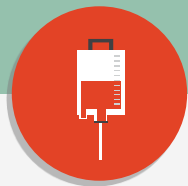




01

研究背景



02

研究内容



03

结果和讨论



04

总结和思考



## CONTENTS

This is a good space for a short subtitle

# Cell Metabolism

**Metformin Alters Upper Small Intestinal Microbiota that Impact a Glucose-SGLT1-Sensing Glucoregulatory Pathway**





01

# 研究背景

## 研究背景

“久坐不动的生活方式，  
摄入热量密集的食物和  
遗传导致**2**型糖尿病的  
增加”



 二甲双胍是最广泛使用的**2**型糖尿病药物，但**25%**的患者存在副作用。

## 研究背景



二甲双胍可能通过抑制糖酵解酶（ Foretz et al ， 2010 ）和胰高血糖素作用（ Miller et al ， 2013 ）降低**葡萄糖生成（GP）**。

- 二甲双胍**通过AMPK**降低高血糖和减少肝葡萄糖的产生(Zhou et al ， 2001)。
- 二甲双胍**通过AMPK非依赖性机制**降低葡萄糖生成(GP) ( Foretz et al ， 2010 )。

因此，二甲双胍诱导的GP抑制的潜在机制仍然**存在争议**。

## 研究背景



越来越多的证据表明胃肠道具有二甲双胍的抗糖尿病作用。

- 据报道，在近端空肠（二甲双胍吸收的重要部位）中二甲双胍浓度是2型糖尿病患者血浆的30-300倍（Bailey等，2008），而甚至静脉注射的二甲双胍也在小鼠小肠的浓度大于肝脏或胆囊（Jensen等，2016）。二甲双胍在小肠中的积累可能有助于降低二甲双胍的降糖效果。

鉴于能量传感器AMPK在上小肠(upper small intestinal)二甲双胍行动中的作用，研究二甲双胍对营养传感途径的影响可以提供对二甲双胍作用机制的深入了解。

## 研究背景



上部小肠响应营养物启动肠道肽依赖性负反馈信号以维持葡萄糖稳态。具体而言，肠葡萄糖感测通过多种机制刺激胰高血糖素样肽-1（GLP-1）的释放。

- 钠葡萄糖协同转运蛋白-1（SGLT1）介导葡萄糖与 $\text{Na}^+$ 的摄取，其使膜去极化并刺激 $\text{Ca}^{2+}$ 进入和GLP-1分泌。
- 实际上，SGLT1<sup>-/-</sup>小鼠不仅表现出葡萄糖吸收受损而且还表现出GLP-1释放受损。

表明SGLT1是参与葡萄糖刺激的GLP-1分泌的主要葡萄糖转运蛋白。



## 研究背景

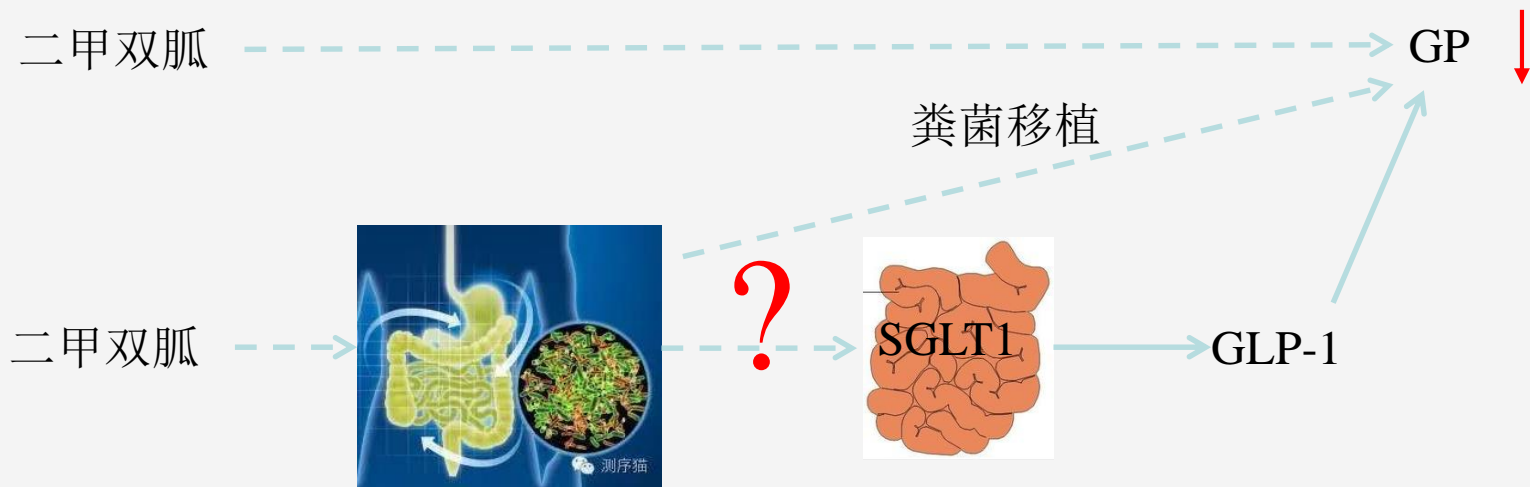


- 研究表明，肠道微生物群的变化可能介导二甲双胍的抗糖尿病作用，因为它改变了糖尿病啮齿动物和人类的远端肠道微生物群，而口服摄入**含有二甲双胍的抗生素混合物**会消除糖尿病小鼠中二甲双胍的降糖能力。然而，这些研究并未排除二甲双胍可能另外影响上部小肠微生物群以改变葡萄糖稳态的可能性。实际上，二甲双胍必须首先通过上部小肠，这是一个重要的营养传感和吸收部位，它可以改变微生物群落以引发其葡萄糖调节作用。



因此，虽然远端肠道微生物群越来越多地被证实是葡萄糖稳态的重要调节因子，但研究尚未评估上部小肠微生物群的潜在葡萄糖调节作用。

# 研究背景



## 提出假设:

- 二甲双胍诱导的肠道微生物群改变可以改善葡萄糖稳态的一种可能机制是通过改变肠道营养传感途径。

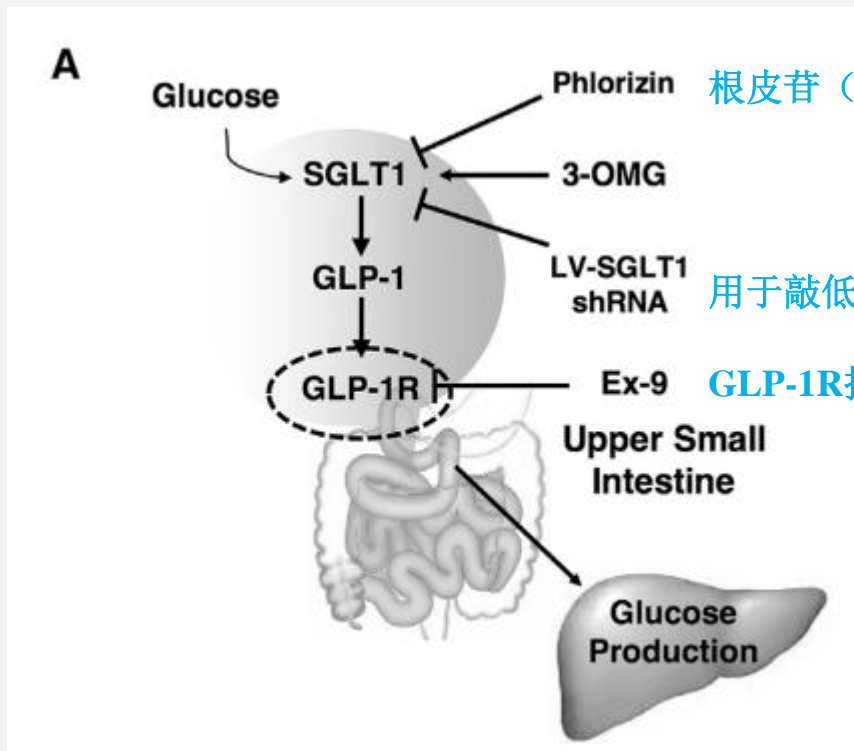
A red circular icon containing a white silhouette of a microscope, positioned at the top right of the large white circle.

02

## 研究内容

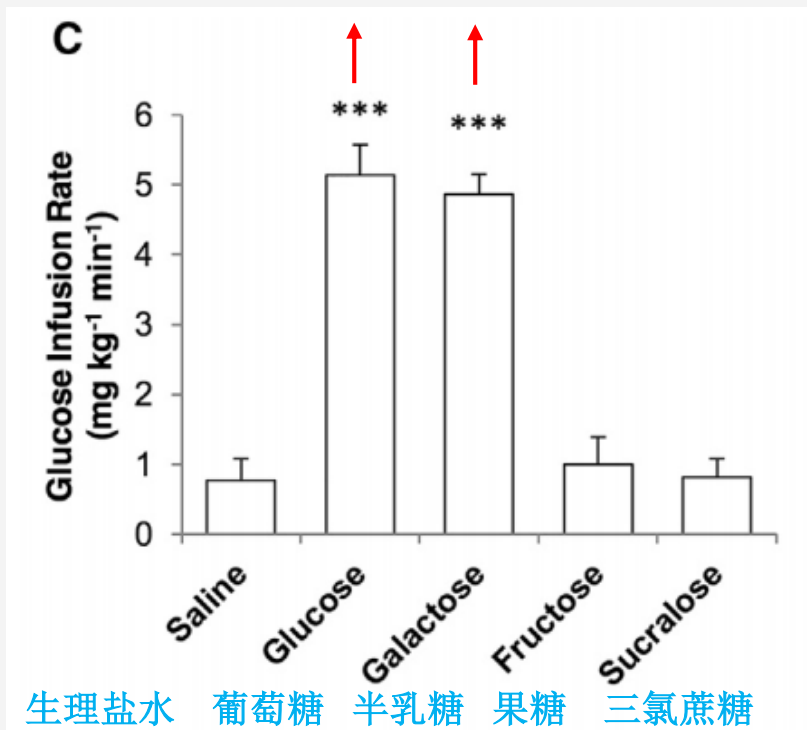
# 1. Upper Small Intestinal Glucose Sensing Lowers GP in Chow-Fed Rodents

上部小肠葡萄糖传感降低了饲料喂养啮齿动物的GP



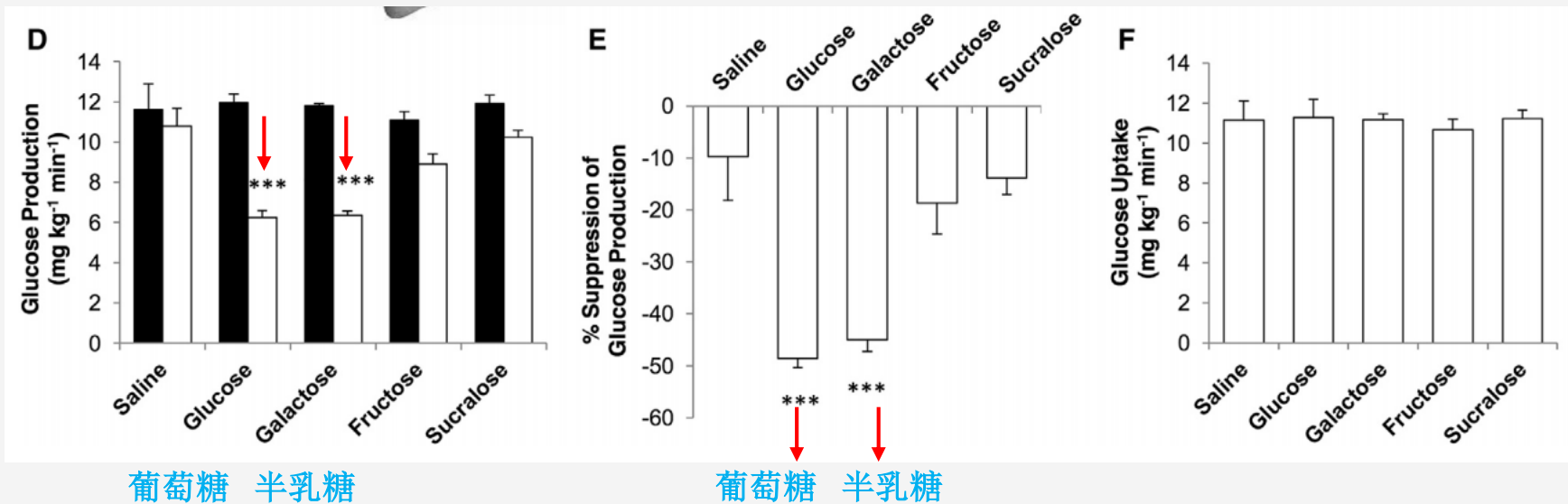
# 1. Upper Small Intestinal Glucose Sensing Lowers GP in Chow-Fed Rodents

上部小肠葡萄糖传感降低了饲料喂养啮齿动物的GP



# 1. Upper Small Intestinal Glucose Sensing Lowers GP in Chow-Fed Rodents

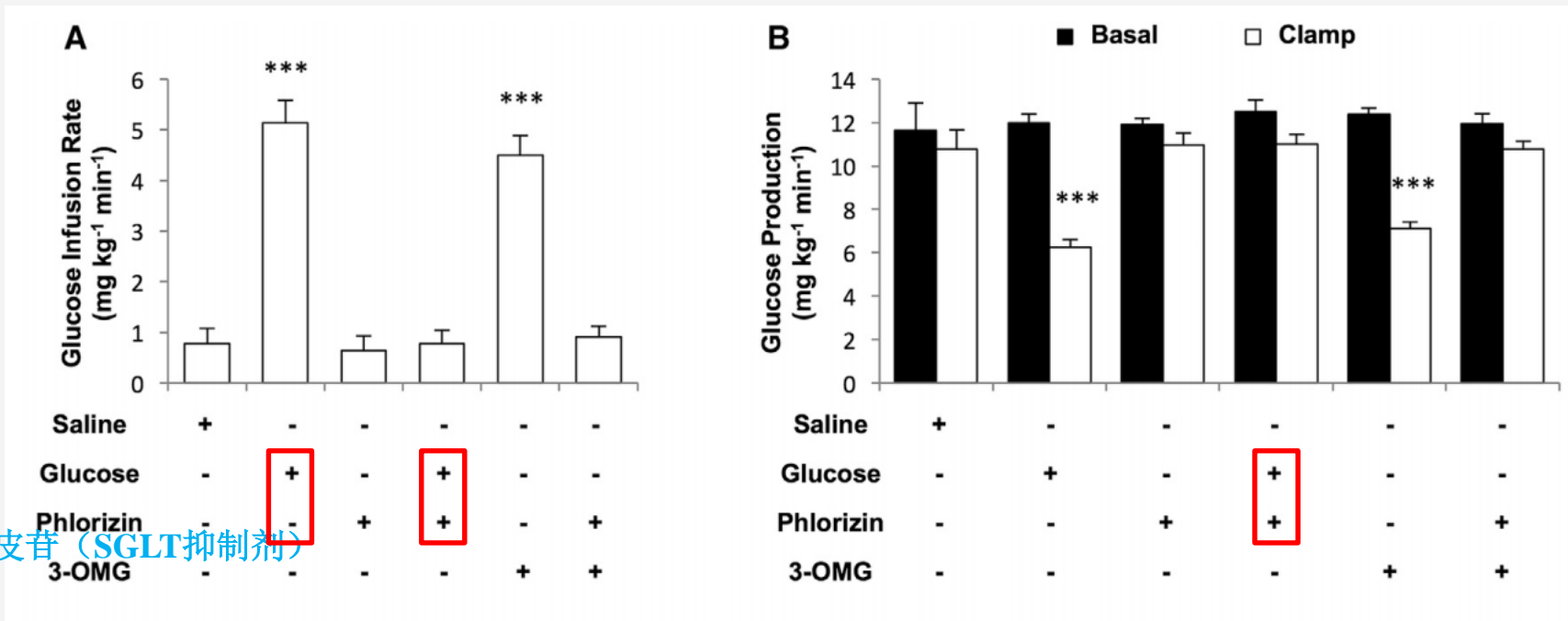
上部小肠葡萄糖传感降低了饲料喂养啮齿动物的GP



上部小肠葡萄糖输注引起的血浆葡萄糖水平的下降是由于GP的抑制（图1D和1E）而不是葡萄糖摄取的增加（图1F）。

## 2. Activation of SGLT1 and GLP-1 Receptor Is Necessary for Upper Small Intestinal Glucose Sensing in Healthy Rodents

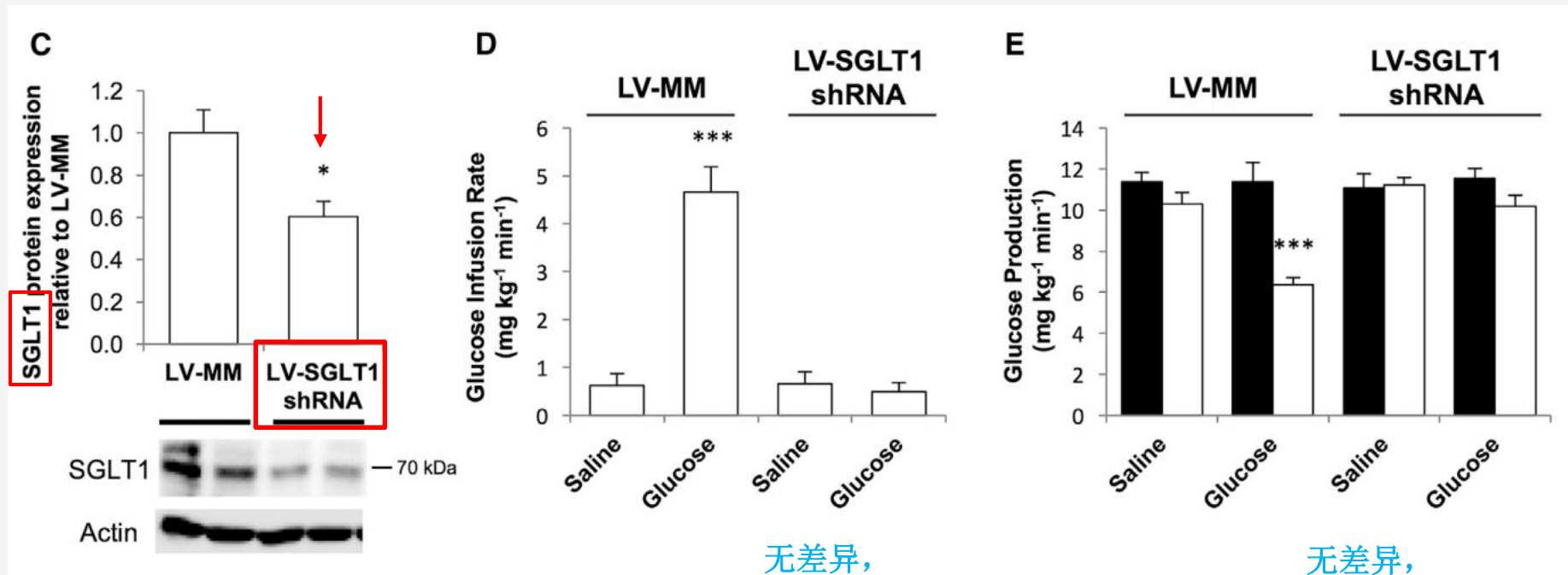
SGLT1和GLP-1受体的激活对于健康啮齿动物的上小肠葡萄糖感知是必需的



SGLT1被抑制后，影响了葡萄糖输注率的升高和GP的降低。

## 2. Activation of SGLT1 and GLP-1 Receptor Is Necessary for Upper Small Intestinal Glucose Sensing in Healthy Rodents

SGLT1和GLP-1受体的激活对于健康啮齿动物的上小肠葡萄糖感知是必需的



成功敲低SGLT1

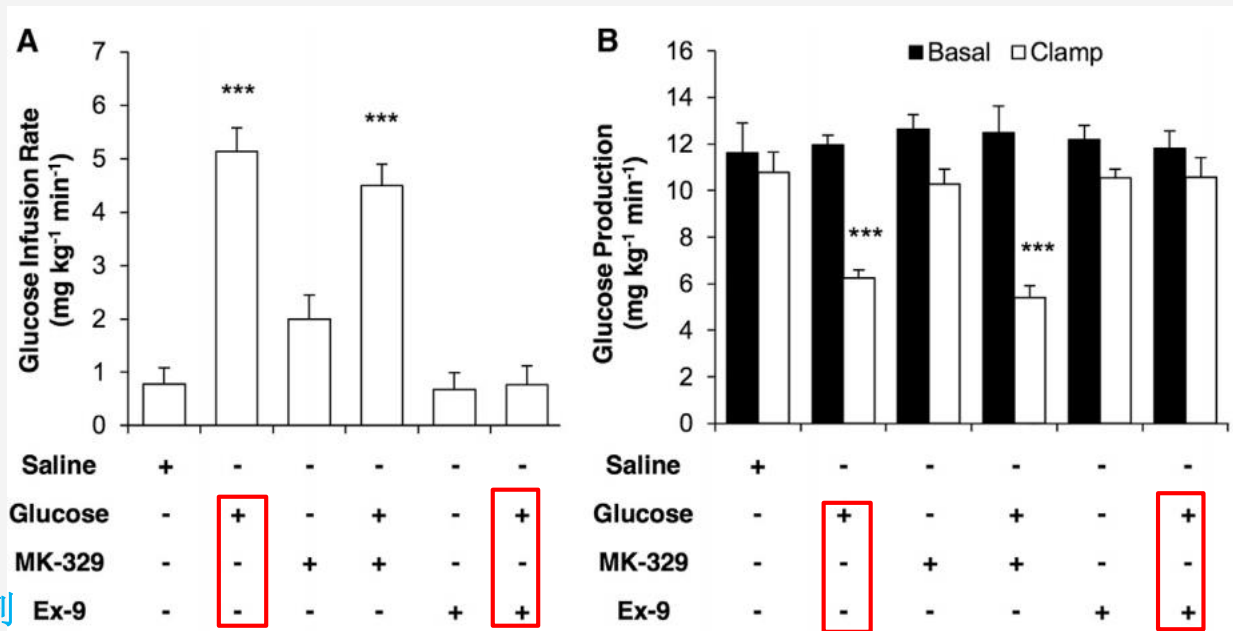
无差异，  
糖感知作用消失

无差异，  
糖感知作用消失



## 2. Activation of SGLT1 and GLP-1 Receptor Is Necessary for Upper Small Intestinal Glucose Sensing in Healthy Rodents

SGLT1和GLP-1受体的激活对于健康啮齿动物的上小肠葡萄糖感知是必需的



GLP-1R抑制剂

GLP-1被抑制后，影响了葡萄糖输注率的升高和GP的降低。

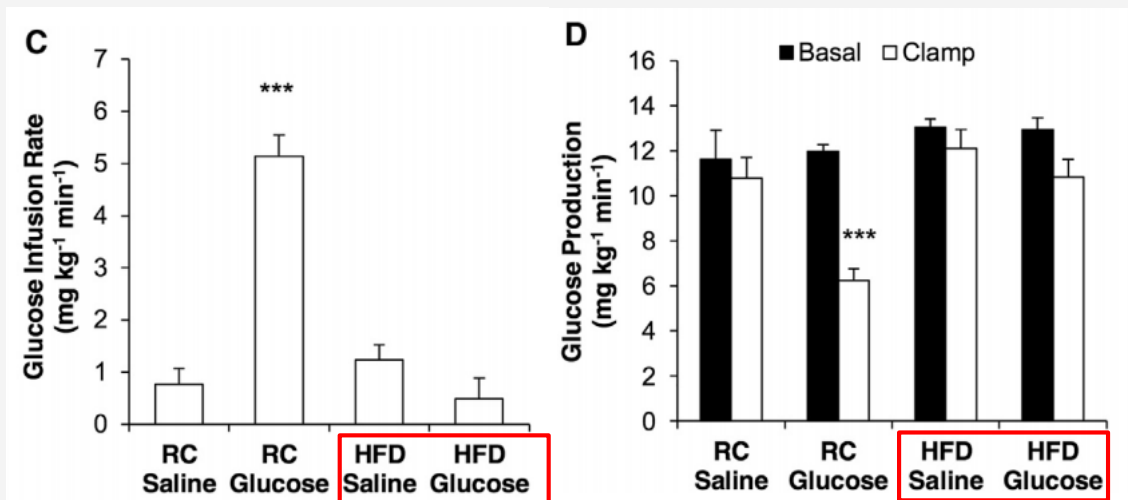
## 小结



上部小肠葡萄糖感测通过SGLT1和GLP-1R依赖性机制调节GP。

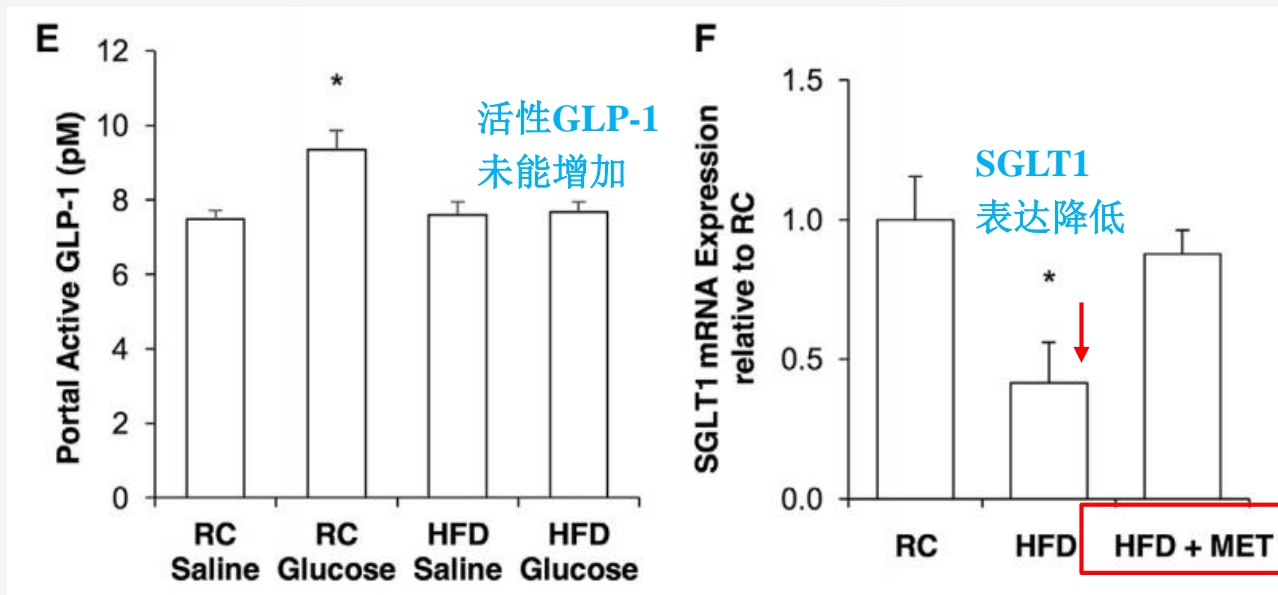
### 3. High-Fat Feeding Disrupts Upper Small Intestinal Glucose Sensing in Parallel to a Reduction of SGLT1 Expression and Glucose-Stimulated GLP-1 Release: A Potential Target for Metformin Therapy

高脂肪喂养扰乱上小肠葡萄糖感知，同时减少SGLT1表达和葡萄糖刺激的GLP-1释放：二甲双胍治疗的潜在目标



HFD喂养的大鼠表现出肠道葡萄糖感知受损，因为上部小肠葡萄糖输注未能增加葡萄糖输注率（图3C）和降低胰腺钳夹期间GP（图3D和S3E）。

### 3. High-Fat Feeding Disrupts Upper Small Intestinal Glucose Sensing in Parallel to a Reduction of SGLT1 Expression and Glucose-Stimulated GLP-1 Release: A Potential Target for Metformin Therapy



葡萄糖刺激的门静脉活性GLP-1的增加在HFD大鼠中完全消除（图3E），上部小肠粘膜SGLT1表达减少（图3F）。二甲双胍治疗可以恢复HFD大鼠中的SGLT1表达。

## 小结



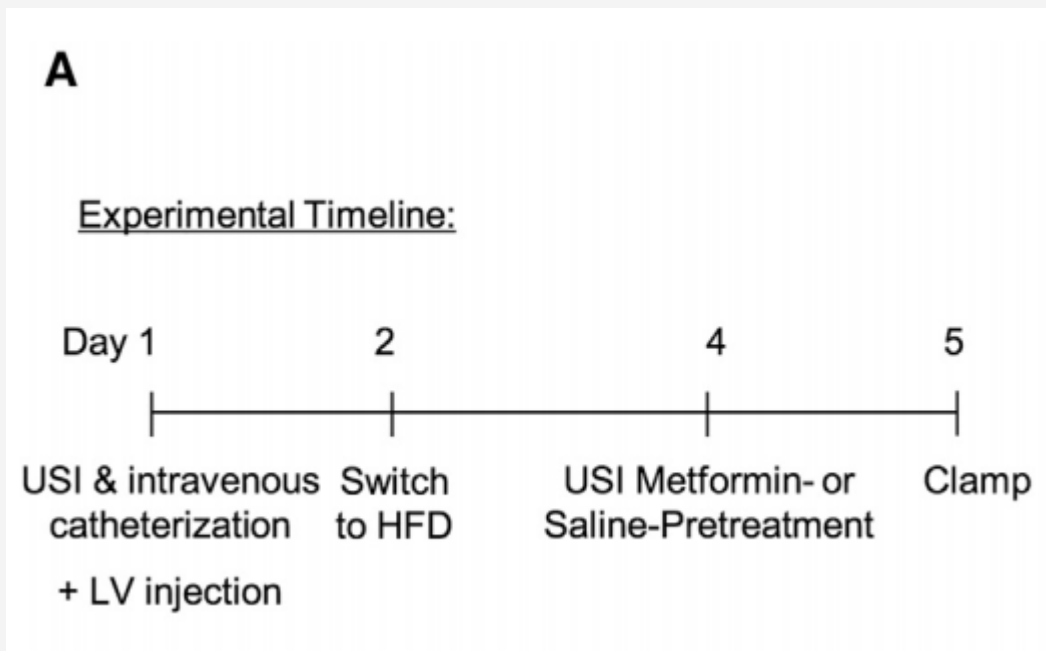
 高脂肪喂养扰乱上小肠葡萄糖感知，同时减少SGLT1表达和葡萄糖刺激的GLP-1释放，二甲双胍治疗可以恢复HFD大鼠中的SGLT1表达。

假设：

二甲双胍增加HFD大鼠的SGLT1表达以增加葡萄糖摄取并因此改善上部小肠中的葡萄糖感知？

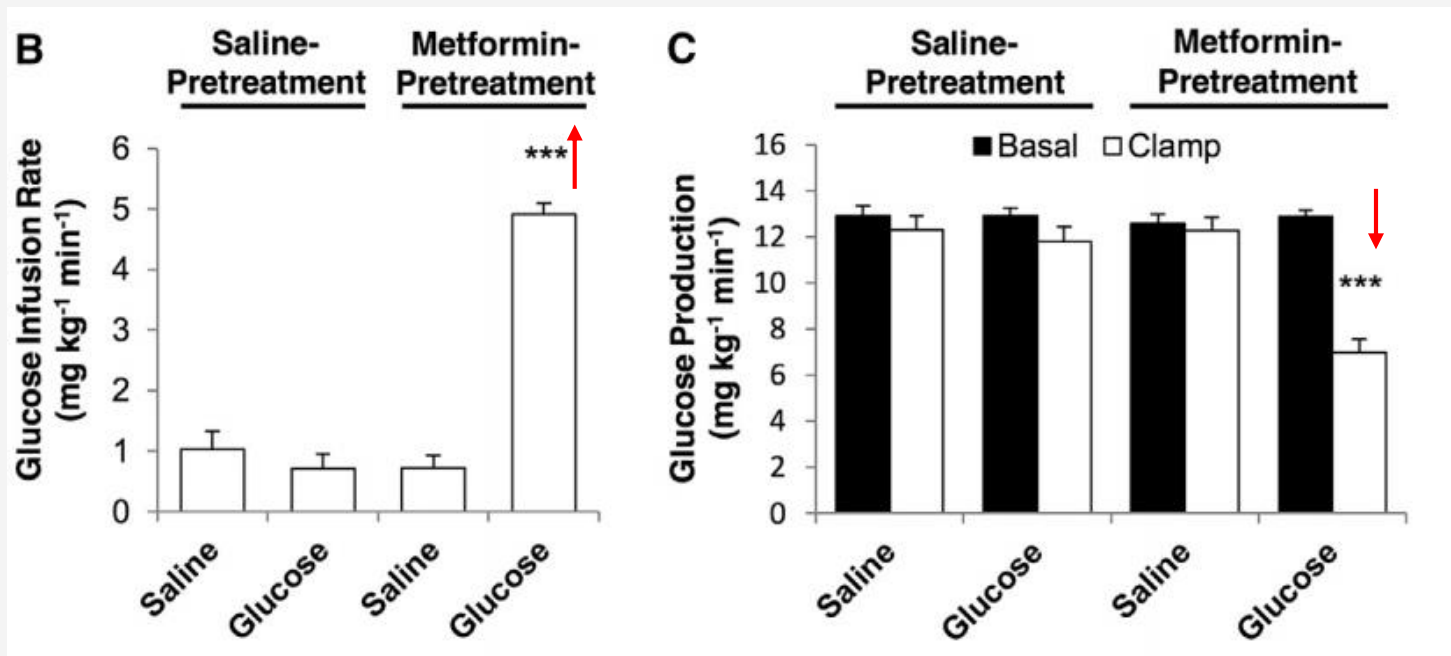
## 4. Metformin Restores Upper Small Intestinal Glucose Sensing by Normalizing SGLT1 Expression

二甲双胍通过正常化SGLT1表达恢复上小肠葡萄糖感应



## 4. Metformin Restores Upper Small Intestinal Glucose Sensing by Normalizing SGLT1 Expression

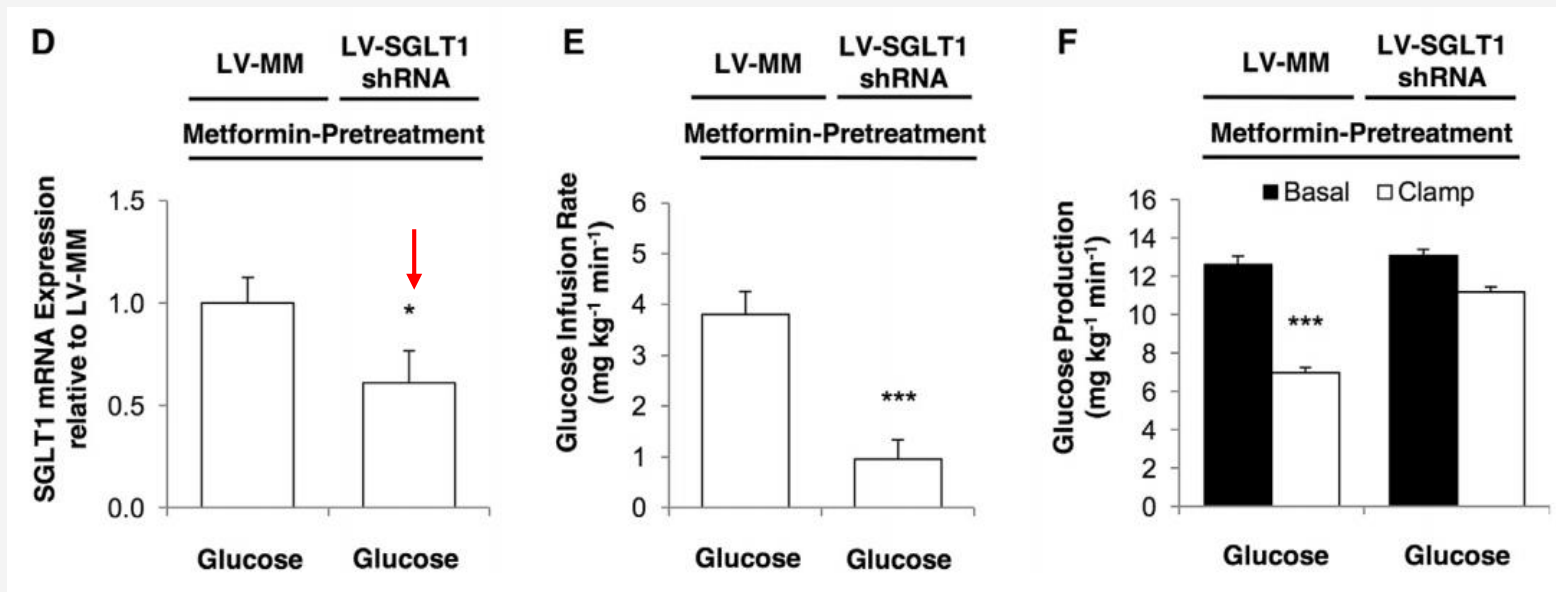
二甲双胍通过正常化SGLT1表达恢复上小肠葡萄糖感应



二甲双胍预处理的HFD大鼠的上部小肠输注葡萄糖相对于盐水输注增加了葡萄糖输注速率（图4B）并降低了GP（图4C和S4A）。表明二甲双胍直接增强HFD大鼠的上部小肠葡萄糖感知机制。

## 4. Metformin Restores Upper Small Intestinal Glucose Sensing by Normalizing SGLT1 Expression

二甲双胍通过正常化SGLT1表达恢复上小肠葡萄糖感应



成功敲低SGLT1

HFD大鼠中的上小肠LV-SGLT1 shRNA注射消除了二甲双胍预处理对上部小肠SGLT1表达的影响（图4D）。



## 小结



二甲双胍预处理恢复HFD大鼠中上部小肠SGLT1的正常表达从而恢复葡萄糖感知进而调节GP。

假设：

这其中，肠道菌群发挥了重要的联系作用？

## 5. Metformin Alters Upper Small Intestinal Microbiota Composition

### 二甲双胍改变上小肠微生物群组成

Table S3 Summary of the bacterial groups identified by DESeq2 as significantly different at the phylum, family and genus levels relating to Figure 5.

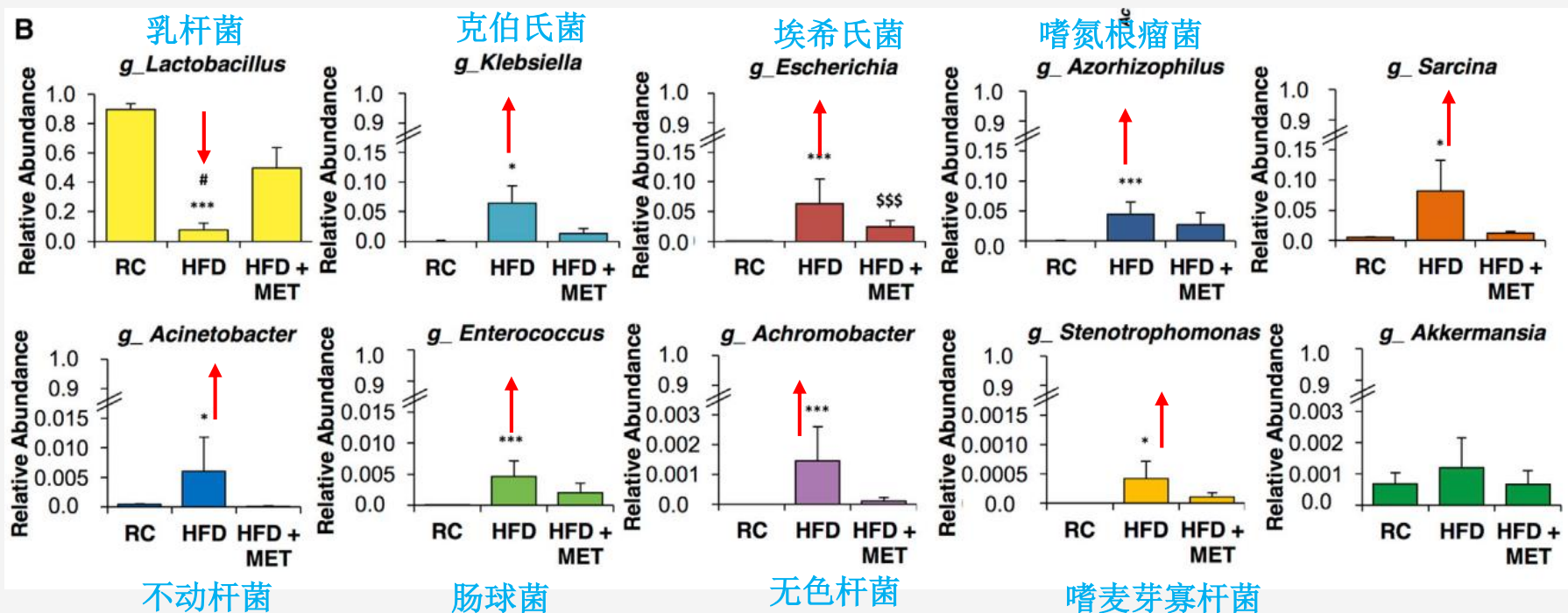
| Groups Compared   | BaseMean | log2(fold change) | padj               | Taxonomic annotation  |
|-------------------|----------|-------------------|--------------------|-----------------------|
| RC vs. HFD        | 8477.35  | -4.66433          | 2.46E-06           | p_Proteobacteria      |
|                   | 651.38   | 4.86096           | 1.67E-05           | p_Actinobacteria      |
|                   | 14781.17 | -4.75285          | 3.76E-08           | f_Clostridiaceae      |
|                   | 36002.08 | 4.24267           | 7.03E-08           | f_Lactobacillaceae    |
|                   | 6104.58  | -4.68913          | 2.29E-04           | f_Enterobacteriaceae  |
|                   | 95.99    | -3.88448          | 3.29E-03           | f_Enterococcaceae     |
|                   | 851.08   | -5.57921          | 3.35E-03           | f_Pseudomonadaceae    |
|                   | 3.56     | -3.88511          | 3.70E-02           | f_Methylobacteriaceae |
|                   | 34574.25 | 4.37111           | 2.27E-10           | g_Lactobacillus       |
|                   | 1568.26  | -7.33663          | 6.56E-08           | g_Escherichia         |
|                   | 80.45    | -5.09292          | 1.00E-03           | g_Enterococcus        |
|                   | 15.82    | -5.83439          | 3.45E-03           | g_Achromobacter       |
|                   | 815.27   | -5.73089          | 4.48E-03           | g_Azorhizophilus      |
|                   | 2644.33  | -4.28444          | 1.24E-02           | g_Sarcina             |
|                   | 1128.10  | -5.61332          | 1.68E-02           | g_Klebsiella          |
| 5.33              | -5.43258 | 4.43E-02          | g_Stenotrophomonas |                       |
| 55.79             | -4.82834 | 4.92E-02          | g_Acinetobacter    |                       |
| HFD vs. HFD + MET | 253.38   | 3.57001           | 4.88E-03           | p_Actinobacteria      |
|                   | 16269.23 | 3.27516           | 2.71E-02           | f_Lactobacillaceae    |
|                   | 15311.26 | 3.16818           | 2.12E-02           | g_Lactobacillus       |
| RC vs. HFD + MET  | 7706.91  | -3.92133          | 3.14E-04           | f_Clostridiaceae      |
|                   | 627.34   | -5.45116          | 1.12E-02           | f_Pseudomonadaceae    |
|                   | 45.54    | -4.25439          | 2.22E-02           | f_Bifidobacteriaceae  |
|                   | 9.40     | -4.44580          | 3.49E-02           | f_Rhizobiaceae        |
|                   | 32.45    | 2.56324           | 4.69E-02           | f_Staphylococcaceae   |
|                   | 603.44   | -5.64242          | 2.52E-04           | g_Escherichia         |

HFD喂养降低了放线菌的丰度并增加了变形菌（表S3）。

在科水平，HFD降低了乳杆菌科的丰度并增加了梭菌科，肠杆菌科，肠球菌科，假单胞菌科和甲基杆菌科的丰度（表S3）。

## 5. Metformin Alters Upper Small Intestinal Microbiota Composition

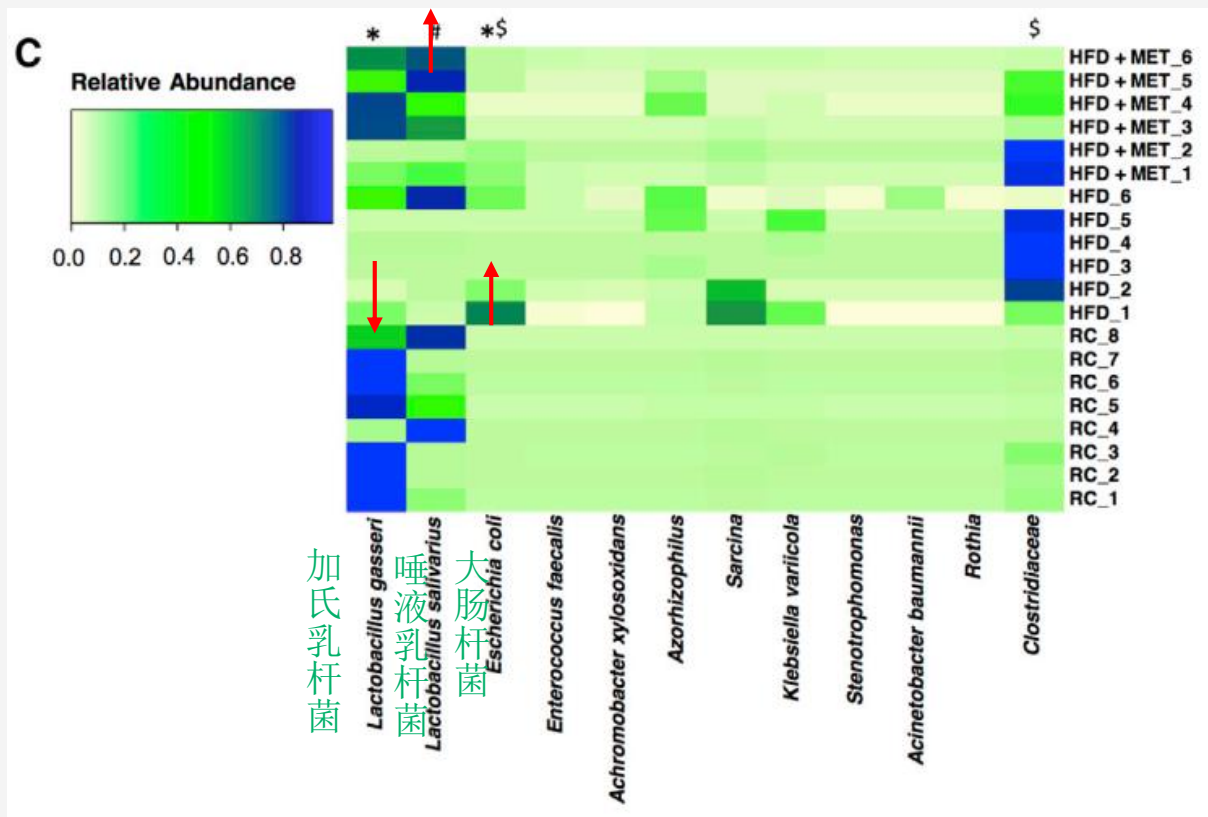
二甲双胍改变上小肠微生物群组成



在属的水平上，HFD降低了乳杆菌的丰度，并增加了克雷伯氏菌等等.....的丰度（图5B;表S3）。

## 5. Metformin Alters Upper Small Intestinal Microbiota Composition

二甲双胍改变上小肠微生物群组成



食物喂养大鼠的上部小肠以乳杆菌属为主（图5B），HFD组中加氏乳杆菌减少、大肠杆菌增加（图5C）。

## 小结



因此，仅3天的HFD喂养足以改变大鼠上部小肠中的微生物群组成。二甲双胍预处理增加了HFD大鼠中唾液乳杆菌的丰度，而对加氏乳杆菌或大肠杆菌的丰度没有显著影响（图5C）。该证据表明，**乳杆菌属**可以在二甲双胍的葡萄糖调节功能中起作用，并且该属内的某些种可能参与其中。

## 小结

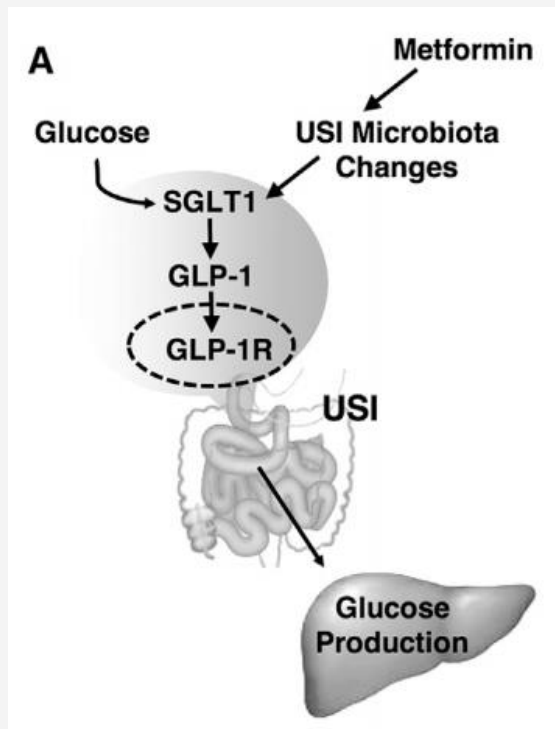


假设:

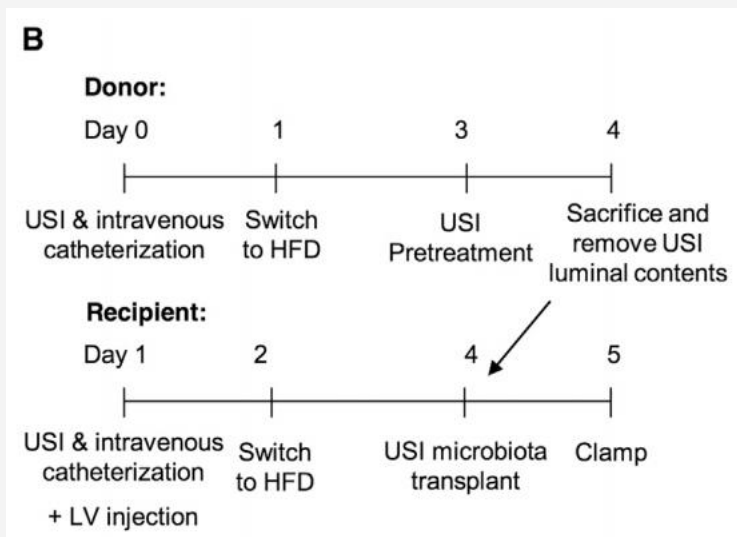
重要的是，这些二甲双胍诱导的上部小肠微生物群的变化发生在恢复SGLT1表达的相同实验条件下（图3F），表明二甲双胍诱导的SGLT1依赖性葡萄糖感应途径的变化可能继发于上部小肠微生物群。

## 6. Upper Small Intestinal Microbiota Transplantation from Metformin-Pretreated Donors Restores Upper Small Intestinal Glucose Sensing in HFD Recipients

二甲双胍预处理供体的上小肠微生物移植恢复HFD受者的上小肠葡萄糖感知

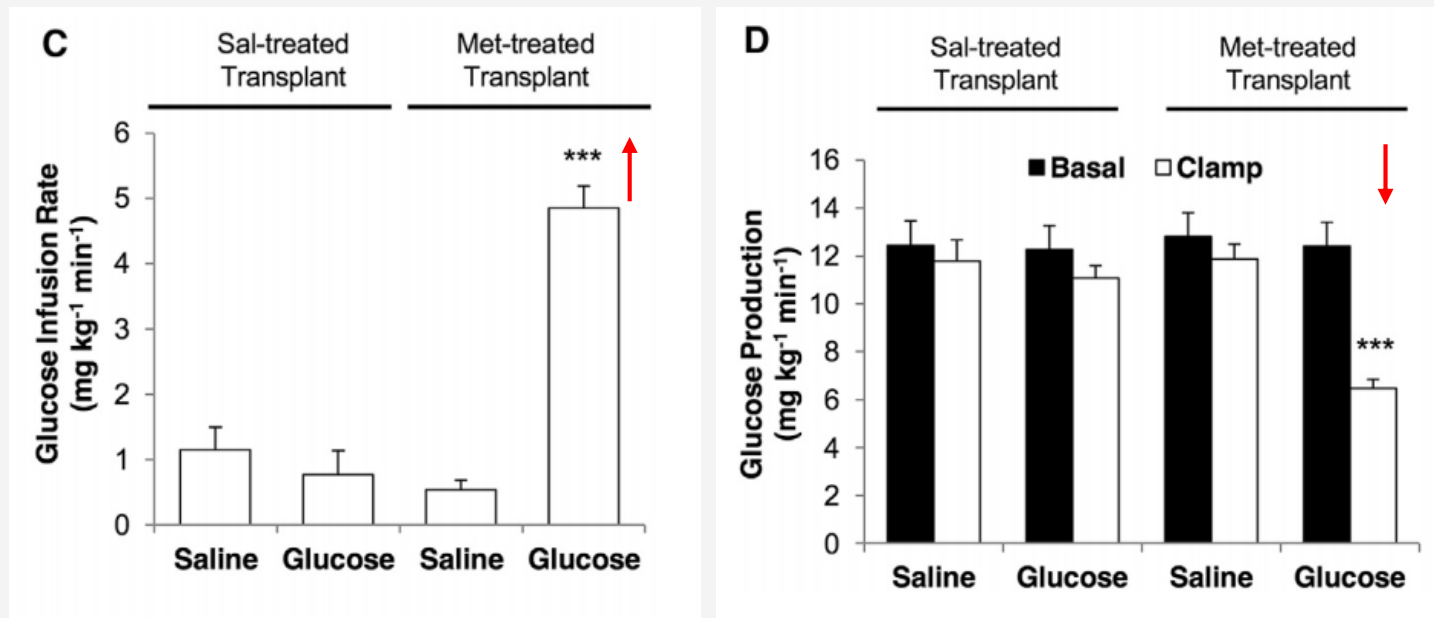


### 上小肠微生物移植实验



## 6. Upper Small Intestinal Microbiota Transplantation from Metformin-Pretreated Donors Restores Upper Small Intestinal Glucose Sensing in HFD Recipients

二甲双胍预处理供体的上小肠小肠微生物移植恢复HFD受者的上小肠葡萄糖感知

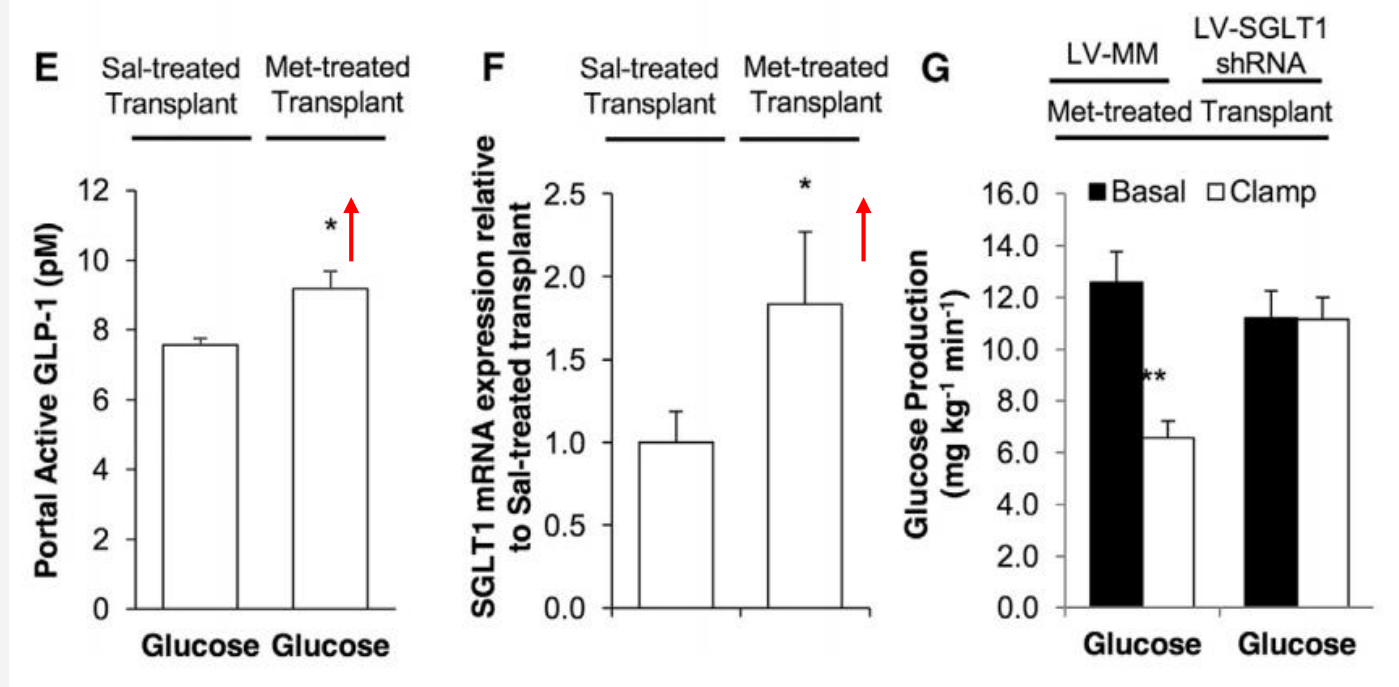


二甲双胍处理的微生物群直接改变了HFD大鼠上部小肠的营养感知。



## 6. Upper Small Intestinal Microbiota Transplantation from Metformin-Pretreated Donors Restores Upper Small Intestinal Glucose Sensing in HFD Recipients

二甲双胍预处理供体的上小肠小肠微生物移植恢复HFD受者的上小肠葡萄糖感知



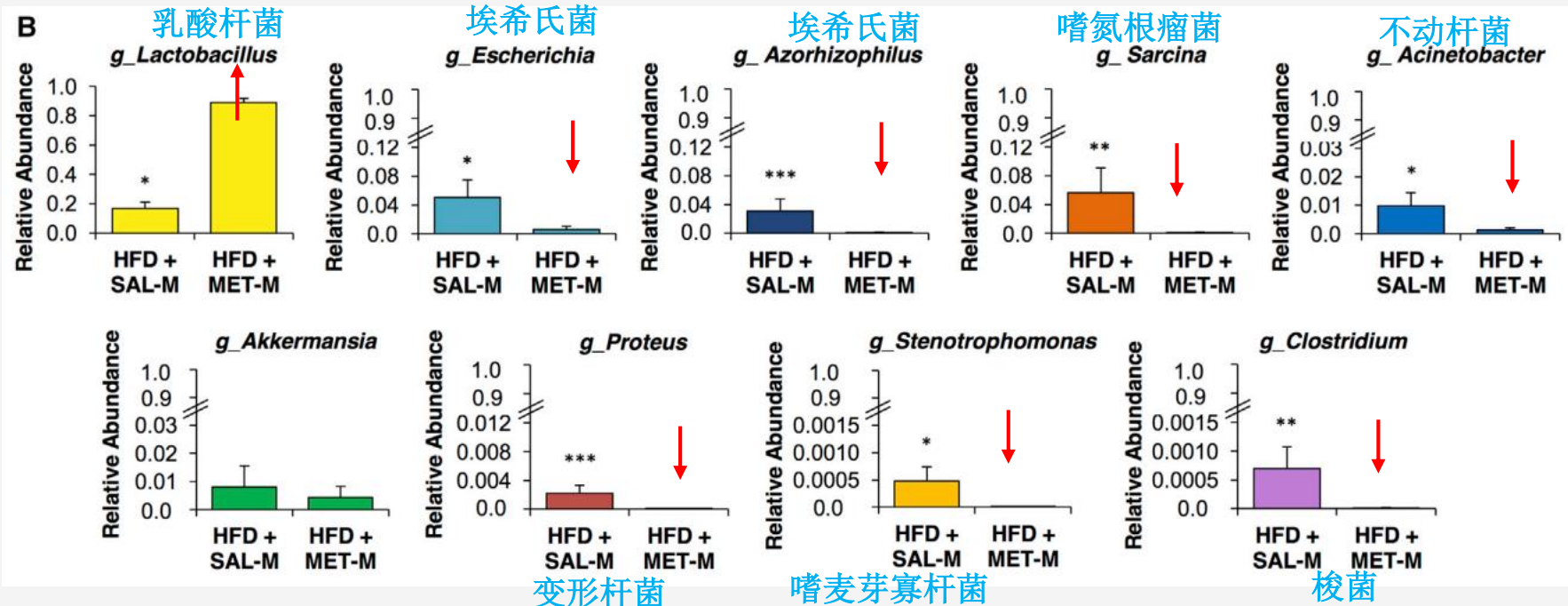
## 小结



二甲双胍处理的微生物群改善了葡萄糖感知，同时恢复了葡萄糖刺激的GLP-1释放。并确定GLP-1分泌的恢复和GP的抑制是由于SGLT1表达的上调。

## 6. Upper Small Intestinal Microbiota Transplantation from Metformin-Pretreated Donors Restores Upper Small Intestinal Glucose Sensing in HFD Recipients

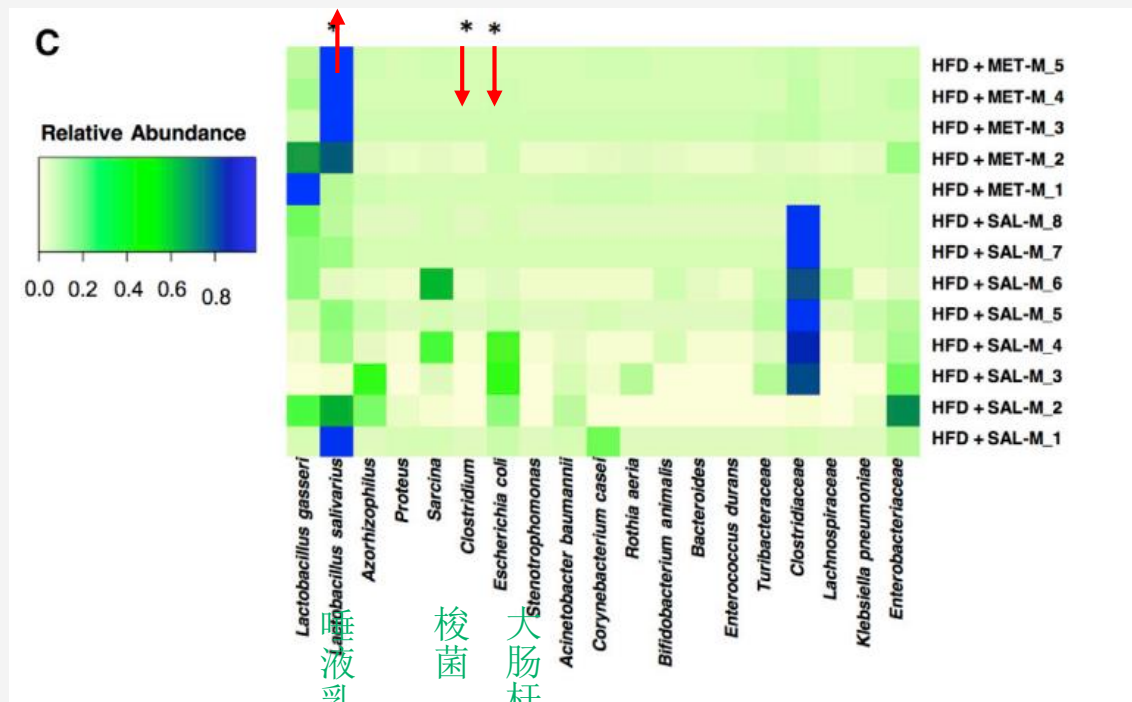
二甲双胍预处理供体的上小肠小肠微生物移植恢复HFD受者的上小肠葡萄糖感知



移植有二甲双胍处理的微生物群的HFD大鼠表现出乳杆菌属的增加。表现出埃希氏菌等等.....的减少（图7B;表S4）

## 6. Upper Small Intestinal Microbiota Transplantation from Metformin-Pretreated Donors Restores Upper Small Intestinal Glucose Sensing in HFD Recipients

二甲双胍预处理供体的上小肠小肠微生物移植恢复HFD受者的上小肠葡萄糖感知



在物种水平上，我们看到移植了二甲双胍处理的上部小肠微生物群的HFD大鼠唾液乳杆菌丰度增加，梭菌和大肠杆菌丰度降低，相对于移植盐水处理的上部小肠微生物群的HFD大鼠（图7C）。

## 小结



这些发现为乳杆菌属在二甲双胍的葡萄糖调节功能中的潜在作用提供了进一步的证据，因此该属内的特定种可以参与上部小肠葡萄糖感测的恢复。



03

## 结果与讨论

## 结果与讨论



Upper small intestinal glucose sensing activates SGLT1 to lower glucose production



High-fat diet reduces glucose-SGLT1 sensing and decreases *Lactobacillus*



Metformin restores glucose-SGLT1 sensing while increasing *Lactobacillus*



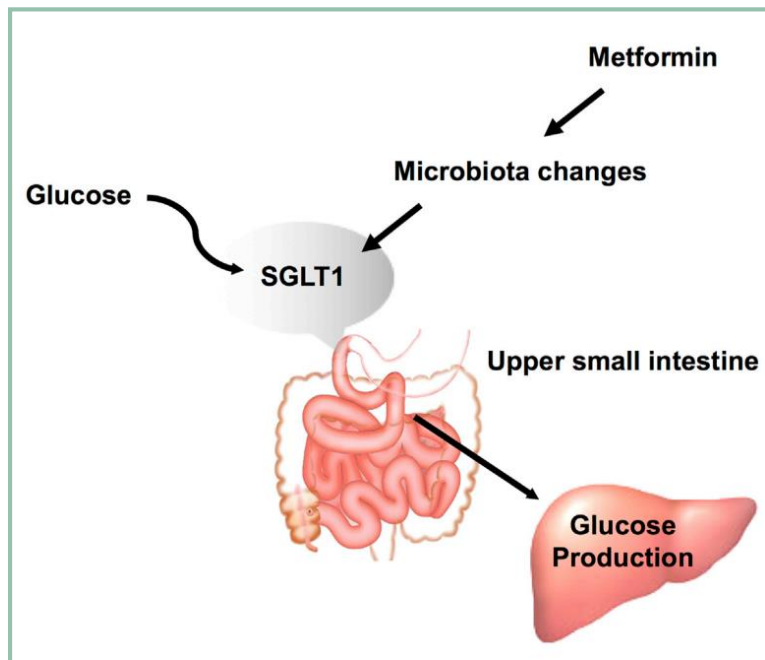
Metformin-treated microbiota transplants restore glucose-SGLT1 sensing .



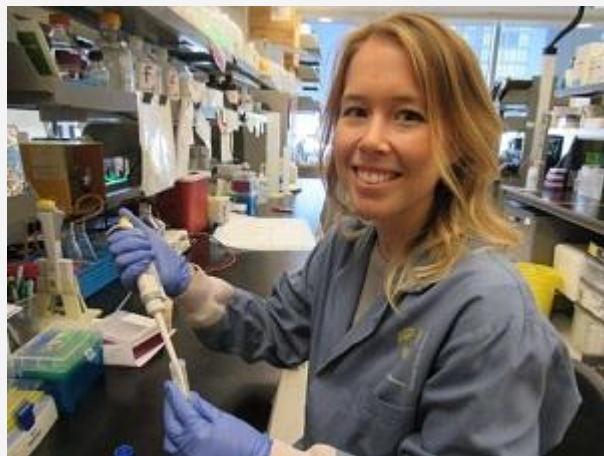
04

## 结论与思考





总之，作者发现了二甲双胍作用的新机制，其中二甲双胍诱导的上部小肠微生物群的变化恢复了糖尿病小鼠上部小肠中SGLT1依赖性葡萄糖感应途径以调节葡萄糖稳态。



论文的共同第一作者Paige V. Bauer表示，解析二甲双胍的作用机制能够帮助鉴定和开发替代性的、更有效的糖尿病疗法。这是一个重要的目标，因为约25%的患者会遭受二甲双胍相关的副作用，如虚弱、胃痛和恶心。



通讯作者、多伦多大学的生理学和医学教授Tony Lam博士说：“这项新研究首次报道了小肠上段的一种调节机制，这种机制将二甲双胍引发的肠道微生物组的变化与啮齿动物中血糖水平的降低联系起来。”不过，他也强调，这种机制的临床意义还需要在人类中进行进一步研究。



iRNA, shRNA, dsRNA, miRNA间的区别

RNA干扰 (RNAi)，即用20多个核苷酸组成的短的双链RNA (siRNA) 代替传统反义核酸进行转录后基因沉默，已经迅速而广泛地应用到基因功能，基因表达调控机制研究等热门领域，并为基因治疗开辟了新的途径。近两年来，这方面的科学论文及报道爆炸性增长，几乎每天都有新的结果涌现。这些论文中，出现了很多与RNA干扰相关的概念，意思很相近但并不完全相同，这里列举了几个常见的RNA干扰相关的名词及其简单的解释：

1、miRNA：在遗传学中，微RNA (microRNAs, miRNA) 是长度在21-23个核苷酸之间的单链RNA片段，调节基因的表达。miRNA由基因编码，从DNA转录而来，但不翻译成蛋白。初级转录产物 (primary transcripts, pri-miRNA) 缩短其颈环结构得到功能性的miRNA。成熟的miRNA分子与一个或更多个mRNA分子部分互补，其主要功能是下调基因的表达。而microRNA这个概念第一次在2001年Science (26 October 2001)的文章中出现。

2、dsRNA：双链RNA (double-stranded RNA, dsRNA) 是一种有互补链的RNA，与细胞中发现的DNA相似，dsRNA构成了一些病毒 (双链RNA病毒) 的基因组。像病毒RNA或siRNA之类的双链RNA能够促发真核细胞中的RNA干扰，引起脊椎动物中的干扰素反应。

3、shRNA：小发卡或短发卡RNA (a small hairpin RNA or short hairpin RNA, shRNA) 是一段具有紧密发卡环 (tight hairpin turn) 的RNA序列，常被用于RNA干扰沉默靶基因的表达。利用载体把shRNA导入细胞，载体中的U6启动子确保shRNA总是表达；这种装载了shRNA载体可被传递到子代细胞中去，从而使基因的沉默可被遗传。shRNA的发卡结构可被细胞机制切割成siRNA，然后siRNA结合到RNA诱导沉默复合物上 (RNA-induced silencing complex, RISC)，该复合物能够结合到目的mRNAs并将其降解。shRNA是由RNA聚合酶III转录的，哺乳细胞中的shRNA产物有时会促使细胞产生干扰素反应 (细胞遇到病毒侵袭时做出的自我防卫反应)，而miRNA中却不会遇到这种问题 (miRNA是由RNA聚合酶II转录，与转录mRNA的聚合酶相同)。shRNA也被用于植物和其它系统中，在这些系统中不需要U6启动子的驱动。在植物中，常用的增强表达的启动子是CaMV35S (cauliflower mosaic virus 35S)，在这种情况下，RNA聚合酶II参与了转录，起始RNA干扰。

4、siRNA：小或短干扰RNA (small/short interfering RNA, siRNA) 是一类20-25个核苷酸长度的双链RNA分子，其主要在RNAi通路中起作用，干扰特异基因的表达。此外siRNA在RNAi相关的通路中也起作用，如抗病毒机制，基因组染色体结构的塑造等。其结构是一段完全互补的RNA双链，两端各有两个未互补的的碱基。

最后做一下小结，miRNA, siRNA, dsRNA和shRNA都是RNA干扰技术中用到的小分子RNA，其不同之处在miRNA是单链RNA，其余均为双链RNA；siRNA和dsRNA相似；shRNA需通过载体导入细胞后，然后利用细胞内的酶切机制得到siRNA而最终发挥RNA干扰作用。