



河南師範大學

NENAN NORMAL UNIVERSITY

读书报告

汇报学生：吴胜奎

汇报时间：2019年8月4日

Akkermansia muciniphila can reduce the damage of gluco/lipotoxicity, oxidative stress and inflammation, and normalize intestine microbiota in streptozotocin-induced diabetic rats

Ling Zhang, Qianqian Qin, Manni Liu, Xiangling Zhang, Fang He and Guoqing Wang*

West China School of Public Health, Sichuan University, Chengdu, Sichuan 610041, P.R. China

*Akkermansia muciniphila*能减轻链脲佐菌素诱导的糖尿病大鼠的糖脂毒性，氧化应激，炎症损伤，并使肠道微生物群正常化

IF=2.18



目录

CONTENTS

- 1/ 研究背景
- 2/ 材料方法
- 3/ 结果分析
- 4/ 讨 论

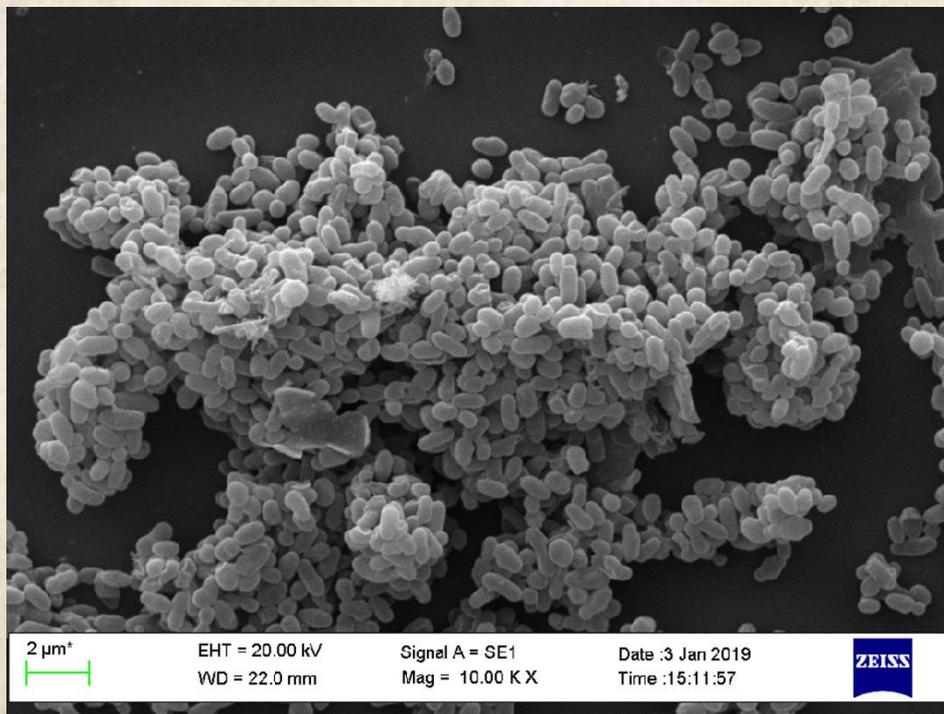




PART ONE

绪论

*Akkermansia muciniphila*属于疣微菌门，*Akkermansiaceae*科，*Akkermansia*属。2004年，Derrien利用猪肠黏蛋白作为选择培养基首次从人体粪便中分离出。



是一种椭圆形的革兰氏阴性细菌，严格厌氧，不运动，不形成内生孢子。主要的生长代谢基质为黏蛋白，由宿主胃肠道组织中杯状细胞分泌。



研究背景





研究背景

研究背景

成千上万的微生物存在于胃肠道中，通常与宿主保持和谐共存，并在调节宿主的新陈代谢，免疫力和其他生理过程中发挥重要作用（Cani和Delzenne 2009）。 *Akkermansia muciniphila* 广泛分布于人体肠道，占肠道总微生物的1%-4%（Collado 等人，2007）。作为粘蛋白降解细菌，*A. muciniphila* 能够使用粘蛋白作为其唯一的碳和氮源（Derrien 等人，2004），并且粘蛋白降解反过来导致产生粘蛋白的杯状细胞的粘蛋白分泌增加，从而增厚粘蛋白层。许多相关研究发现肥胖和2型糖尿病（T2DM）患者的 *A. muciniphila* 丰度下降（Karlsson 等人2012；Le Chatelier 等人2013；Ellekilde 等人2014年）。



研究背景

越来越多的证据表明，糖脂毒性，低度炎症，氧化应激和内质网应激导致 β 细胞丢失和胰岛素抵抗，在T2DM发病机制中发挥关键作用（Eizirik, Miani和Cardozo 2013）。此外，最近的研究表明与每天口服*A. muciniphila*到HFD喂养小鼠明显改善葡萄糖耐量，这表明对2型糖尿病的潜在积极作用。因此，本研究调查了*A. muciniphila*与T2DM之间的关系以及影响*A. muciniphila*对T2DM的作用机制。



材料方法



实验分组

体重160-180g (6-8周龄) 的雄性SD大鼠并在受控的温度 (22°C) 和相对湿度 (55%) 条件下保持12: 12小时光照

NCD组

饲喂正常的饲料。饮食干预4周后, 所有大鼠禁食6小时; 大鼠腹腔注射缓冲液, 剂量仅为1 ml / kg 。

HFD组

饮食干预4周后, 所有大鼠禁食6小时; 随后, HFD喂养的大鼠腹腔注射 (ip) 低剂量链脲佐菌素 (STZ, 40 mg / kg体重)



实验分组

(i) 正常对照组 (NC), 其中每天用0.5ml含有2.5%甘油的无菌PBS通过口服强饲法治疗大鼠

(ii) 正常的高剂量组 (NH), 其中大鼠每天口服活的*A. muciniphila* ($5 \times 10^8 / 0.5\text{ml}$)

(i) 糖尿病对照组 (DC), 与NC组相似; (ii) 糖尿病高剂量组 (DH), 与NH组相似; (iii) 糖尿病低剂量组 (DL), 其中每天用活的*A. muciniphila* ($5 \times 10^6 / 0.5\text{ml}$)

(iv) 糖尿病巴氏灭菌组 (DP), 其中通过口服强饲法每天用巴氏灭菌的*A. muciniphila* ($5 \times 10^6 / 0.5\text{ml}$) (v) 糖尿病二甲双胍组 (DM), 200mg / kg /天的二甲双胍。

NCD组



HFD组

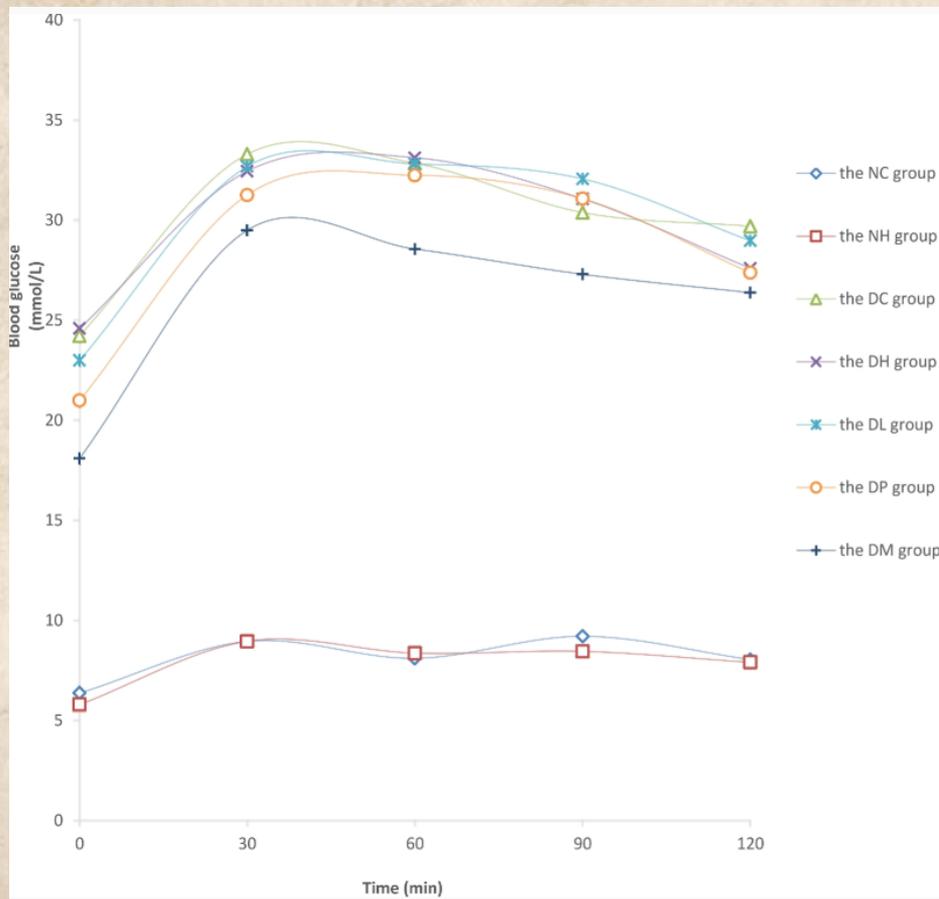




结果分析



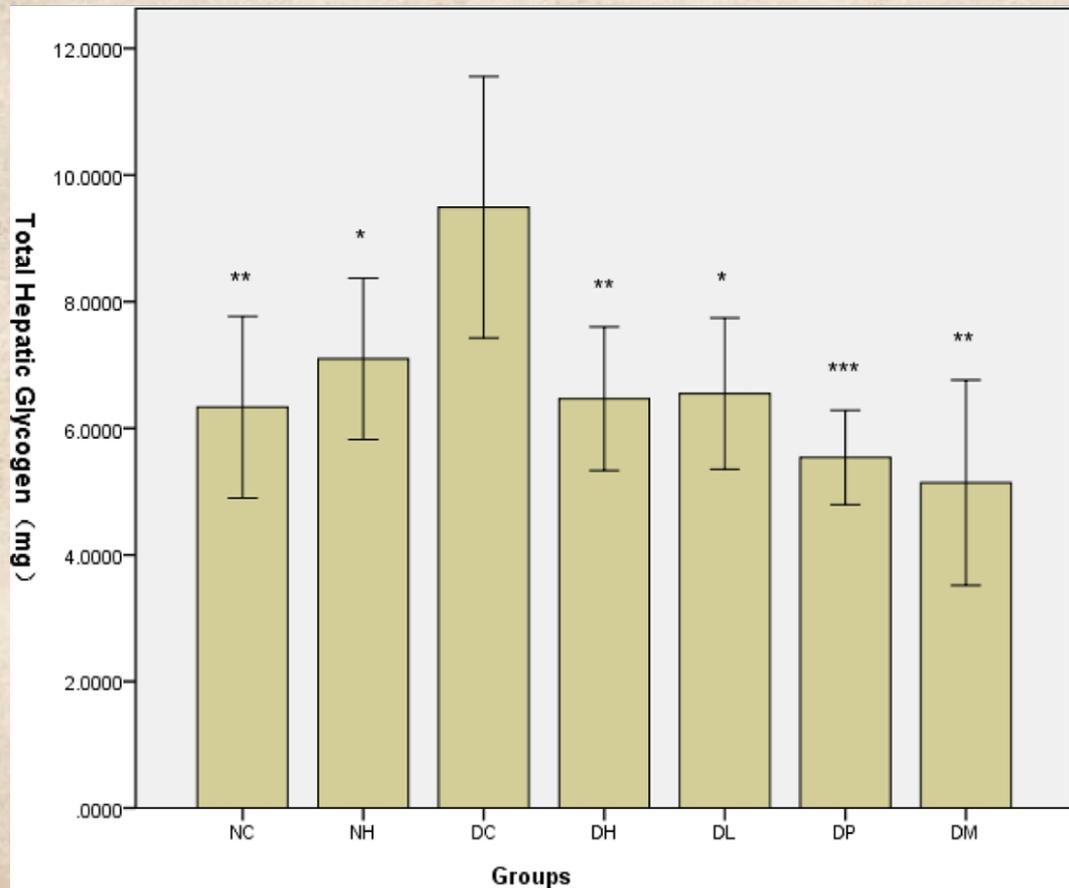
口服葡萄糖耐量试验 (OGTT)



在处死大鼠前一天进行OGTT，并显示NCD和HFD / STZ组之间的差异；与HFD / STZ组相比，NCD组显示出更缓和的波动和更低的峰值。NC和NH组之间未观察到显著差异。



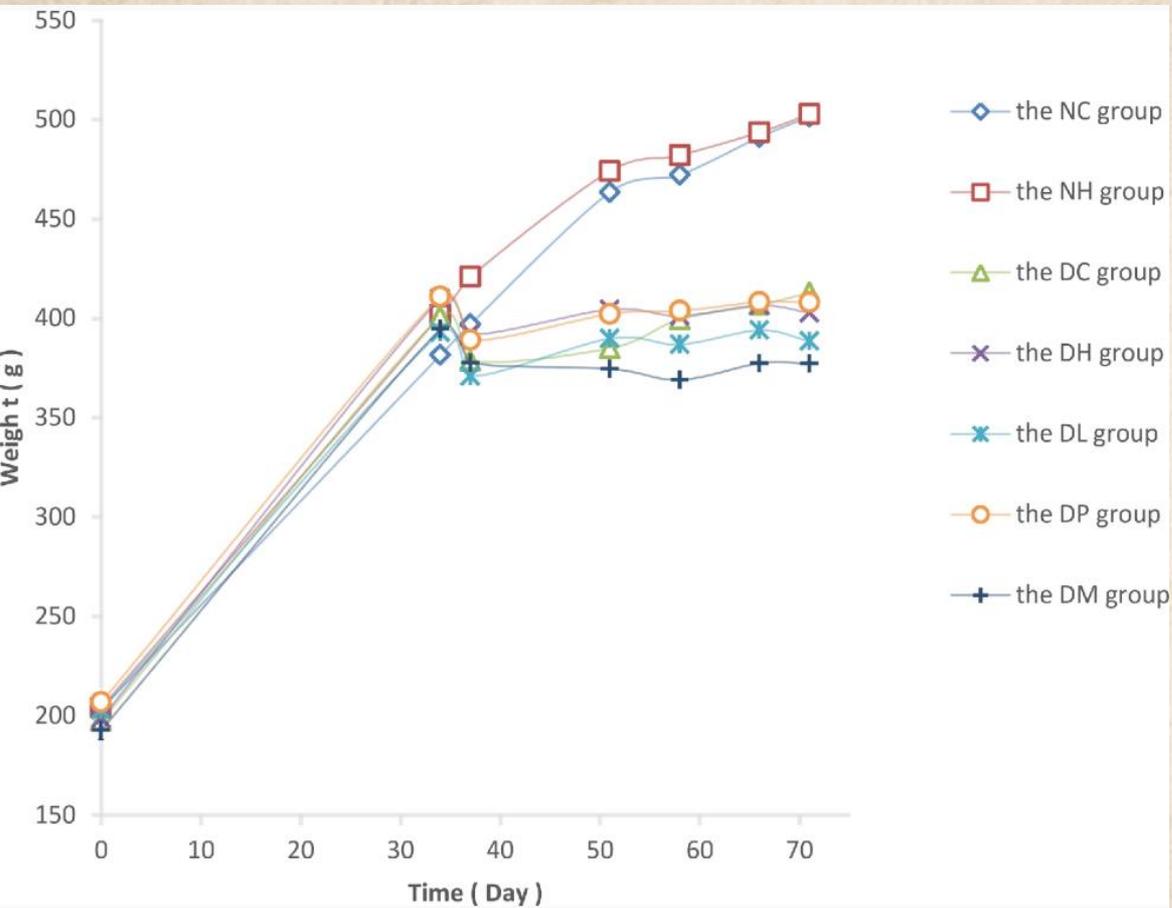
总肝脏糖原水平



总肝脏糖原水平在NC组和NH组之间没有显著差异，表明口服*A. muciniphila*的正常大鼠对肝糖原水平几乎没有影响。然而，与DC组相比，NC，DH，DL，DP和DM组的肝糖原水平显著降低。



身体成分指数



饮食一个月后，NCD和HFD组之间的体重没有显著差异，注射STZ后，NCD组和HFD / STZ组的体重不同，HFD / STZ组显示出比NCD组更低且更稳定的体重。



炎症标志物

Data of inflammatory cytokines measured and statistical analyzed results.

| | TNF- α (pg/mL) | LPS (EU/L) | CRP (μ g/L) | IL-1 β (pg/mL) | IL-6 (pg/mL) |
|-------------|-----------------------|-----------------------|---------------------|----------------------|--------------------|
| NC (n = 12) | 226.6 \pm 3.415 | 223.5 \pm 10.62 | 9.886 \pm 7.927** | 34.28 \pm 2.613** | 35.09 \pm 2.038 |
| NH (n = 15) | 207.5 \pm 4.692 | 226.7 \pm 4.532 | 11.36 \pm 9.709* | 29.44 \pm 1.697* | 35.70 \pm 0.6240 |
| DC (n = 7) | 214.9 \pm 10.40 | 220.5 \pm 5.091 | 14.86 \pm 14.52 | 20.30 \pm 0.8805 | 38.07 \pm 1.393 |
| DH (n = 13) | 182.4 \pm 4.879** | 207.8 \pm 5.698 | 14.43 \pm 13.58 | 22.21 \pm 1.145 | 37.44 \pm 1.726 |
| DL (n = 12) | 182.6 \pm 4.497** | 149.16 \pm 6.699*** | 11.76 \pm 9.803 | 20.03 \pm 1.561 | 36.05 \pm 1.939 |
| DP (n = 13) | 152.1 \pm 3.699*** | 137.3 \pm 4.0600*** | 12.26 \pm 10.00 | 19.811 \pm 0.8266 | 39.18 \pm 1.533 |
| DM (n = 5) | 142.5 \pm 12.47*** | 143.6 \pm 4.706*** | 12.03 \pm 1.269 | 20.49 \pm 2.914 | 38.16 \pm 0.8097 |



抗氧化因子

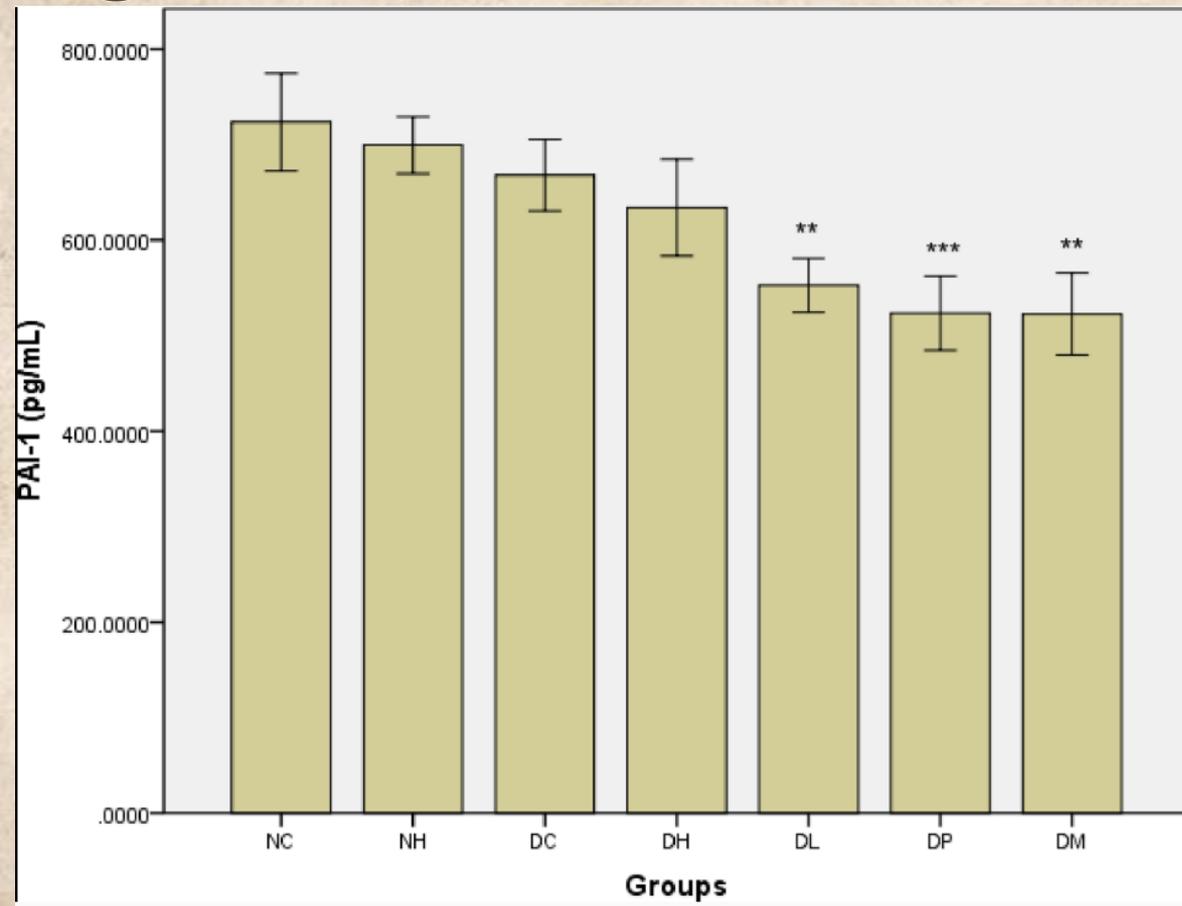
Data of antioxidant factors measured and statistical analyzed results.

| | SOD vitality (U/mL) | SOD inhibition ratio (%) | NO ($\mu\text{mol/L}$) | MDA (nmol/mL) | GSH ($\mu\text{mol/L}$) |
|-------------|---------------------|--------------------------|--------------------------|----------------------|---------------------------|
| NC (n = 12) | 18.69 \pm 0.1510 | 77.86 \pm 0.6276 | 2.797 \pm 0.8030 | 7.331 \pm 6.117*** | 2182 \pm 366.1 |
| NH (n = 15) | 18.33 \pm 0.1161 | 76.38 \pm 0.4838 | 2.878 \pm 0.2826 | 8.349 \pm 7.334** | 2648 \pm 176.7 |
| DC (n = 7) | 18.00 \pm 0.3602 | 75.02 \pm 1.502 | 3.026 \pm 0.5789 | 12.68 \pm 5.523 | 1903 \pm 236.5 |
| DH (n = 13) | 17.87 \pm 0.1781 | 74.44 \pm 0.7447 | 2.904 \pm 0.3839 | 10.28 \pm 9.516 | 2478 \pm 346.7 |
| DL (n = 12) | 17.96 \pm 0.1295 | 74.83 \pm 0.5401 | 1.867 \pm 0.2592 | 9.312 \pm 8.606* | 2245 \pm 101.1 |
| DP (n = 13) | 17.80 \pm 0.3156 | 74.16 \pm 1.316 | 3.008 \pm 0.5856 | 8.065 \pm 6.776** | 2723 \pm 493.2 |
| DM (n = 5) | 18.20 \pm 0.5240 | 75.84 \pm 2.184 | 2.094 \pm 0.6627 | 6.974 \pm 4.785** | 2173 \pm 254.8 |

与对照组相比，所有非对照组的血清SOD，NO和GSH水平均无显著差异。MDA（脂质氧化的中间产物）的水平在DC组中显著高于NC组。此外，DL，DP和DM组中MDA水平显著低于DC组。口服给予高剂量活A. muciniphila的糖尿病大鼠倾向于产生较低水平的MDA，但与DC组相比，这些水平没有显著差异。



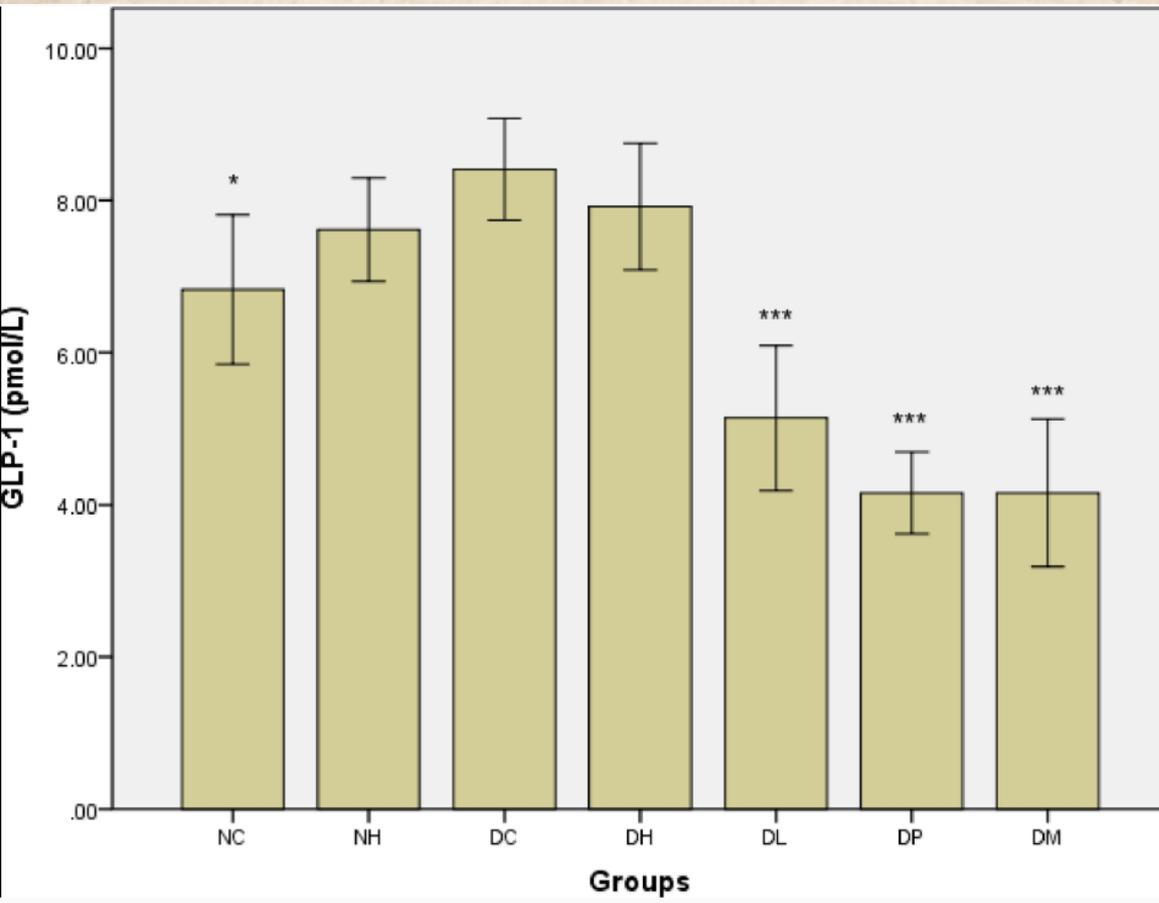
PAI-1水平



NC组和DC组之间无显著差异，表明HFD / STZ诱导的糖尿病大鼠对空腹胰岛素分泌的影响不大 ($P > 0.05$)。DC组血清PAI-1水平与NC组无显著差异，但往往显著高于DL，DP和DM组



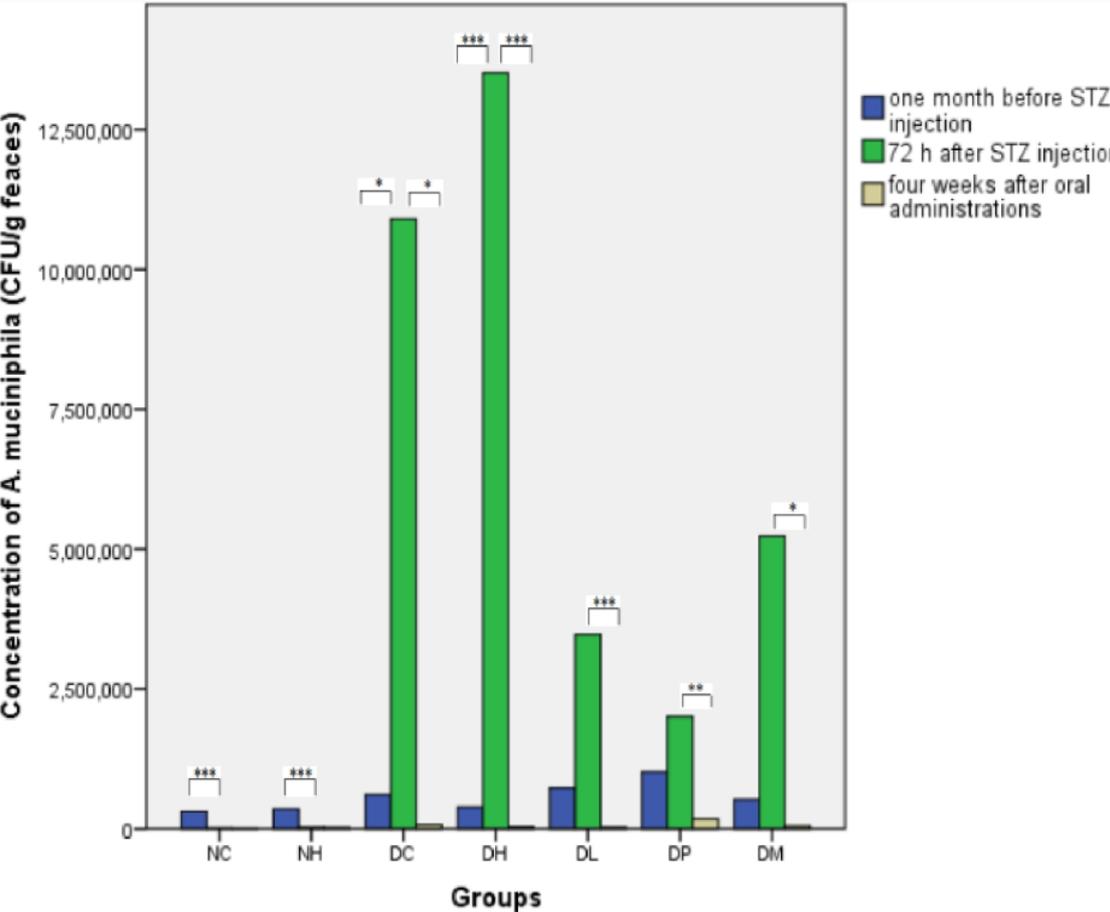
GLP-1



与DC组相比, NC, DL, DP和DM组显示血清总GLP-1水平显著降低。



A. Muciniphila丰度的变化



粪便中的*A. muciniphila*的 qPCR HFD / STZ (72小时后) 组在*A. muciniphila*中显示出显著高于NC组的丰度。然而, 这种现象在个体中是不同的, 因为在DC组和一些HFD / STZ (72小时后) 组之间观察到显著差异。

Data of *A. muciniphila* in feces measured by qPCR.

| <i>A. muciniphila</i> ($\times 10^4$ cfu/g feces) | | | |
|--|------------------------------|--------------------------|--------------------------------------|
| | 1 month before STZ injection | 72 h after STZ injection | Four weeks after oral administration |
| NC (n = 12) | 20.8 (14.82–41.50) | 1.335 (0.4820–2.770)** | 0.679 (0.2950–1.03) |
| NH (n = 15) | 58.95 (11.25–120.2) | 1.52 (0.9137–4.032) | 1.06 (0.3560–4.830) |
| DC (n = 7) | 26.2 (13.15–60.67) | 1090 (746–2560) | 2.41 (0.5270–6.005) |
| DH (n = 13) | 34.75 (5.635–70.05) | 732 (258.7–2350) | 1.55 (0.8810–2.77) |
| DL (n = 12) | 51.9 (16.05–74.30) | 91.4 (38.25–1365) | 1.71 (0.4110–4.230) |
| DP (n = 13) | 97.2 (15.00–130.5) | 72.05 (26.10–301.2)** | 2.049 (0.6222–7.532) |
| DM (n = 5) | 55.8 (8.685–146.7) | 204.5 (37.70–840.5) | 58.8 (4.660–108.0) |

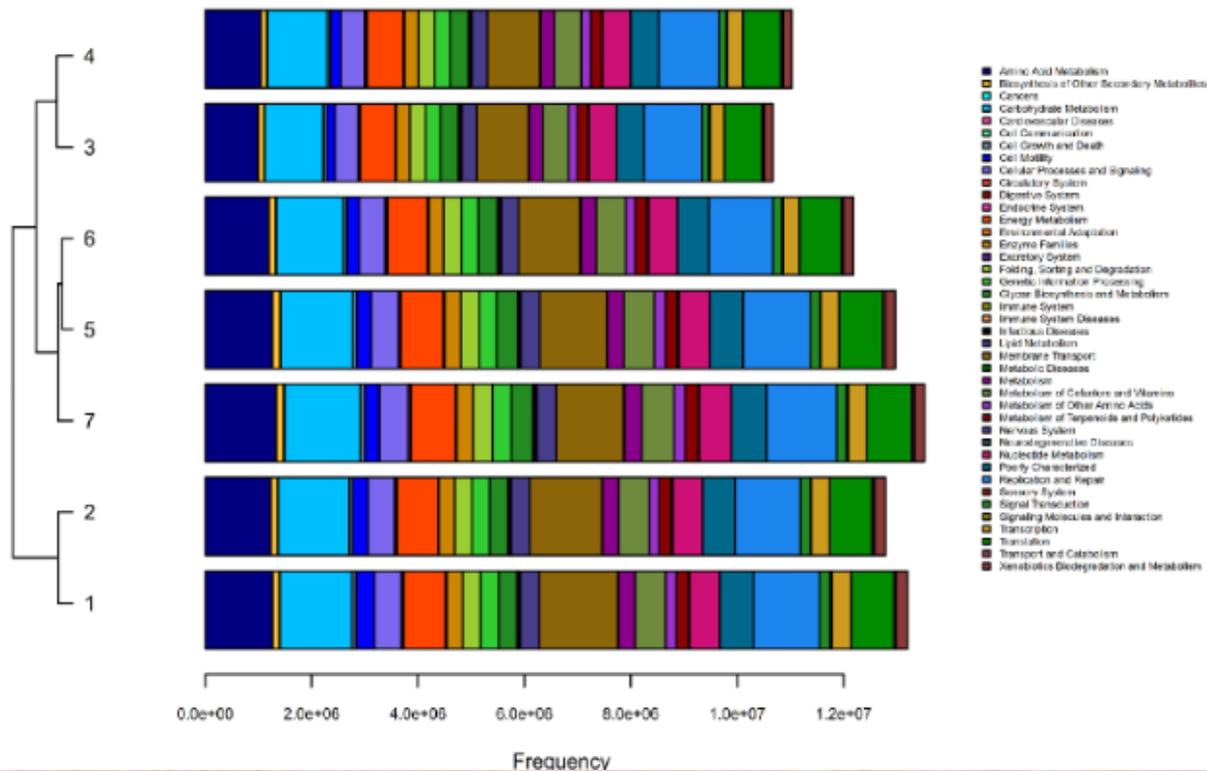
从时间跨度来看，NC和NH组中*A. muciniphila*的丰度从6-8周龄到10-12周显着下降，并在接下来的4周内保持稳定，表明口服给予活*A. muciniphila*对其在大鼠肠道中的定植几乎没有影响。



预测功能基因

similarity

Composition



与DC组相比，
DP组与运输和
分解代谢相关
的基因频率显
着更高
($P < 0.05$)。



肠道菌群的变化

Data of metagenome sequencing measured and statistical analyzed results.

| | Species alpha diversity | | Phylum ratio (%) | | | | <i>Verrucomicrobia</i> | <i>Candidatus Saccharibacteria</i> |
|------------|-------------------------|-----------------|----------------------|---------------------|-----------------------|-----------------------|------------------------|------------------------------------|
| | ACE_index | Shannon_index | <i>Bacteroidetes</i> | <i>Firmicutes</i> | <i>Proteobacteria</i> | <i>Actinobacteria</i> | | |
| NC (n = 5) | 1289 ± 86.78* | 4.346 ± 0.1592* | 52.36 (24.88–54.44) | 46.46 (44.33–68.17) | 0.85 (0.8–6.82) | 0.06 (0.03–0.21) | 0 (0–0)* | 0.1 (0.015–0.175)* |
| NH (n = 5) | 1377 ± 41.95 | 4.238 ± 0.1862 | 44.28 (34.00–64.77) | 54.59 (33.01–64.14) | 1.35 (0.89–1.43) | 0.07 (0.04–0.72) | 0 (0–0.015) | 0 (0–0.25) |
| DC (n = 5) | 1053 ± 48.42 | 3.164 ± 0.3111 | 67.05 (44.72–69.60) | 31.82 (29.42–52.71) | 0.79 (0.68–1.95) | 0.29 (0.08–0.63) | 0.01 (0.005–0.07) | 0 (0–0) |
| DH (n = 5) | 1165 ± 44.46 | 3.165 ± 0.1899 | 66.84 (55.78–70.96) | 31.78 (27.10–40.61) | 1.02 (0.92–1.24) | 0.86 (0.46–2.32)* | 0.01 (0.005–0.2) | 0 (0–0) |
| DL (n = 5) | 1143 ± 71.24 | 3.608 ± 0.3750 | 63.29 (47.55–65.65) | 35.93 (33.57–51.16) | 0.69 (0.32–1.19) | 0.07 (0.035–0.175) | 0 (0–0.015) | 0.03 (0–0.155) |
| DP (n = 5) | 1168 ± 50.70 | 3.986 ± 0.2015 | 56.08 (53.87–58.97) | 40.57 (37.55–42.22) | 1.59 (1.20–2.88) | 0.2 (0.85–0.65) | 0.09 (0.01–0.48) | 0 (0–0.005) |
| DM (n = 5) | 1033 ± 38.82 | 3.658 ± 0.2398 | 65.74 (51.7–72.61) | 29.71 (23.31–45.86) | 2.93 (0.7–5.27) | 0.13 (0.11–0.24) | 0.28 (0.07–0.63)* | 0 (0–0) |



论文总结





讨论



巴氏灭菌的*A. muciniphila*似乎比活的*A. muciniphila*更有效，它是为何以及如何增强*A. muciniphila*的作用仍有待阐明。基于Plovier的研究，它可能与外膜蛋白Amuc_1100 *有关，它在70°C时是稳定的，这表明巴氏灭菌通过增加Amuc_1100 *对宿主的可及性来增强*A. muciniphila*的作用。巴氏杀菌可能代表一种提高治疗效果的创新方法。



而低剂量的活*A. muciniphila*似乎比抵抗HFD处理的效果的高剂量更有效。低剂量如何增强活的*A. muciniphila*的作用仍有待阐明。并且最佳剂量的活*A. muciniphila*仍有待测试

敬请各位批评指正

