

## 生物医学

## 消化研究

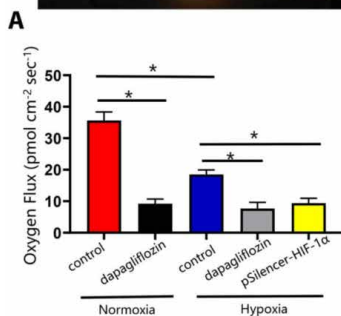
1、*J CARDIOVASC PHARM*: NMT 发现达格列净可降低肾小管上皮细胞耗氧速率

通讯作者：解放军总医院 曹丰 东南大学医学院 黄旭

所用 NMT 设备：NMT 高通量药物筛选仪、NMT 组织能量代谢仪

关键词：CI-AKI；达格列净；HIF-1 $\alpha$ /HE4/NF- $\kappa$ B 通路；糖尿病；细胞凋亡；医学类

冠心病患者因手术造影剂引起的临床获得性肾病称为造影剂肾病（CI-AKI）。低氧损伤近端小管上皮细胞是一种 CI-AKI 的病理机制。之前的研究已经表明缺氧激活 HIF-1 $\alpha$ /HE4/NF- $\kappa$ B 增强肾纤维化 SGLT-2 抑制剂格列净抑制缺氧诱导因子（HIF）-1 $\alpha$  的表达减少糖尿病肾病的进展。然而，SGLT-2 的治疗作用及其机制有待进一步研究对 CI-AKI 的抑制剂尚不清楚。本研究探讨了 HIF-1 $\alpha$ /HE4/NF- $\kappa$ B 通路在 CI-AKI 中的作用以及达格列净如何有效地发挥作用通过抑制该途径治疗 CI-AKI。在体外，细胞被分为对照组、低氧组、低氧组 + 达格列净组、低氧组 + pSilencer-HIF-1 $\alpha$  组。分别用免疫荧光、western blotting 和流式细胞术评价细胞缺氧、凋亡和相关蛋白表达。达格列净显著降低氧气消耗、HIF-1 $\alpha$ 、人附睾蛋白 4（HE4）、NF- $\kappa$ B 的表达，与凋亡细胞比较对照组（P, 0.01）。在体内，大鼠被分为对照组（C），糖尿病（D），糖尿病 + 造影剂，糖尿病 + 造影剂 + 达格列净组。后 2 组大鼠给予达格列净服用 2 天。静脉注射吡哆美辛、n-硝基-L-精氨酸甲酯和碘海醇来诱导 CI-AKI。通过肾功能、H&E 染色和免疫组化评价达格列净对 CI-AKI 大鼠的影响。血清肌酐、尿素氮、tunel 阳性管状细胞、HIF-1 $\alpha$ 、HE4、NF- $\kappa$ B 表达和组织病理学评分均增加糖尿病 + 造影剂大鼠与 C、D、糖尿病 + 造影剂大鼠比较达格列净 + 造影剂大鼠（P, 0.01）。因此，达格列净可能可以通过抑制 HIF-1 $\alpha$ /HE4/NF- $\kappa$ B 来改善 CI-AKI 体外和体内的信号。



**C** 达格列净降低 HK-2 细胞的耗氧速率。正值代表耗氧量。



扫码查看本文详细报道

## 2、Chinese Med J-Peking: $Ca^{2+}$ 流紊乱导致胰岛素分泌异常

通讯作者：清华大学 张宗明

所用 NMT 设备：NMT 活体生理检测仪<sup>®</sup> (Physiolyzer<sup>®</sup>)

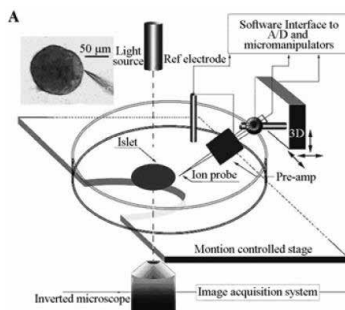
关键词：type 2 diabetes; pancreatic beta cell;  $Ca^{2+}$  influx; mitochondrial function

NISC 文献库文献编号：C2012-011 (扫码回复编号下载全文)

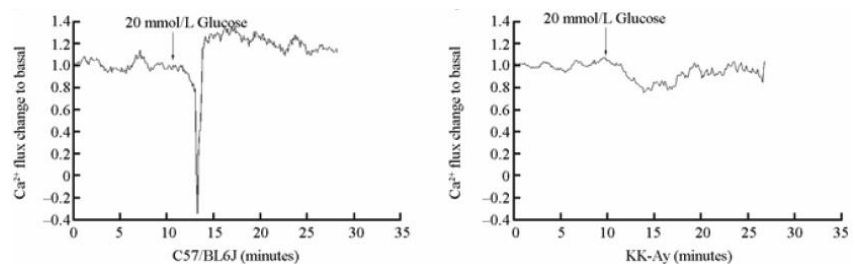
胰腺  $\beta$  细胞的胰岛素分泌异常是 type2 糖尿病的主要缺陷。以前在患有糖尿病的人和动物模型的研究中发现线粒体功能受损和  $Ca^{2+}$  吸收异常。本研究是为了研究线粒体功能、 $Ca^{2+}$  吸收和胰岛素分泌之间的关系。

2012 年，旭月研究院同清华大学合作，使用患有糖尿病的 KK-Ay 小鼠和正常的 C57/BL6J 小鼠的胰腺  $\beta$  细胞研究了线粒体的功能和形态、 $Ca^{2+}$  通道，并且使用基于非损伤微测技术 (Non-invasive Micro-test Technology, NMT) 的 NMT 活体生理检测仪<sup>®</sup> (Physiolyzer<sup>®</sup>) 测定了葡萄糖诱导的  $Ca^{2+}$  吸收。实验发现，葡萄糖诱导正常胰腺  $\beta$  细胞的  $Ca^{2+}$  吸收增加，但是 KK-Ay 的  $Ca^{2+}$  并没有发生明显变化，当加入 genipin 后，能够恢复 KK-Ay 小鼠胰腺  $\beta$  细胞的  $Ca^{2+}$  吸收。

因此，在患有糖尿病小鼠的胰岛  $\beta$  细胞中，缺失线粒体功能是改变  $Ca^{2+}$  吸收导致的胰岛素分泌异常的重要因素。胰岛组织 (Islet) 是非常适合用于非损伤微测技术测定的材料，具有稳定而明显的  $Ca^{2+}$ 、 $H^+$  和  $K^+$  的流速，这为研究糖尿病的机理提供了重要的活体手段。2012 年，普渡大学官网在对清华大学的介绍中特别提及了此项研究成果。



胰岛  $\beta$  细胞  $Ca^{2+}$  流检测图



葡萄糖诱导后，C57/BL6J 小鼠和 KK-Ay 小鼠的胰岛  $\beta$  细胞  $Ca^{2+}$  流变化。正值表示吸收，负值表示外排



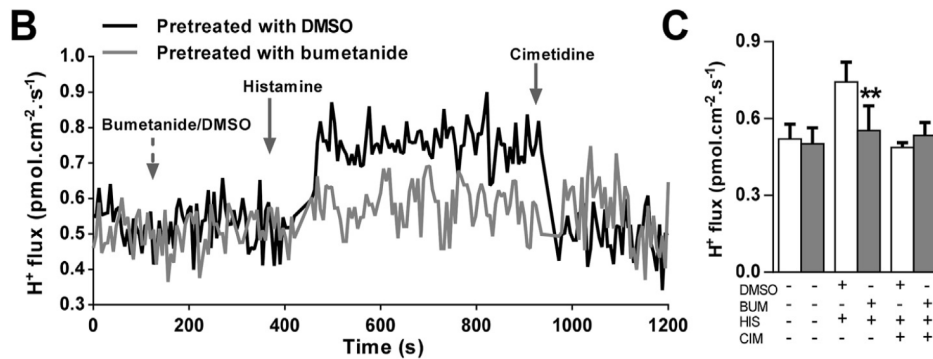
### 3、*European Journal of Pharmacology*: NMT 为 NKCC2 (离子转运体) 参与胃酸分泌提供实时生理证据

通讯作者: 首都医科大学 朱进霞

所用 NMT 设备: 非损伤微测系统 (平台版)

关键词: 布美他尼; 胃酸分泌; 脂多糖 Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-2Cl<sup>-</sup> 共转运体; 壁细胞

Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-2Cl<sup>-</sup> 转运蛋白 (NKCC) 在胃壁细胞中的表达异常高。布美他尼是一种强效的利尿剂, 可阻断 NKCC, 通常会导致胃酸分泌减少。内毒素血症在体内引起低血脂症, 其中脂多糖 (LPS) 起着重要作用。这项研究旨在调查 NKCC2 对 LPS 治疗的小鼠胃酸分泌及其改变的影响。非损伤微测技术 (Non-invasive Micro-test Technology, NMT) 和实时 pH 滴定结合 RNA 干扰被用来确定布美他尼对胃酸分泌的影响。进行了免疫化学和蛋白质印迹研究以调查 LPS 处理的小鼠中 NKCC2 表达的变化。NKCC1 和 NKCC2 的免疫反应性主要观察到壁细胞的基底外侧和顶膜附近。用布美他尼预处理可降低小鼠胃粘膜中组胺刺激的 H<sup>+</sup> 流速。布美他尼的顶端而不是基底外侧的添加抑制了福司可林或组胺 /3- 异丁基 -1- 甲基黄嘌呤 (IBMX) 诱导的胃酸分泌。NKCC2 siRNA 的体内治疗可抑制毛喉素诱导的酸分泌。在组胺刺激后, 大部分 NKCC2 靶向胃粘膜和原代培养的壁细胞中的顶膜。LPS 处理的小鼠的胃黏膜中 NKCC2 和囊泡相关膜蛋白 2 (VAMP2) 的表达降低, 但 H<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>ATPase 的表达没有降低。布美他尼阻断顶叶 NKCC2 而不是基底外侧 NKCC1 可抑制促分泌素诱导的胃酸分泌, 在此期间可能需要 NKCC2 的膜运输。NKCC2 和 VAMP2 的下调可能与 LPS 诱导的胃酸分泌减少有关。



图注. Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-2Cl<sup>-</sup> 转运蛋白 (NKCC) 在胃壁细胞中的表达异常高。布美他尼是一种强效的利尿剂, 可阻断 NKCC, 通常会导致胃酸分泌减少。内毒素血症在体内引起低血脂症, 其中脂多糖 (LPS) 起着重要作用。这项研究旨在调查 NKCC2 对 LPS 治疗的小鼠胃酸分泌及其改变的影响。NMT 和实时 pH 滴定结合 RNA 干扰被用来确定布美他尼对胃酸分泌的影响。用布美他尼预处理可降低小鼠胃粘膜中组胺刺激的泌 H<sup>+</sup> 速率。



扫码查看本文详细报道

#### 4、*Neurogastroent Motil*: 结肠分泌 $\text{Cl}^-$ 致腹泻

通讯作者: 首都医科大学 朱进霞

所用 NMT 设备: 非损伤微测系统 (平台版)

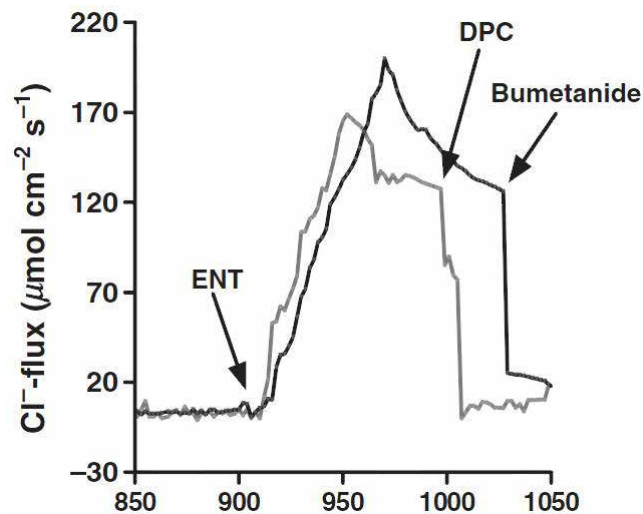
关键词: colon; entacapone; ion secretion; NMT; short-circuit current

NISC 文献库文献编号: C2011-004 (扫码回复编号下载全文)

恩他卡朋 (Entacapone) 是一种广泛用于帕金森疾病 (PD) 治疗的药物, 是儿茶酚-O-甲基转移酶 (COMT) 的抑制剂。然而, 恩他卡朋有胃肠副作用, 临床上约 10% 的服用者会出现腹泻。为了研究产生腹泻的机理, 科学家采用新方法——非损伤微测技术结合传统方法研究了恩他卡朋造成腹泻的原因。

2011 年, 旭月研究院同首医合作, 利用基于非损伤微测技术 (Non-invasive Micro-test Technology, NMT) 的非损伤微测系统 (平台版) 测定了结肠粘膜  $\text{Cl}^-$  的流速, 此外还利用短路电流 (ISC)、放射性免疫方法 (RIA) 等激素测定了带电的离子运输、胞内 cAMP 含量。结果发现, 恩他卡朋增加了大鼠末梢结肠粘膜的 ISC 和  $\text{Cl}^-$  分泌。顶端施加二苯胺 2, 2'-二羧酸 (DPC,  $\text{Cl}^-$  通道抑制剂) 显著抑制了 ISC, 基底外侧施用布美他尼 ( $\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$ -2 $\text{Cl}^-$  (NLCC) 共转运抑制剂) 显著抑制了  $\text{Cl}^-$  外排。消炎痛抑制内源前列腺素 (PG) 的合成, 并且降低了粘膜下层肠神经的活性以及河豚毒素 (TTX) 抑制的恩他卡朋引起的 ISC 的增加和  $\text{Cl}^-$  的分泌。

恩他卡朋刺激大鼠结肠 cAMP 依赖的  $\text{Cl}^-$  的分泌, 这个过程由内源的 PG 和粘膜下层肠神经系统所调节。这项研究的结果比较完整地解释了恩他卡朋产生胃肠道不适应症的原因, 即  $\text{Cl}^-$  的大量分泌。



图注. 恩他卡朋处理结肠粘膜后导致其  $\text{Cl}^-$  外排增强, 加入  $\text{Cl}^-$  通道抑制剂、 $\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$ -2 $\text{Cl}^-$  共转运抑制剂, 引起  $\text{Cl}^-$  外排减弱。正值表示外排, 负值表示吸收

### 5、*Brit J Pharmacol*: NMT 证明大黄素促进 Cl<sup>-</sup> 外排致腹泻

通讯作者：首都医科大学 朱进霞

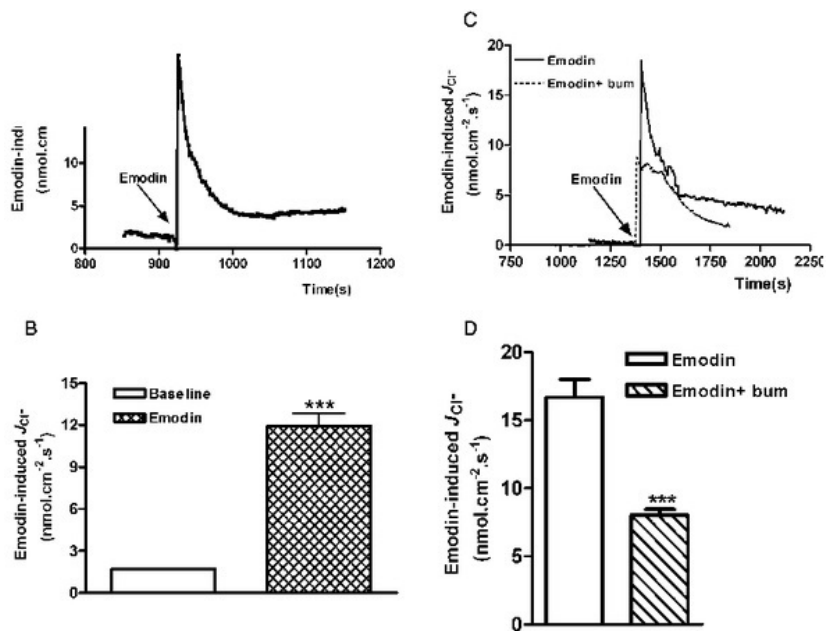
所用 NMT 设备：非损伤微测系统（平台版）

关键词：emodin; ion secretion; colon; submucosal plexus; short-circuitcurrent; Cl<sup>-</sup> flux; non-invasive micro-test technology; mast cell; histamine; PGs

NISC 文献库文献编号：C2012-007（扫码回复编号下载全文）

本研究中，朱进霞教授利用基于非损伤微测技术（Non-invasive Micro-test Technology, NMT）的非损伤微测系统（平台版）检测结肠 Cl<sup>-</sup> 流，研究大黄素的机制，发现大鼠结肠上皮细胞在大黄素作用下会出现较大数值的 Cl<sup>-</sup> 外排（这一点与很多能引发腹泻的药物类似），而大黄素诱导的 Cl<sup>-</sup> 外排与肥大细胞脱粒以及粘膜下胆碱能和非胆碱能神经元的激活密切相关。

中药药理药效的研究一直是一个难点，这也成为中药国际化的严重障碍。作者利用非损伤微测系统（平台版）对中药有效成分药效的研究是非常有益的探索，基于非损伤微测技术的特点，该方法很可能成为研究中药整体药效的突破性手段。文中的非损伤微测技术实验由朱进霞教授实验室和旭月研究院合作完成。



图注：大黄素处理后，肠粘膜 Cl<sup>-</sup> 流速。正值表示外排

