

读书报告

汇报人：吴胜奎

时间：2019.12.15

Original Article | [Open Access](#) | Published: 23 February 2018

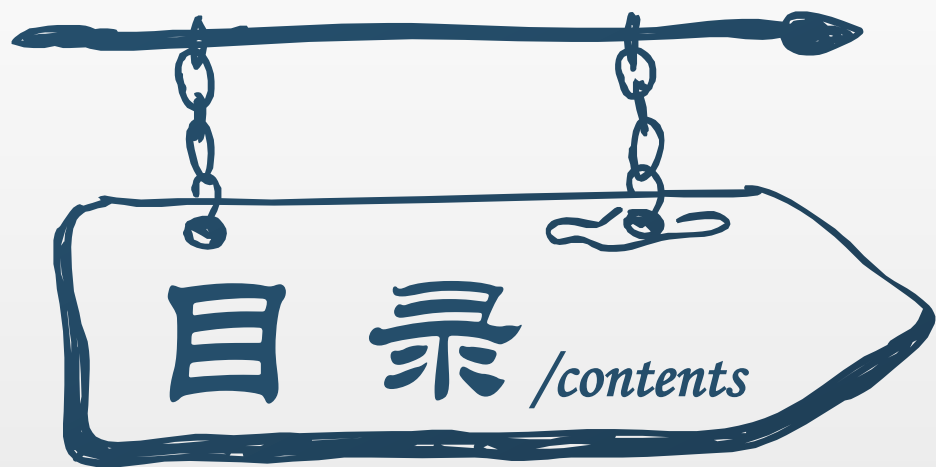
***Akkermansia muciniphila*-derived extracellular vesicles influence gut permeability through the regulation of tight junctions**

Chaithanya Chelakkot, Youngwoo Choi, Dae-Kyum Kim, Hyun T Park, Jaewang Ghim, Yonghoon Kwon, Jinseong Jeon, Min-Seon Kim, Young-Koo Jee, Yong S Gho, Hae-Sim Park, Yoon-Keun Kim  & Sung H Ryu 



Experimental & Molecular Medicine **50**, e450(2018) | [Cite this article](#)

4654 Accesses | **40** Citations | **18** Altmetric | [Metrics](#)

IF=4.7

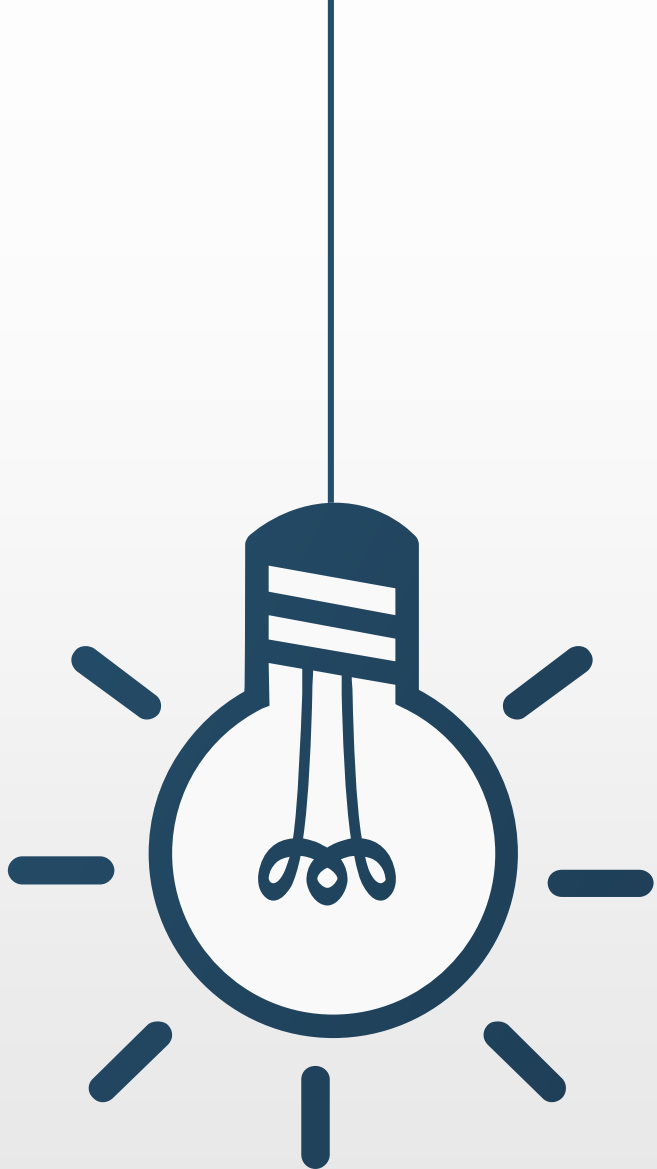


 1 . 研 究 背 景 

 2 . 材 料 方 法 

 3 . 结 果 分 析 

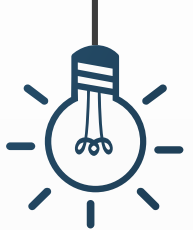
 4 . 讨 论 



1

研究背景





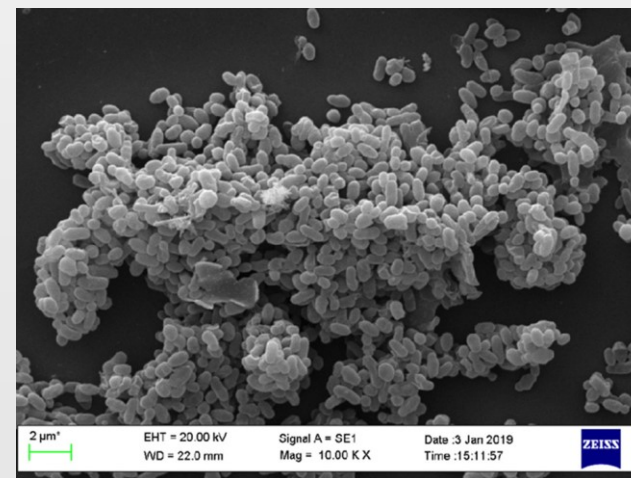
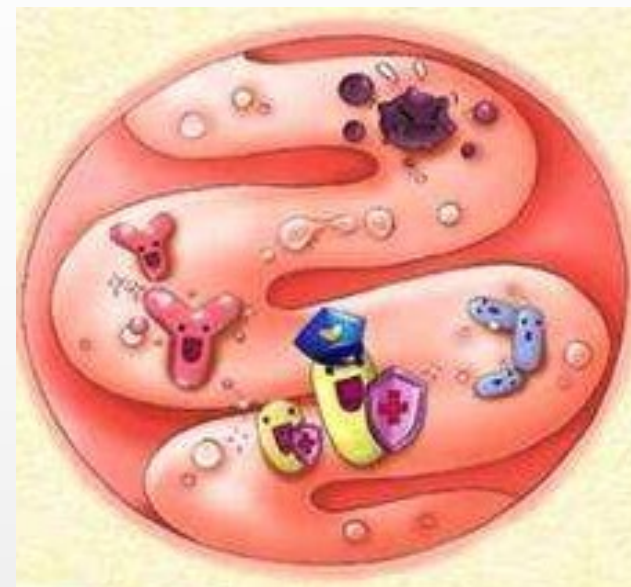
研究背景

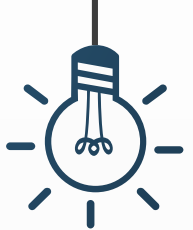


肠道菌群

肠道菌群会影响能量稳态，内毒素血症，新陈代谢和免疫反应。

Akkermansia muciniphila 占肠道菌群的3-5%，在调节肠粘膜屏障，体内稳态和代谢功能中起着至关重要的作用。研究发现，肥胖和2型糖尿病（T2D）患者的*A.muciniphila*数量减少。然而，*A.muciniphila*在代谢性疾病和肠渗透性调节中的确切生理机制尚不清楚。



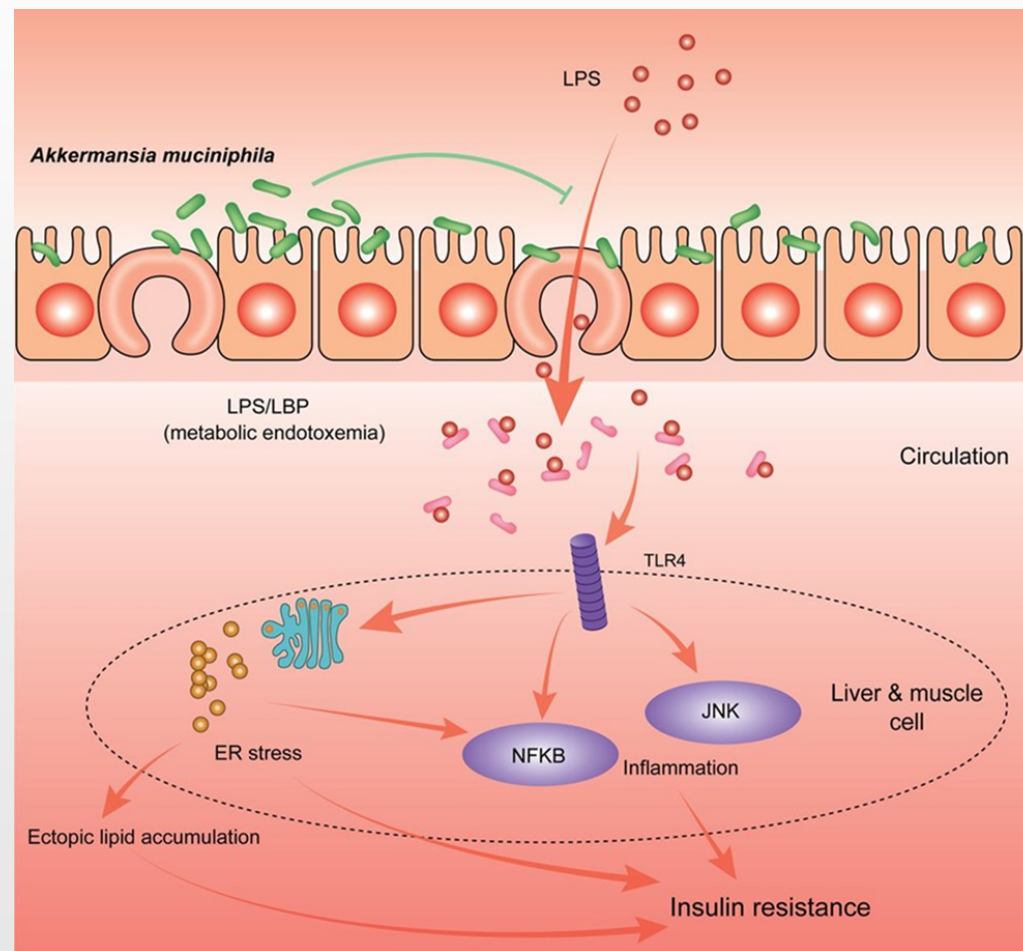


研究背景



肠道屏障

肠道屏障是将我们的身体与外部环境分隔开的主要屏障，对于维持肠内稳态和新陈代谢至关重要。肠道屏障完整性的改变与代谢疾病的发生密切相关。肥胖的人由于肠道通透性增加而表现出代谢性内毒素血症，这被认为是导致慢性炎症的关键因素。肠道菌群在肥胖症和糖尿病患者的肠道通透性和代谢性内毒素血症引起的炎症中起关键作用。



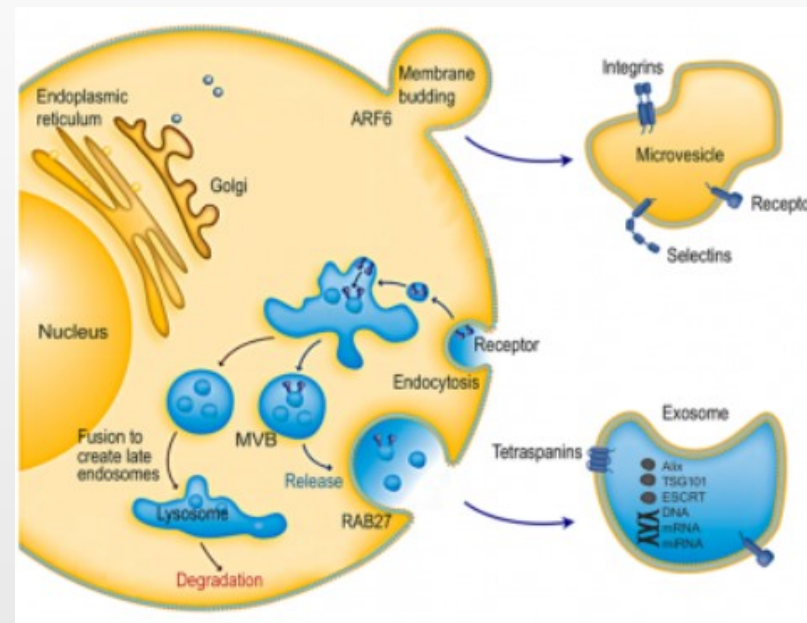


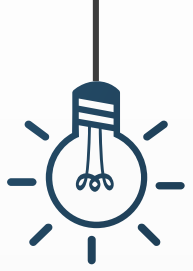
研究背景



细胞外囊泡

细胞外囊泡（EV）是从肠道菌群分泌的脂质双层结构。对各种细菌产生的EV，其定义为直径**20-200纳米**的球形脂双层。EV由**蛋白质，脂质，核酸，脂多糖和其他与致病性相关的毒力因子组成**。最新证据表明，细菌释放的EV通过将遗传物质和蛋白质从细菌转移到宿主体内，在微生物群落中发挥着多种作用。**EV还可以直接与免疫细胞和上皮细胞相互作用，从而启动多种信号传导途径，并被认为是介导宿主与病原体相互作用的肠道菌群功能单元**。此外，我们先前的研究发现EV通过诱导胰岛素抵抗来影响葡萄糖代谢。EV影响胰岛素信号传导途径，抑制Akt磷酸化。然而，EV调节肠道通透性和葡萄糖稳态的独特机制尚不完全清楚

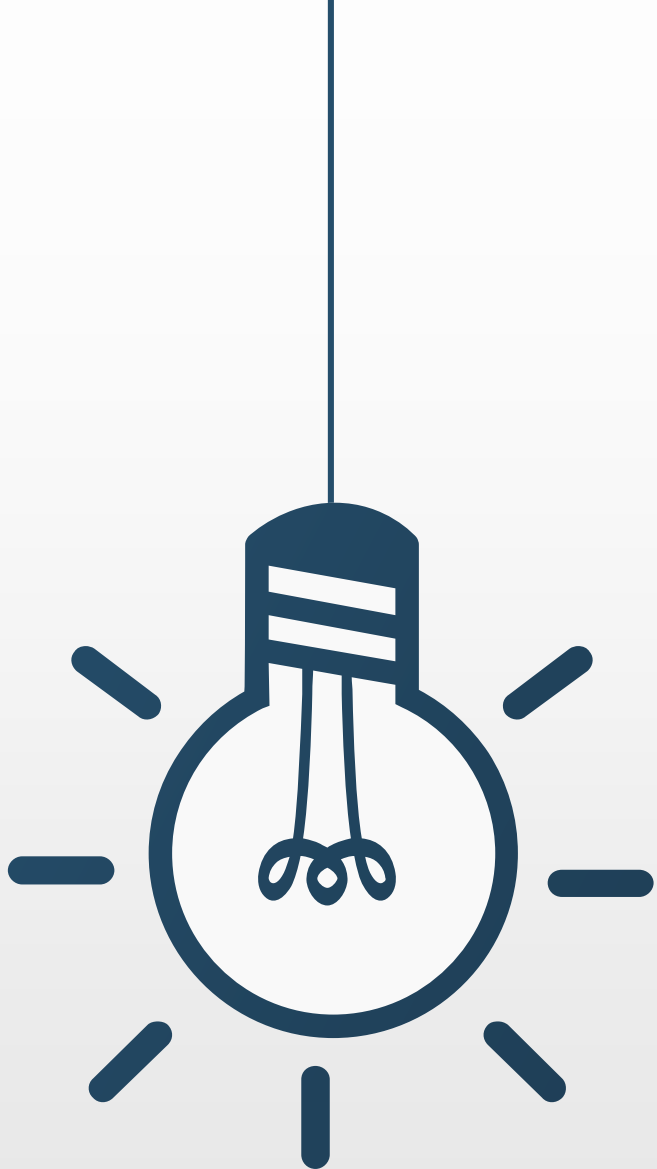




研究背景



研究了 *A.muciniphila* 衍生的细胞外囊泡 (AmEV) 对肠屏障功能影响的潜在机制。AmEV 以 AMPK 依赖性方式增加了 Caco-2 细胞中紧密连接蛋白的表达，并最终改善了高脂饮食 (HFD) 诱导的糖尿病小鼠的肠屏障完整性。这些结果表明，EV 是 *A.muciniphila* 在肠道通透性和代谢功能调节中的重要组成部分。



2

材 料 方 法



比较分析健康人和糖尿病患者粪便中的Ev差异



*A. Muciniphila*的培养和Ev的分离



小鼠灌喂AmEV实验

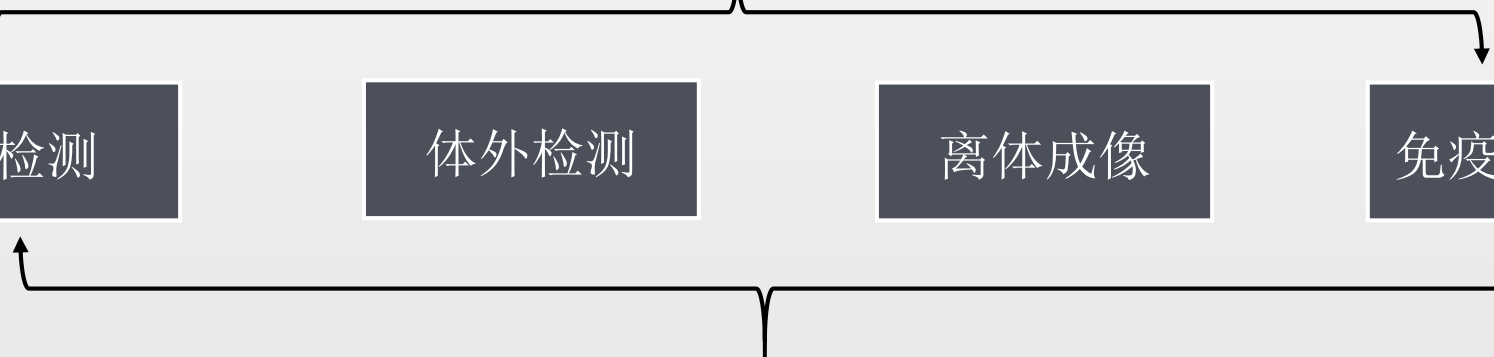


体内检测

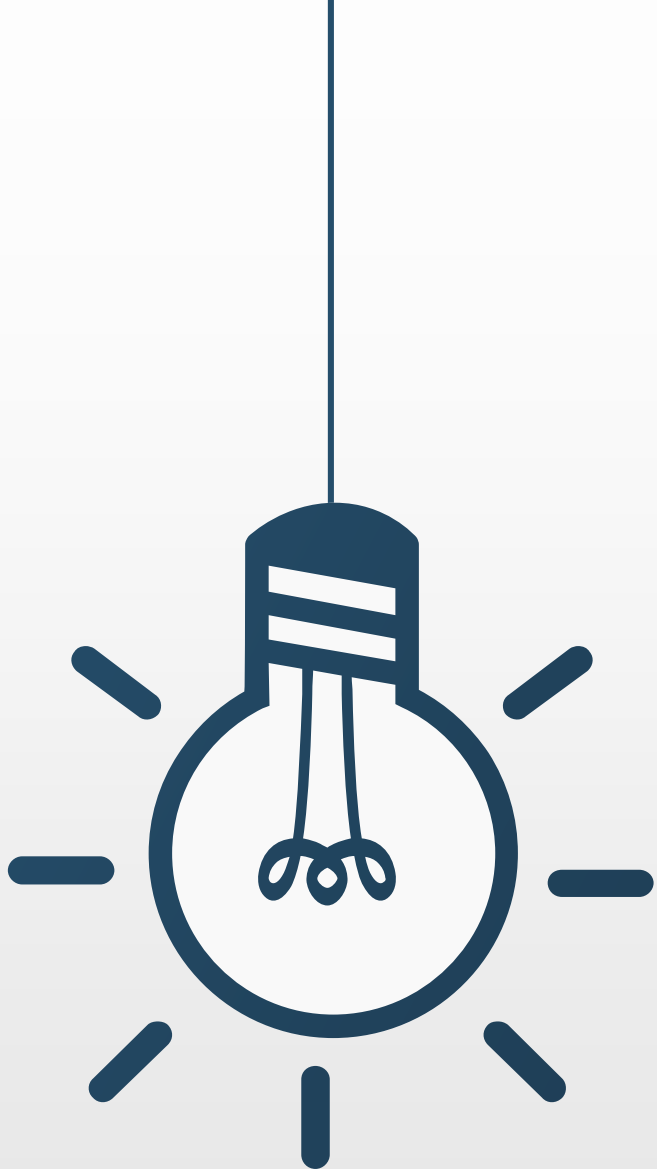
体外检测

离体成像

免疫印迹



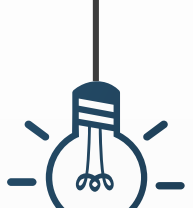
AmEV控制肠道通透性，改善HFD喂养小鼠的代谢功能。



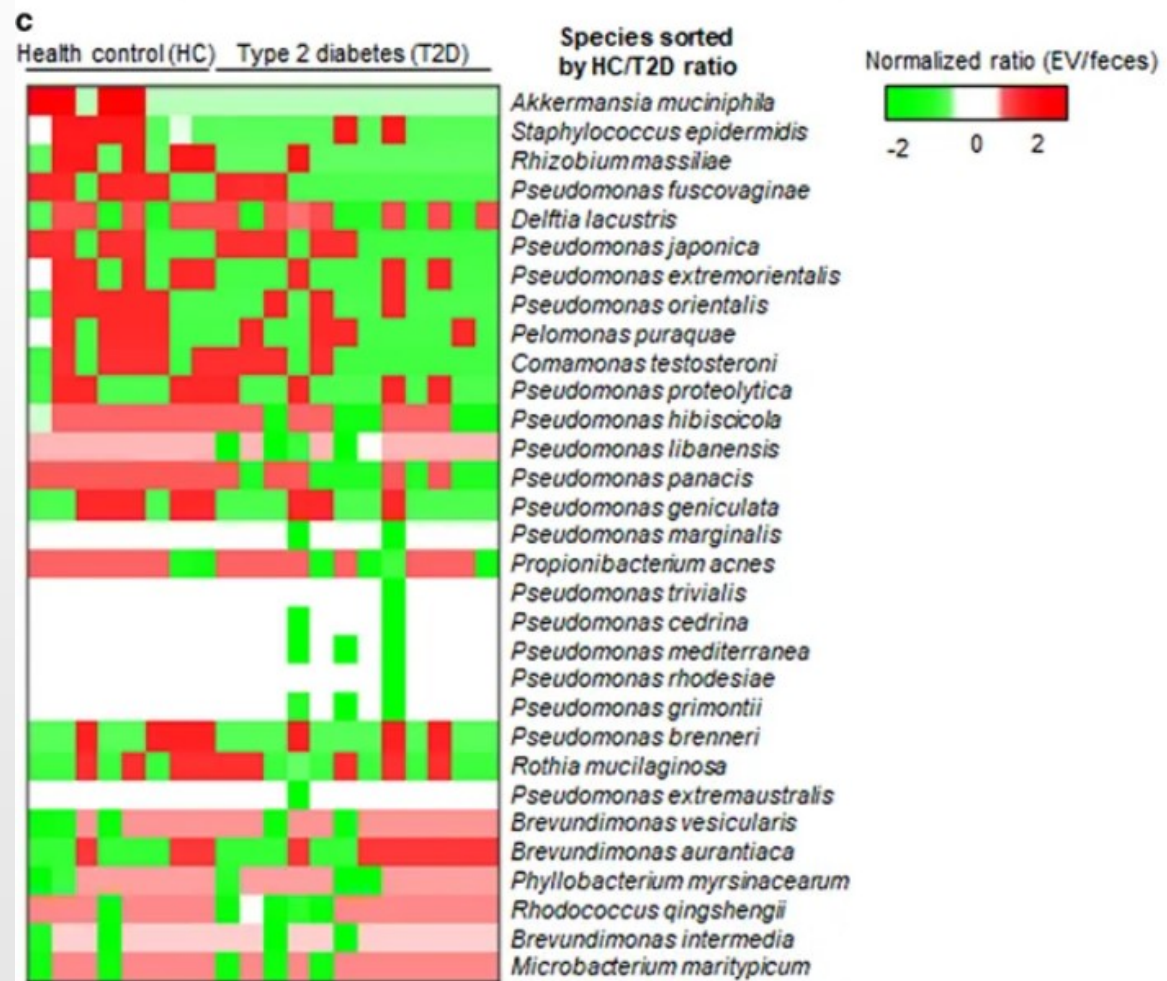
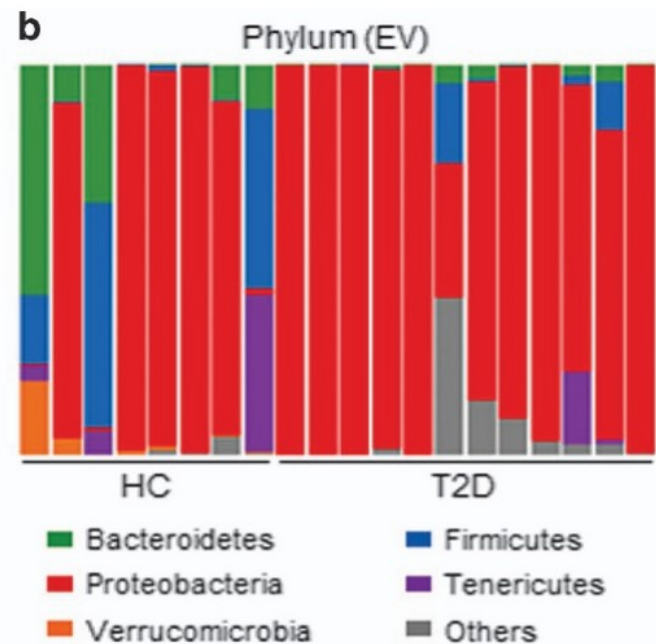
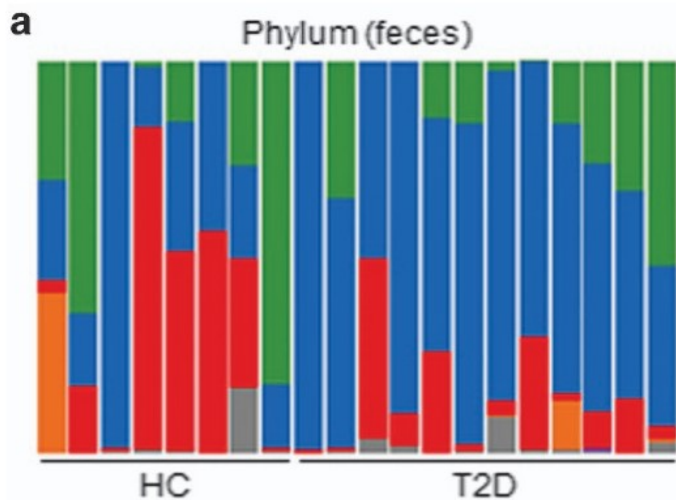
3

结果分析

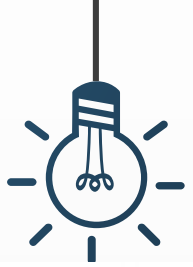




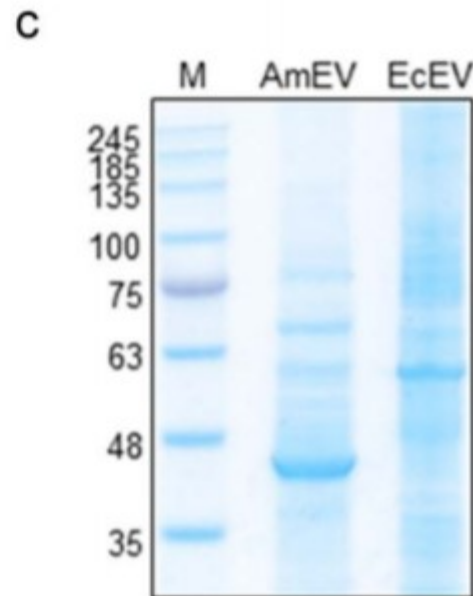
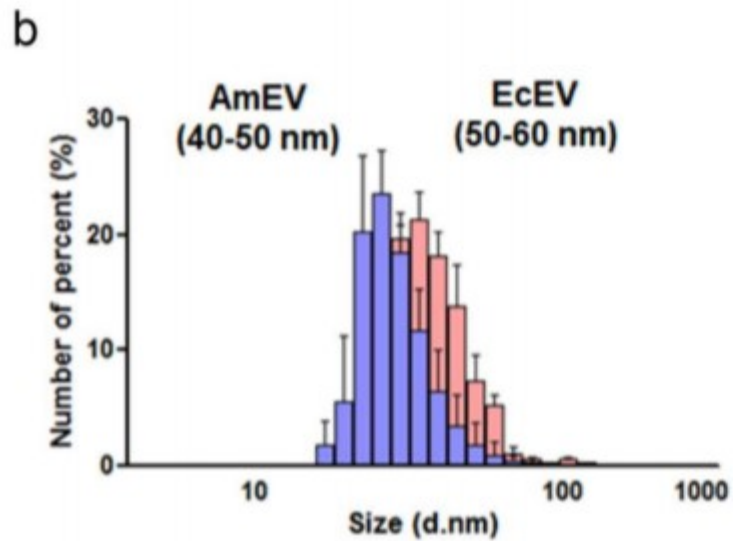
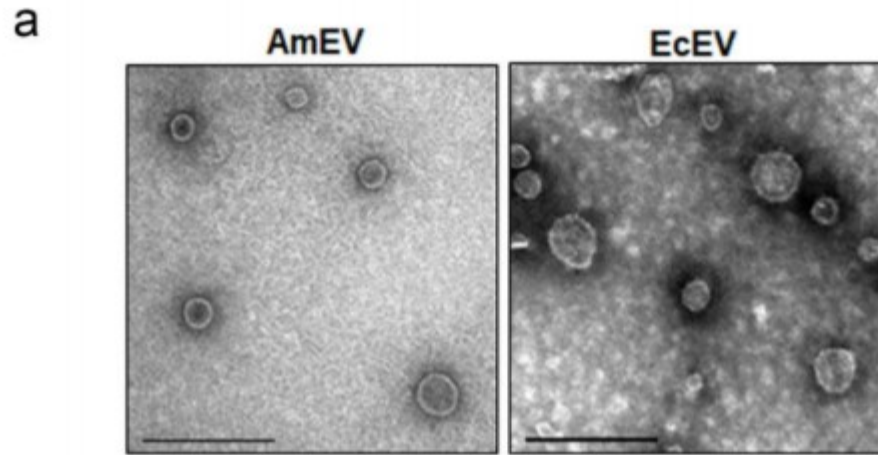
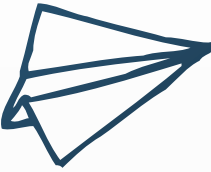
T2D患者与健康人粪便中的AmEV相对丰度



在T2D患者的粪便中，*Firmicutes* 占主导地位。仅在健康人中检测到了AmEV



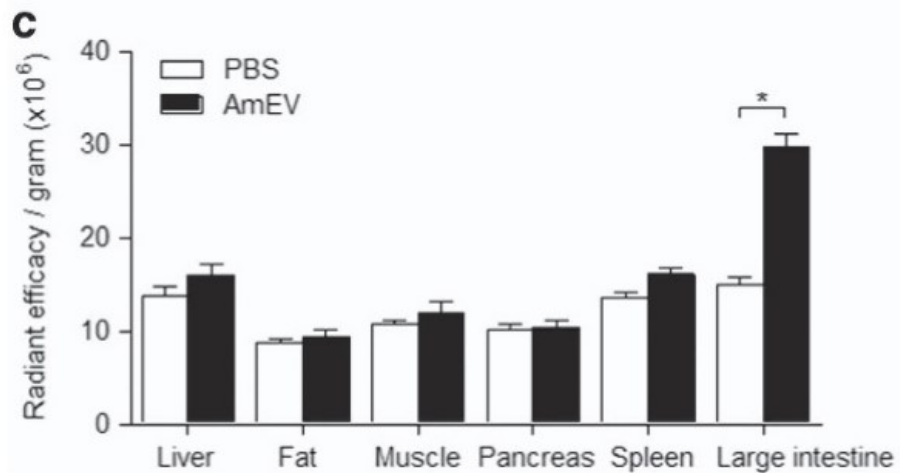
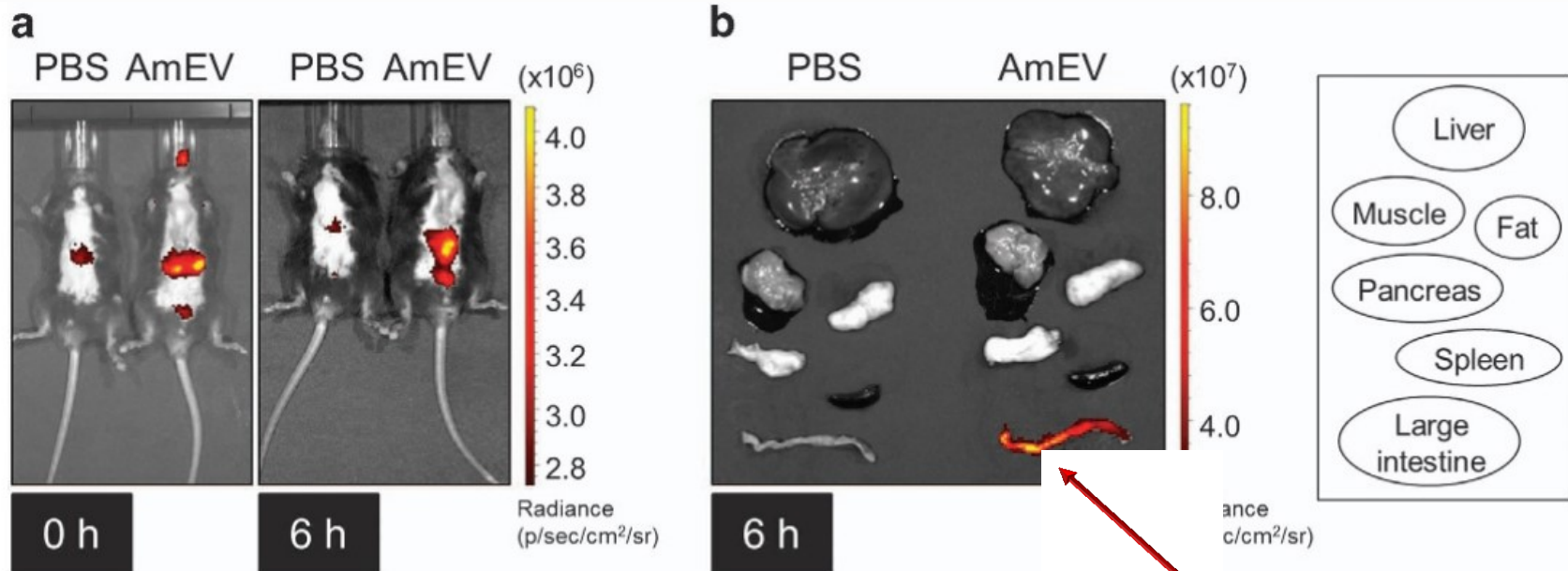
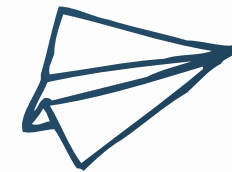
AmEV的物理特征



这些结果表明，仅形状和尺寸等物理特征不能将AmEV与EcEV区别开来，



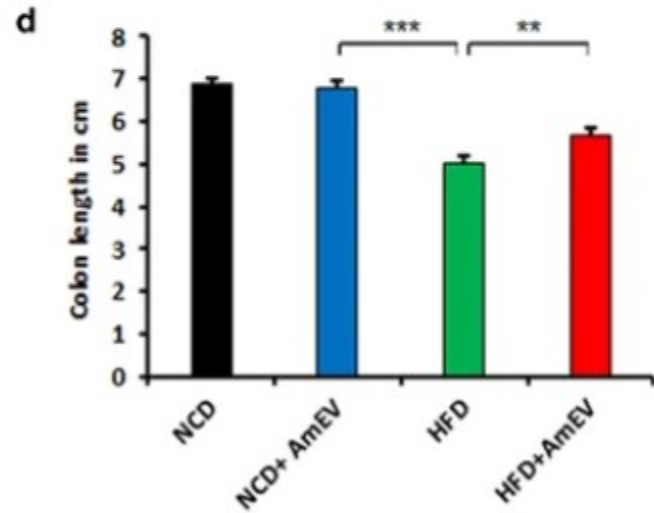
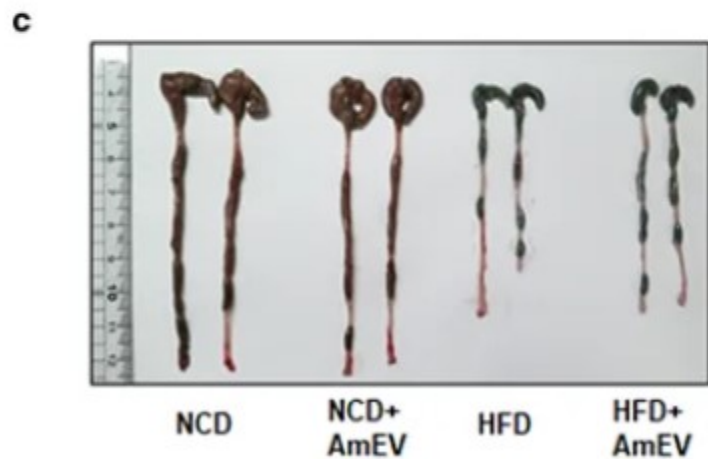
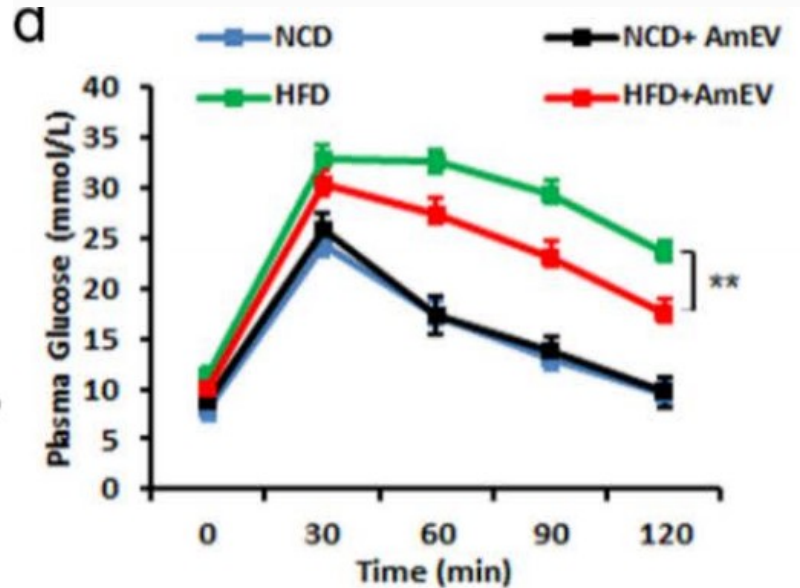
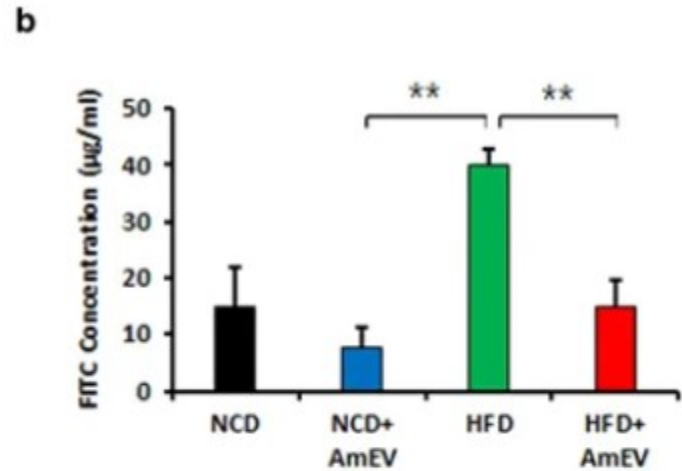
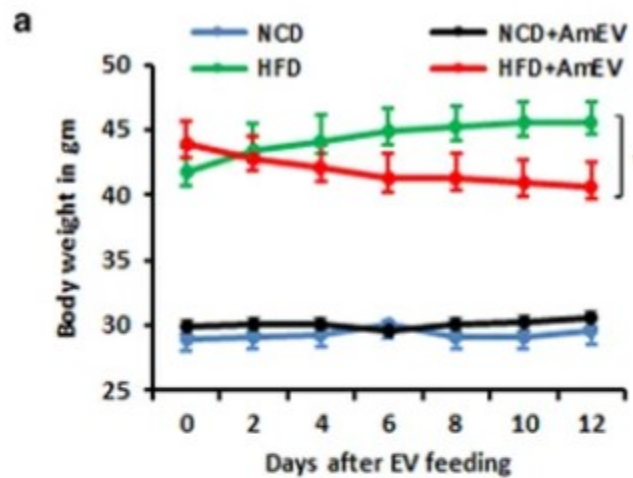
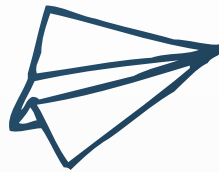
口服AmEV的体内实验



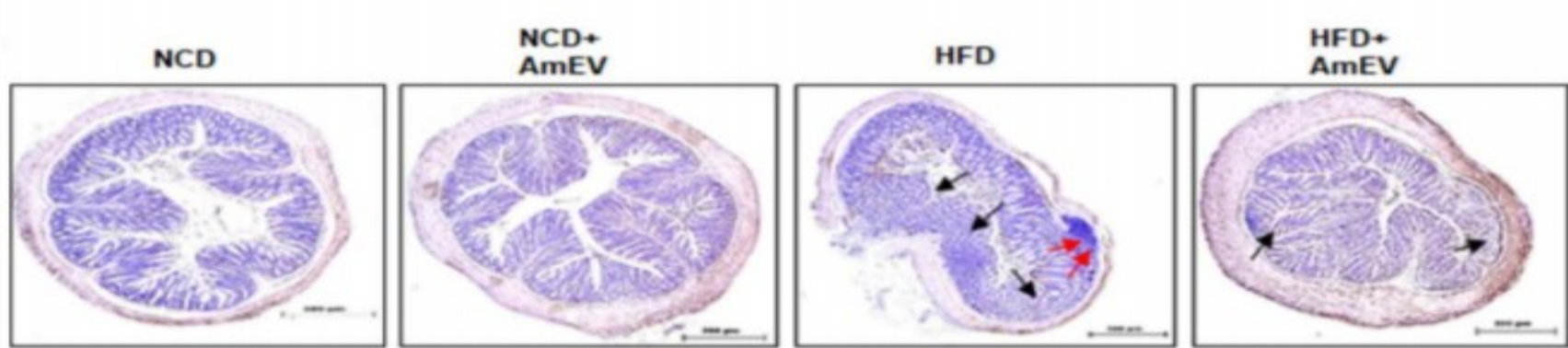
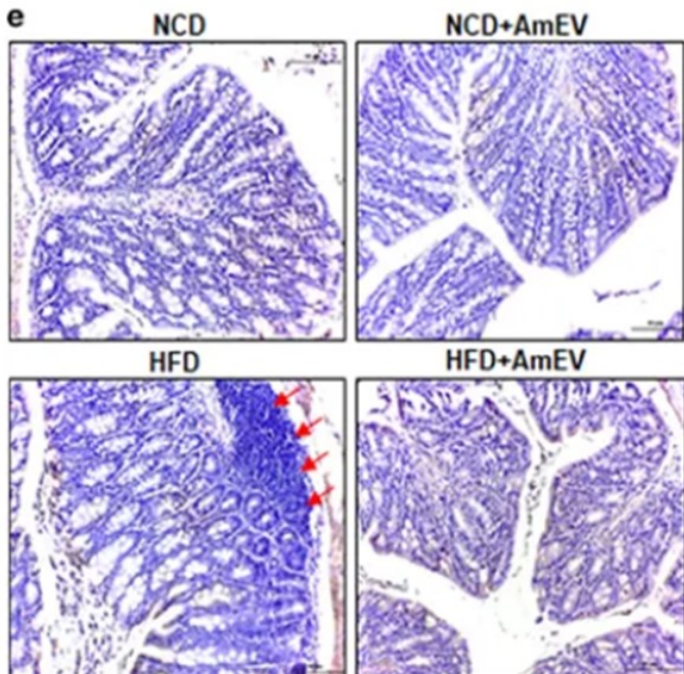
AmEV可以在进食后6小时内转移到大肠中。



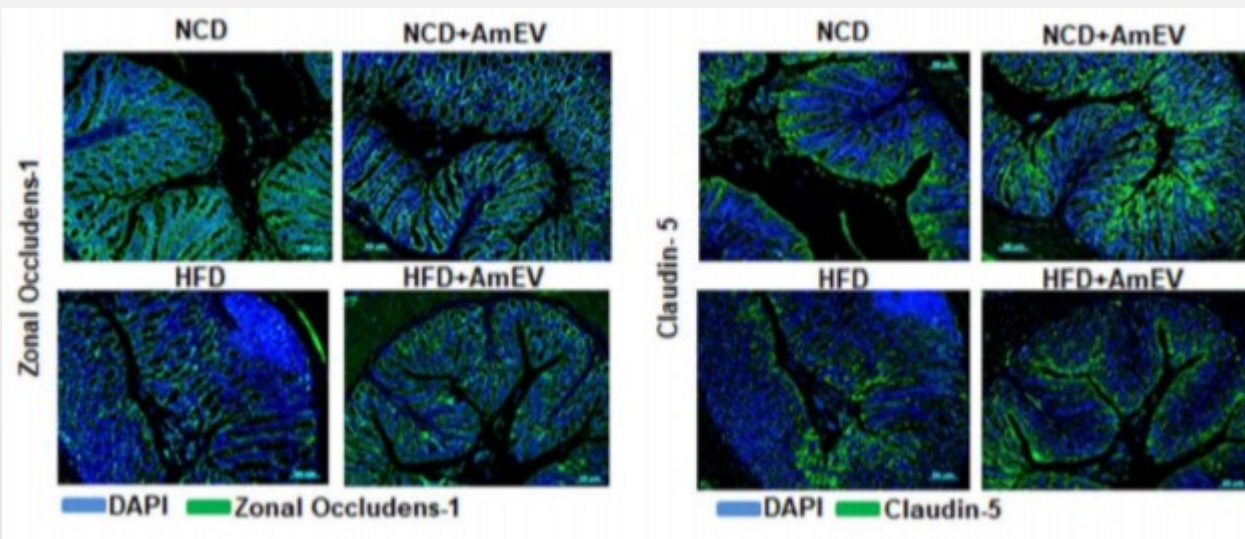
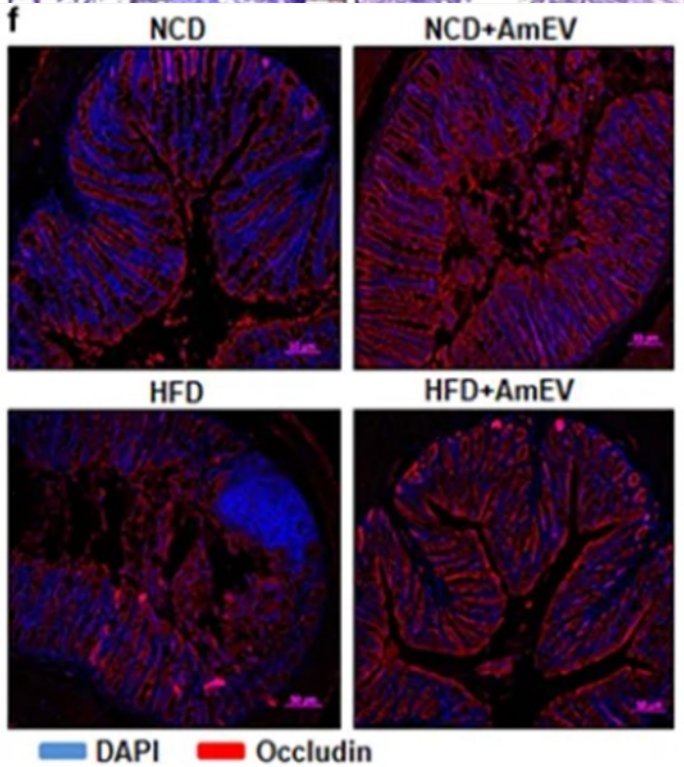
AmEV提高了HFD喂养小鼠的肠道通透性



HFD喂养极大地减少了小鼠的结肠长度，并且在AmEV喂养2周后，得到了部分改善。



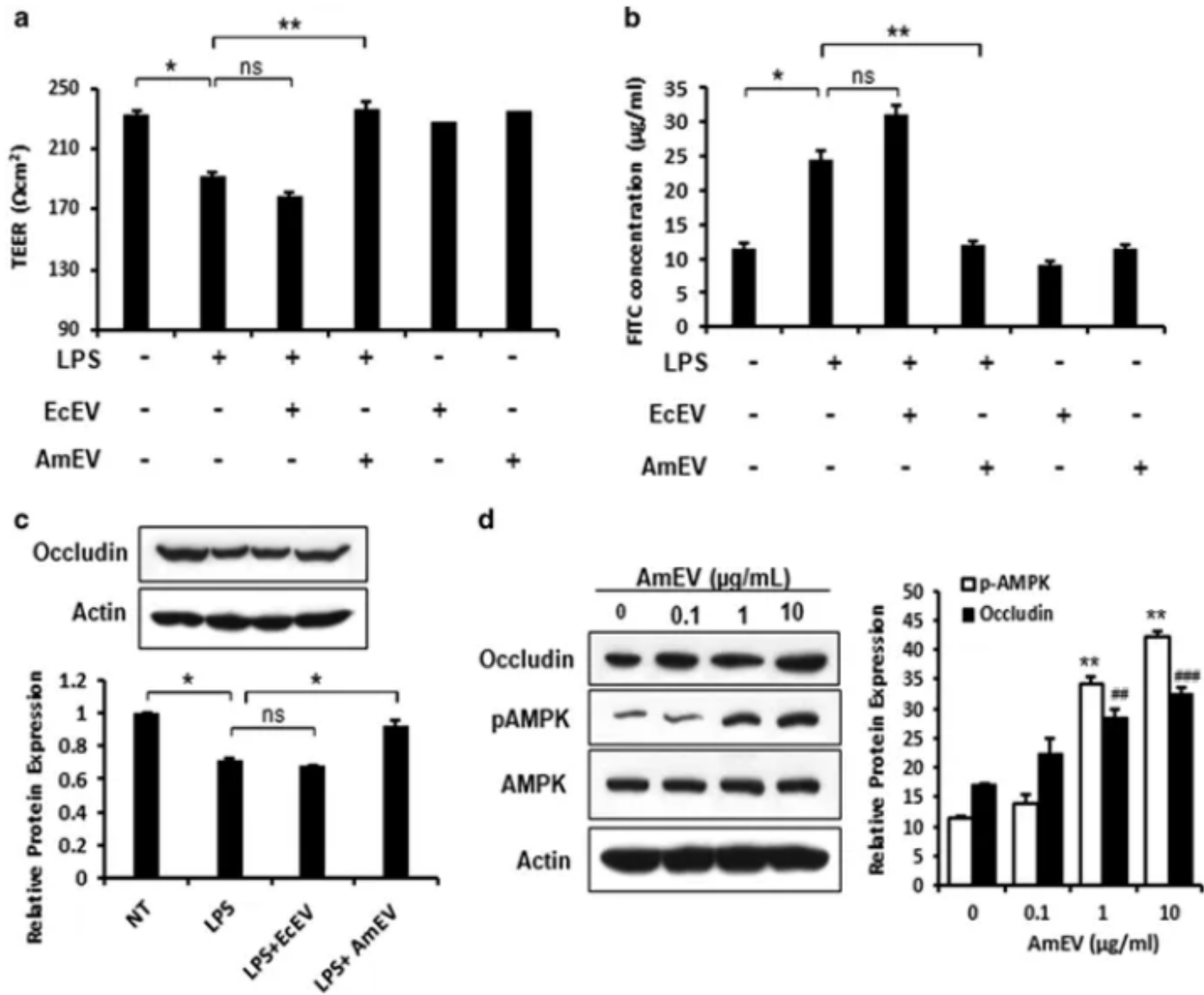
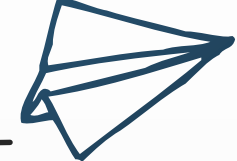
在喂食HFD的小鼠中，屏障结构受到了明显破坏。然而，在HFD + AmEV喂养的组中，对肠上皮层的损害要低得多



HFD喂养显著降低了这些蛋白质在肠上皮层中的表达，而在HFD + AmEV喂养的组中该表达增加了



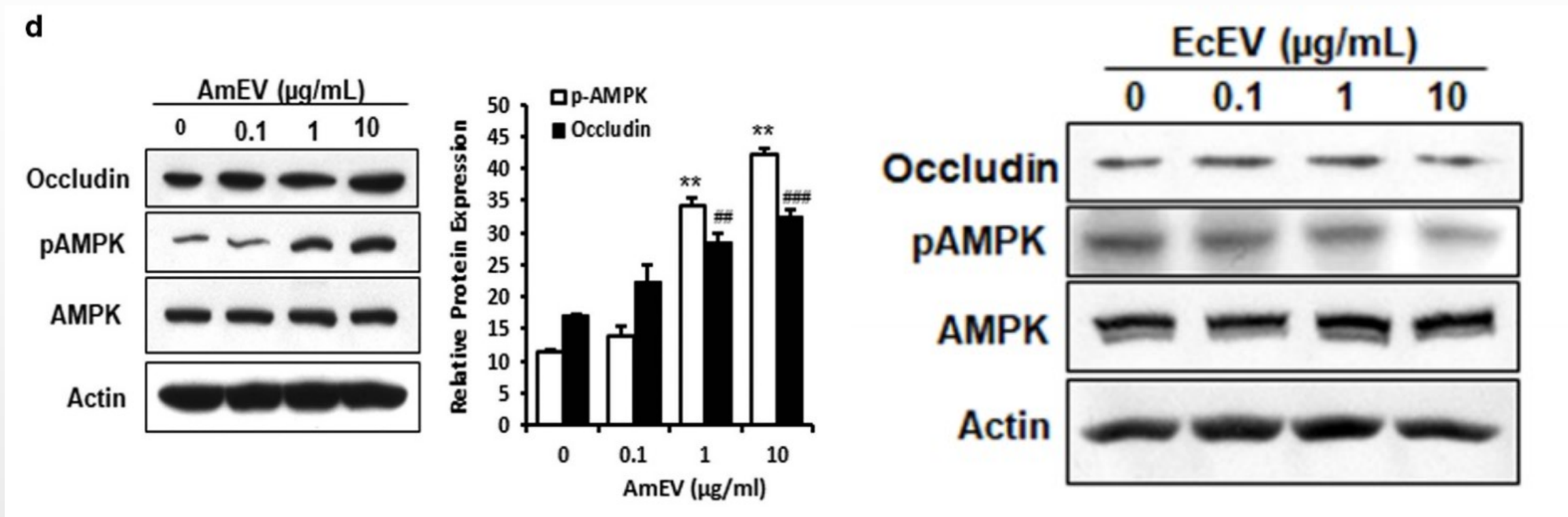
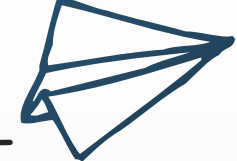
AmEV改善Caco-2细胞的屏障完整性



通过使用AmEV可以改善LPS引起的跨上皮电阻的降低。Caco-2细胞中的FITC-葡聚糖渗透性测定证实了在LPS处理条件下，AmEV处理可以改善肠屏障的完整性。



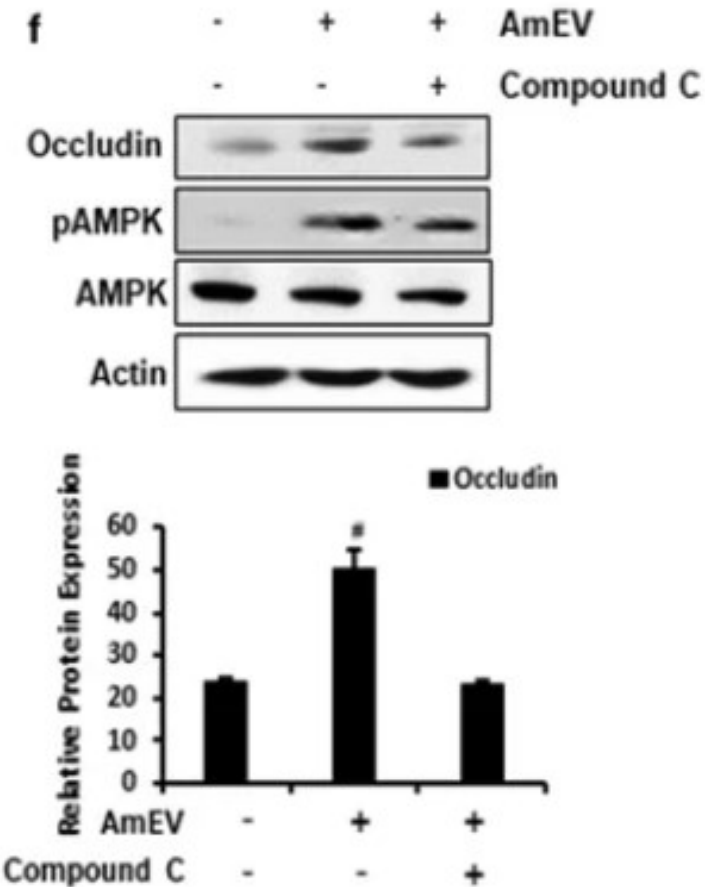
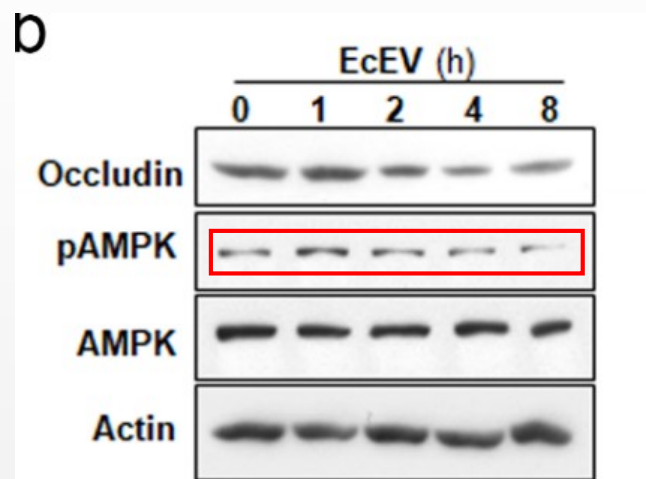
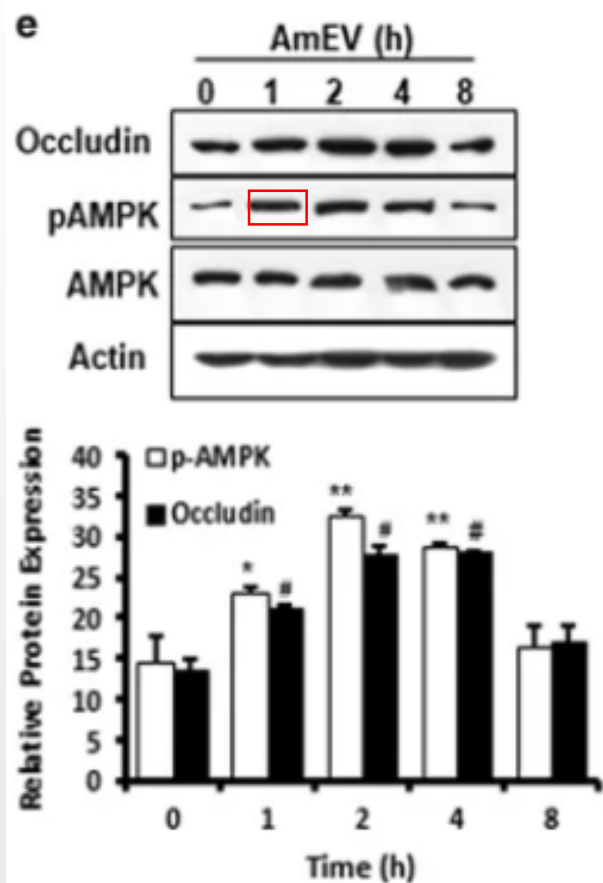
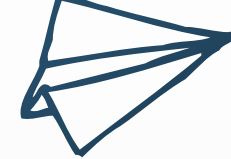
AmEV改善Caco-2细胞的屏障完整性



AmEV和EcEV以剂量和时间依赖的方式施用于Caco-2细胞。与EcEV相比，AmEV治疗后AMPK磷酸化呈剂量依赖性稳定增长



AmEV改善Caco-2细胞的屏障完整性

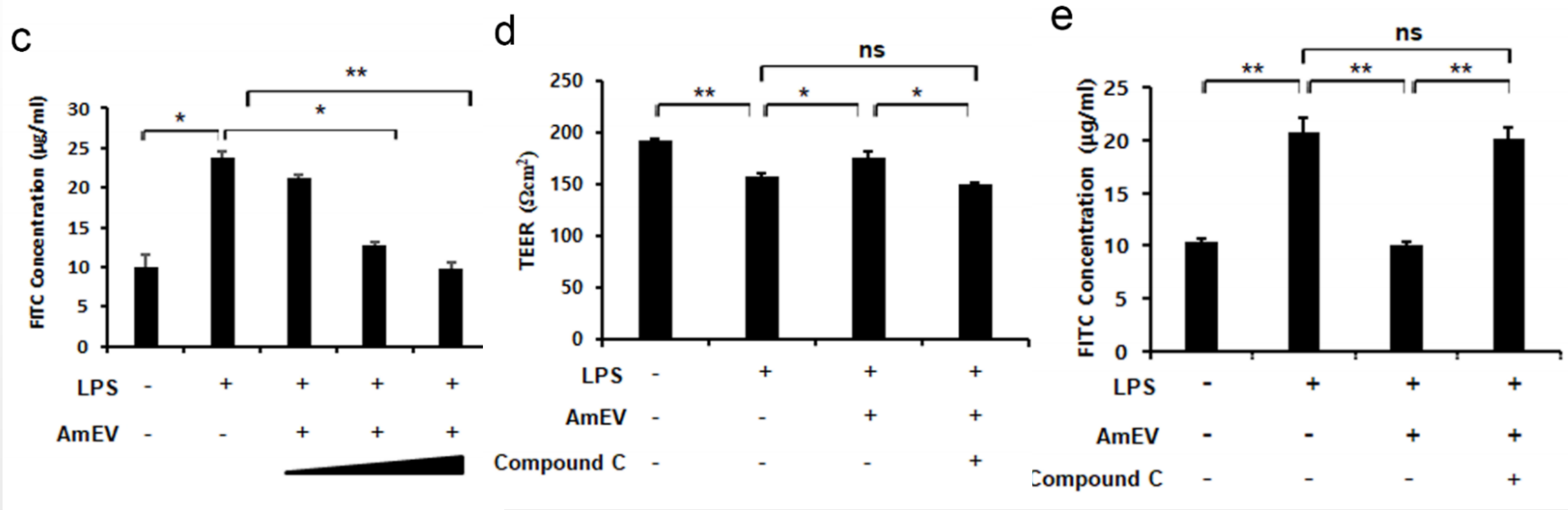


AMPK激活在AmEV给药后1小时内发生，施用EcEV后p-AMPK的表达没有改变

在AMPK抑制剂化合物存在下，AmEV处理不能诱导occludin的表达



AmEV改善Caco-2细胞的屏障完整性

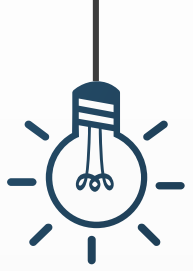


AmEV治疗还以剂量依赖性方式改善了肠屏障的完整性，同样，在化合物C的存在下，AmEVs在体外改善LPS引起的屏障完整性丧失的能力也消失了（补充图S4D和E）



4 讨 论

A dashed line starts below the number '4', curves to the left, then extends horizontally to the right, ending in a paper airplane icon pointing right.

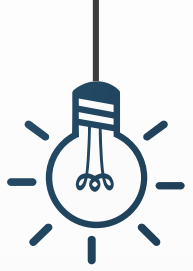


讨 论



本研究提供了关于AmEV对宿主影响的独特且重要的见解，并加深了我们对肠道微生物组在调节肠道屏障完整性中作用的理解。AmEV可能通过其他机制改善了HFD喂养小鼠的代谢表型。进一步深入研究，以破译AmEV在改善HFD饮食诱导的表型中的其他作用。

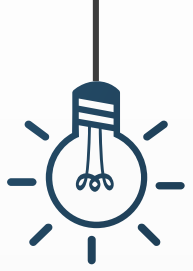
AmEV可能是肠道微生物组调节肠道屏障完整性的有效成分



讨 论



本研究简单地使用SDS-PAGE可视化了AmEV和EcEV的蛋白条带。分析揭示了两种不同EV的蛋白含量不同，并且这种差异可能会导致EV产生不同的影响，因为蛋白质通常是功能成分。但是，蛋白质不是唯一可以影响细胞生理状况的分子。作者观察到，灌喂法产生的AmEV穿透大肠并扩散到周围组织。但是，我们的结果并未验证EV在小鼠中传播后是否仍然完好无损。而且，没有关于肠中EV与周围组织中EV的比率数据。测量这些囊泡对于确定EV对宿主细胞的影响效率很重要。



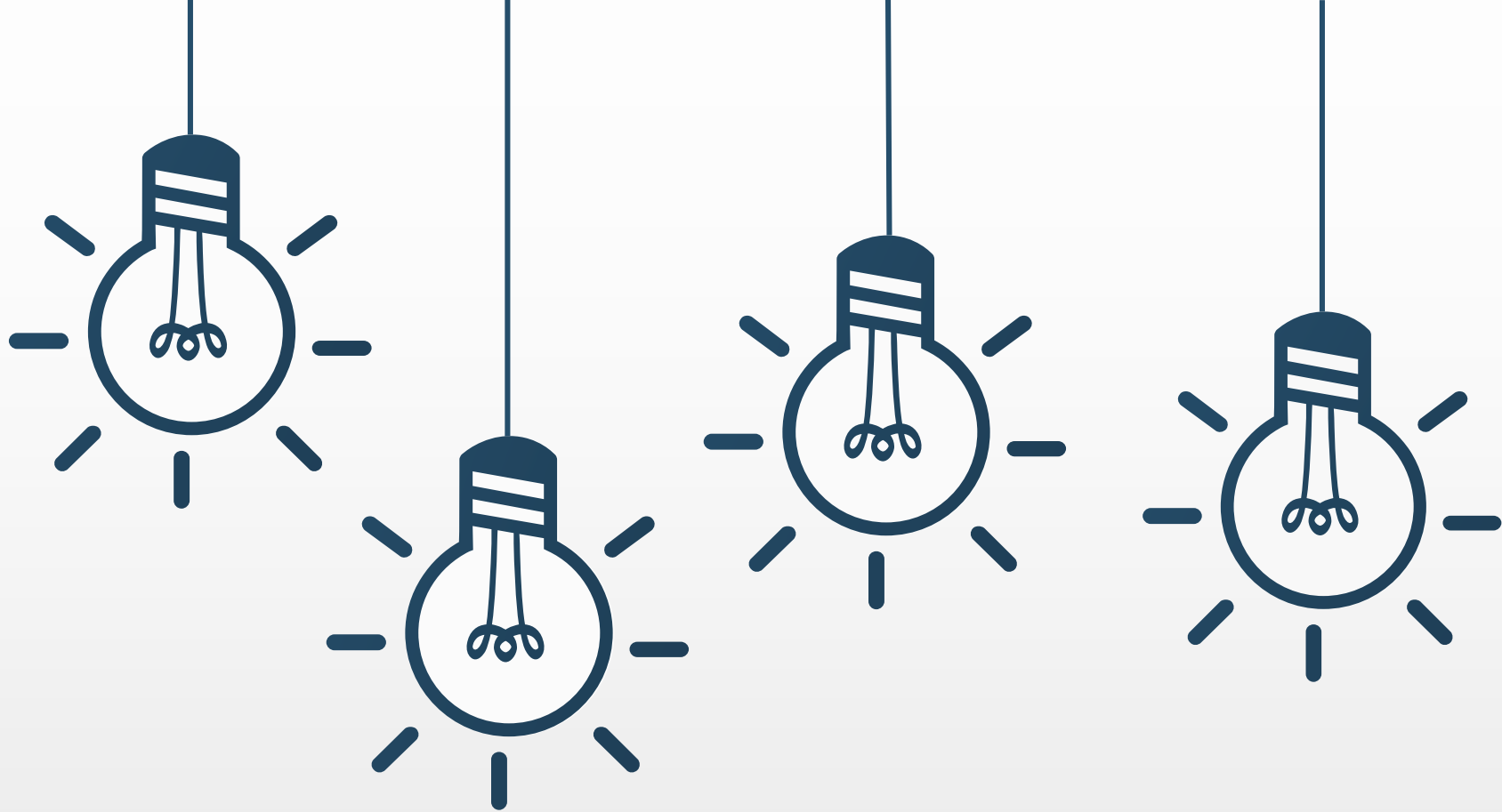
感 受



1. *A. Muciniphila* 可以分泌AmEV。

2. *A. Muciniphila* 发挥作用的成分更多的是代谢产物，菌体发酵显得尤为重要。

3. 进一步揭示了 *A. Muciniphila* 的作用机制。



感谢在座各位聆听

汇报人：吴胜奎

时间：2019. 12. 15