

# [ 读书报告 ]

闫潇 2017.7.23

# CONTENTS

1

实验内容

2

结果

3

结论

4

心得



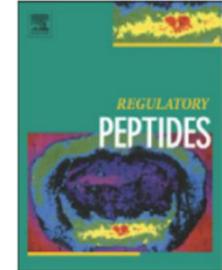
ELSEVIER

Contents lists available at ScienceDirect

# Regulatory Peptides

IF:1.833

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/regpep](http://www.elsevier.com/locate/regpep)



## Apelin is a novel islet peptide

Camilla Ringström<sup>a</sup>, Marloes Dekker Nitert<sup>b</sup>, Hedvig Bennet<sup>b</sup>, Malin Fex<sup>b</sup>, Philippe Valet<sup>c</sup>, Jens F. Rehfeld<sup>d</sup>, Lennart Friis-Hansen<sup>d</sup>, Nils Wierup<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> Department of Experimental Medical Science, Lund University, Lund, Sweden

<sup>b</sup> Lund University Diabetes Center, Department of Clinical Science, Malmö, Sweden

<sup>c</sup> Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (INSERM), Université de Toulouse, Toulouse, France

<sup>d</sup> Department of Biochemistry, Rigshospitalet, Copenhagen University, Copenhagen, Denmark

### ARTICLE INFO

#### Article history:

Received 18 June 2009

Received in revised form 9 March 2010

Accepted 16 March 2010

Available online 24 March 2010

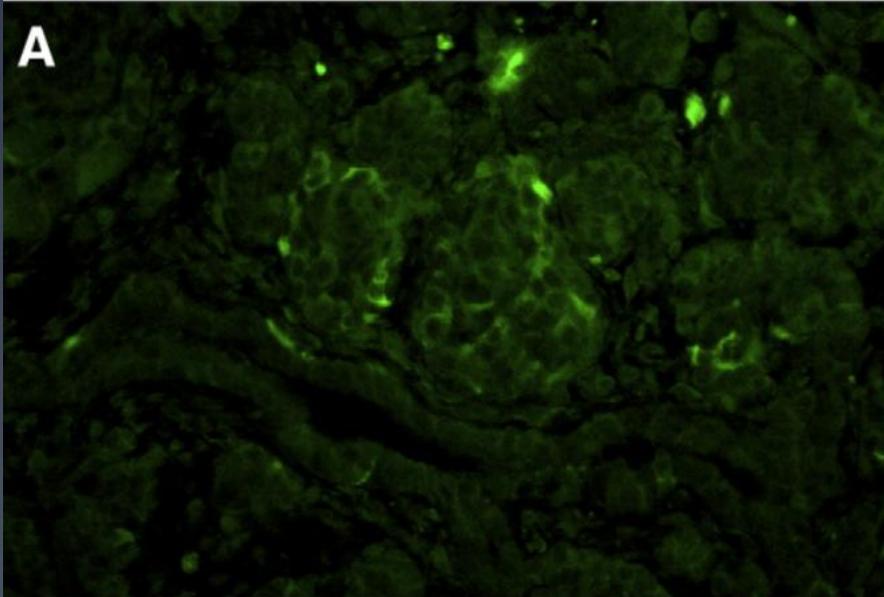
### ABSTRACT

Apelin, a recently discovered peptide with wide tissue distribution, regulates feeding behavior, improves glucose utilization, and inhibits insulin secretion. We examined whether apelin is expressed in human islets, as well as in normal and type 2 diabetic (T2D) animal islets. Further, we studied islet apelin regulation and the effect of apelin on insulin secretion. Apelin expression and regulation was examined in human and animal specimens using immunocytochemistry, *in situ* hybridization, and real-time PCR. Insulin secretion

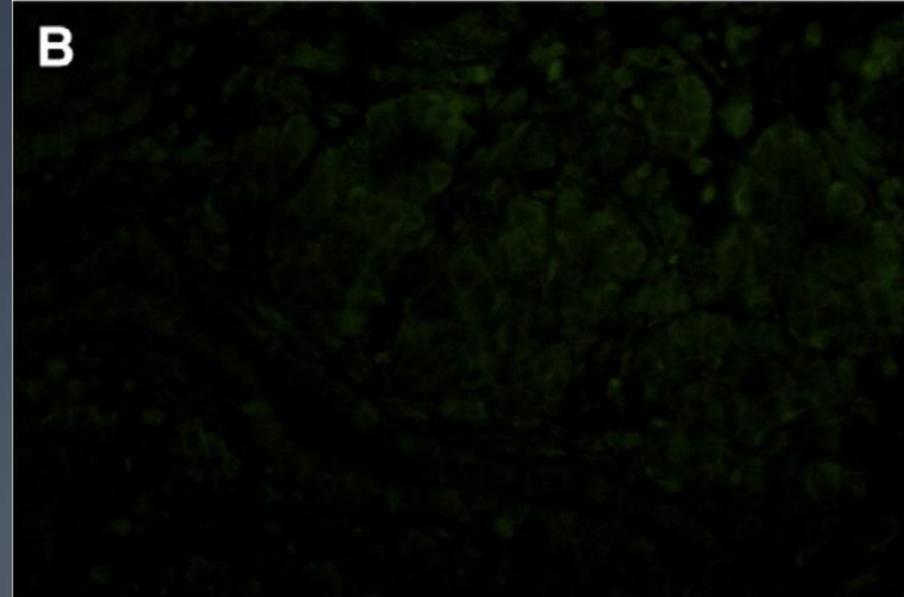


# 实验内容

# 1. Apelin in human islets



A: Staining for apelin in islets.



B: Negative control



胰多肽  
(pancreatic  
polypeptide, **PP**)

是36个氨基酸组成的直链多肽激素，由胰腺的PP细胞分泌。

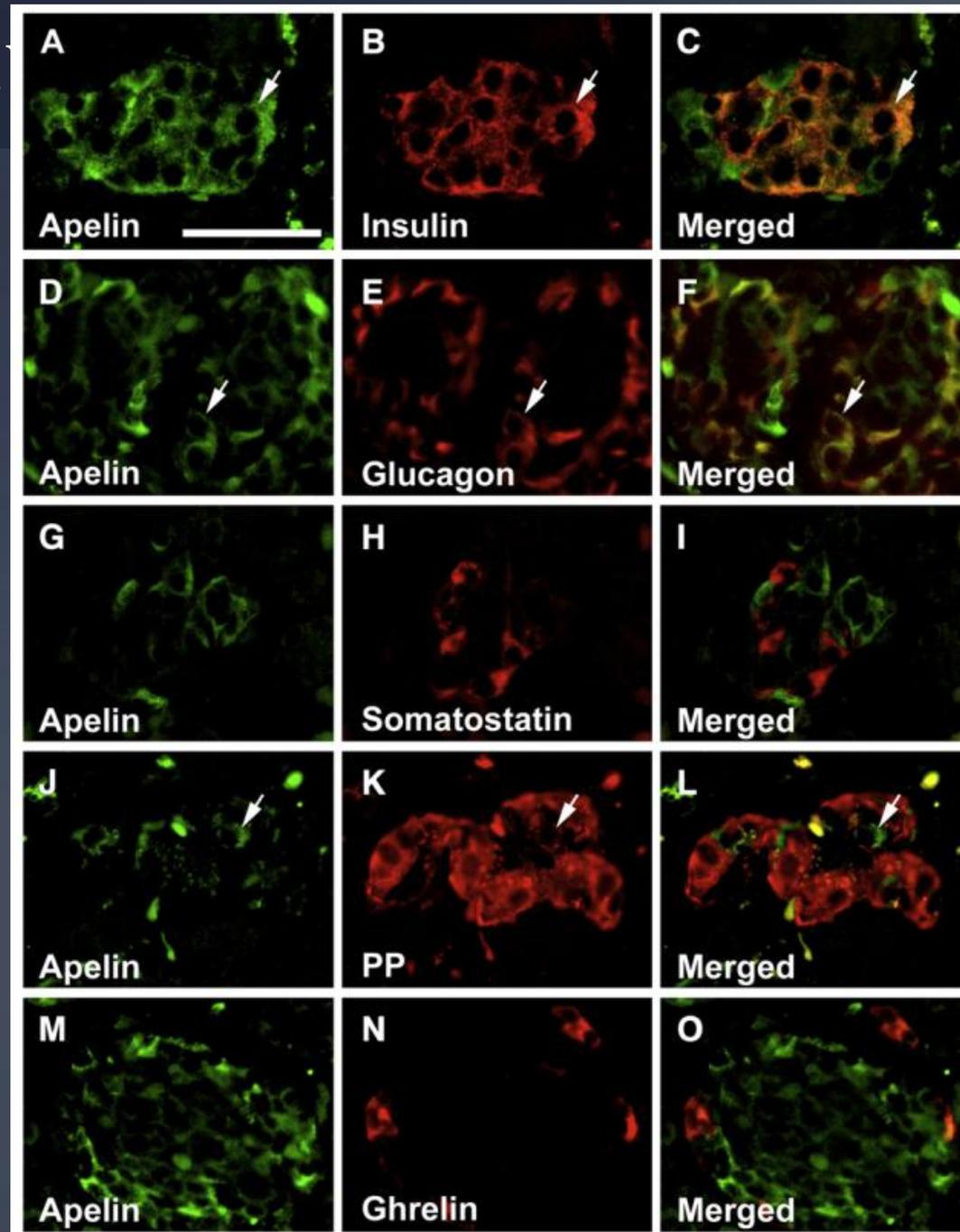
PP具如下生理效应：

① 抑制胆囊收缩素和胰酶的排放，使胆囊平滑肌松弛，可降低胆囊内的压力，胆总管括约肌紧张加强，抑制胆汁向十二指肠的排放。② 各种食物进入小肠对PP释放有刺激作用，PP的生理作用是抑制餐后胰液和胆汁分泌，对胰泌素和胆囊收缩素等外源性促胰腺分泌的作用，PP均为较强的抑制剂。③ PP对胃肠道有广泛作用，对五肽胃泌素引起的胃酸分泌的抑制作用。④ PP抑制血浆胃动素的分泌，增加食管下括约肌的压力，抑制胃体部肌电活动。

# 1. Apelin in h

Apelin-insulin:  $\beta$  cells

Apelin-glucucon:  $\alpha$  cells



# 1. Apelin in human islets

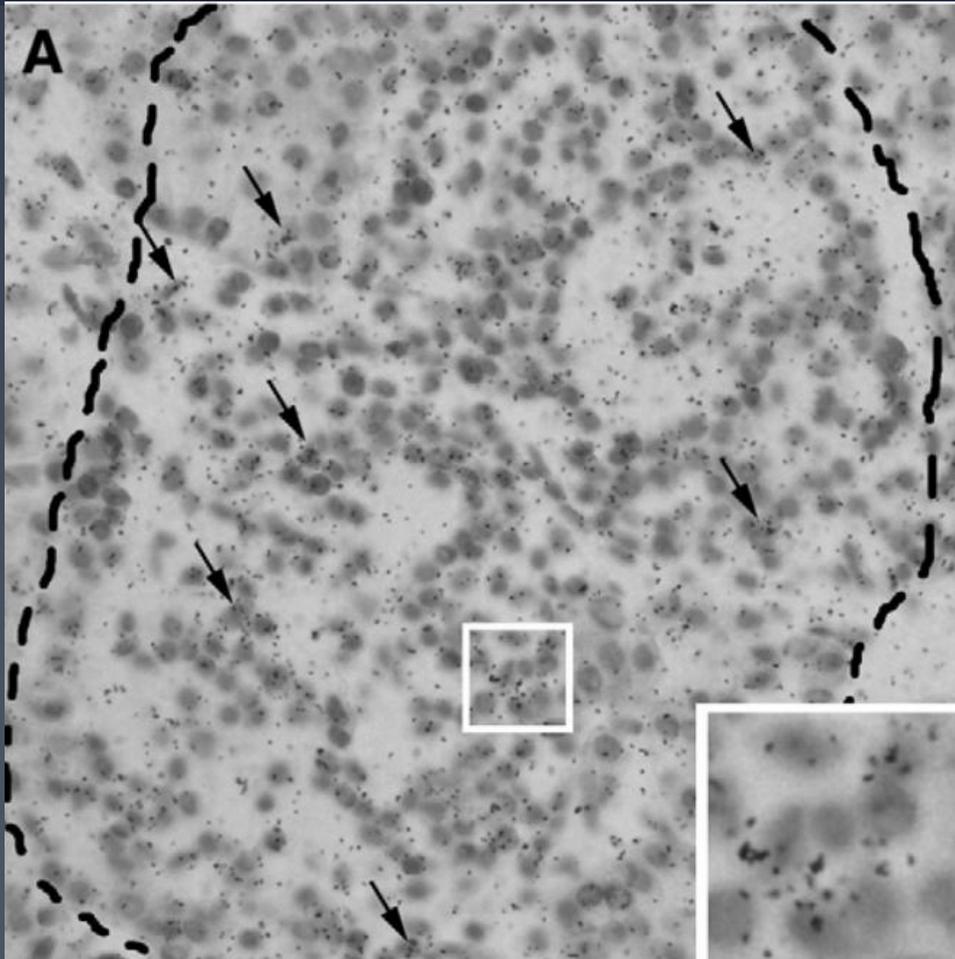
## 三种抗体结果一致

rabbit polyclonal anti-apelin: apelin-36

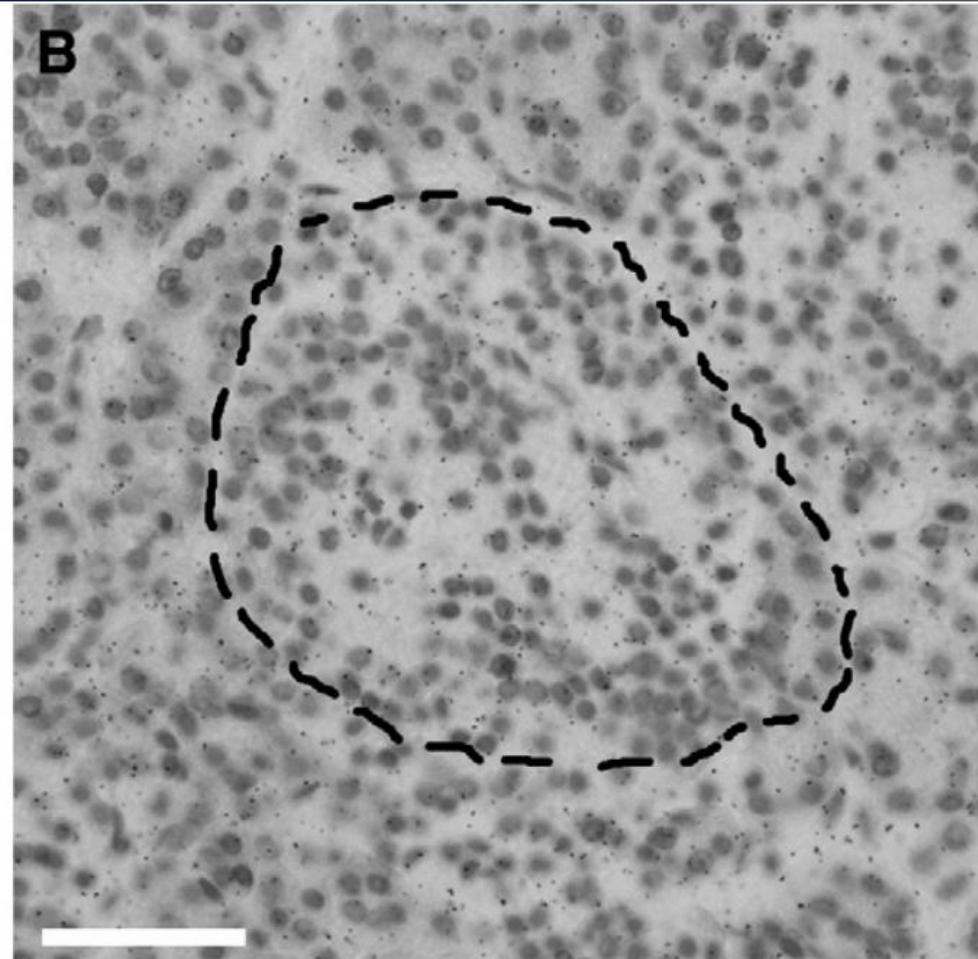
rabbit polyclonal anti-apelin: apelin-13

goat polyclonal anti-apelin: apelin

# 1. Apelin in human islets

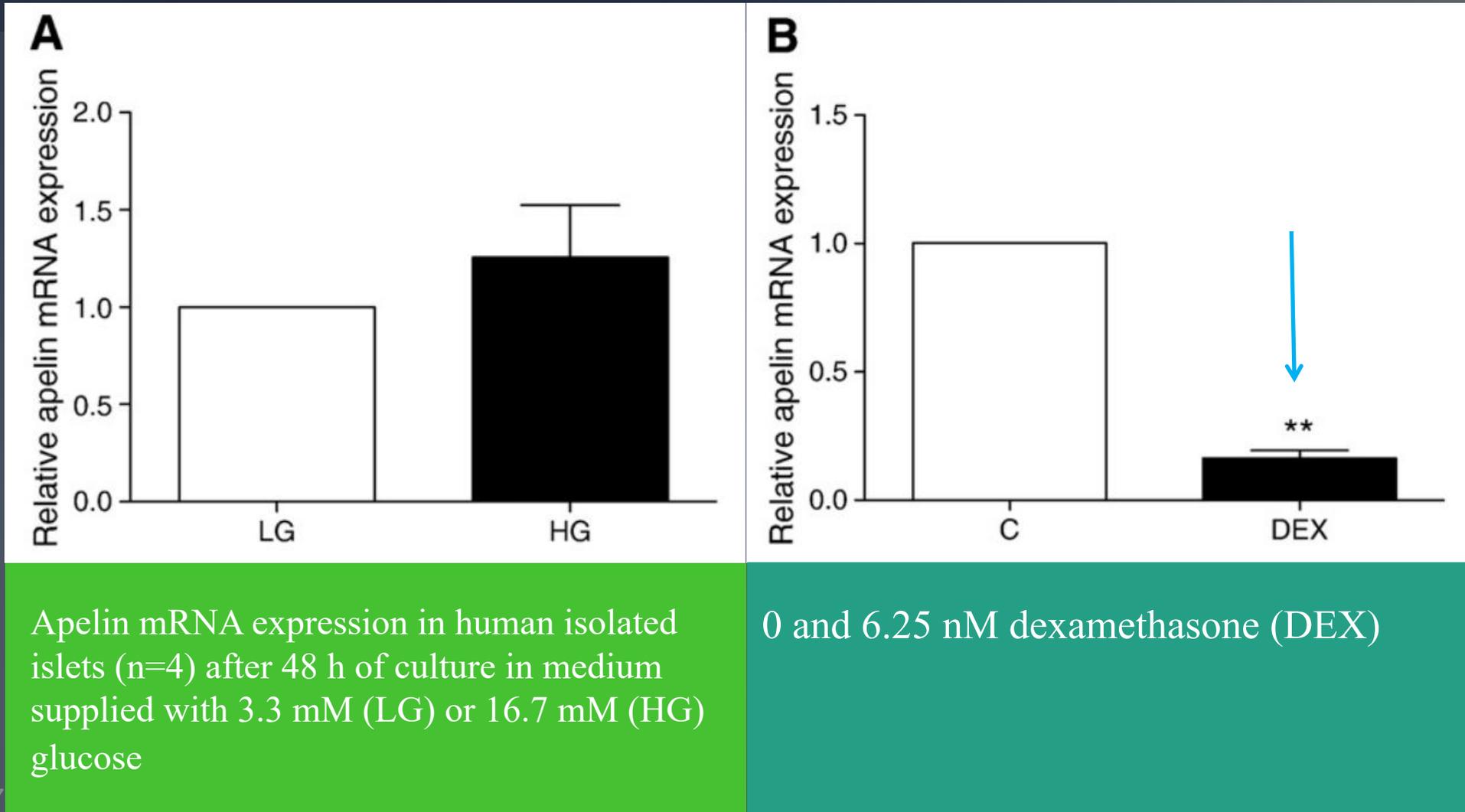


A: Islet with labelling for apelin mRNA.



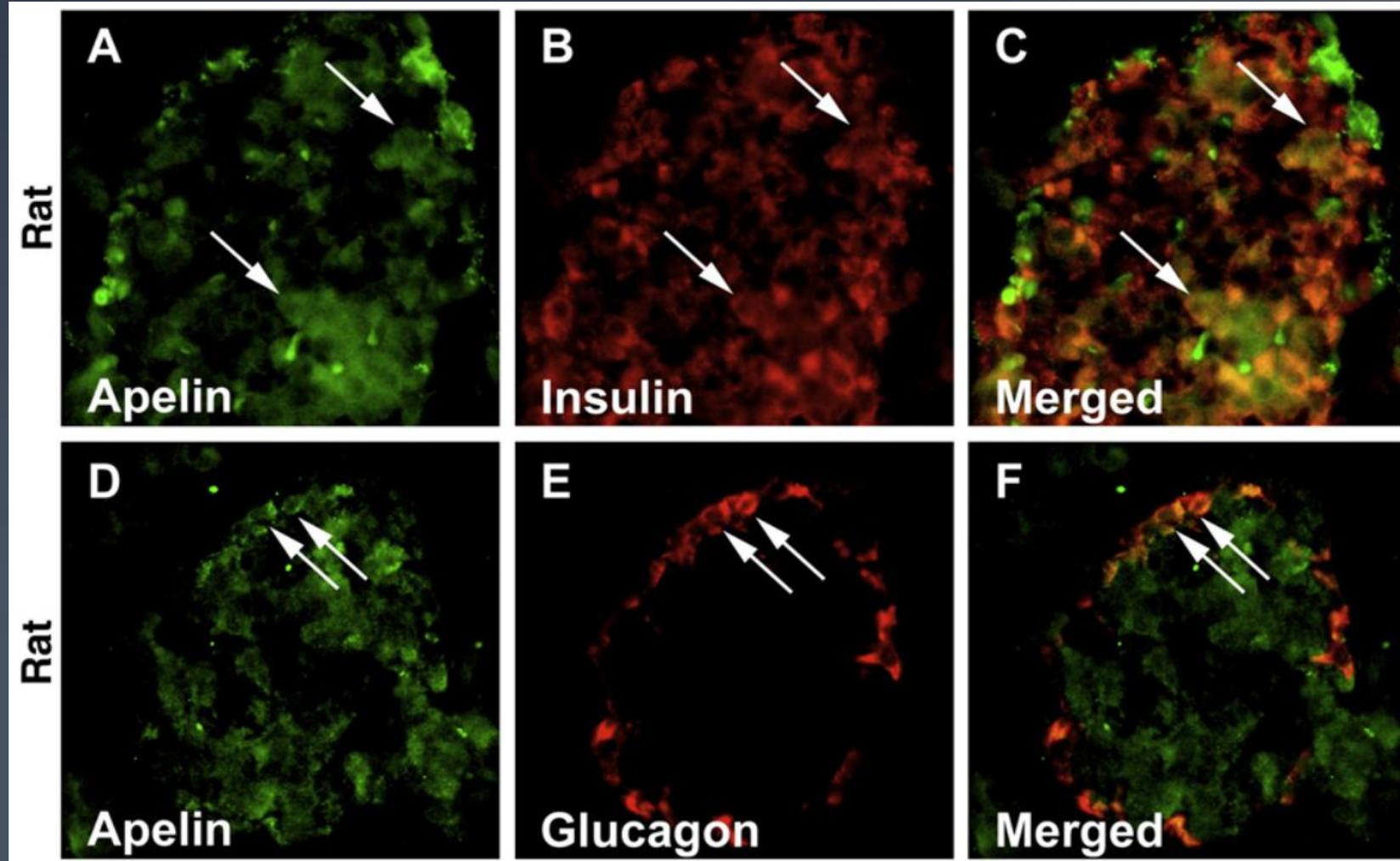
B: Negative control.

# 1. Apelin in human islets

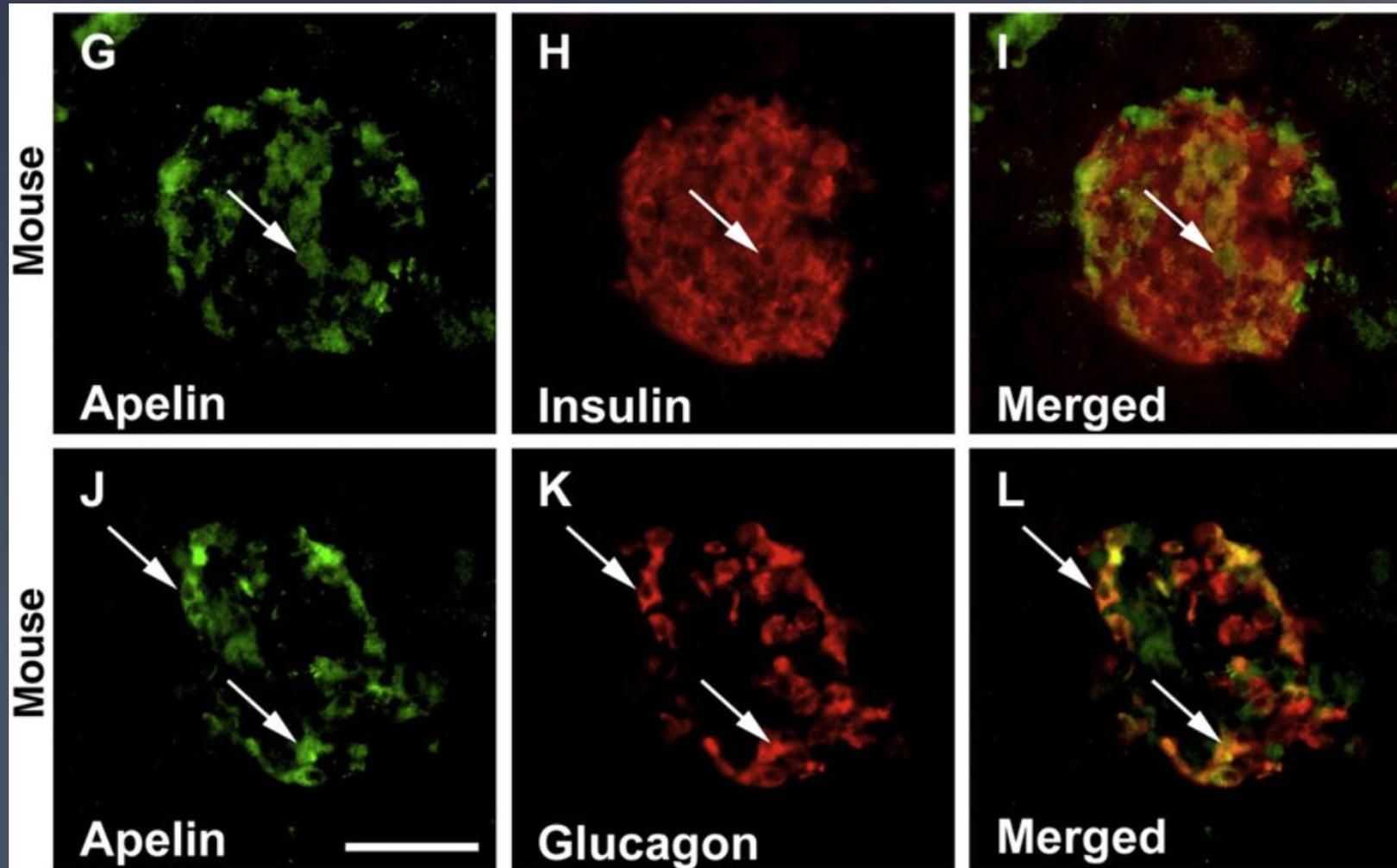


Apelin mRNA is downregulated by DEX (B), but unaffected by high glucose (A)

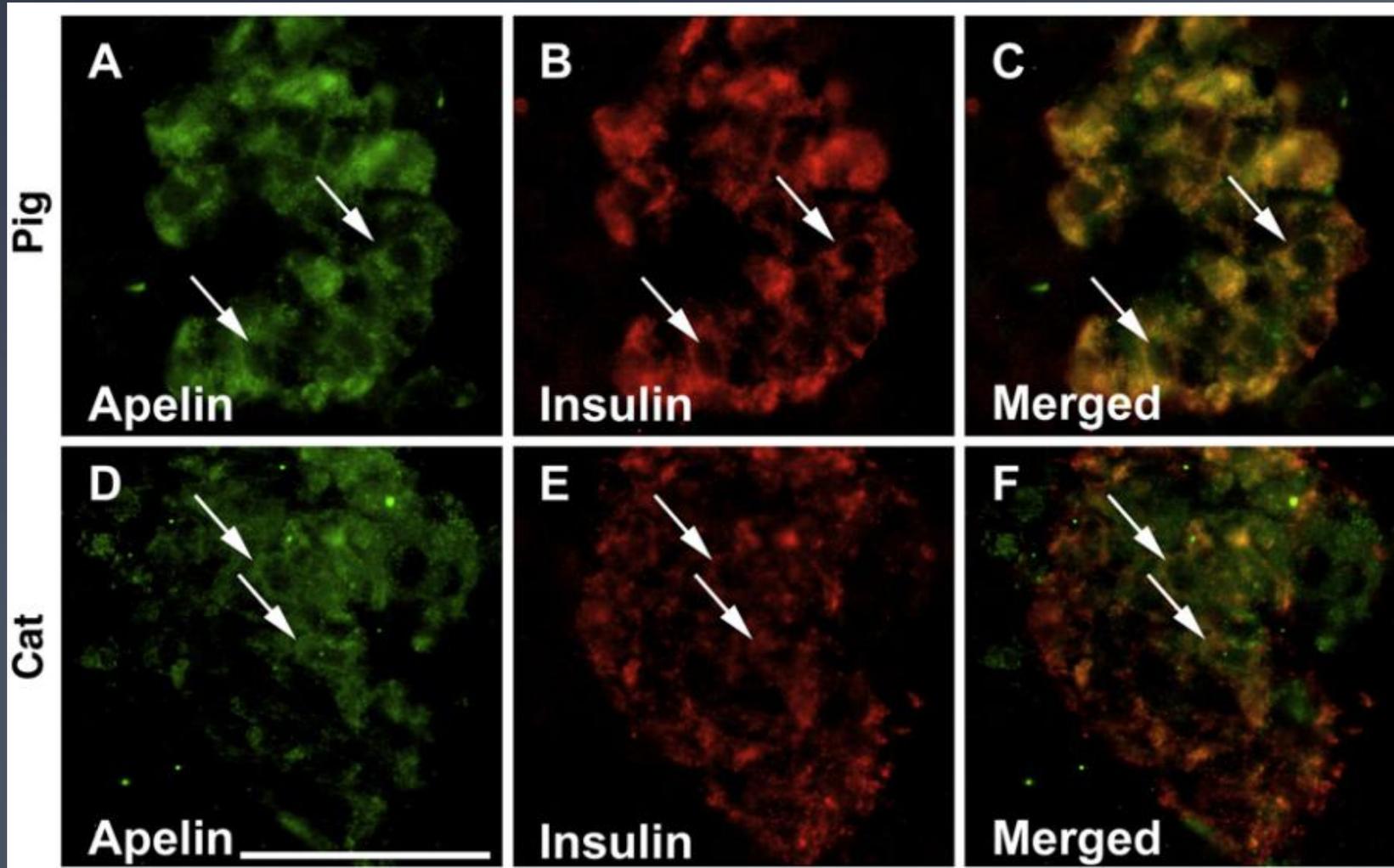
## 2. Apelin in mouse, rat, cat, and pig islets



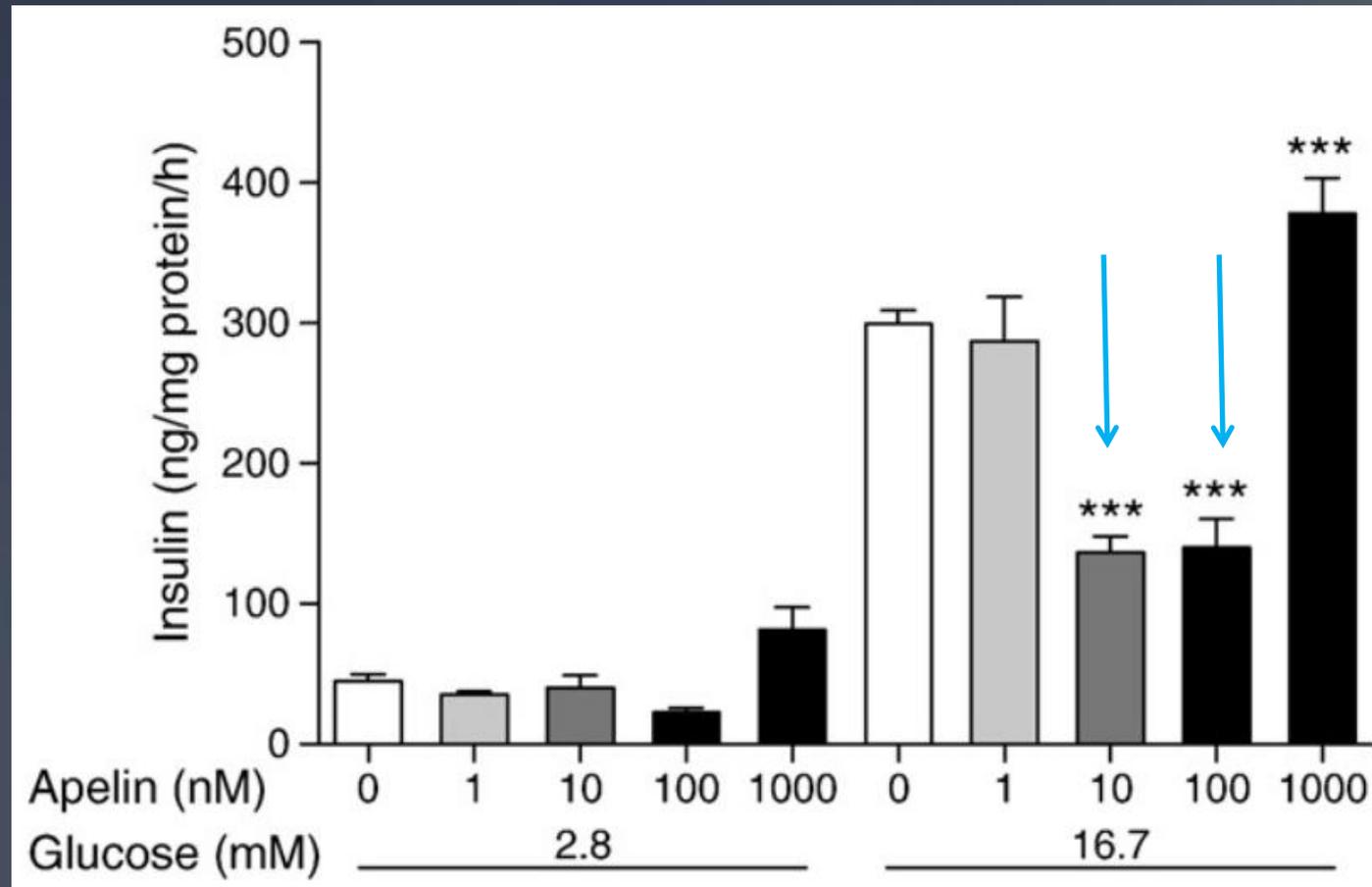
## 2. Apelin in mouse, rat, cat, and pig islets



## 2. Apelin in mouse, rat, cat, and pig islets



### 3. Apelin affects insulin secretion from clonal beta cells



## 4. APJ is expressed in human and mouse islets and INS-1 (832/13) cells

Since we found apelin-36 to affect insulin secretion from INS-1 (832/13) cells we wanted to investigate whether these cells also express the APJ receptor. To this end real-time PCR was employed. These experiments revealed that INS-1 (832/13) cells express APJ at a moderate level. Next we performed real-time PCR for APJ on isolated mouse and human islets. These analyses confirmed previously reported data on APJ expression in mouse islets and revealed that APJ is expressed also in human islets.

GK

品系代码 126



Disease Models

维通利

专业名称：GK Rats

## 信息介绍

## 品系名 来源

GK Goto-Kakizaki ( GK ) 大鼠是一种在生长早期发育为II型糖尿病的非肥胖Wistar大

## 专业名称 鼠

GK/TohiCskCrljCrl 该模型是1975年由日本东北大学的Goto和Kakizaki在日本仙台市培育成功

毛色 此后引入到日本中外制药股份有限公司

白化 1995年引入日本Charles River

品系代码 2006年引入Charles River US

126 维通利华已经在2013年8月底从Charles River引入该品系F18代核心群

## 特性及研究用途

非肥胖II型糖尿病、轻度高血糖、胰岛素抗性、高胰岛素血症

## 产品价格

本价格表有效期从2017年1月1日至2017年12月31日

品系代码	品系名称	日/周龄	性别	单价 (元/只)	
				VAF/SPF级	VAF/Elite级
126	GK	1-8周	只提供雄性	900	1380

**Wistar**

品系代码 102



Outbred Rats

维通

专业名称：Wistar Rats

品系编码：102

## 信息介绍

**品系名 来源**

Wistar 1947年Scientific Products Farm公司(Charles River英国公司CRUK的前身)从Wistar

**专业名称 研究所引入该品系**

Crl:WI 1975年Charles River从CRUK引入，并对该品系进行剖腹产形成了现在的Wistar大鼠

**毛色 核心群**

白化 2002年、2011年维通利华两次从Charles River引入该品系的核心群

**品系代码**102 **特性及研究用途**

性周期稳定，繁殖力强，生长发育快

性情温顺，抗病性强，自发肿瘤率低

广泛用于营养学、生理学、药理学、毒理学及病理生理学等的研究

db/db mice: 科研用2型糖尿病小鼠 单基因遗传自然发病型糖尿病小鼠。

db是自然基因 db/db表示是纯合子自然发病。

db+表示结果呈阳性（显性基因） 已发病。

db-表示结果呈阴性（隐形基因） 不发病。

C57BL/6J is the most widely used inbred strain and the first to have its genome sequenced. Although this strain is refractory to many tumors, it is a permissive background for maximal expression of most mutations.

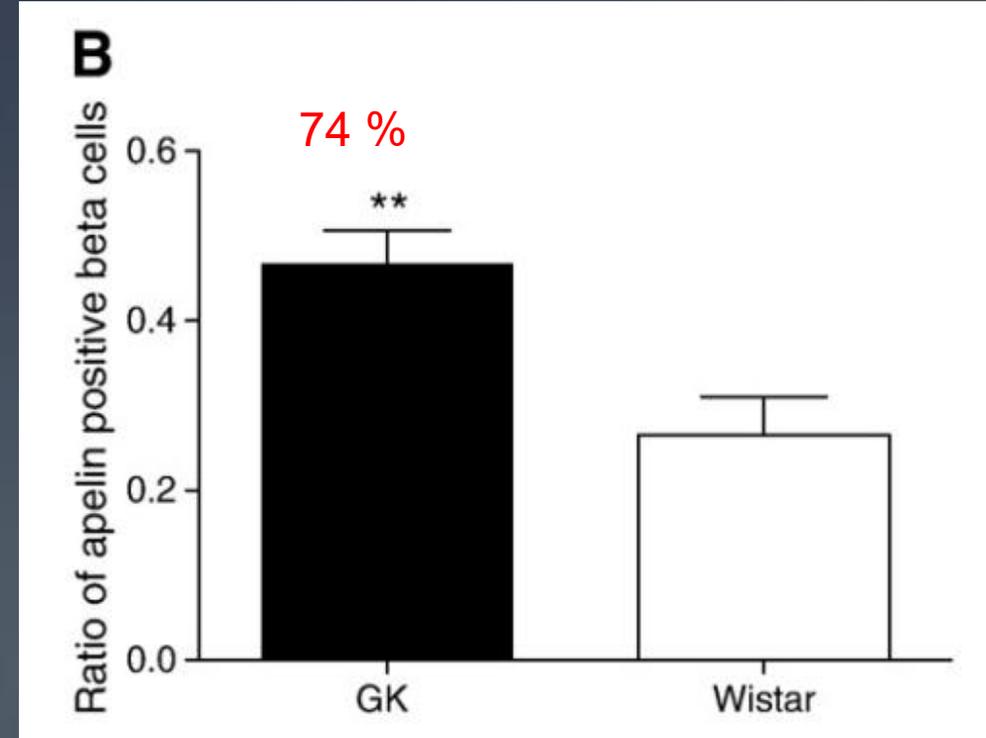
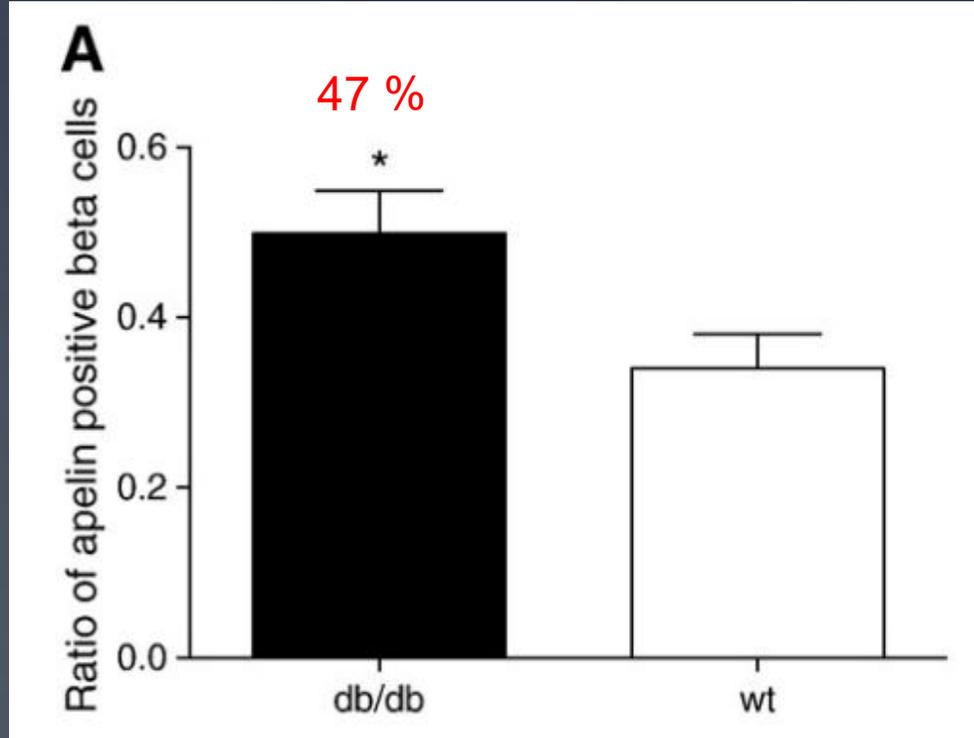
C57BL/6J mice are resistant to audiogenic seizures, have a relatively low bone density, and develop age related hearing loss. They are also susceptible to diet-induced obesity, type 2 diabetes, and atherosclerosis. Macrophages from this strain are resistant to the effects of anthrax lethal toxin.

Study-ready aged C57BL/6J males and females between 25 - 78 weeks of age available for order.



抗惊厥，有较低的骨密度、随着年龄增长伴随着听力损失。他们还容易受饮食引起的肥胖、2型糖尿病和动脉粥样硬化的影响。该菌株的巨噬细胞对炭疽致死毒素有抵抗作用。

## 5. Apelin is upregulated in islets of rodent T2D models





# 结果和讨论

## 1 / Apelin 在不同动物胰岛中的表达

人： $\alpha$ ， $\beta$ ，PP cells 中表达apelin。

大鼠、小鼠： $\alpha$ ， $\beta$  cells 中表达apelin。

猫、猪： $\beta$  cells 中表达apelin。

## 2 / APJ在胰岛中的表达

在人、鼠、INS-1(832/13)均检测到APJ的表达。

### 3 Apelin 影响 $\beta$ 细胞胰岛素的分泌

葡萄糖浓度从 2.8mM  $\longrightarrow$  16.7mM , insulin 的分泌增加了  $7.3 \pm 0.8$  倍。

当葡萄糖高浓度 ( 16.7mM ) , 1 nM apelin -36 不改变葡萄糖刺激的insulin的分泌。

10 nM 和100 nM apelin -36降低insulin的分泌 50%。

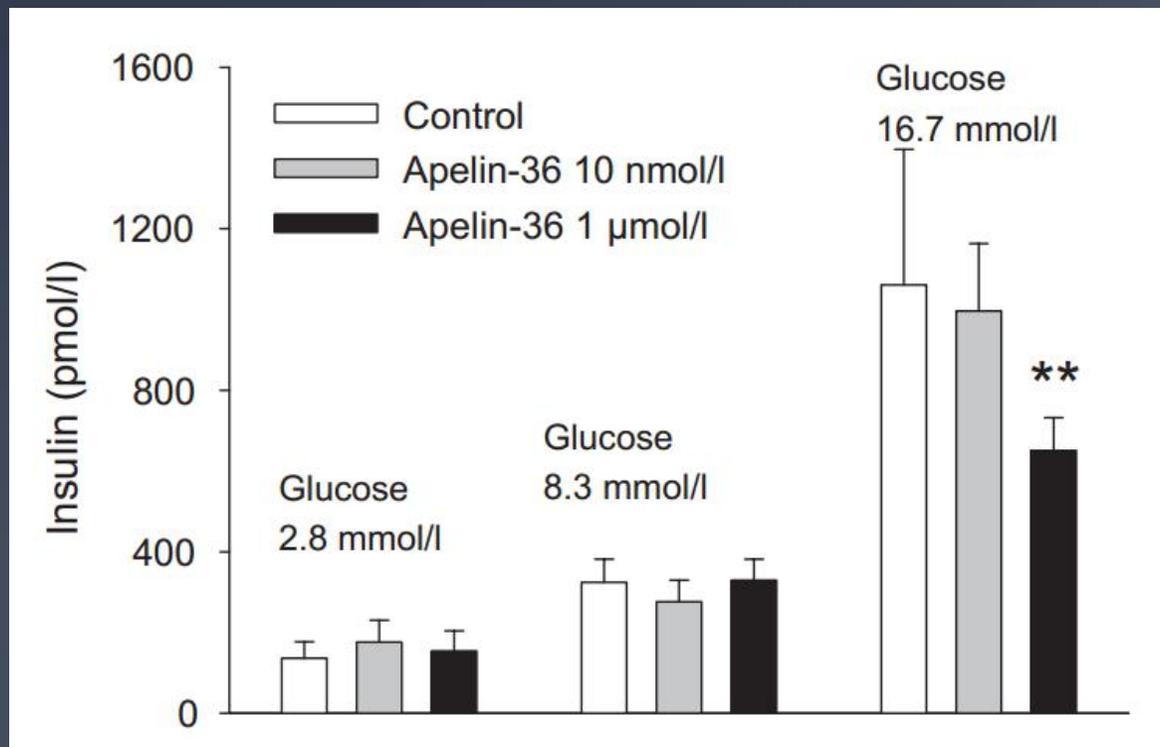
1  $\mu$ M apelin -36 增加 insulin的分泌 30%。

当葡萄糖低浓度 ( 2.8mM ) , apelin-36 不改变葡萄糖刺激的insulin的分泌。

但是 , apelin-13不改变葡萄糖刺激的insulin的分泌。

Apelin对胰岛素的分泌仅在高糖浓度下表现出来，表明葡萄糖依赖性。

本文数据显示，这种抑制作用是葡萄糖依赖的。而且，Winzell, 2005结果显示在高浓度葡萄糖下，apelin降低胰岛素的分泌。

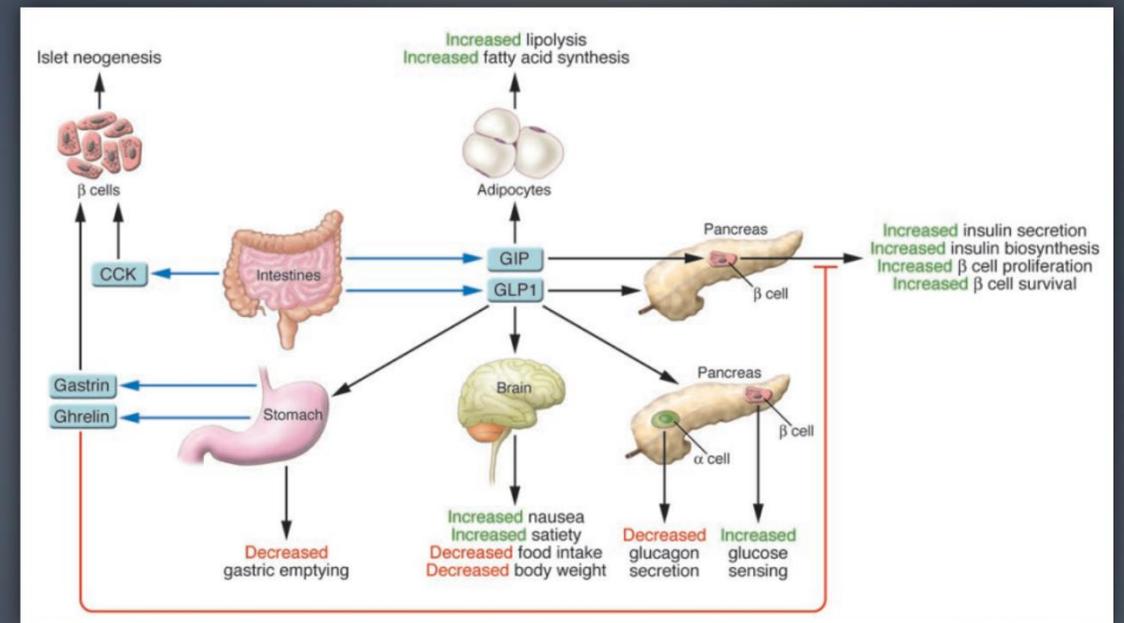
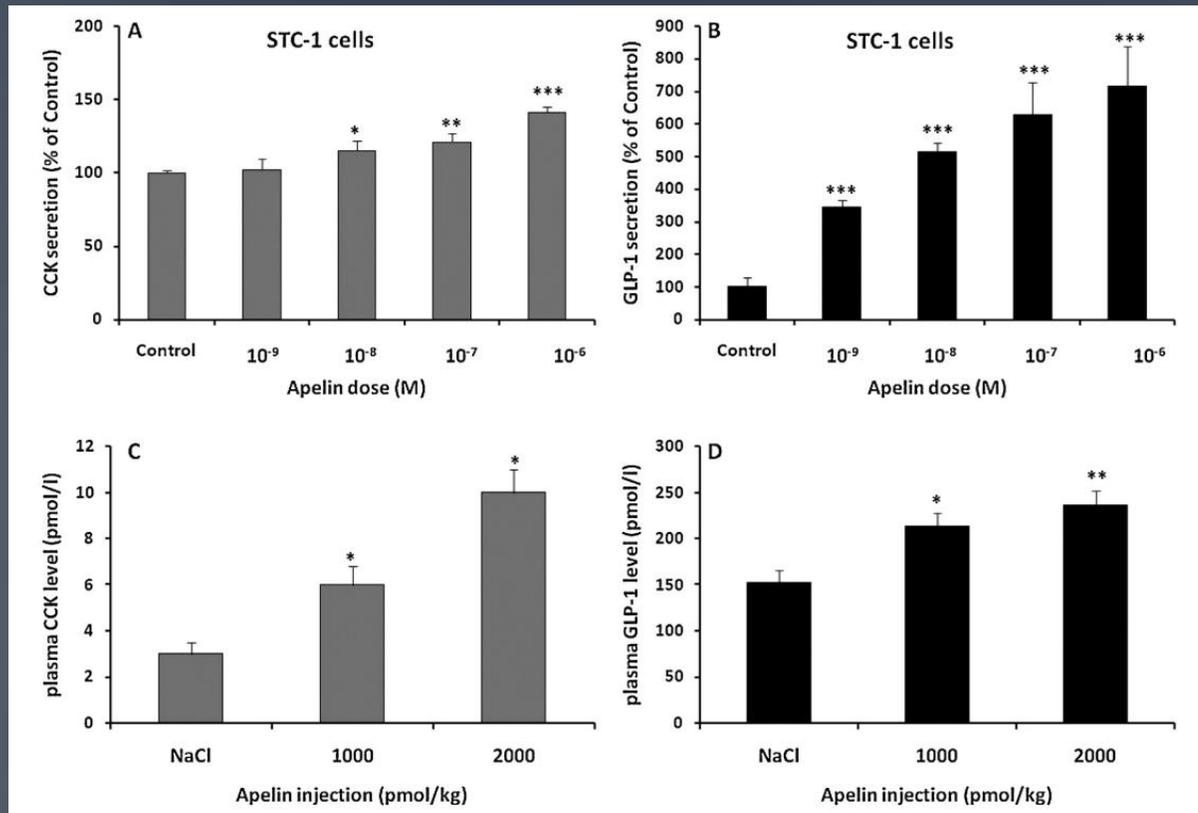


(Winzell, 2005)

但是本文作者无法解释apelin增加胰岛素的分泌的作用。

而且，Winzell研究显示，1μM是抑制胰岛素的分泌的，但是在本研究中1μM是增加的。**矛盾**

实验动物	处理方式	有效剂量/浓度	结果	作者时间
大鼠rats	静脉注射i.v.	1,2 nmol/Kg	促进CCK和GLP-1的分泌	Wattez, 2013
STC-1细胞系	细胞培养	10,100,1000 nM	促进CCK的分泌	Wattez, 2013
		1,10,100,1000 nM	促进GLP-1的分泌	Wattez, 2013



实验动物	处理方式	有效剂量/浓度	结果	作者时间
小鼠	侧脑室注射, 喂食	10pM	通过eNOS促进葡萄糖的吸收从而降低进食引起的血糖升高, 改善血糖稳态	Duparc, 2011
小鼠	侧脑室注射, 饥饿	10pM	对血糖稳态没有影响	Duparc, 2011
HFD小鼠	侧脑室注射, 喂食	10pM	apelin不能改善血糖稳态	Duparc, 2011
小鼠	侧脑室注射, 喂食	20nM	葡萄糖吸收下降, 产生胰岛素抵抗, 破坏血糖稳态	Duparc, 2011
小鼠	侧脑室注射, 饥饿	20nM	高血糖, 高胰岛素血症	Duparc, 2011
HFD小鼠	侧脑室注射, 喂食	20nM	高血糖	Duparc, 2011
小鼠	慢性灌注	20nM	高血糖, 高胰岛素血症, 胰岛素抵抗	Duparc, 2011

饲喂状态下：  
LD apelin → 血浆

禁食状态下：  
大脑不能充分响应LD

饲喂状态下：  
HD apelin → 血浆

禁食状态下：  
HD apelin → 血浆

其中一个解释是：

介导的肝糖原代谢。

2017-7-24

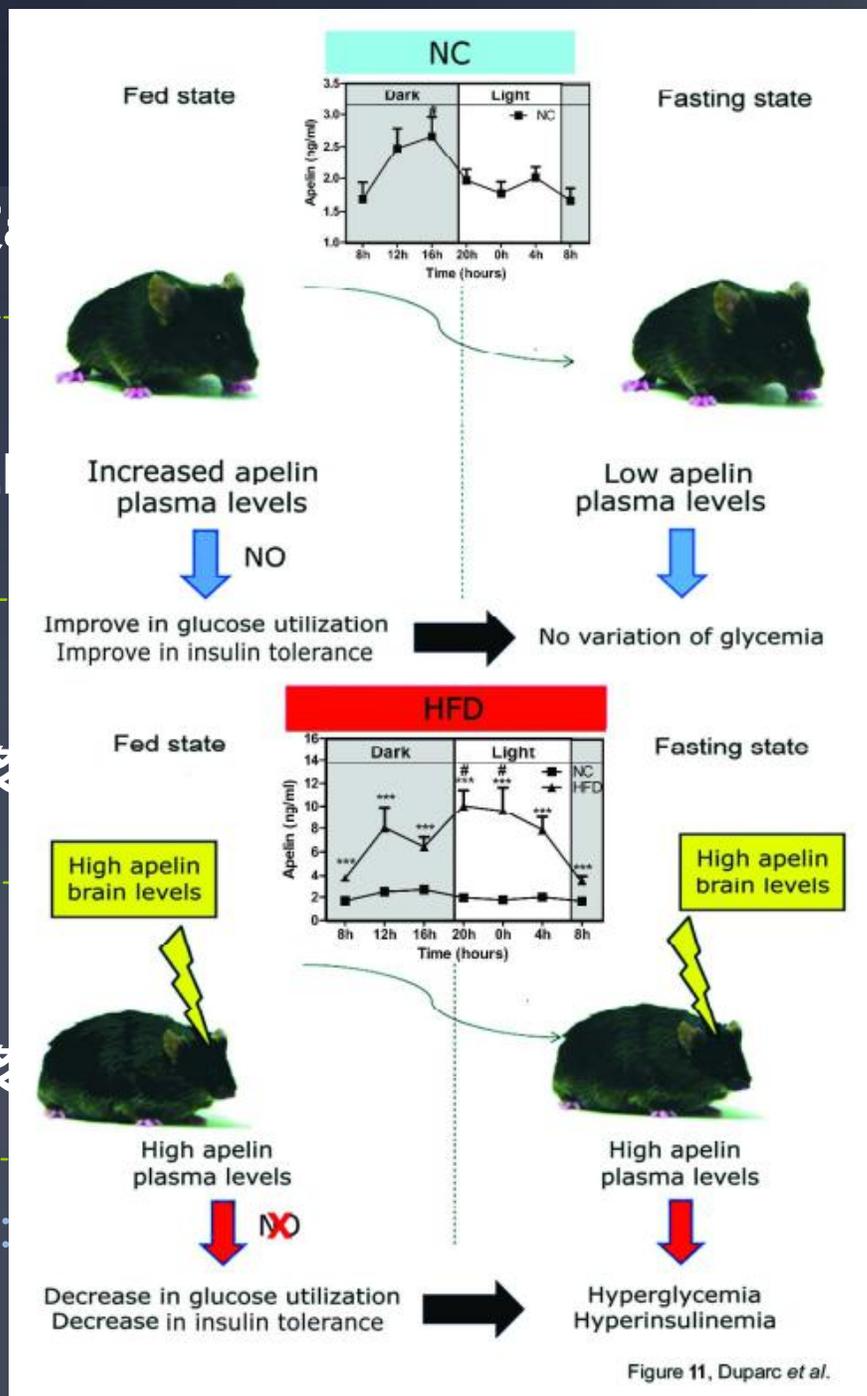


Figure 11, Duparc et al.

维持

葡萄糖的吸收 → 葡萄糖稳态

破坏

葡萄糖的吸收 → 葡萄糖稳态

胰岛素抵抗

葡萄糖稳态

存在其他途径，如通过自主神经

实验动物 处理方式 有效剂量/浓度

小鼠 细胞培养 100nM

小鼠 细胞培养 1 $\mu$ M

小鼠 慢性灌胃 1 $\mu$ M

HFD小鼠 细胞培养 1 $\mu$ M

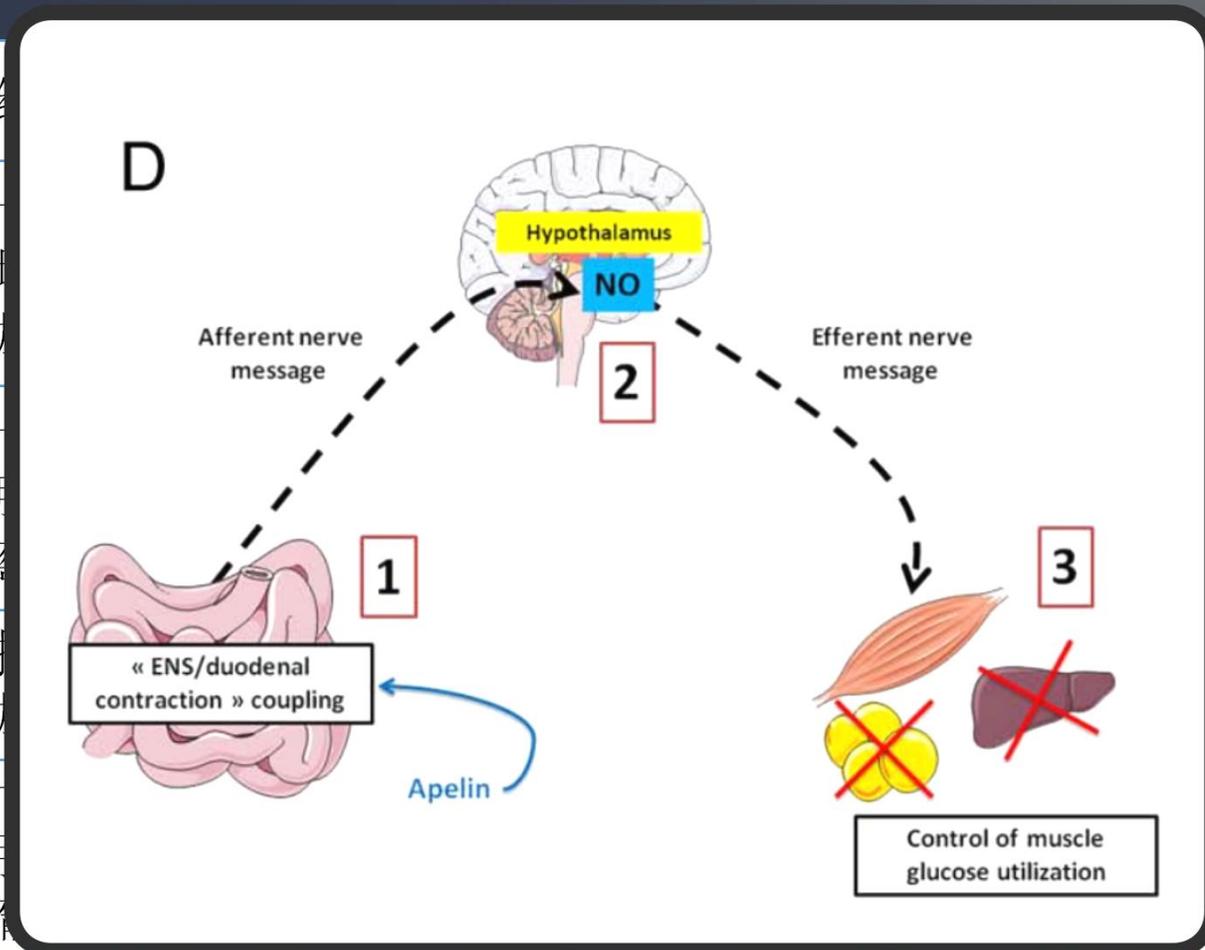
作者时间

Fournel, 2016

Fournel, 2016

Fournel, 2016

Fournel, 2016

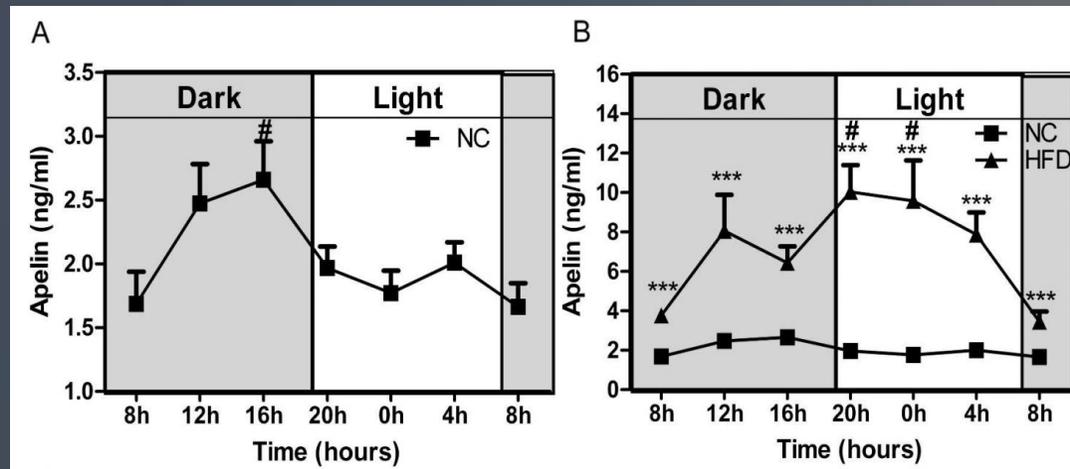


## 4 Apelin 表达的调控

1. T2D db/db 小鼠 apelin表达增加 47% , GK大鼠apelin表达增加 74%。
2. 葡萄糖不影响apelin的表达。 ???
3. 糖皮质激素降低apelin的表达。

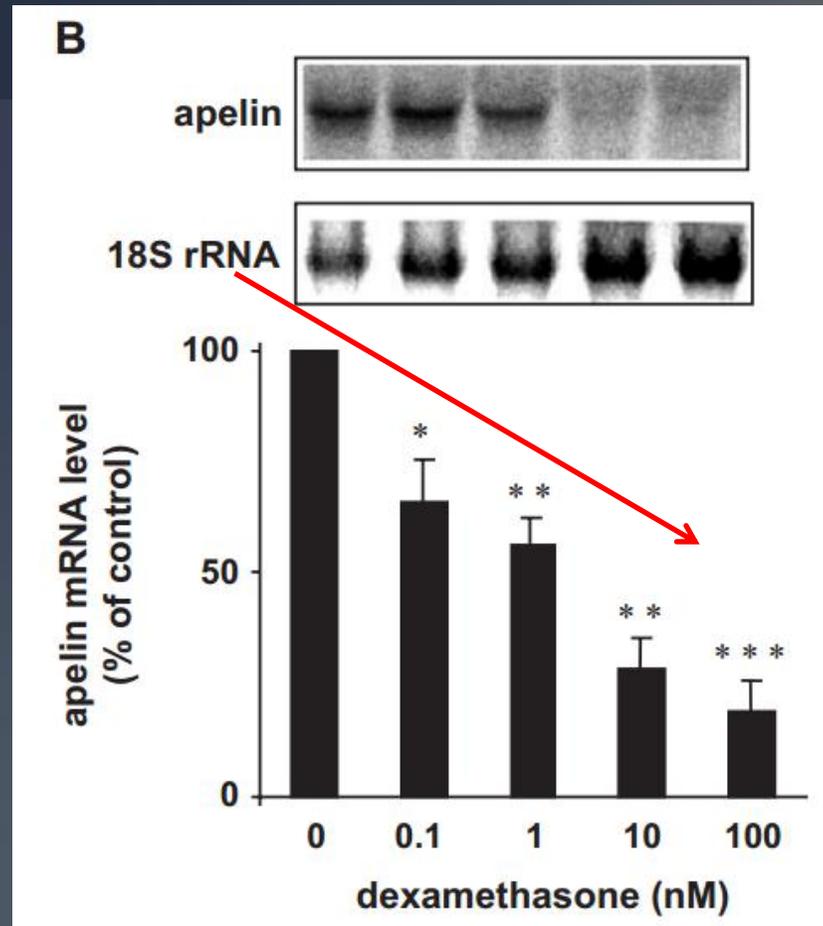
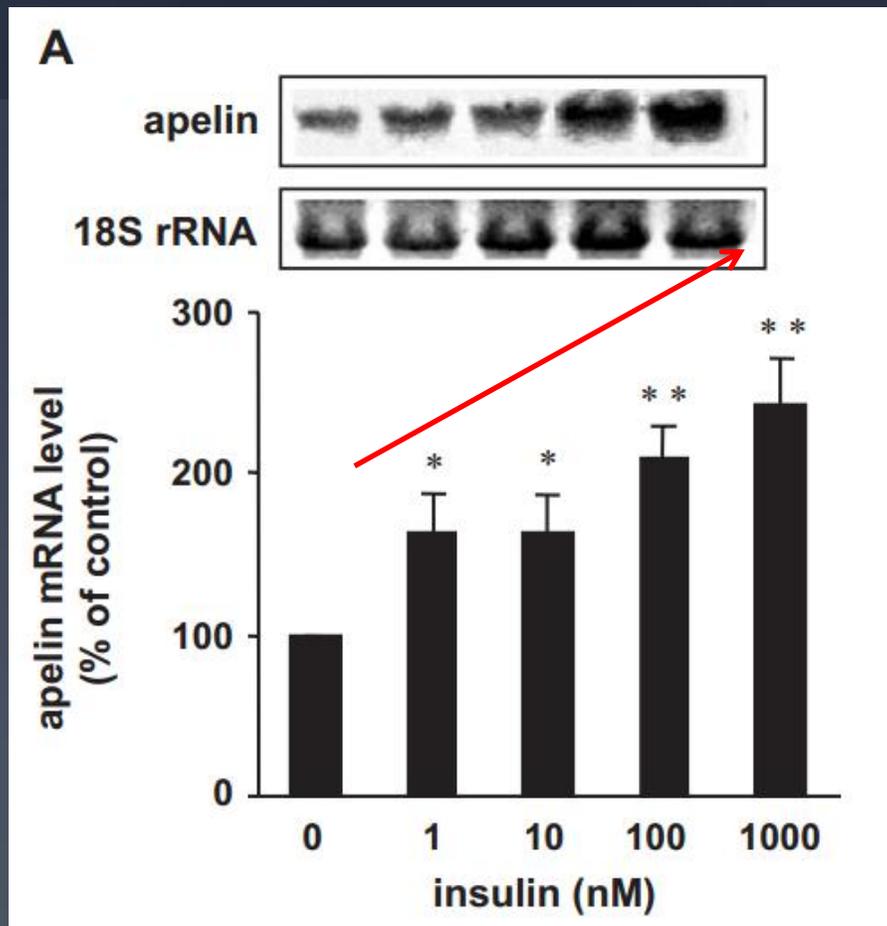
实验动物	结果	作者时间
正常和肥胖人类/小鼠脂肪组织	肥胖和胰岛素会上调血浆apelin水平	Boucher, 2005
2型糖尿病患者	apelin水平显著高于正常对照, 并产生胰岛素抵抗	Koval, 2017

NC  
正常小鼠

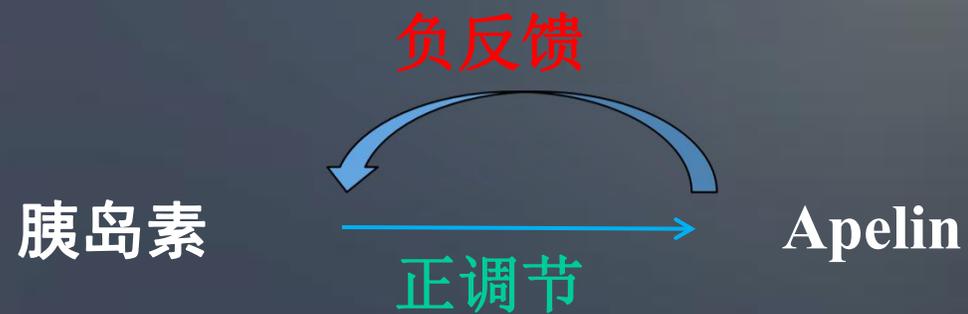


HFD  
高糖高脂小鼠

(Duparc, 2011)



(Wei, 2005)



**地塞米松dexamethasone (DEX)是一种糖皮质激素。**

糖皮质激素对糖代谢的干扰作用主要源于它对胰岛素降糖作用的干扰。具体而言，过量的糖皮质激素导致糖耐量异常的机制有：

- 1、促进肝脏中的糖原异生。
- 2、抑制外周组织对葡萄糖的摄取和利用。
- 3、糖皮质激素的异常升高增强了生长激素、肾上腺素、胰高血糖素等其它升糖激素的作用。
- 4、大量的糖皮质激素可以抑制葡萄糖刺激后的胰岛素释放。



# 结论

1. 胰岛 **apelin** 受糖皮质激素而不是葡萄糖的调控。
2. **Apelin** 在 II 型糖尿病动物中表达上调，可能是为了抑制胰岛素的过度分泌。
3. **APJ** 受体在胰岛中表达，说明 **apelin** 作为自分泌或旁分泌信使存在于胰岛中。



# 心得体会

1. 不同的文献中获知：不同浓度的apelin对机体糖代谢影响迥异，然而研究之间由于多变量存在，很难对比总结，因此在同一实验动物进行条件相对一致的在体和离体实验是必要的。

## 疑问：

- 1、apelin对机体糖代谢的影响和胰岛素究竟是怎样的关系？  
是通过胰岛素？还是有不同的路径？
- 2、葡萄糖影响apelin的表达么？

**THANKS**

请提出宝贵意见和建议！

糖皮质激素对糖代谢的干扰作用主要源于它对胰岛素降糖作用的干扰。具体而言，过量的糖皮质激素导致糖耐量异常的机制有：

(1)促进肝脏中的糖原异生。一方面糖皮质激素促进氨基酸、脂肪酸和甘油三酯的释放，使得糖异生的底物增多，葡萄糖利用受到抑制；另一方面糖皮质激素能增强糖异生过程的限速酶—烯醇化酶的表达，加速糖异生。

(2)抑制外周组织对葡萄糖的摄取和利用。研究显示，过多的糖皮质激素不仅抑制胰岛素与其受体的结合，更会抑制葡萄糖转运子 4 向细胞膜的移位与锚着，从而降低了外周组织对糖的摄取和利用。体外细胞培养结果提示。地塞米松明显抑制肝脏脂肪细胞的基础以及胰岛素刺激下葡萄糖的利用，同时胰岛素信号传导途径中的重要物质，如胰岛素受体底物、蛋白激酶 B 等表达也相应降低。

(3)糖皮质激素的异常升高增强了生长激素、肾上腺素、胰高血糖素等其它升糖激素的作用。

(4)糖皮质激素除了有诱导胰岛素抵抗的作用外，近年来的研究更进一步揭示了其对胰岛功能还很可能有损害作用。大量的糖皮质激素可以抑制葡萄糖刺激后的胰岛素释放。