* 及 *Bmp-4* 的表达量则增加了 1 倍甚至更多。



Note: ①  $P=0.000$ , compared with the WT mice.

图 5 qPCR 检测 WT 小鼠和  $Lpl^{+/-}$  小鼠胰岛组织中关键基因的表达水平

Fig 5 Expression levels of key genes in the islet tissues of WT mice and  $Lpl^{+/-}$  mice

### 3 讨论

胰岛  $\beta$  细胞功能异常是导致 T2DM 的核心病理生理基础之一,同时脂代谢紊乱在其发病过程中亦发挥着重要作用。脂毒性是指血中的游离脂肪酸 (free fatty acid, FFA) 水平长期较高,而超过了脂肪组织的储存能力及各组织对 FFA 的氧化能力,使得过多的 FFA 以 TAG 的形式沉积在非脂肪组织,从而造成对该组织的损伤<sup>[2]</sup>。FFA 的长期作用可诱导  $\beta$  细胞凋亡、引起  $\beta$  细胞坏死,以减少  $\beta$  细胞数目。研究<sup>[6]</sup>发现,呈现 HTG 的  $Lpl^{+/-}$  小鼠的脂代谢障碍在发生时间的顺序上优先于糖代谢紊乱,可以很好地模拟 HTG 引发 T2DM 的病理生理过程。本课题组的前期研究<sup>[7]</sup>表明,  $Lpl^{+/-}$  小鼠出现胰岛脂滴沉积、胰岛  $\beta$  细胞团体积减小同时细胞凋亡增加,  $Lpl^{+/-}$  小鼠胰岛细胞经葡萄糖刺激后胰岛素的分泌能力明显下降,而这些结果亦在体外高脂模型(棕榈酸刺激的胰岛  $\beta$  细胞)中得到了进一步证实。为了探讨可能的分子机制,本研究将  $Lpl^{+/-}$  小鼠及 WT 小鼠的胰岛进行分离并纯化,利用基因芯片筛选小鼠胰岛中的 DEGs,并采用生物信息学方法对这些基因进行聚类分析和功能富集,选择关键基因进行表达验证。

在表达差异最为显著的前 10 个基因中, *Ighe*、*Ighg1*、*Ighg2b*、*Igkv9-120* 是免疫反应中抗原结合、免疫球蛋白产生及免疫球蛋白受体结合相关的分子; *Ifi202b* 参与黑色素瘤缺乏因子 2 (absent in melanoma 2, AIM2) 炎症体激活的负向调控,且有研究<sup>[10]</sup>表明该基因还参与了小鼠脂肪干细胞的脂肪生成;有研究者发现, *Ubd* 在老化和慢性疾病中具有免疫代谢调节作用,还可介导慢性肾脏疾病中核因子- $\kappa$ B (nuclear factor- $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B) 的激活从而促进肾小管间质炎症的发生与发展<sup>[11-12]</sup>; *Mmp12* 与动脉硬化相关,还可通过调节细胞因子水平来调节小鼠的炎症反应<sup>[13]</sup>; *Cxcl9* 在皮炎的小鼠模型中表达显著升高,且与炎症的严重程度相关,同时也参与了某些自身免疫疾病的发生<sup>[14]</sup>; *Gimap3* 可与核酸及 GTP 相结合,与 T 细胞发生和存活相关。针对以上基因,目前暂无相关证据表明其与胰岛  $\beta$  细胞功能或 T2DM 存在相关性。但值得注意的是, *Grem1* 编码合成的 gremlin 1 属于 BMP 拮抗剂家族的重要成员,可阻断下游 BMP 信号通路。BMP 是转化生长因子- $\beta$  (transforming growth factor- $\beta$ , TGF- $\beta$ ) 超家族的一员,包括大量保守结构区域的分泌信号分子,可在控制胚胎发育及分化过程中发挥关键作用,还参与胚胎期胰腺生长、增殖及分化的调节<sup>[9]</sup>。有研究<sup>[15]</sup>表明,促炎细胞因子白细胞介素-1 $\beta$  (interleukin-1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ ) 及干扰素- $\gamma$  (interferon- $\gamma$ , IFN- $\gamma$ ) 可能通过激活 BMP-2 诱导胰

岛  $\beta$  细胞的凋亡及功能障碍。而 BMP-2 和 BMP-4 的表达则能够对胰岛  $\beta$  细胞的增殖及分泌功能产生抑制作用<sup>[16]</sup>。Sakhneny 等<sup>[17]</sup>研究发现,胰岛  $\beta$  细胞可表达 BMP-4 的受体,且 BMP-4 与  $\beta$  细胞功能相关。上述研究均提示, BMP 信号通路可能在糖尿病胰岛功能异常中扮演着重要角色。因此,本研究利用 qPCR 对基因芯片的结果进行验证发现,  $Lpl^{+/-}$  小鼠胰岛组织中 *Grem1* 的表达量较 WT 小鼠显著下降,而 *Bmp-2* 及 *Bmp-4* 的表达量则明显增加;继而推测, gremlin 1 及其下游 BMPs 信号通路可能参与了由脂毒性介导的胰岛  $\beta$  细胞功能障碍的发生及发展。此外,还有研究<sup>[18-19]</sup>表明 *Grem1* 可能与 T2DM 患者的蛋白尿及糖尿病肾病的发生相关。

通过对 DEGs 进行 GO 功能分析和 KEGG 通路分析,发现 DEGs 参与了免疫细胞增殖分化、炎症信号通路、血管形成和细胞黏附相关通路。已经有研究<sup>[20]</sup>证实了脂毒性诱导的炎症反应在胰岛功能障碍中的作用,即在高脂喂养的小鼠中,胰岛组织中巨噬细胞的浸润显著增加;还有研究<sup>[21]</sup>发现胰岛  $\beta$  细胞内的脂肪细胞可分泌细胞因子及趋化因子,通过激活炎症信号通路导致  $\beta$  细胞功能障碍。本课题组最新的研究<sup>[7]</sup>结果也证实,在  $Lpl^{+/-}$  小鼠血清中和棕榈酸刺激的胰岛  $\beta$  细胞上清液中,肿瘤坏死因子- $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、促炎细胞因子 IL-1 $\beta$ 、IL-6 及巨噬细胞移动抑制因子 (macrophage migration inhibition factor, MIF) 的水平明显上升,  $Lpl^{+/-}$  小鼠胰岛组织上清液中 MIF 的表达也显著增加,同时  $Lpl^{+/-}$  小鼠胰岛组织和棕榈酸刺激的胰岛  $\beta$  细胞中 NF- $\kappa$ B 抑制因子 (inhibitor of nuclear factor- $\kappa$ B, I $\kappa$ B)/NF- $\kappa$ B 炎症信号通路被激活,且与  $\beta$  细胞功能障碍密切相关。而另有研究<sup>[22]</sup>发现, FFA 可招募外周循环中的炎症型单核细胞至胰岛组织中并转化为 M1 型巨噬细胞,实现对胰岛组织中炎症细胞因子表达的上调,进而导致胰岛  $\beta$  细胞功能障碍。

本研究 GO 功能分析还发现, DEGs 主要富集在 T 细胞、B 细胞等免疫细胞激活的生物过程,同时亦有越来越多的研究开始关注自身免疫在糖尿病发病过程中的作用。自身免疫是一种多因素参与的对自身构成成分产生免疫反应的过程,主要特点是自身耐受的缺失以及 B 细胞和 T 细胞慢性的过度反应。研究<sup>[23]</sup>显示, T2DM 患者胰岛中的促炎细胞因子被激活,可引发免疫反应导致胰岛功能异常,这种由炎症导致的组织损伤会进一步增强自身免疫反应,从而形成恶性循环;且在 T2DM 患者的胰岛中可观察到免疫细胞的交替和免疫细胞的浸润。此外, M1 型巨噬细胞可分泌大量的促炎因子包括 IL-12、TNF- $\alpha$ 、IL-1、



IL-6 等以及趋化因子以参与炎症反应, 进而导致胰岛  $\beta$  细胞功能障碍的发生。而 B 细胞与 T 细胞的直接作用对胰岛  $\beta$  细胞功能的影响尚缺乏相关证据。因此, 更加深入地探索自身免疫在 T2DM 发生与发展中的作用和相关机制, 或将有助于在临床上对糖尿病的分型和治疗提供参考。

综上所述, 本研究通过基因芯片筛选 WT 小鼠及

*Lpl*<sup>+/-</sup> 小鼠的 DEGs, 并针对这些基因开展相关功能及通路分析, 发现 DEGs 主要富集于自身免疫和炎症信号通路, 同时脂毒性导致的 *Grem1* 表达下调可能与胰岛  $\beta$  细胞功能障碍的发生密切相关。该结果或将为进一步理解和认识脂毒性导致 T2DM 的发病机制提供参考, 同时也将为后续的 T2DM 病因研究提供新的方向。

## 参 · 考 · 文 · 献

- [1] Wang LM, Gao P, Zhang M, et al. Prevalence and ethnic pattern of diabetes and prediabetes in China in 2013[J]. JAMA, 2017, 317(24): 2515-2523.
- [2] McGarry JD. Banting lecture 2001: dysregulation of fatty acid metabolism in the etiology of type 2 diabetes[J]. Diabetes, 2002, 51(1): 7-18.
- [3] Tirosh A, Shai I, Bitzur R, et al. Changes in triglyceride levels over time and risk of type 2 diabetes in young men[J]. Diabetes Care, 2008, 31(10): 2032-2037.
- [4] Olivecrona G. Role of lipoprotein lipase in lipid metabolism[J]. Curr Opin Lipidol, 2016, 27(3): 233-241.
- [5] 金晶, 胡耀敏, 李圣贤, 等. 脂蛋白脂酶基因敲除小鼠糖脂代谢及胰岛素敏感性研究 [J]. 中华内分泌代谢杂志, 2011, 27(5): 427-429.
- [6] 李阳雪, 郑爽, 韩亭亭, 等. 脂蛋白脂酶基因敲除小鼠糖脂代谢研究及其胰岛素抵抗的机制探索 [J]. 中华内分泌代谢杂志, 2015, 31(2): 143-147.
- [7] Zheng S, Ren XX, Han TT, et al. Fenofibrate attenuates fatty acid-induced islet  $\beta$ -cell dysfunction and apoptosis via inhibiting the NF- $\kappa$ B/MIF dependent inflammatory pathway[J]. Metab Clin Exp, 2017, 77: 23-38.
- [8] Müller I, Schönberger T, Schneider M, et al. Gremlin-1 is an inhibitor of macrophage migration inhibitory factor and attenuates atherosclerotic plaque growth in *ApoE*<sup>-/-</sup> mice[J]. J Biol Chem, 2013, 288(44): 31635-31645.
- [9] Grgurevic L, Christensen GL, Schulz TJ, et al. Bone morphogenetic proteins in inflammation, glucose homeostasis and adipose tissue energy metabolism[J]. Cytokine Growth Factor Rev, 2016, 27: 105-118.
- [10] Cao YH, Wang LS, Wang CY, et al. Sex differences in correlation with gene expression levels between *Irf200* family genes and four sets of immune disease-relevant genes[J]. J Immunol Res, 2018, 2018: 1290814.
- [11] Kawamoto A, Nagata S, Anzai S, et al. Ubiquitin D is upregulated by synergy of notch signalling and TNF- $\alpha$  in the inflamed intestinal epithelia of IBD patients[J]. J Crohns Colitis, 2019, 13(4): 495-509.
- [12] Zhang JY, Wang MX, Tian L, et al. *UBD* modifies *APOL1*-induced kidney disease risk[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2018, 115(13): 3446-3451.
- [13] Wolf M, Maltseva I, Clay SM, et al. Effects of MMP12 on cell motility and inflammation during corneal epithelial repair[J]. Exp Eye Res, 2017, 160: 11-20.
- [14] Ruiduo C, Ying D, Qowei W. CXCL9 promotes the progression of diffuse large B-cell lymphoma through up-regulating  $\beta$ -catenin[J]. Biomedicine Pharmacother, 2018, 107: 689-695.
- [15] Ibarra Urizar A, Friberg J, Christensen DP, et al. Inflammatory cytokines stimulate bone morphogenetic protein-2 expression and release from pancreatic  $\beta$  cells[J]. J Interferon Cytokine Res, 2016, 36(1): 20-29.
- [16] Bruun C, Christensen GL, Jacobsen MLB, et al. Inhibition of  $\beta$  cell growth and function by bone morphogenetic proteins[J]. Diabetologia, 2014, 57(12): 2546-2554.
- [17] Sakhneny L, Rachi E, Epshtein A, et al. Pancreatic pericytes support  $\beta$ -cell function in a Tcf7l2-dependent manner[J]. Diabetes, 2018, 67(3): 437-447.
- [18] Khokha MK, Hsu D, Brunet LJ, et al. Gremlin is the BMP antagonist required for maintenance of Shh and Fgf signals during limb patterning[J]. Nat Genet, 2003, 34(3): 303-307.
- [19] Thameem F, Puppala S, He X, et al. Evaluation of gremlin 1 (*GREM1*) as a candidate susceptibility gene for albuminuria-related traits in Mexican Americans with type 2 diabetes mellitus[J]. Metab Clin Exp, 2009, 58(10): 1496-1502.
- [20] Ehses JA, Perren A, Eppler E, et al. Increased number of islet-associated macrophages in type 2 diabetes[J]. Diabetes, 2007, 56(9): 2356-2370.
- [21] Eizirik DL, Mandrup-Poulsen T. A choice of death: the signal-transduction of immune-mediated  $\beta$ -cell apoptosis[J]. Diabetologia, 2001, 44(12): 2115-2133.
- [22] Eguchi K, Manabe I, Oishi-Tanaka Y, et al. Saturated fatty acid and TLR signaling link  $\beta$  cell dysfunction and islet inflammation[J]. Cell Metab, 2012, 15(4): 518-533.
- [23] Eguchi K, Nagai R. Islet inflammation in type 2 diabetes and physiology[J]. J Clin Invest, 2017, 127(1): 14-23.

[ 收稿日期 ] 2019-11-06

[ 本文编辑 ] 邢宇洋