

• 论 著 •

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2020.16.001

网络首发 [https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20200312.1037.002.html\(2020-03-12\)](https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20200312.1037.002.html(2020-03-12))

miR-320a-5p 对高脂饮食诱导的小鼠肥胖和 IR 的影响研究^{*}

胡淑芳¹,杨 丽¹,蔡桃英¹,徐子辉^{2△}

(1.湖北省武汉市汉口医院内分泌科 430012;2.武汉大学人民医院内分泌科,武汉 430060)

[摘要] **目的** 探讨 miR-320a-5p 对高脂饮食(HFD)诱导的小鼠肥胖和胰岛素抵抗(IR)的影响。**方法** 45 只雄性 C57BL/6 小鼠分为对照(ND)组、HFD 组和 mmu-miR-320a-5p agomir(MA)组。以 HFD 喂养 8 周后,HFD 组尾静脉注射 20 nmol/L 的 miRNA 激动剂的阴性对照(micrONTM miRNA agomir NC)的 100 μL 磷酸盐缓冲液,MA 组注射等量 mmu-miR-320a-5p agomir,直至 20 周。期间监测小鼠体重变化,分析 3 组小鼠 20 周腰围、代谢水平、胰岛素耐受实验(IPTT)、口服糖耐量实验(OGTT)情况;苏木素-伊红(HE)染色检测脂肪组织形态学变化;实时荧光定量 PCR(RT-qPCR)检测各组外周血和脂肪组织 miR-320a-5p 相对表达水平及 Pparg、Ppara、Cebpa、Cebpb 基因 mRNA 表达水平;ELISA 检测外周血胰岛素样生长因子-1(Igf-1)水平;Western blot 检测脂肪组织 Igf-1、Phospho-Igf-1-rβ/Irβ(Tyr1131/1146)、Phospho-Irs1(Tyr1222)、Phospho-Gsk3(Ser9)、Phospho-PI3K p85/p55(Tyr458/199)、Phospho-Akt(Thr308)、phospho-FoxO1(Ser256)、Ppar-γ、Gck、G6Pase 和 Pepkc 蛋白表达水平。**结果** 与 HFD 组比较,MA 组小鼠的腰围、内脏脂肪组织(eWAT)湿重、胰岛素水平和胰岛素抵抗指数(HOMA-IR)更低,体温热量输出值、呼吸熵、糖耐量、血糖清除速率和 eWAT 中 miR-320a-5p 水平更高,差异有统计学意义($P<0.05$)。与 HFD 组比较,MA 组外周血 Igf-1 水平,eWAT 中 Igf-1、Phospho-Igf-1-rβ/Irβ(Tyr1131/1146)、Phospho-Irs1(Tyr1222)、Phospho-Gsk3β(Ser9)、Phospho-PI3K p85/p55(Tyr458/199)、Phospho-Akt(Thr308)、Gck、G6Pase 和 Pepck 蛋白及 Pparg、Ppara、Cebpa 和 Cebpb 基因 mRNA 水平更低,Phospho-FoxO1(Ser256)水平更高,差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 上调 miR-320a-5p 可抑制 HFD 小鼠的肥胖和 IR。

[关键词] 肥胖症;脂细胞;细胞增殖;胰岛素样生长因子 I;磷酸肌醇 3-激酶类;蛋白质丝氨酸苏氨酸激酶;微 RNAs;miR-320a-5p;胰岛素抵抗

[中图分类号] R589.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2020)15-2605-07

Study on the effect of miR-320a-5p in high fat diet-induced obese and IR in mice^{*}

HU Shufang¹,YANG Li¹,CAI Taoying¹,XU Zihui^{2△}

(1. Department of Endocrinology, Hankou Hospital of Wuhan City, Wuhan, Hubei 430012, China ;
2. Department of Endocrinology, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan, Hubei 430060, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the effect of miR-320a-5p on high fat diet (HFD)-induced obese and insulin resistance (IR) in mice. **Methods** A total of 45 male C57BL/6 mice were divided into the control group (the ND group),the HFD group and the mmu-miR-320a-5p agomir group (the MA group). After being fed with HFD for 8 weeks,the HFD group was injected with 20 nmol/L miRNA agonist negative control (micrONTM miRNA agomir NC) in 100 μL of PBS,and the MA group was injected with the same amount of mmu-miR-320a-5p agomir until 20 weeks. The body weight was monitored,and the waist circumference,metabolism,insulin tolerance test (IPTT) and oral glucose tolerance test (OGTT) were analyzed for the three groups during the experiment. The morphology of adipose tissue were detected by hematoxylin-eosin (HE) staining. MiR-320a-5p in peripheral blood,the mRNA levels of Pparg,Cebpa,Cebpb and Ppara in adipose tissue were detected by RT-qPCR. Insulin-like growth factor-1 (Igf-1) level in peripheral blood was detected by ELISA assay. Western blot was used to detect the protein expression levels of Igf-1, Phospho-Igf-1-rβ/Irβ(Tyr1131/1146),Phospho-Irs1(Tyr1222),Phospho-Gsk3(Ser9),Phospho-PI3K p85/p55(Tyr458/199),Phospho-Akt(Thr308),phospho-FoxO1(Ser256),Ppar-γ,Gck,G6Pase and Pepkc in adipose tissue. **Results** Compared

^{*} **基金项目:**国家自然科学基金青年项目(31400916);湖北省武汉市卫生和计划生育委员会科研项目(WX15D39,WZ16C22)。**作者简介:** 胡淑芳(1970—),副主任医师,本科,主要从事糖尿病及并发症研究。 [△] **通信作者,**E-mail:xuzihui@zxhospital.com。

with the HFD group, waist circumference, epididymal white adipose tissue (eWAT) wet weight, insulin content, homeostasis model assessment-insulin resistance (HOMA-IR) in the MA group were lower; while energy expenditure, respiratory exchange rate, glucose tolerance, blood glucose clearance rate and eWAT miR-320a-5p content were higher, the difference was statistically significant ($P < 0.05$). Besides, compared with the HFD group, Igf-1 level in peripheral blood, the protein levels of Igf-1, Phospho-Igf-1-r β /Ir β (Tyr1131/1146), Phospho-Irs1 (Tyr1222), Phospho-Gsk3 β (Ser9), Phospho-PI3K p85/p55 (Tyr458/199), Phospho-Akt (Thr308), Gck, G6Pase, Pepck and the mRNA levels of Pparg, Ppara, Cebpa, Cebpb in eWAT were lower in the MA group, while Phospho-FoxO1 (Ser256) was higher, the difference was statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusion** Upregulation of miR-320a-5p could inhibit obesity and IR in mice induced by HFD.

[Key words] obesity; adipocytes; cell proliferation; insulin-like growth factor I; phosphatidylinositol 3-kinases; protein-serine-threonine kinases; microRNAs; miR-320a-5p; insulin resistance

肥胖常伴有糖脂代谢紊乱,会引起众多慢性疾病,如 2 型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)和脂肪肝,表现为高血糖、高血脂和肝损伤^[1]。临床调查研究发现,高脂、高蛋白饮食人群易出现肥胖表征,所引发的慢性病严重威胁人类生存发展^[2]。研究发现,胰岛素抵抗(insulin resistance, IR)是 T2DM 的主要发病机制之一^[3],而低脂饮食可有效改善 T2DM 的 IR,且针对 IR 的干预方式可能成为 T2DM 治疗的重要方向,然而目前研究进展缓慢^[4-5]。

微小 RNA(microRNA, miRNA/miR)是一类参与多种细胞过程(如细胞增殖、分化和死亡)的小型(19~25 个核苷酸)非编码 RNA。越来越多的文献报道称,miRNA 在调节多种慢性和衰老相关疾病的发生、发展中起着重要作用,尤其是肥胖和糖尿病^[6],可直接或间接参与糖脂代谢、脂肪细胞增殖、分化和胰岛素分泌^[7-8],并可作为生物标志物应用于临床疾病的诊断和治疗^[8]。已有研究发现,部分 miRNA 在 T2DM 患者外周血中异常表达^[9]。CAPOBIANCO 等^[9]研究表明,包括 miR-320a-3p 在内的多个血清 miRNA 的表达受到与肥胖症、胰岛素分泌和 IR 有关干预的调控。其指出 miR-320a-3p 高表达于 IR 患者 3T3-L1 分化的脂肪细胞中,并作用于磷脂酰肌醇-3 激酶(PI3K)/丝氨酸苏氨酸蛋白激酶(Akt)影响脂肪细胞 IR 和糖转运。其次,miR-320 家族(miR-320a、320b、320c、320d 和 320e)均在脂肪分化中高表达,且 miR-320c/RUNX2 轴调节人间充质(骨骼)干细胞的脂肪分化。再者,miR-320 通过靶向脂联素受体(adiponectin receptor, adiponR1)介导十二指肠-空肠旁路后改善 T2DM 发生、发展,其中, T2DM 患者高表达的 miR-320 可抑制胰岛素样生长因子-1(Igf-1)表达^[10],在体外下调 PI3K/Akt 信号通路进而影响 IR^[11]。然而,对于 miR-320a-5p 在肥胖个体的表达及在体干预研究目前尚未报道,且研究机制尚不明确。

因此,本研究通过分析肥胖人群临床特点与其外

周血 miR-320 家族表达的关系,并使用高脂饮食(high fat diet, HFD)诱导肥胖和 IR 小鼠模型,通过尾静脉注射 miR-320a-5p 制剂的干预方式来研究 miR-320a-5p 对肥胖和 IR 的影响,为 miR-320a-5p 的临床应用提供新依据,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料

无特定病原体(specific pathogen free, SPF)级 C56BL/6 小鼠(北京华阜康生物科技股份有限公司);普通饲料和高脂饲料(北京博泰宏达生物技术有限公司);miRNA 激动剂的阴性对照(micrONTM miRNA agomir NC)和 mmu-miR-320a-5p agomir(广州锐博生物技术有限公司);小鼠代谢笼监测系统(美国 Columbus Oxymax/CLAMS 代谢分析系统);诺和灵 R[诺和诺德(中国)制药有限公司];小鼠胰岛素 ELISA 试剂盒(德国 Millipore 公司);小鼠 Igf-1 ELISA 试剂盒(武汉华美生物科技有限公司);血糖仪[强生(中国)医疗器械有限公司];Igf-1 抗体(武汉 Affinity 技术有限公司);Ppar- γ 、Gck、G6Pase、Pepck、Phospho-Gsk3 β (Ser9)和 β -actin 抗体(武汉爱博泰克生物技术有限公司);Phospho-Igf-1-r β /Ir β (Tyr 1131/Tyr 1146)、Phospho-Irs1 (Tyr 1222)、Phospho-PI3K p85/p55 (Tyr 458/199)和 Phospho-FoxO1 (Ser256, 美国 Cell Signaling Technology 公司);兔、鼠二抗和 ECL 液(武汉拜意尔生物科技有限公司);预染蛋白 Marker、聚偏氟乙烯(PVDF)膜(武汉塞维尔生物科技有限公司);Pparg、Cebpa、Cebpb、Ppara 和 Actb 的逆转录 PCR(q-PCR)引物(北京擎科生物技术有限公司);SYBGreen I 染料和 cDNA 合成试剂盒(北京奥科鼎盛生物技术有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 动物实验及分组处理

选取健康 SPF 级雄性 6 周 C56BL/6 小鼠 45 只,体重 18~20 g,分为正常饮食(ND)组、HFD 组和 mmu-miR-320a-5p agomir(MA)组,每组 15 只。HFD 组和

MA 组以高脂饲料喂养 8 周后,HFD 组尾静脉注射 20 nmol/L 的 micrONTM agomir NC 的 100 μ L 磷酸盐缓冲液(PBS),MA 组注射等量 micrONTM mmu-miR-320a-5p agomir 直至 20 周。

1.2.2 小鼠代谢水平检测实验

于干预 20 周时,将小鼠隔离放置于代谢笼中,平衡 2 d 后监测记录 48 h 代谢变化,分析小鼠体温热量输出值和呼吸熵。

1.2.3 胰岛素耐受实验(insulin tolerance test, IPTT)和口服糖耐量实验(oral glucose tolerance test,OGTT)

于分组喂养 20 周后禁食 12 h,尾尖取血,检测空腹血糖和空腹胰岛素。计算 IR 指数(HOMA-IR)=空腹血糖 $\times$ 空腹胰岛素/22.5。禁食 4 h 后,经腹腔注射诺和灵 R 1.5 U/kg,尾尖取血检测 30、60、90 及 120 min 血糖水平并进行 IPTT。禁食 12 h,按 2 g/kg 行 OGTT,尾尖取血检测 15、30、60 及 120 min 血糖水平。

1.2.4 苏木素-伊红(HE)染色病理切片观察

实验结束后处死小鼠,取肝脏和脂肪组织称重,行 HE 染色,观察病理变化。

1.2.5 小鼠脂肪组织与外周血 miR320a-5p 水平检测

摘眼球取血,分离血浆并提取 miRNA,同时提取肩胛骨棕色脂肪组织(interscapular brown adipose tissue,iBAT)、皮下白色脂肪组织(subcutaneous white adipose tissue,scWAT)和内脏脂肪组织(epididymal white adipose tissue,eWAT)总 miRNA,实时荧光定量 PCR(RT-qPCR)检测 miR320a-5p 水平。

1.2.6 RT-qPCR 实验

将肝脏、脂肪组织按照 TRizol 一步提取试剂盒的说明提取细胞总 RNA,并使用 NanoDrop2000 对 RNA 浓度和纯度进行检测。参照第一链 cDNA 合成试剂盒(First-strand cDNA Synthesis Kit)操作步骤将 1 000 ng 总 RNA 逆转录为 cDNA。取 10 ng cDNA 作为模版,20 μ L q-PCR 反应体系,反应程序:95 $^{\circ}$ C 3 min;95 $^{\circ}$ C 5 s,60 $^{\circ}$ C 30 s,扩增 40 个循环。采用 2^{- $\Delta\Delta$ C_t} 计算扩增倍数,产物用含 Goldview 的 2% 琼脂糖凝胶电泳鉴定,见表 1。

取出一 80 $^{\circ}$ C 冻存的肝脏和脂肪组织以 PBS 洗去血渍,称取 50 mg 组织加入 400 μ L 含 cocktail 和磷酸化酶抑制剂的 RIPA 裂解液,冰水浴剪碎后超声破碎,冷却并冰上裂解 20 min,12 000 r/min 4 $^{\circ}$ C 离心 20 min,取上清液至新 EP 管中,采用 BCA 法检测浓度后,取 200 μ L 离心取上清液,并加入 200 μ L 含 β -BE 的 2 $\times$ loading buffer 于 95 $^{\circ}$ C 干热变性 20 min,冰

上冷却至室温。以 80 μ g 总蛋白上样量加入 10%十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺凝胶(SDS-PAGE)电泳分离胶中,120 V 恒压电泳分离。200 mA 恒流湿转 2 h 至 PVDF 膜上,3% BSA 的 TBST 溶液室温封闭 0.5 h,加入一抗后 4 $^{\circ}$ C 摇床孵育 12 h,第 2 天 TBST 室温漂洗 3 次,每次 5 min。孵育二抗 TBST 溶液(以 1:5 000 稀释)室温 1 h,TBST 室温漂洗 3 次,每次 5 min。ECL 显示,蛋白表达以灰度值表示,标准化至 β -actin 灰度值,见表 2。

表 1 q-PCR 引物序列及产物大小

基因	引物序列	产物大小 (bp)
Pparg	正向:5'-TCGCTGATGCACTGCCTATG-3'	103
	反向:5'-GAGAGGTCCACAGAGCTGATT-3'	
Ppara	正向:5'-AGAGCCCCATCTGTCCTCTC-3'	153
	反向:5'-ACTGGTAGTCTGCAAAACCAAA-3'	
Cebpa	正向:5'-CAAGAACAGCAACGAGTACCG-3'	124
	反向:5'-GTCACTGGTCAACTCCAGCAC-3'	
Cebpb	正向:5'-GCGCCGCCTTATAAACCTCC-3'	171
	反向:5'-TGGCCACTTCCATGGGTCTA-3'	
Actb	正向:5'-ATCATGAAGTGTGACGTGGACAT-3'	153
	反向:5'-AGGAGCAATGATCTTGATCTTCA-3'	

表 2 一抗信息表

蛋白	生产商及货号	种属源	稀释比
Igf-1	Affinity(DF6096)	兔	1:500
Phospho-Igf-1-r β /Irr β (Tyr 1131/Tyr 1146)	CST(#3021)	兔	1:750
Phospho-Irs1(Tyr 1222)	CST(#3066)	兔	1:500
Phospho-Gsk3 β (Ser9)	ABclonal(AP0304)	兔	1:750
Phospho-PI3K p85/p55(Tyr 458/199)	CST(#4228)	兔	1:750
Phospho-Akt(Thr308)	ABclonal(AP0304)	兔	1:750
Phospho-FoxO1(Ser256)	CST(#9461)	兔	1:750
Ppar- γ	ABclonal(A0270)	兔	1:1 000
Gck	ABclonal(A6293)	兔	1:1 000
G6Pase	ABclonal(A16234)	兔	1:750
Pepck	ABclonal(A8446)	兔	1:1 000
β -actin	ABclonal(A0270)	鼠	1:1 000

1.3 统计学处理

采用 Graphpad Prism 8.0 制作统计图,SPSS 19.0 软件进行数据分析,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,两组间比较采用 *t* 检验,多组间比较采用 ANOVA 方差分析,以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

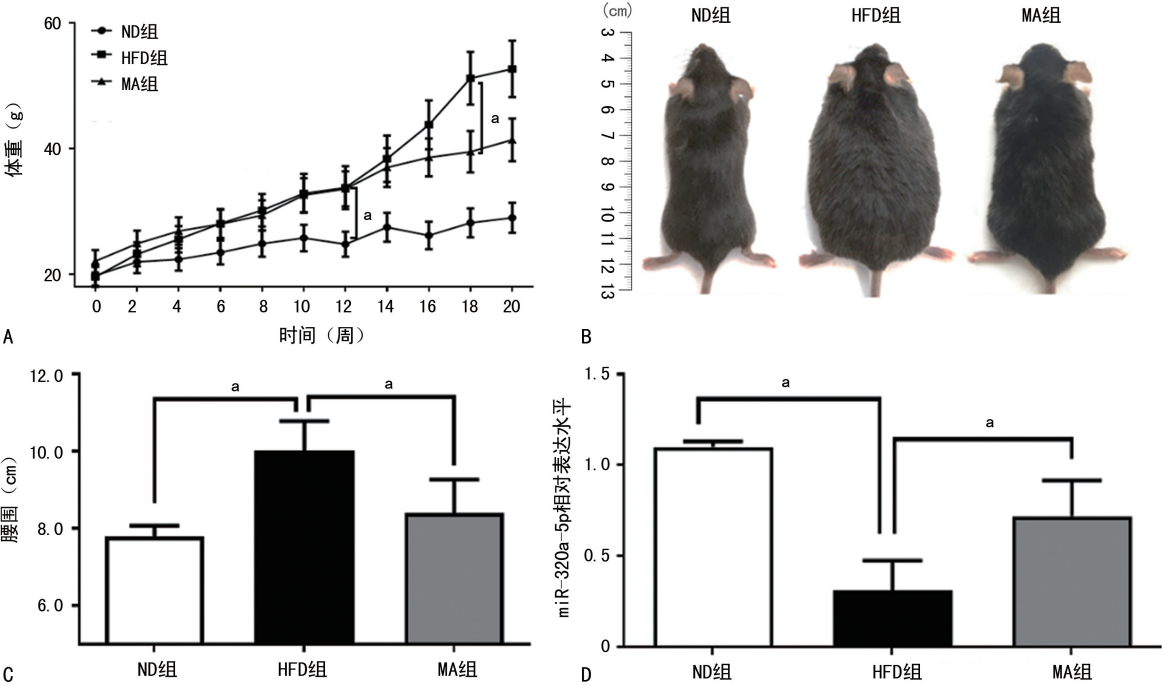
2 结 果

2.1 miR-320a-5p 对 HFD 小鼠肥胖的影响
0~8 周,3 组小鼠体重比较,差异无统计学意义

($P>0.05$)。12~20 周, HFD 组体重明显高于 MA 组和 ND 组($P<0.05$)。20 周时, 3 组小鼠体重、腰围、外周血 miR-320a-5p 水平比较, 差异有统计学意义($P<0.05$), 且 MA 组腰围明显小于 HFD 组, miR-320a-5p 水平明显高于 HFD 组, 见图 1。

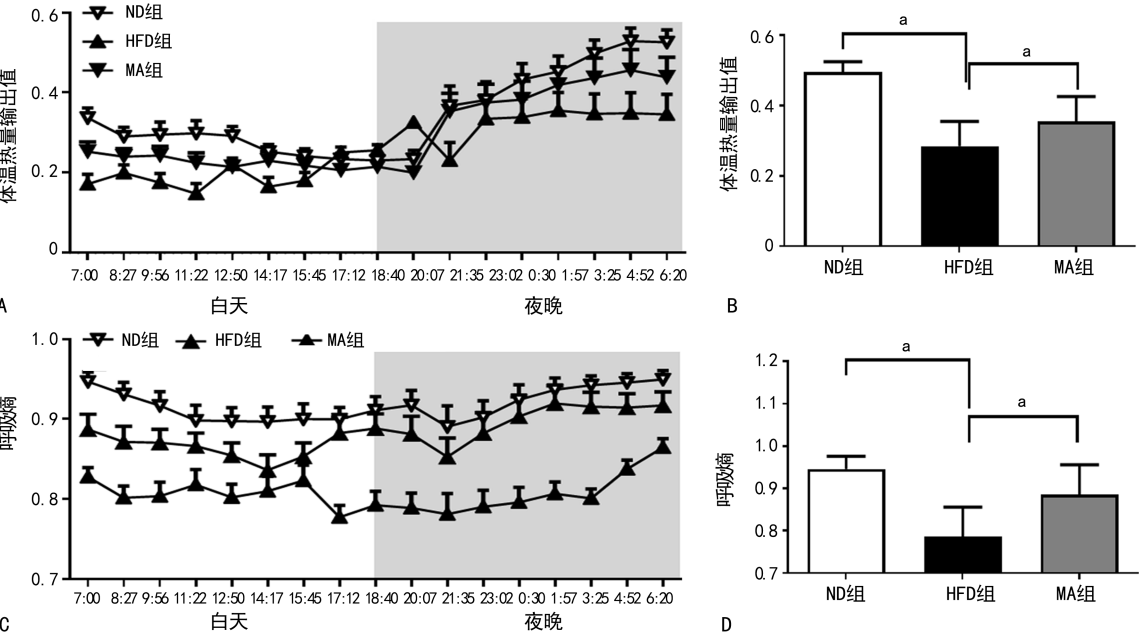
2.2 miR-320a-5p 对 HFD 小鼠代谢的影响

3 组小鼠体温热量输出值和呼吸熵比较, 差异有统计学意义($P<0.05$)。与 HFD 组比较, ND 组和 MA 组体温热量输出值和呼吸熵明显增高($P<0.05$), 见图 2。



A: 小鼠体重变化曲线; B: 20 周时, 小鼠外观图; C: 20 周时, 小鼠腰围统计分析柱状图; D: 20 周时, 小鼠外周血 miR-320a-5p 相对表达水平统计分析柱状图; ^a: $P<0.05$ 。

图 1 miR-320a-5p 对 HFD 小鼠肥胖的影响



A: 小鼠体温热量输出值变化曲线; B: 小鼠体温热量输出值统计分析柱状图; C: 小鼠呼吸熵变化曲线; D: 小鼠呼吸熵统计分析柱状图; ^a: $P<0.05$ 。

图 2 miR-320a-5p 对 HFD 小鼠代谢的影响

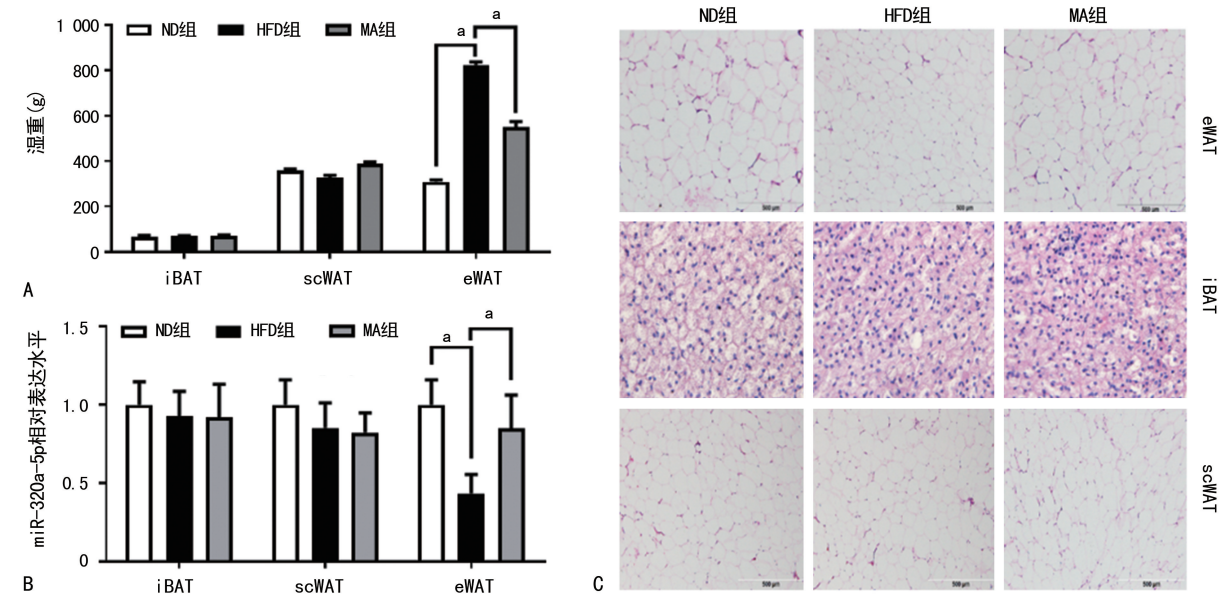
2.3 miR-320a-5p 对 HFD 小鼠脂肪组织再生的影响

3 组小鼠 iBAT、scWAT 湿重和 miR-320a-5p 水平比较,差异无统计学意义($P>0.05$),而 3 组 eWAT 湿重和 miR-320a-5p 水平比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。与 ND 组比较,HFD 组 eWAT 湿重明显升高,但 eWAT 中 miR-320a-5p 水平明显降低($P<0.05$)。MA 组 eWAT 湿重明显低于 HFD 组,但 eWAT 中 miR-320a-5p 水平明显高于 HFD 组,差

异有统计学意义($P<0.05$),见图 3。

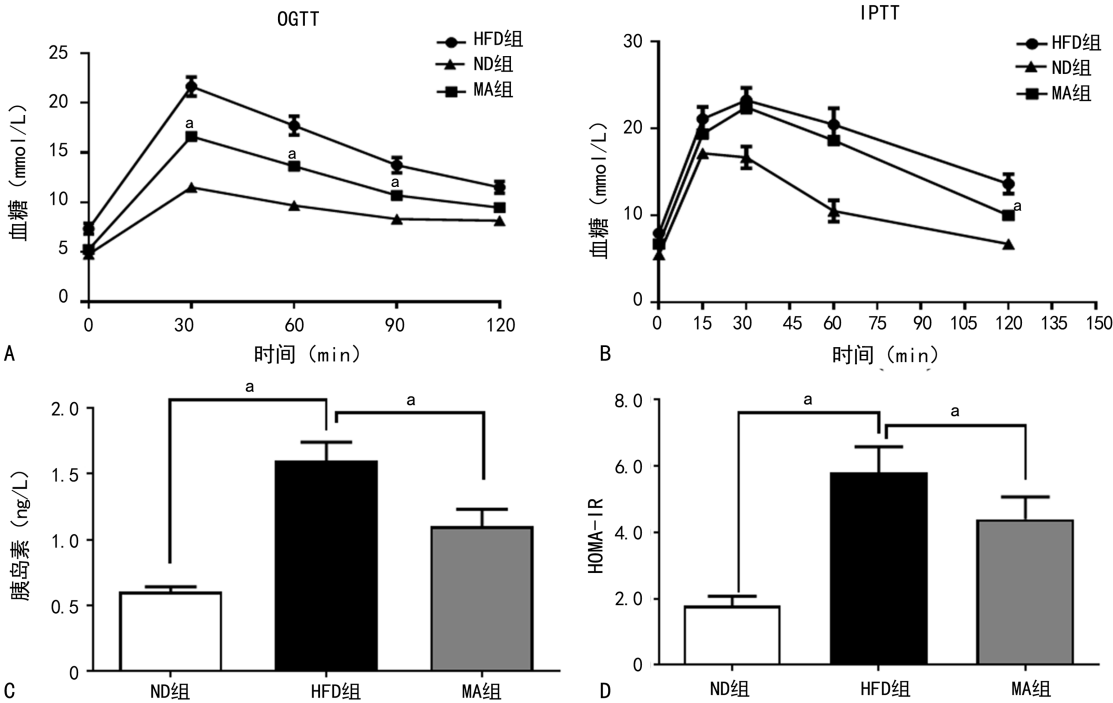
2.4 miR-320a-5p 对 HFD 小鼠 IR 的影响

与 ND 组比较,HFD 组糖耐量降低、血糖清除速率明显减慢、IR 增强;与 HFD 组比较,MA 组糖耐量增高、血糖清除速率加快,而 IR 减弱($P<0.05$)。3 组小鼠胰岛素和 HOMA-IR 比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。与 ND 组比较,HFD 组和 MA 组胰岛素水平和 HOMA-IR 明显增加,但 HFD 组增加更明显,见图 4。



A:小鼠脂肪湿重统计分析柱状图;B:小鼠脂肪 miR-320a-5p 相对表达水平统计分析柱状图;C:小鼠脂肪组织 HE 染色切片($\times 100$);^a: $P<0.05$ 。

图 3 miR-320a-5p 对 HFD 小鼠脂肪组织再生的影响



A:小鼠 OGTT 血糖水平变化曲线;B:小鼠 IPTT 血糖水平变化曲线;C:小鼠外周血胰岛素水平统计分析柱状图;D:小鼠 HOMA-IR 水平统计分析柱状图;^a: $P<0.05$ 。

图 4 miR-320a-5p 对 HFD 小鼠 IR 的影响

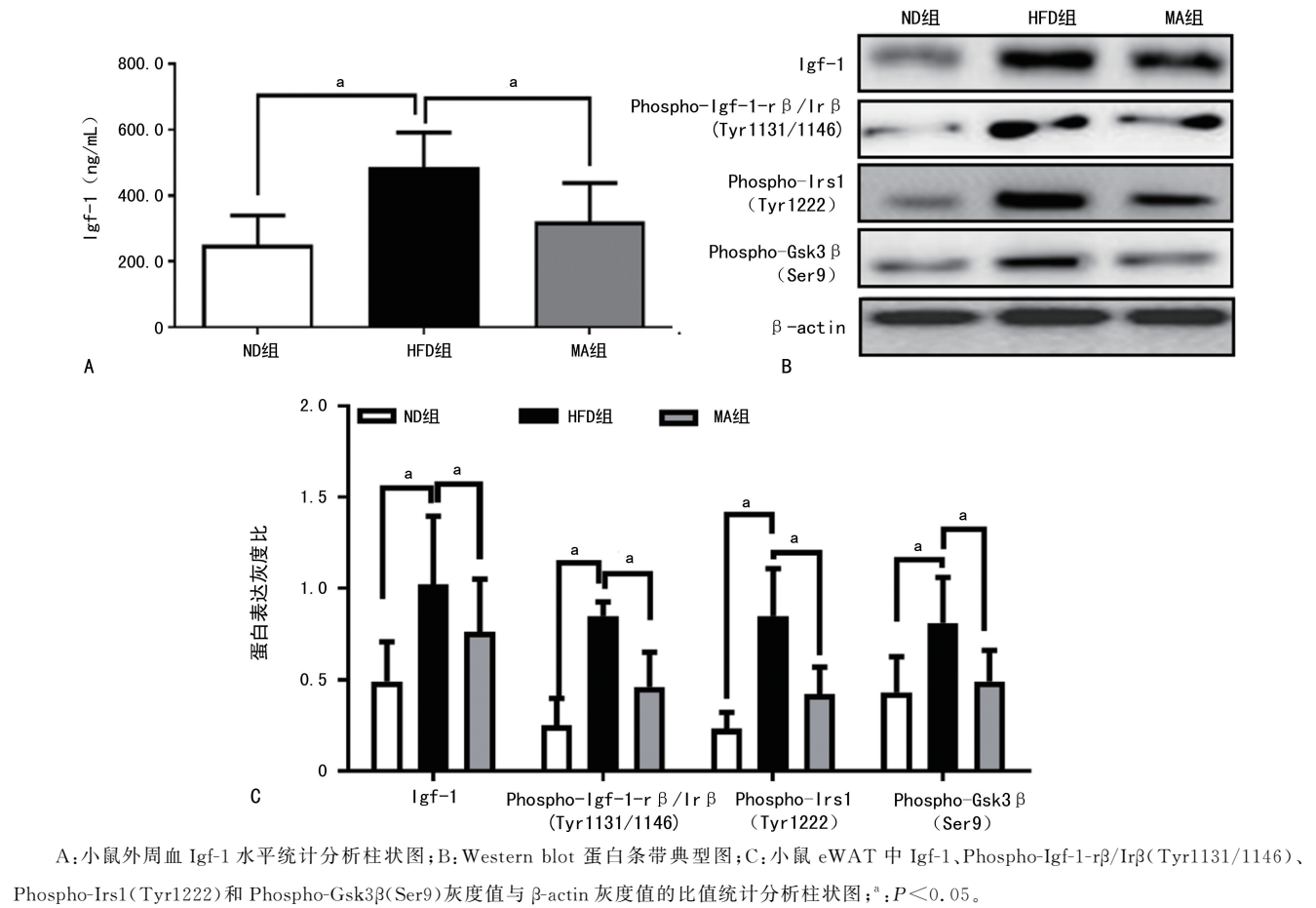


图 5 miR-320a-5p 对 HFD 小鼠 Igf-1 信号通路的影响

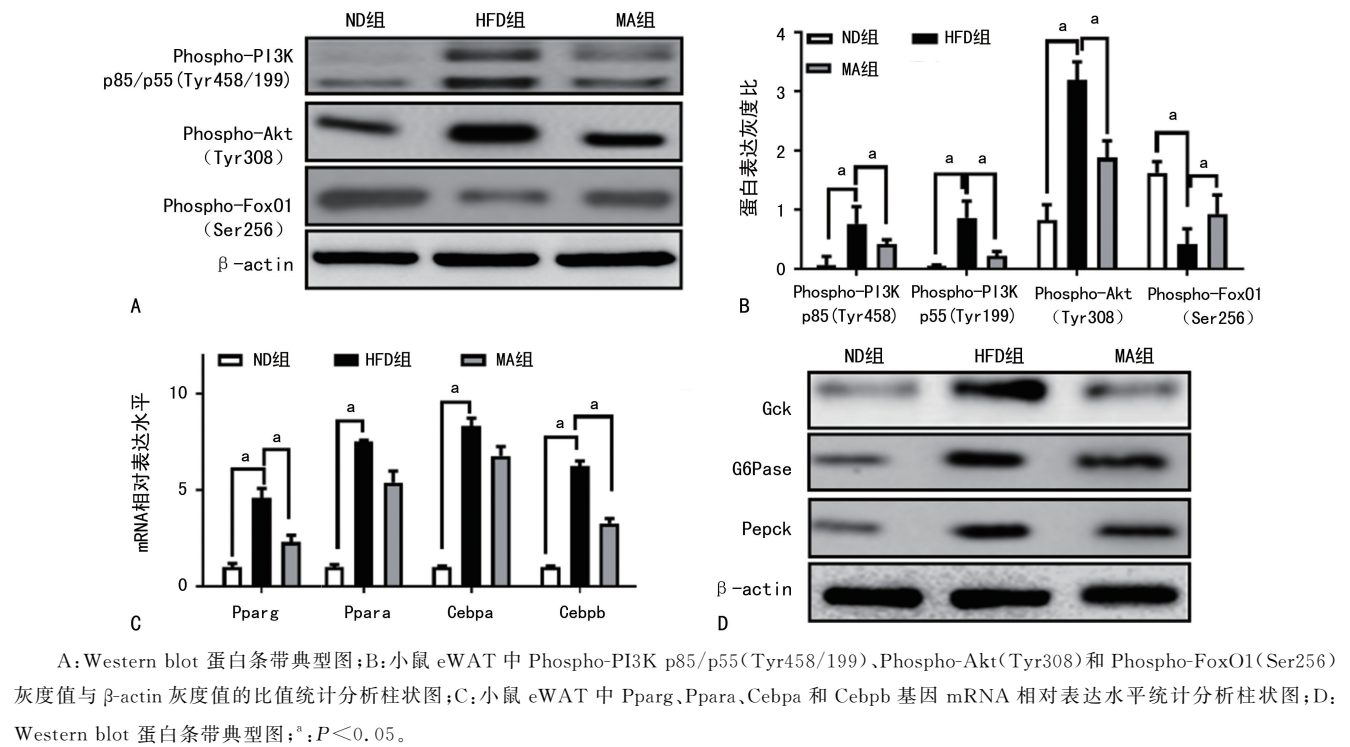


图 6 miR-320a-5p 对 HFD 小鼠 PI3K/Akt 信号通路的影响

2.5 miR-320a-5p 对 HFD 小鼠 Igf-1 信号通路的影响

MA 组外周血 Igf-1 水平及 eWAT 中 Igf-1、Phospho-Igf-1-rβ/Irβ (Tyr1131/1146)、Phospho-Irs1 (Tyr1222)和 Phospho-Gsk3β(Ser9)蛋白表达水平明显高于 ND 组($P<0.05$),但低于 HFD 组,见图 5。

2.6 miR-320a-5p 对 HFD 小鼠 PI3K/Akt 信号通路的影响

MA 组 eWAT 中 Phospho-PI3K p85/p55 (Tyr 458/199)、Phospho-Akt(Thr308)、Gck、G6Pase 和 Pepck 蛋白及 Pparg、Ppara、Cebpa 和 Cebpb 基因 mRNA 表达水平明显高于 ND 组, 低于 HFD 组, 但 Phospho-FoxO1(Ser256)蛋白表达水平明显低于 ND 组, 但高于 HFD 组($P<0.05$), 见图 6。

3 讨 论

有研究发现, 肥胖人群 T2DM 和脂肪肝的患病率明显增加, 其可引起包括 IR、糖脂代谢减慢在内的多种临床病理特征^[10], 若不采取干预措施, 极易发展为 T2DM^[11]。因此, 早期干预肥胖可有效预防或延缓糖尿病的发生。

CHAKRABORTY 等^[12]研究证实, miRNA 在 T2DM 等疾病中发挥重要作用, 其可能参与脂肪细胞增殖、分化, 以及胰岛细胞发育和白色脂肪“米色化”。早期研究发现, miR-320 家族与 T2DM 的发生、发展密切相关^[13], 且体外实验证实 miR-320a-3p 可下调 PI3K/Akt 而抑制白色脂肪细胞分化^[11]。然而, miR-320a-5p 在肥胖发生、发展中的作用及在体效应和机制尚不明确。

研究发现, miR-320a-5p 的下调可能引起肥胖人群 IR、脂肪堆积及脂代谢异常^[14]。因此, 本研究对 HFD 诱导的肥胖小鼠进行尾静脉注射 mmu-miR-320a-5p agomir 干预, 结果发现上调 miR-320a-5p 可明显降低小鼠体重和腰围, 增加体温热量输出值和呼吸熵, 引起代谢加快。同时, 上调 miR-320a-5p 减轻了肥胖小鼠 eWAT 组织湿重, 提示上调 miR-320a-5p 可在体抑制白色脂肪细胞增殖并促进代谢^[15]。其次, 上调 miR-320a-5p 可明显改善肥胖小鼠 IR 和糖耐受。YU 等^[11]研究显示, miR-320 参与 IR 的发生、发展, 其主要作用于 Igf-1 和 PI3K 等蛋白来参与调控 3T3L-1 细胞的 IR。还有研究表明 PI3K 是糖脂代谢的重要调节分子^[16]。因而, 本研究探究 Igf-1/PI3K/Akt/Ppar- γ 信号通路在其中的变化, 证实上调 miR-320a-5p 可降低肥胖小鼠 Igf-1 表达水平。同时, Phospho-Igf-1-r β /Ir β (Tyr1131/1146) 和 Phospho-Irs1(Tyr1222)下调导致 PI3K/Akt 下调, 引起 Phospho-FoxO1 水平升高, 促使下游 G6pase 和 Pepck 介导的糖代谢增加, 抑制 Pparg、Ppara、Cebpa 和 Cebpb 等介导的脂肪细胞再生和增殖。

综上所述, 上调 miR-320a-5p, 特别是当 eWAT 中的 miR-320 高表达时, 可通过下调 Igf-1/PI3K/Akt 增加机体代谢、减轻体重和改善 IR, 这可为肥胖及 T2DM 的治疗提供在体理论指导。

参考文献

- [1] KAHN S E, HULL R L, UTZSCHNEIDER K M. Mechanisms linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes[J]. *Nature*, 2006, 444(7121):840-846.
- [2] SCHIAVO L, Busetto L, CESARETTI M, et al. Nutritional issues in patients with obesity and cirrhosis[J]. *World J Gastroenterol*, 2018, 24(30):3330-3346.
- [3] YANG Z, WU F, HE Y, et al. A novel PTP1B inhibitor extracted from *Ganoderma lucidum* ameliorates insulin resistance by regulating IRS1-GLUT4 cascades in the insulin signaling pathway[J]. *Food Funct*, 2018, 9(1):397-406.
- [4] DING L, SONG A, DAI M, et al. Serum lipoprotein (a) concentrations are inversely associated with T2D, prediabetes, and insulin resistance in a middle-aged and elderly Chinese population[J]. *J Lipid Res*, 2015, 56(4):920-926.
- [5] KIM H J, KANG C K, PARK H, et al. Effects of vitamin D supplementation and circuit training on indices of obesity and insulin resistance in T2D and vitamin D deficient elderly women[J]. *J Exerc Nutrition Biochem*, 2014, 18(3):249-257.
- [6] JONES A, DANIELSON K M, BENTON M C, et al. MiRNA signatures of insulin resistance in obesity[J]. *Obesity (Silver Spring)*, 2017, 25(10):1734-1744.
- [7] JORDAN S D, KRÜGER M, WILLMES D M, et al. Obesity-induced overexpression of miRNA-143 inhibits insulin-stimulated AKT activation and impairs glucose metabolism[J]. *Nat Cell Biol*, 2011, 13(4):434-446.
- [8] SHI C, HUANG F, GU X, et al. Adipogenic miRNA and meta-signature miRNAs involved in human adipocyte differentiation and obesity[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(26):40830-40845.
- [9] CAPOBIANCO V, NARDELLI C, FERRIGNO M, et al. MiRNA and protein expression profiles of visceral adipose tissue reveal miR-141/YWHAG and miR-520e/RAB11A as two potential miRNA/protein target pairs associated with severe obesity[J]. *J Proteome Res*, 2012, 11(6):3358-3369.

- [5] LI Y J, WANG Y, WANG Y Y. MicroRNA-99b suppresses human cervical cancer cell activity by inhibiting the PI3K/Akt/mTOR signaling pathway[J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(6): 9577-9591.
- [6] CHEN Y, ZHENG X, WANG Y, et al. Effect of PI3K/Akt/mTOR signaling pathway on JNK3 in Parkinsonian rats[J]. *Exp Ther Med*, 2019, 17(3): 1771-1775.
- [7] 丁亦含, 李玉峰. 酪氨酸激酶抑制剂治疗慢性髓系白血病疗效预测的研究进展[J]. *中国实验血液学杂志*, 2017, 25(1): 249-254.
- [8] 张华, 张松泉, 王艳, 等. 表皮生长因子受体酪氨酸激酶抑制剂对大鼠尘肺纤维化干预的研究[J]. *中华劳动卫生职业病杂志*, 2019, 37(6): 408-415.
- [9] 张乾坤, 郝吉庆. TP53/EGFR 基因共突变对肺腺癌患者 EGFR-TKIs 疗效的影响[J]. *安徽医科大学学报*, 2019, 54(6): 967-971.
- [10] 李海霞, 王子奇, 张国伟, 等. 第一代表皮生长因子受体酪氨酸激酶抑制剂与含铂化疗一线治疗表皮生长因子受体罕见突变阳性晚期肺腺癌患者的疗效[J]. *中华肿瘤杂志*, 2019, 41(10): 783-791.
- [11] 刘梦, 陈琦. PI3K/Akt/mTOR 信号通路及其相关抑制剂在急性髓系白血病中的作用[J]. *海南医学*, 2016, 16(20): 3367-3369.
- [12] 黄深巧, 张少华, 王文静, 等. 重症胆源性胰腺炎预后情况及影响因素分析[J]. *解放军医药杂志*, 2019, 31(5): 82-85.
- [13] 赵光辉, 宋晓旭, 刘宁, 等. PI3K/Akt/MTOR 信号通路抑制剂在胃癌中的研究进展[J]. *癌症进展*, 2019, 17(9): 1003-1007.
- [14] 焦宁, 陈冲, 徐瑞荣. 益气养阴方及其拆方对急性髓细胞白血病小鼠细胞凋亡及相关蛋白的影响[J]. *中国中医药信息杂志*, 2014, 21(2): 42-45.
- [15] ELBADAWY M, USUI T, YAMAWAKI H, et al. Emerging roles of c-myc in cancer stem cell-related signaling and resistance to cancer chemotherapy: a potential therapeutic target against colorectal cancer[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(9): 2340.

(收稿日期: 2019-12-08 修回日期: 2020-03-06)

(上接第 2611 页)

- [10] LING H Y, OU H S, FENG S D, et al. CHANGES in microRNA (miR) profile and effects of miR-320 in insulin-resistant 3T3-L1 adipocytes[J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2009, 36(9): e32-39.
- [11] YU J, LV Y, DI W, et al. MiR-27b-3p regulation in browning of human visceral adipose related to central obesity [J]. *Obesity (Silver Spring)*, 2018, 26(2): 387-396.
- [12] CHAKRABORTY C, DOSS C G, BANDYOPADHYAY S, et al. Influence of miRNA in insulin signaling pathway and insulin resistance: micro-molecules with a major role in type-2 diabetes[J]. *Wiley Interdiscip Rev RNA*, 2014, 5(5): 697-712.
- [13] YAN S, WANG T, HUANG S, et al. Differential expression of microRNAs in plasma of patients with prediabetes and newly diagnosed type 2 diabetes[J]. *Acta Diabetol*, 2016, 53(5): 693-702.
- [14] GUO Y, ZHANG X, HUANG W, et al. Identification and characterization of differentially expressed miRNAs in subcutaneous adipose between Wagyu and Holstein cattles[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(8): 44026.
- [15] HAMAM D, ALI D, VISHNUBALAJI R, et al. microRNA-320/RUNX2 axis regulates adipocytic differentiation of human mesenchymal (skeletal) stem cells[J]. *Cell Death Dis*, 2014, 5(12): e1499.
- [16] DIHINGIA A, OZAH D, GHOSH S, et al. Vitamin K1 inversely correlates with glycemia and insulin resistance in patients with type 2 diabetes (T2D) and positively regulates SIRT1/AMPK pathway of glucose metabolism in liver of T2D mice and hepatocytes cultured in high glucose[J]. *J Nutr Biochem*, 2018, 52(8): 103-114.

(收稿日期: 2020-01-08 修回日期: 2020-03-01)