文章编号:1000-5404(2014)03-0257-05

论著

Roux-en-Y 胃转流术对 2 型糖尿病大鼠肝脏 AQP9 的影响

蒙长远,陈志雄,官文飞,母 松,骆 赞,汪志红,张 军 (400016 重庆,重庆医科大学附属第一医院胃肠外科)

[摘要] **目的** 研究 Roux-en-Y 胃转流术(Roux-en-Y gastric bypass,RYGB)对 2 型糖尿病(type 2 diabetes mellitus,T2DM)大鼠肝脏水通道蛋白-9(aquaporin-9, AQP9)表达的影响,初步探讨 RYGB 改善 T2DM 的机制。**方法** SD 大鼠 50 只,按随机数字表法选取 40 只建立 T2DM 模型,按干预方式分为糖尿病组(B 组,$n=10$)、糖尿病假手术组(C 组,$n=10$)、糖尿病手术组(D 组,$n=10$),另 10 只大鼠作为正常对照组(A 组)。检测各组大鼠术前和术后 5、10、15、20 d 的空腹血糖(fasting blood glucose, FBG)、血清胰岛素及胰高血糖素样肽-1(glucagon-like peptide-1,GLP-1)水平。于术后 20 d 处死各组大鼠,分别用免疫荧光染色和 Western blot 检测肝脏组织 AQP9 的表达情况。**结果** D 组大鼠术后 5 d 空腹血糖由术前(23.4±1.6)mmol/L 降至(8.7±0.8)mmol/L,术后 20 d 空腹血糖为(7.8±0.8)mmol/L;术后空腹胰岛素较术前无显著变化($P>0.05$);术后 5 d 空腹血清 GLP-1 由术前(7.7±0.3)pmol/L 升至(16.8±0.9)pmol/L,术后 20 d 为(20.3±0.7)pmol/L;术后 20 d,D 组大鼠肝脏组织中 AQP9 的相对表达量(0.21±0.02)明显低于 B、C 组[分别为(0.54±0.11)、(0.58±0.09),$P<0.05$]。**结论** RYGB 可显著降低 T2DM 大鼠肝脏中 AQP9 的表达,降低空腹血糖。

[关键词] 胃转流术;Roux-en-Y;2 型糖尿病;水通道蛋白-9;空腹血糖
[中图法分类号] R363; R587.1; R656.61 [文献标志码] A

Effects of Roux-en-Y gastric bypass on level of aquaporin-9 in type 2 diabetes rats

Meng Changyuan, Chen Zhixiong, Guan Wenfei, Mu Song, Luo Zan, Wang Zhihong, Zhang Jun (Department of Gastrointestinal Surgery, First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University, Chongqing,400016,China)

[**Abstract**] **Objective** To investigate the effects of Roux-en-Y gastric bypass (RYGB) on aquaporin-9 (AQP9) expression in the liver of rats with type 2 diabetes mellitus (T2DM), and to explore the mechanism for RYGB ameliorating T2DM. **Methods** Forty SD rats randomly chosen from 50 were divided into three groups: diabetes group (group B, $n=10$), diabetes sham operation group (group C, $n=10$), and diabetes operation group (group D, $n=10$). The left 10 rats were used as normal control group (group A). The levels of fasting blood glucose (FBG), insulin and glucagon-like peptide 1 (GLP-1) were measured before operation and at 5, 10, 15 and 20 d after operation. All the rats were sacrificed at 20 d after operation and the expression of AQP9 in rat livers was determined by immunofluorescence assay and Western blotting. **Results** As for the group D, the level of FBG decreased from (23.4±1.6) mmol/L (before operation) to (8.7±0.8) mmol/L and (7.8±0.8) mmol/L at 5 d and 20 d after operation, respectively. The level of fasting insulin did not change significantly. The level of fasting GLP-1 increased from (7.7±0.3) pmol/L (before operation) to (16.8±0.9) pmol/L and (20.3±0.7) pmol/L at 5 d and 20 d after operation, respectively. The relative expression level of AQP9 was significantly lower in the group D (0.21±0.02) than in the group B (0.54±0.11) and group C (0.58±0.09) after operation ($P<0.05$). **Conclusion** RYGB can significantly reduce the levels of FBG and AQP9 expression in the liver of rats with T2DM.

[**Key words**] gastric bypass; Roux-en-Y; type 2 diabetes mellitus; aquaporin-9; fasting blood glucose

Supported by the Science and Technology Tackling Project of Application Technology R & D of Chongqing (CSTC2012gg-yyjs10038). Corresponding author: Zhang Jun, E-mail:zjun2323@sina.cn

[基金项目] 重庆市科技攻关应用技术研发项目(CSTC2012gg-yyjs10038)
[通信作者] 张 军,E-mail: zjun2323@sina.cn
[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20131219.2214.020.html(2013-12-19)

2型糖尿病(type 2 diabetes mellitus,T2DM)的患病率在全世界范围内呈持续上升趋势,其急性、慢性并发症严重影响患者生活质量,甚至威胁患者生命。Roux-en-Y胃转流术(Roux-en-Y gastric bypass,RYGB)作为T2DM患者的治疗手段之一,近年来受到国内外糖尿病指南的推荐[1-2],被认为是治疗T2DM的有效手段[3],其确切机制尚不明确。近年研究发现,水通道蛋白-9(aquaporin-9, AQP9)对肝脏甘油和葡萄糖代谢具有重要作用,与T2DM关系密切。本研究通过对高脂饮食和小剂量链脲佐菌素(streptozotocin,STZ)诱导的2型糖尿病模型大鼠行RYGB,观察手术前后各组大鼠空腹血糖(fasting blood glucose, FBG)、胰岛素、胰高血糖素样肽(glucagon-like peptide 1,GLP-1)及肝脏AQP9的变化,探讨RYGB降低血糖的可能机制,旨在为临床应用RYGB治疗糖尿病提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 主要材料

STZ购于美国Sigma公司,胰岛素酶联免疫吸附测定(ELISA)试剂盒、GLP-1 ELISA试剂盒购于美国R&D公司,兔抗大鼠p-叉头状转录因子O1(forkhead transcription factor O1, FoxO1)、兔抗大鼠p-AKT、兔抗大鼠AQP9抗体购于Santa Cruz公司,羊抗兔S-P二抗试剂盒、DAB显色液购于中杉金桥生物公司,HRP标记二抗(抗兔)、兔抗GAPDH购于凯基生物公司,FITC标记驴抗兔IgG购于Santa Cruz公司,罗康全卓越型全自动血糖仪(德国罗氏公司),其余试剂和器械由第三军医大学大坪医院野战外科研究所高血压内分泌科实验室提供。

1.2 T2DM大鼠模型建立及实验动物分组

10周龄健康雄性SD大鼠50只(第三军医大学野战外科研究所大坪医院实验动物中心提供),体质量(170±10)g,先进行适应性喂养1周,持续供给饲料和饮用水,12 h昼夜交替光照、室温25 ℃左右、相对湿度50%~60%。

建立T2DM大鼠模型[4]:按随机数字表法选取40只大鼠予以高脂饲料(含67%常规饲料,10%动物油脂,20%蔗糖,2%胆固醇,1%脱氧胆酸钠)喂养2周后,于空腹时给予腹腔注射STZ(35 mg/kg)。待血糖稳定2周后,以空腹血糖≥16.7 mmol/L认为建模成功。成功建模糖尿病大鼠35只,按随机数字表法选取13只行RYGB,术后存活10只作为糖尿病手术组(D组);另取12只行假手术,手术成功的10只作为糖尿病假手术组(C组);余下10只为糖尿病组(B组)。另10只未造模SD大鼠作为正常对照组(A组)。

1.3 手术方法

RYGB方法[5]:术前禁食14 h,禁饮4 h,异氟烷呼吸麻醉机诱导和维持麻醉,仰卧固定于37 ℃恒温手术台,备皮消毒铺巾,适量皮下补液,于上腹部取正中切口2~3 cm,分离贲门周围的筋膜、韧带和血管以游离出贲门部,之后靠近贲门下缘横断胃,仅保留少许胃组织,远端(胃端)封闭,近端(食管端)待吻合。然后于Treitz韧带下游8 cm处离断空肠,远端与食管端行端端吻合,该吻合处下游12 cm处肠段开一侧切口与Treitz韧带下游8 cm处离断空肠的近端行端侧吻合。以上的操作均用6-0丝线完成,且操作过程中间断洒温生理盐水以保证暴露组织湿润。温生理盐水冲洗腹腔,4-0丝线逐层关腹。术后,置大鼠于恒温笼中,纯牛奶自由饮用2 d,面包等软食1 d之后过渡到正常饮食,均衡控制每组进食总量。假手术按上述胃转流术相应胃肠解剖部位切开再原位吻合,并维持总手术时间接近于胃转流术。

1.4 检测指标

于术前5 d和术后5、10、15、20 d检测各实验组FBG、血清胰岛素和GLP-1的水平,大鼠处死后检测肝脏AQP9等分子的表达水平。

1.4.1 FBG 各组大鼠禁食14 h,鼠尾针刺法按罗康全卓越型全自动血糖仪操作方法测定FBG水平。

1.4.2 胰岛素和GLP-1 各组大鼠禁食14 h,断尾法取全血0.5 mL,分离血清保存于-80 ℃。按胰岛素和GLP-1 ELISA试剂盒说明书测定胰岛素和GLP-1含量。

1.4.3 免疫荧光染色检测大鼠肝脏AQP9的表达 术后20 d,处死各组大鼠,取肝脏组织,冰冻包埋剂包埋后,10 μm连续冰冻切片,10%甲醛溶液固定1 h,5% BSA封闭30 min,4 ℃孵育兔抗大鼠AQP9(1∶100)过夜,PBS冲洗3次,滴加FITC标记驴抗兔IgG,37 ℃孵育1 h,甘油封片后,倒置荧光显微镜(TE2000U,日本Nikon公司)镜下拍片。

1.4.4 Western blot测定大鼠肝脏AQP9、p-AKT、p-FoxO1含量 术后20 d,处死各组大鼠,切取肝脏组织,按试剂盒说明书提取蛋白并定量。蛋白质提取后进行SDS-PAGE电泳、转膜、封闭,4 ℃孵育兔抗大鼠AQP9(1∶1 000)、p-FoxO1(1∶1 000)、p-AKT(1∶1 000)过夜,洗膜后滴加HRP标记羊抗兔二抗,37 ℃孵育1 h,洗膜3次后显影成像。采用Quantity One软件分析各条带灰度值。

1.5 统计学方法

采用SPSS 17.0统计软件,计量资料以$\bar{x}\pm s$表示,两组间比较行t检验,多组间比较行单因素方差分析。采用GraphPad Prism 5制图。

2 结果

2.1 各组大鼠FBG检测结果

D组大鼠术后的FBG明显低于术前($P<0.05$);低于同期C组和B组($P<0.05$),提示胃转流术对T2DM模型大鼠的FBG水平有明显的改善作用。而C组大鼠术后FBG与术前及B组相比,差异无统计学意义($P>0.05$,表1)。

表1 各组大鼠术前及术后不同时间FBG变化(mmol/L,$n=10$, $\bar{x}\pm s$)

组别	术前	5 d	10 d	15 d	20 d
A组	4.9±0.3	5.2±0.4	5.1±0.3	5.6±0.3	5.8±0.3
B组	23.6±1.8	24.3±1.1	24.1±2.0	24.6±1.5	23.6±1.8
C组	23.0±1.9	20.5±3.8	24.0±2.2	23.9±1.5	23.5±1.6
D组	23.4±1.6	8.7±0.8^{abc}	9.5±0.9^{abc}	9.1±0.9^{abc}	7.8±0.8^{abc}

a:$P<0.05$,与术前比较;b:$P<0.05$,与B组比较;c:$P<0.05$,与C组比较

2.2 各组大鼠空腹血清胰岛素、GLP-1 的检测

B、C、D 组大鼠采用高脂饮食联合 STZ 建立 T2DM 模型，由于部分胰岛破坏，致胰岛素水平较 A 组明显下降。C 组和 D 组大鼠术后空腹血清胰岛素较术前无明显改变，差异无统计学意义（$P>0.05$）；且相较于 B 组，C、D 组虽胰岛素略有升高，但差异无统计学意义（$P>0.05$）；C、D 组血清胰岛素水平相比较，差异亦无统计学意义（$P>0.05$，表 2）。提示胃转流术对糖尿病大鼠血清胰岛素水平无显著影响。D 组大鼠术后 5 d 开始空腹血清 GLP-1 较术前明显升高（$P<0.05$），且随术后时间延长逐渐恢复并接近正常水平，且明显高于 B、C 组（$P<0.05$，表 3）。

表 2 各组大鼠术前及术后不同时间空腹血清胰岛素变化

（mU/L，$n=10$，$\bar{x}\pm s$）

组别	术前	5 d	10 d	15 d	20 d
A 组	3.73 ± 0.45	3.57 ± 0.59	3.63 ± 0.78	3.45 ± 0.49	3.53 ± 0.49
B 组	2.41 ± 0.58	2.36 ± 0.77	2.37 ± 0.47	2.36 ± 0.55	2.38 ± 0.67
C 组	2.49 ± 0.49	2.59 ± 0.67	2.40 ± 0.49	2.51 ± 0.59	2.55 ± 0.58
D 组	2.54 ± 0.58	2.61 ± 0.66	2.59 ± 0.58	2.67 ± 0.48	2.68 ± 0.53

表 3 各组大鼠术前及术后不同时间空腹血清 GLP-1 变化

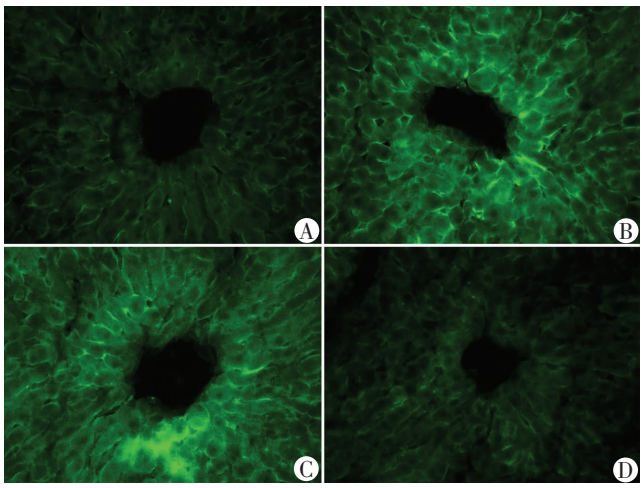
（pmol/L，$n=10$，$\bar{x}\pm s$）

组别	术前	5 d	10 d	15 d	20 d
A 组	18.0 ± 0.2	19.0 ± 0.3	19.5 ± 0.7	20.8 ± 1.2	19.3 ± 0.6
B 组	7.7 ± 0.3	5.9 ± 0.7	6.1 ± 4.8	6.8 ± 4.9	5.1 ± 0.5
C 组	7.7 ± 0.3	8.0 ± 0.4	6.9 ± 0.4	7.5 ± 0.3	6.8 ± 0.4
D 组	7.7 ± 0.3	16.8 ± 0.9^{abc}	18.5 ± 0.4^{abc}	19.3 ± 0.6^{abc}	20.3 ± 0.7^{abc}

a：$P<0.05$，与术前比较；b：$P<0.05$，与 B 组比较；c：$P<0.05$，与 C 组比较

2.3 免疫荧光法检测各组大鼠肝脏中 AQP9 的表达

荧光显微镜下观察结果显示，AQP9 主要表达于肝细胞膜表面，各组均可见。与 B、C 组比较，D 组大鼠肝脏小叶中 AQP9 荧光强度明显较弱，与 A 组接近（图 1）。



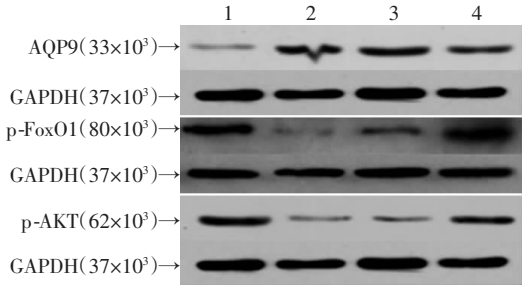
A：正常对照组；B：糖尿病组；C：糖尿病假手术组；D：糖尿病手术组

图 1 各组大鼠肝脏中 AQP9 免疫荧光染色观察

（荧光显微镜，标尺：25 μm）

2.4 Western blot 检测大鼠肝脏 AQP9、p-AKT 和 p-FoxO1 的蛋白表达

D 组大鼠术后 20 d 肝脏组织中 AQP9 相对表达量为 0.21 ± 0.02，明显低于 B、C 组（0.54 ± 0.11、0.58 ± 0.09，$P<0.05$）。D 组大鼠术后 20 d 肝脏组织中 p-FoxO1 相对表达量为 0.56 ± 0.12，明显高于 B、C 组（0.20 ± 0.03、0.24 ± 0.09，$P<0.05$）。D 组大鼠术后 20 d 肝脏组织中 p-AKT 相对表达量为 0.58 ± 0.14，明显高于 B、C 组（0.21 ± 0.05、0.24 ± 0.07，$P<0.05$，图 2）。



1：正常对照组；2：糖尿病组；3：糖尿病假手术组；4：糖尿病手术组

图 2 Western blot 检测各组大鼠肝脏组织中 AQP9、p-FoxO1 和 p-AKT 的表达

3 讨论

目前 T2DM 发病率高，仅中国就已经超过 9 200 万[6]，其远期并发症多，致死、致残率高。T2DM 内科治疗困难，代谢手术的创立和发展为其提供了一种有效的新手段，使其得到普遍治愈成为可能。RYGB 是目前最常使用的代谢手术方式[7]，能有效降低 T2DM 患者的血糖，但具体机制尚未完全阐明。本研究通过建立 T2DM 大鼠模型并行 RYGB，探讨其可能的降糖机制，结果显示在对 T2DM 模型大鼠行 RYGB 后其 FBG 在 5 d 后较术前明显下降，与既往研究[8]一致。

FBG 增高是 T2DM 的一个最重要的特征，其增高主要是肝脏糖原分解和糖异生增加的结果，尤其是糖异生的增加。糖异生的主要原料为乳酸、甘油和生糖氨基酸等。但啮齿动物在空腹时 90% 的肝葡萄糖的产生来源于甘油，饱食时也有 50% 的肝葡萄糖的产生来自甘油[9]。而 AQP9 被认为是在肝细胞中的特异的甘油通道，位于肝细胞膜门静脉面[10]。AQP9 在许多器官都有表达，在肝脏尤其丰富[11]。AQP9 与肝脏甘油和糖代谢密切相关，并且在糖尿病发生、发展过程中发挥重要作用[12]。AQP9 基因敲除对肝葡萄糖输出的影响程度证实了在肝细胞基底膜除 AQP9 外没有其他甘油通道用以对甘油的摄取，且证实了 AQP9 是肝细胞摄取甘油进行糖异生的主要通道[13]。以往的动物实验证实，在血浆胰岛素水平降低如饥饿和链脲佐菌素诱导的糖尿病以及在有胰岛素抵抗的肥胖（db/db）小鼠中，肝脏 AQP9 的表达增高[14-15]。本实验中，大鼠肝脏 AQP9 的 Western blot 和免疫荧光染色结果显

示,其表达在糖尿病组要明显高于正常对照组,而手术组中肝脏 AQP9 的含量明显低于假手术组和糖尿病组,接近于正常对照组,提示肝脏中 AQP9 的含量变化可能与 T2DM 模型大鼠 RYGB 后空腹血糖的降低有密切的联系。

研究发现,FoxO1 与 AQP9 有切的关系。FoxO1 已经被证实是直接结合于糖异生基因的启动子,并可以激活葡萄糖糖合成过程[16]。其主要作用是促进空腹时肝脏糖异生,增加肝糖输出[17]。细胞核 FoxO1 的减少可以引起葡萄糖-6-磷酸酶(glucose-6-phosphatase,G-6-Pase)和磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶(phosphoenolpyruvate carboxykinase,PEPCK)基因表达的减少,从而减少糖异生及降低空腹血糖[18]。FoxO1 可以被胰岛素受体下游的 AKT 直接磷酸化[19]而产生生物学作用。胰岛素缺乏时,FoxO1 定位于细胞核,作为反式激活子结合到胰岛素反应元件(IRE)增强糖异生基因如 G-6-Pase 和 PEPCK 启动子的活性;胰岛素存在时,通过激活 PI3K-AKT 信号转导通路使 FoxO1 转录因子磷酸化并由细胞核转移到细胞质失去活性,从而抑制糖异生基因的转录[20]。FoxO1 增加糖异生,上调 G-6-Pase 和 PEPCK 的表达,还可以增加 AQP9 的表达[21]。在 FoxO1 过度表达的转基因小鼠中,通过基因芯片分析肝组织结果显示 AQP9 与糖异生相关的 G-6-Pase 和 PEPCK 表达增强。基因研究证实胰岛素是通过与 FoxO1 结合位点[(G/C)(T/A)AAA(C/T)AA]非常匹配的(GAAAACAA)应答序列[14]抑制 AQP9 的表达,提示 AQP9 可能是 FoxO1 介导的基因表达的直接靶基因[22]。由此推测,胰岛素可以通过 PI3K/AKT 信号通路,依赖 FoxO1 转录因子的类似于其对 PEPCK、G-6-Pase 基因调控途径实现对肝脏 AQP9 的表达调节。本实验 Western blot 检测结果显示,术后 20 d,手术组大鼠肝脏组织中具有活性的 p-AKT 含量接近正常组,但较糖尿病模型组和假手术有明显的升高,p-FoxO1 含量变化与 p-AKT 基本一致,但术后血清胰岛素的含量虽然有所上升但变化不明显。我们考虑是否存在其他生物活性物质参与了类似胰岛素对 AQP9 的调节。本实验发现手术组大鼠术后血清 GLP-1 水平较术前明显升高。有报道 GLP-1 作用其受体后,促进表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor,EGFR)的反式磷酸化,然后激活 PI3K-AKT 通路,使 FoxO1 磷酸化并从细胞核移向细胞质[23]。由于胰岛素受体信号通路,尤其是胰岛素受体底物 2(IRS-2)介导的信号通路可以降低 FoxO1 活性,而 GLP-1 也可以参与到这条通路,故 GLP-1 也可以抑制 FoxO1。目前对 GLP-1 的研究比较系统,后肠假说认为胃转流术后十二指肠和近端空肠的旷置,使食物过早进入远端空肠,使该段肠管分泌的内源性激素如 GLP-1、YY 肽等增加,参与了降低血糖的作用。本实验结果提示一种新的可能是 GLP-1 参与的 RYGB 降低糖尿病大鼠空腹血糖的机制。

综上所述,本实验发现 RYGB 能够明显降低 T2DM 模型大鼠肝脏中 AQP9 的表达,对术后空腹血糖的降低可能起到重要作用,其实现途径可能是 RYGB 后食糜提前进入空回肠,刺激小肠分泌 GLP-1,GLP-1 通过一系列反应作用于与胰岛素相同的下游信号通路 PI3K-AKT,使 AKT 磷酸化进而使肝脏细胞中 FoxO1 磷酸化并由细胞核向细胞质转移,然后抑制 AQP9 的表达。由于观察时间较短(持续到手术后 20 d),RYGB 后肝脏中 AQP9 的长期变化及其作用有待进一步明确。考虑人体的不同及其糖异生过程有别于大鼠,AQP9 在人体的作用也有待进一步明确。

参考文献:

[1] American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes--2013[J]. Diabetes Care, 2013, 36(Suppl 1): S11 - S66.

[2] 中华医学会糖尿病学分会. 中国2型糖尿病防治指南(2010年版)[J]. 中国糖尿病杂志, 2012, 20(1): S1 - S37.

[3] Buchwald H, Estok R, Fahrbach K, *et al*. Weight and type 2 diabetes after bariatric surgery: systematic review and meta-analysis[J]. Am J Med, 2009, 122(3): 248 - 256. e5.

[4] Srinivasan K, Viswanad B, Asrat L, *et al*. Combination of high-fat diet-fed and low-dose streptozotocin-treated rat: a model for type 2 diabetes and pharmacological screening[J]. Pharmacol Res, 2005, 52(4): 313 - 320.

[5] Bueter M, Abegg K, Seyfried F, *et al*. Roux-en-Y gastric bypass operation in rats[J]. J Vis Exp, 2012(64): e3940.

[6] Yang W, Lu J, Weng J, *et al*. Prevalence of diabetes among men and women in China[J]. N Engl J Med, 2010, 362(12): 1090 - 1101.

[7] Buchwald H, Oien D M. Metabolic/bariatric surgery worldwide 2008[J]. Obes Surg, 2009, 19(12): 1605 - 1611.

[8] Chambers A P, Jessen L, Ryan K K, *et al*. Weight-independent changes in blood glucose homeostasis after gastric bypass or vertical sleeve gastrectomy in rats[J]. Gastroenterology, 2011, 141(3): 950 - 958.

[9] Peroni O, Large V, Odeon M, *et al*. Measuring glycerol turnover, gluconeogenesis from glycerol, and total gluconeogenesis with [2-13C] glycerol: role of the infusion-sampling mode[J]. Metabolism, 1996, 45(7): 897 - 901.

[10] Portincasa P, Palasciano G, Svelto M, *et al*. Aquaporins in the hepatobiliary tract. Which, where and what they do in health and disease[J]. Eur J Clin Invest, 2008, 38(1): 1 - 10.

[11] Elkjaer M L, Nejsum L N, Gresz V, *et al*. Immunolocalization of

aquaporin-8 in rat kidney, gastrointestinal tract, testis, and airways [J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2001, 281(6): F1047 – F1057.

[12] Rojek A M, Skowronski M T, Fuchtbauer E M, *et al*. Defective glycerol metabolism in aquaporin 9 (AQP9) knockout mice[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2007, 104(9): 3609 – 3614.

[13] Jelen S, Wacker S, Aponte-Santamaria C, *et al*. Aquaporin-9 protein is the primary route of hepatocyte glycerol uptake for glycerol gluconeogenesis in mice[J]. J Biol Chem, 2011, 286(52): 44319 – 44325.

[14] Kuriyama H, Shimomura I, Kishida K, *et al*. Coordinated regulation of fat-specific and liver-specific glycerol channels, aquaporin adipose and aquaporin 9[J]. Diabetes, 2002, 51(10): 2915 – 2921.

[15] Carbrey J M, Gorelick-Feldman D A, Kozono D, *et al*. Aquaglyceroporin AQP9: solute permeation and metabolic control of expression in liver[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2003, 100(5): 2945 – 2950.

[16] Nakae J, Biggs W H 3rd, Kitamura T, *et al*. Regulation of insulin action and pancreatic beta-cell function by mutated alleles of the gene encoding forkhead transcription factor Foxo1[J]. Nat Genet, 2002, 32(2): 245 – 253.

[17] Wolfrum C, Asilmaz E, Luca E, *et al*. Foxa2 regulates lipid metabolism and ketogenesis in the liver during fasting and in diabetes[J]. Nature, 2004, 432(7020): 1027 – 1032.

[18] Altomonte J, Richter A, Harbaran S, *et al*. Inhibition of Foxo1 function is associated with improved fasting glycemia in diabetic mice[J]. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2003, 285(4): E718 – E728.

[19] Brunet A, Bonni A, Zigmond M J, *et al*. Akt promotes cell survival by phosphorylating and inhibiting a Forkhead transcription factor[J]. Cell, 1999, 96(6): 857 – 868.

[20] Kodama S, Moore R, Yamamoto Y, *et al*. Human nuclear pregnane X receptor cross-talk with CREB to repress cAMP activation of the glucose-6-phosphatase gene[J]. Biochem J, 2007, 407(3): 373 – 381.

[21] Gross D N, Wan M, Birnbaum M J. The role of FOXO in the regulation of metabolism[J]. Curr Diab Rep, 2009, 9(3): 208 – 214.

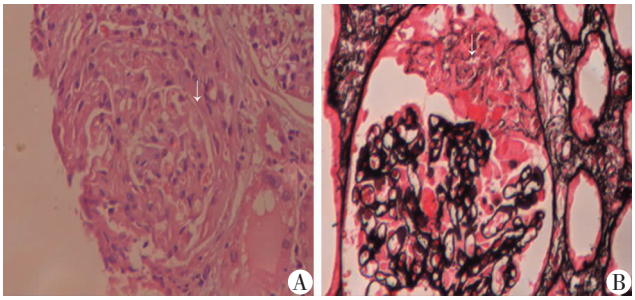
[22] Zhang W, Patil S, Chauhan B, *et al*. FoxO1 regulates multiple metabolic pathways in the liver: effects on gluconeogenic, glycolytic, and lipogenic gene expression[J]. J Biol Chem, 2006, 281(15): 10105 – 10117.

[23] Buteau J, Spatz M L, Accili D. Transcription factor FoxO1 mediates glucagon-like peptide-1 effects on pancreatic beta-cell mass[J]. Diabetes, 2006, 55(5): 1190 – 1196.

(**收稿**: 2013-10-23;**修回**: 2013-11-14)

(编辑 龙 亮)

(上接 252 页)



A:箭头示壁层上皮细胞明显增厚(HE ×200);B:箭头示纤维细胞性新月体(PASM ×200)

图 1 乙胺丁醇诱发 ANCA 相关性 RPGN 患者活检肾脏组织病理学改变

2 讨论

RPGN 以急性肾炎综合征、肾功能急剧恶化及早期出现少尿性急性肾衰竭为临床特征,病理类型为新月体性肾小球肾炎。Couser 分类法将其分为 3 型:Ⅰ型为免疫荧光线条状沉积伴循环抗肾小球基底膜抗体(抗 GBM 抗体型);Ⅱ型为免疫荧光颗粒沉积型(免疫复合物型),此型在我国常见;Ⅲ型为寡免疫复合物型,其中 70% ~80% 患者血清中存在 ANCA,故又称为 ANCA 相关性肾小球肾炎[2]。根据本例患者病史、体征、检查及肾脏活检结果,可诊断为 ANCA 阳性的寡免疫复合物型肾小球肾炎(Ⅲ型)。本例患者既往无肾病史,服用抗结核药期间发病,而既往有抗结核药物诱发急性小管间质性肾炎的报道[1];结合 ANCA 阳性以及肾活检提示新月体肾炎,考虑与抗结核药物有关。为了鉴别何种药物引起发病,本例分别应用利福平和乙胺丁醇刺激培养的患者淋巴细胞,利福平刺激试验显示阴性,而乙胺丁醇刺激试验阳性,与国外报道[1]结果一致,表明乙胺丁醇是引起本例患者 ANCA 相关性 RPGN 的原因。乙胺丁醇引起 ANCA 阳性的新月体性肾小球肾炎的原因仍不清楚。由于乙胺丁醇有诱发视神经血管炎及 Dress 综合征的报道[3-4],提示其可诱发血管及其他多种组织的自身免疫反应,从而参与本病的发病机制。药物诱发的 ANCA 相关性 RPGN 起病急,病情发展迅速,若未及时治疗,90% 以上的患者于 6 个月内死亡或依赖透析生存。由于本例患者发现及时,及时停用乙胺丁醇等抗结核药物,应用免疫抑制治疗,取得了良好的预后。故对临床上应用乙胺丁醇的患者出现急性肾损害症状,应考虑药物诱发 ANCA 相关性 RPGN 可能,及时行血浆 ANCA 测定及肾活检明确诊断,并早期干预。

参考文献:

[1] Tanaka H, Oshiro Y, Kawanaka N, *et al*. A case of MPO-ANCA-related nephritis caused by an anti-tuberculosis drug[J]. Nihon Jinzo Gakkai Shi, 2013, 55(2): 172 – 176.

[2] 黎磊石, 刘志红. 中国肾脏病学[M]. 北京: 人民军医出版社, 2008: 387 – 401.

[3] Fountain J A, Werner R B. Tuberculous retinal vasculitis[J]. Retina, 1984, 4(1): 48 – 50.

[4] Palmero D, Castagnino J, Musella R M, *et al*. Difficult clinical management of anti-tuberculosis DRESS syndrome[J]. Int J Tuberc Lung Dis, 2013, 17(1): 76 – 78.

(**收稿**:2013-08-09;**修回**:2013-09-14)

(编辑 龙 亮)