



读书报告

姓名

朱振祥

时间

2017. 6. 25

Stress impairs murine intestinal barrier function: Improvement by glucagon-like peptide-2

Heather L. Cameron and Mary H. Perdue.

Intestinal Disease Research Programme

McMaster University (HLC, MHP)

Hamilton, ON, Canada L8N 3Z5

Published on March 29, 2005 as DOI

目 录

1

背景介绍

2

材料和方法

3

实验结果

4

讨论分析

1

背景介绍

glucagon-like peptide-2 (GLP-2)

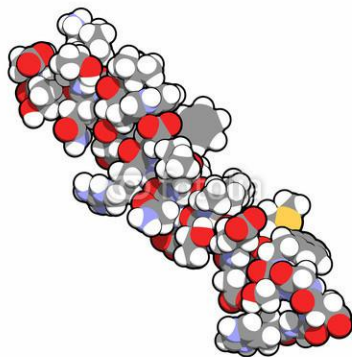
胰高血糖素样肽-2 (GLP-2) 是胰高血糖素原基因转录、翻译后处理加工的33氨基酸的多肽, GLP-2经二酰肽酶IV水解后, 则失去生物学活性。

GLP-2通过作用于GLP-2受体(GLP-2R)来发挥生物学作用。

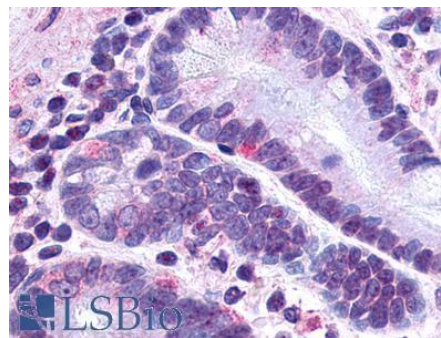
GLP-2R在肠上皮细胞、肠内在神经元、肠内分泌细胞、肠黏膜下的肌纤维母细胞等肠道组织广泛分布。

1

背景介绍



GLP-2蛋白质模型



肠道GLP-2R免疫组化检测

GLP-2的主要作用是刺激**肠粘膜隐窝细胞**的增殖和抑制其凋亡,从而促进肠粘膜的生长及损伤后的**再生修复**,GLP-2还可以抑制胃酸的分泌和胃的运动,增加肠道的血液供应,**提高肠道的屏障功能**,促进肠道对营养物质的吸收等。

1

背景介绍

Water avoidance stress (WAS)



避水压力，将小鼠放在容器内中心的平台上，在容器内注入3cm的室温水，通过将小鼠放在平台上1小时来进行刺激，即避水刺激。

1

背景介绍

1.已有研究显示心理压力可以影响慢性肠疾病如肠炎（IBD）和肠易激综合征（IBS）的临床反应，而原因可能是肠道粘膜屏障功能障碍。

2.粘膜屏障功能主要由肠上皮层执行，肠壁上皮细胞（肠细胞）通过紧密连接形成物理屏障，同时这个屏障受到神经内分泌和免疫因素的调控。

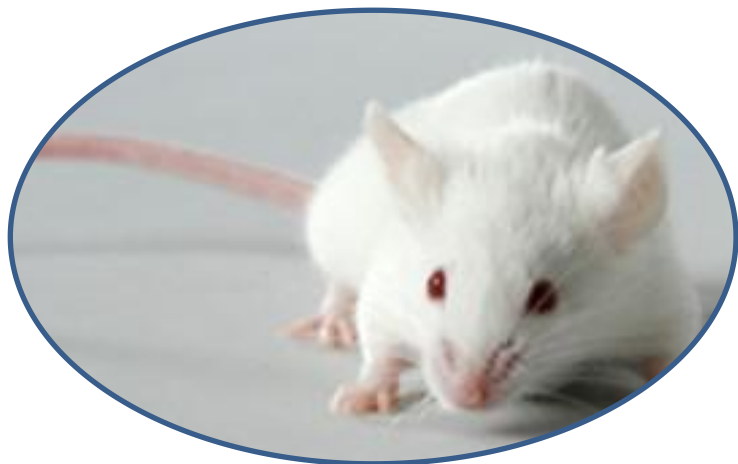
3.肠道屏障功能的改善可能是预防或改善压力引起的肠功能障碍的新策略。

4.胰高血糖素样肽-2（GLP-2）是肠内营养生长激素，在促进肠功能的许多方面，包括增加粘膜生长和促进营养吸收具有重要作用，尤其是其可以通过减少上皮屏障的肠通透性来快速增强粘膜屏障的能力。

5.该实验表明小鼠在慢性刺激下，肠道屏障功能发生剧烈变化，宿主防御受损，并在空肠、回肠和结肠引发炎症。实验记录了GLP-2的治疗能力以及改善应激诱导的肠道异常，为各种胃肠道的治疗提供新的策略。

2

材料与amp;方法



BALB / C小鼠优点：个体差异小，遗传基因更纯，整体素质更好。

材料：雄性BALB / C小鼠

随机分为四组：对照，对照+ GLP-2，应激，应激+ GLP-2。

饲养条件：成对饲养，12h昼夜循环，实验结束后，颈椎脱臼法处死小鼠。

2

材料与amp;方法

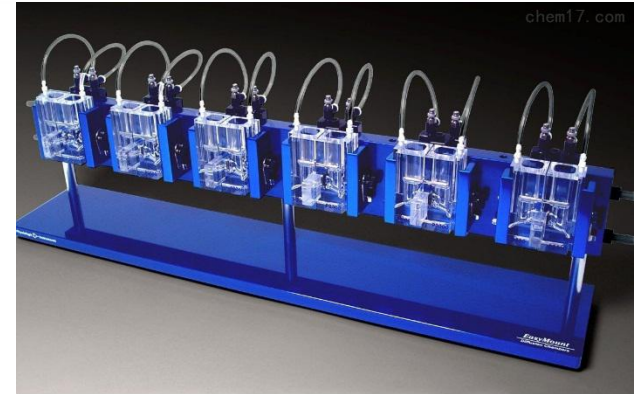
GLP-2的剂量基于前期实验，显示单剂量注射GLP-2后4h时增强肠道屏障功能。

条件下暂养7天，实验开始后，在WAS之前4h，分别给予对照+ GLP-2，应激+ GLP-2组皮下注射5 μ g的GLP-2，同时给予对照，应激组皮下注射同剂量的盐水。应激小鼠放置在有水容器的平台上，对照小鼠置于无水容器中的相同平台上，且小鼠可以自由地离开平台。实验每天进行1h，共10天，每天测量体重以计算生长指数。

2

材料与amp;方法

肠上皮层生理学检测



从肠道中取出空肠，回肠和结肠段。使用 Ussing chamber (尤斯室, Ussing 灌流室) 监测组织间的电位差，并使用计算机自动保存各组之间所需的短路电流 (Isc)。

通过测量蛋
来评估粘膜 - 炎

1951年,丹麦学者 Hans Ussing 首次将 Ussing chamber (尤斯室, Ussing 灌流室) 介绍于世,其主要功能是通过微电极检测整个细胞膜离子通道变化的电流信号,来反映肠道药物吸收、通透性和分泌情况的变化。

2

材料与amp;方法

电子显微镜观察

将来自空肠、回肠和结肠的组织进行处理并随后EM观察。以用于量化细菌与上皮细胞的相互作用。

与上皮细胞接触或上皮细胞内的细菌。其与微绒毛消失，或与细胞骨架的缩合有关。



将组织进行HE染色，并以单核细胞作为炎症的标志物，进行计数。

3

实验结果

体重

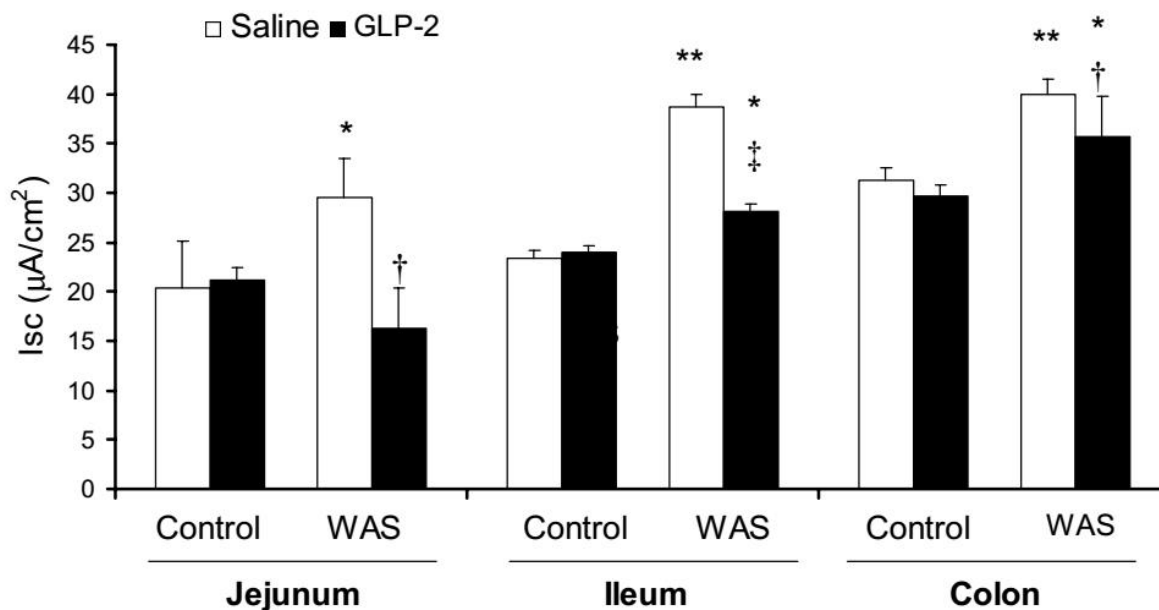
组别	对照	对照+GLP-2	应激	应激+GLP-2
增加重量	1.1 ± 0.1g	1.1 ± 0.2g	0.5 ± 0.1 g	0.7 ± 0.2g

在整个实验中，对照组和对照+ GLP-2组小鼠之间的没有显著差异。

应激组小鼠的体重变化与对照组和对照+ GLP-2组相比有显著性差异（ $p < 0.05$ ）。

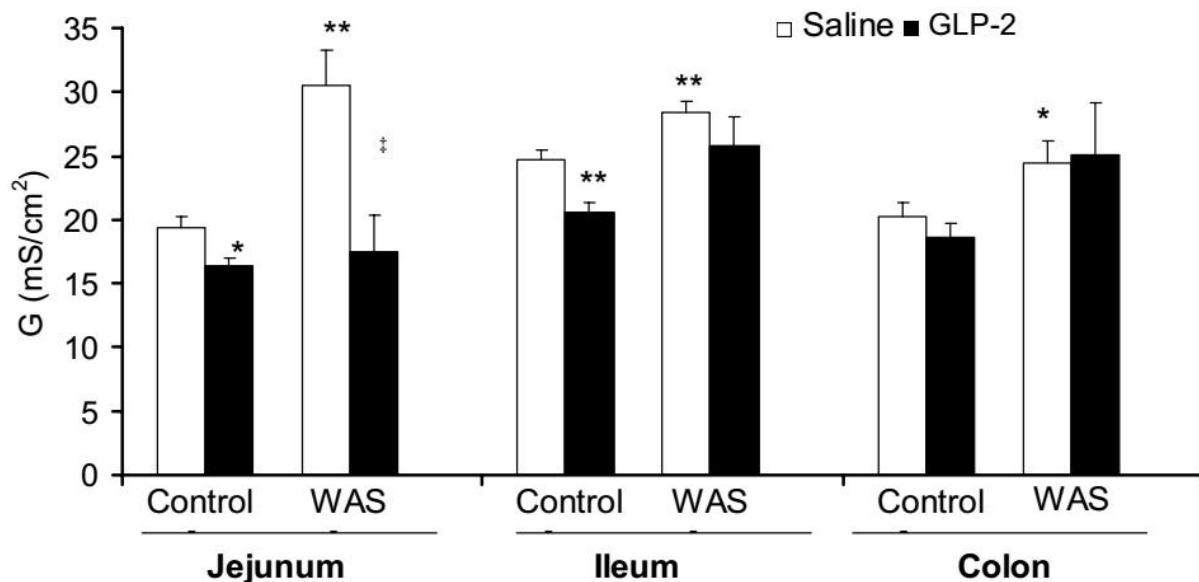
应激+GLP-2组小鼠，10天期间体重增加值与对照组和对照组+GLP-2组小鼠没有显著性差异。

肠上皮层生理学



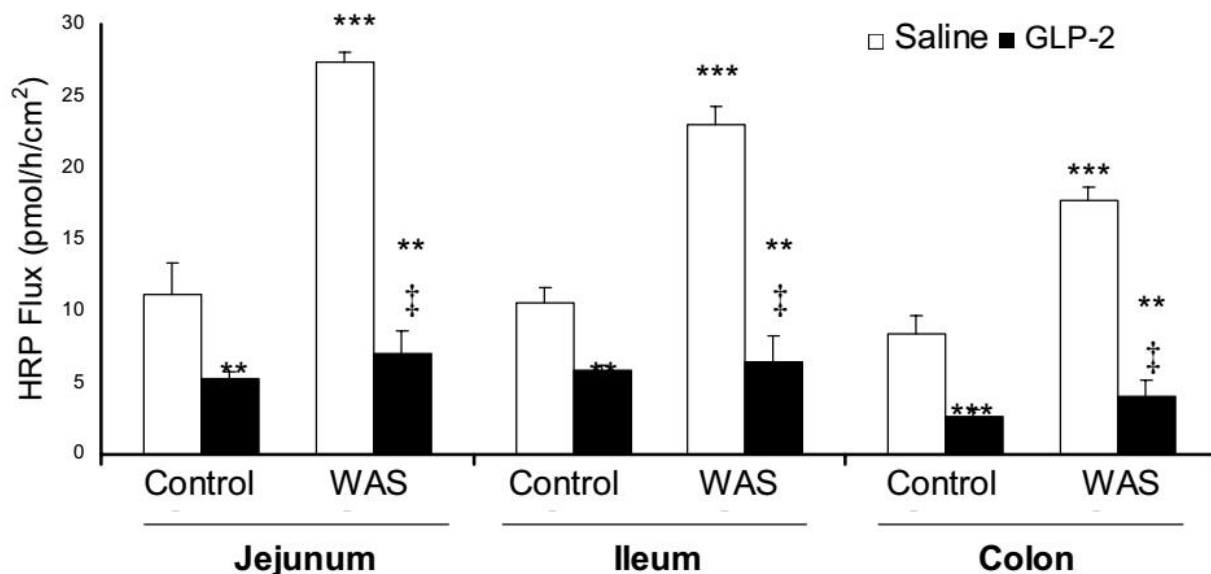
离子运输能力检测。可以看出WAS组对增加了短路电流（Isc），对照组中GLP-2没有治疗作用，应激组GLP-2则起到改善作用。

肠上皮层生理学



渗透性检测。电导率（G）是对每个组织离子的被动渗透性的检测。GLP-2的治疗改善了应激小鼠空肠中诱发的电导增加，回肠或结肠则无。此外，GLP-2减少对照小鼠肠道电导率。

大分子渗透性



慢性压力导致肠道所有区域的显著渗透性缺陷。

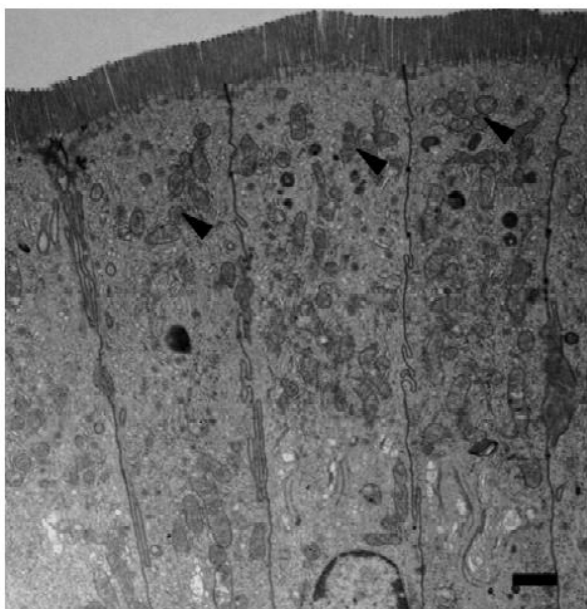
GLP-2治疗消除了应激诱发的渗透性缺陷 ($P < 0.001$)，并降低了对照组小鼠的通量值 ($p < 0.01$)。

4

讨论分析

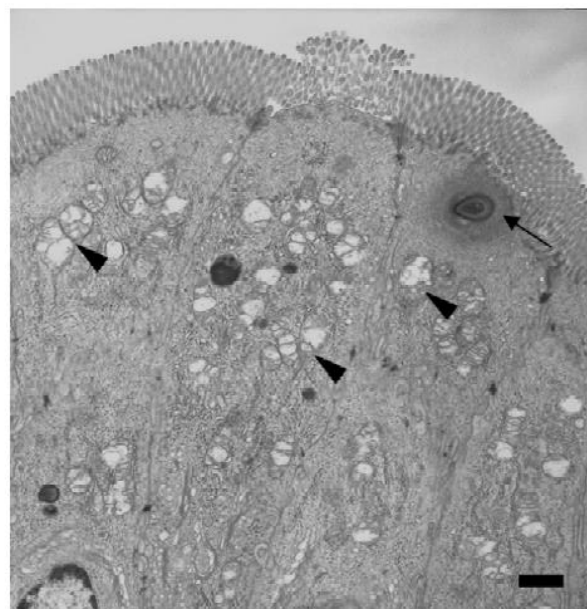
透射电镜观察

A



对照组结肠粘膜

B



应激组回肠粘膜

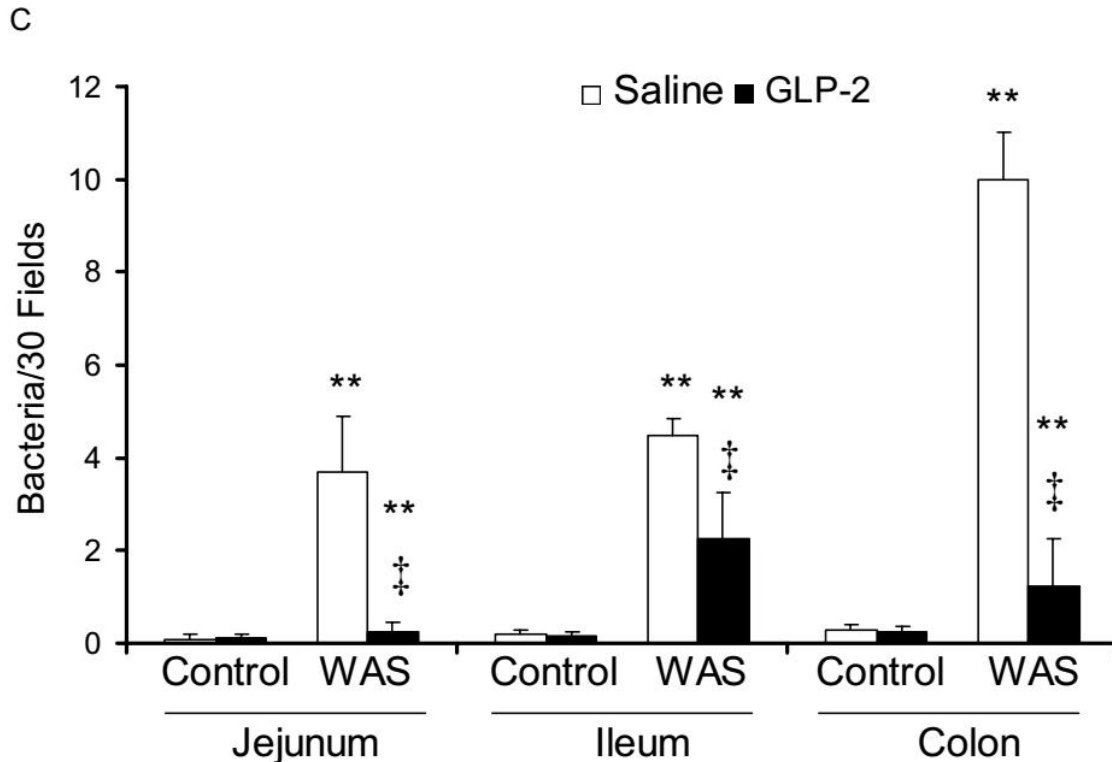
在对照组中，很少观察到细菌。

在应激小鼠的组织中，则观察到许多细菌。

4

实施情况

细菌与肠道上皮的相互作用



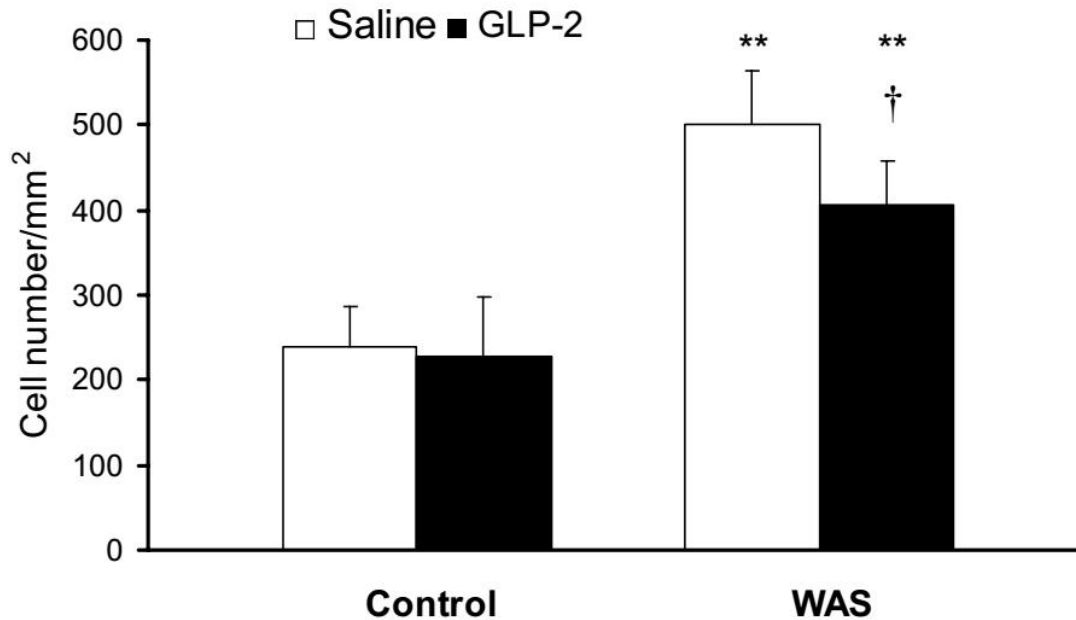
在对照组中很少观察到细菌。WAS显著增加细菌相互作用的数量与肠粘膜。

用GLP-2处理的应激小鼠显示出与对照相比，相互作用的细菌数量显著增加 ($p < 0.01$)。

4

讨论分析

炎症细胞数量（结肠）



与对照相比，WAS增加了单核细胞的数量（ $p < 0.001$ ）。

与应激小鼠相比，GLP-2处理的应激小鼠显著减少的结肠粘膜中的单核细胞数量（ $p < 0.01$ ）。

4

讨论分析

该研究显示，小肠确实对慢性压力有应激反应。实验研究了10天慢性WAS的应激在空肠，回肠和结肠中引起的变化：**增加离子分泌和离子和大分子的渗透性，单核细胞浸润到粘膜中并增加粘膜细菌作用。**并证明用GLP-2可以治疗小鼠预防或改善许多观察到的应激诱导的宿主体内的肠道变化防御。

4

讨论分析

实验表明：GLP-2治疗增强肠功能，但程度不大。在应激小鼠的肠到里，GLP-2显着改善应激诱导的屏障功能障碍，降低对离子的被动渗透性，并显着限制大分子的渗透。GLP-2治疗也改善了应激诱导的单核细胞细胞浸润，并防止细菌与上皮相互作用的增多。

4

讨论分析

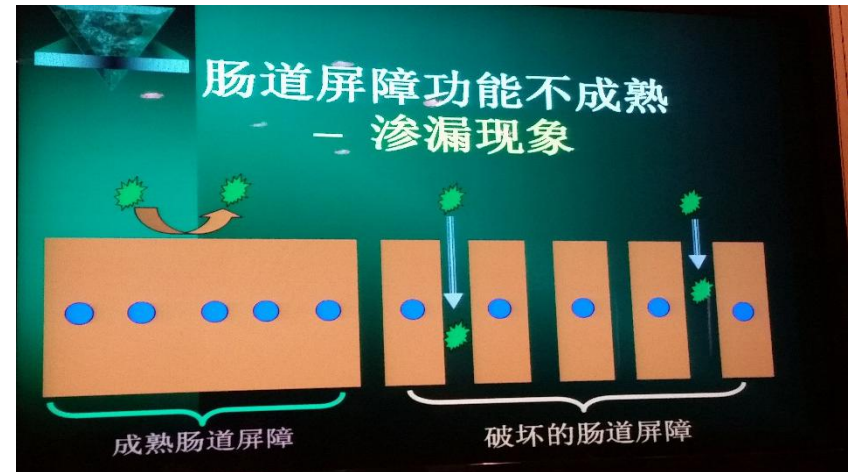
分析：

应激诱导上皮细胞小肠和大肠中的离子分泌产生驱动力可能会将有害物质从管腔中冲洗掉，从而有助于宿主防御。然而，如在长期情况下长时间持续分泌可能增加失水有害。在实验中，慢性应激导致短路电流增加，而应激小鼠中的GLP-2处理显著降低了肠道中这种分泌的增加，并进一步恢复离子运输水平。

4

讨论分析

应激小鼠中的GLP-2治疗增强了肠道屏障功能，防止应激诱导的渗透性缺陷，有效减少腔内抗原渗透到固有层的数量，从而限制免疫刺激。



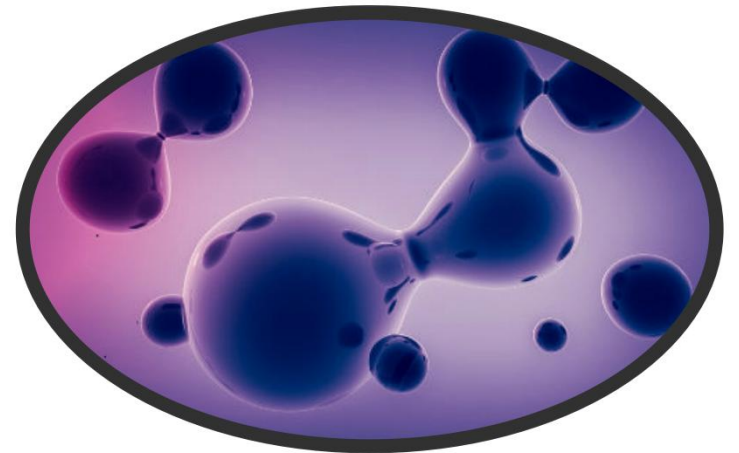
GLP-2减少流体相大分子内吞作用和细胞膜通透性，也许是由于细胞骨架成分或紧密连接蛋白的一些影响。

4

讨论分析

GLP-2的抗凋亡或生长促进作用也有可能通过维持肠的上皮层的完整性来应对某些应激反应。

应激诱导的细菌粘附和渗透的增加可能是由于粘液层的保护能力降低。



谢谢

请各位老师批评指正