



读书报告

报告人：胡俊仪

日期：2017/5/14

下丘脑食欲素通过交感神经刺激骨骼肌葡萄糖利用

Hypothalamic Orexin Stimulates Feeding-Associated Glucose Utilization in Skeletal Muscle via Sympathetic Nervous System

Tetsuya Shiuchi,^{1,2} Mohammad Shahidul Haque,³ Shiki Okamoto,^{1,2} Tsuyoshi Inoue,^{2,4} Haruaki Kageyama,⁵ Suni Lee,¹ Chitoku Toda,^{1,2} Atsushi Suzuki,¹ Eric S. Bachman,⁶ Young-Bum Kim,⁷ Takashi Sakurai,⁸ Masashi Yanagisawa,⁹ Seiji Shioda,⁵ Keiji Imoto,^{2,4} and Yasuhiko Minokoshi^{1,2,*}

¹Division of Endocrinology and Metabolism, Department of Developmental Physiology, National Institute for Physiological Sciences, Okazaki, Aichi 444-8585, Japan

²Department of Physiological Sciences, The Graduate University for Advanced Studies (Sokendai), Hayama, Kanagawa 240-0193, Japan

³Department of Biochemistry and Molecular Biology, University of Rajshahi, Rajshahi 6205, Bangladesh

⁴Division of Neural Signaling, Department of Information Physiology, National Institute for Physiological Sciences, Okazaki, Aichi 444-8787, Japan

⁵Department of Anatomy, Showa University School of Medicine, Tokyo 142-8555, Japan

⁶Oncology-Pharmacology, Merck Research Laboratories, Boston, MA 02115, USA

摘要

- 研究显示，食欲素A注射到小鼠的下丘脑腹内侧（VMH）中，通过激活交感神经系统促进了骨骼肌而不是在白色脂肪组织中胰岛素诱导的葡萄糖摄取和糖原合成。食欲素的这些作用在缺乏肾上腺素能受体的小鼠中被抑制。

背景知识

○ NE：去甲肾上腺素，它既是一种神经递质，主要由交感节后神经元和脑内肾上腺素能神经末梢合成和分泌，是后者释放的主要递质，也是一种激素，由肾上腺髓质合成和分泌，但含量较少。循环血液中的去甲肾上腺素主要来自肾上腺髓质。

○ Guanethidine：依斯迈林，交感神经活性的阻断剂。作用于心血管系统的药物、抗高血压药、作用于肾上腺素能神经末梢的抗高血压药。

背景知识

β-adrenergic receptor: β-肾上腺素能受体，β受体分β1、β2和β3。肾上腺素对α及β两型受体均起作用，β受体所引起的反应为支气管扩张、血管扩张等。

AS160: 骨骼肌细胞蛋白激酶B (PKB/Akt)下游效应因子Akt底物蛋白。在肌肉和脂肪细胞中，AS160可调控胰岛素信号通路中葡萄糖转运体4的转运，从而调节肌肉及脂肪组织的糖摄取，参与调节集体的糖代谢。

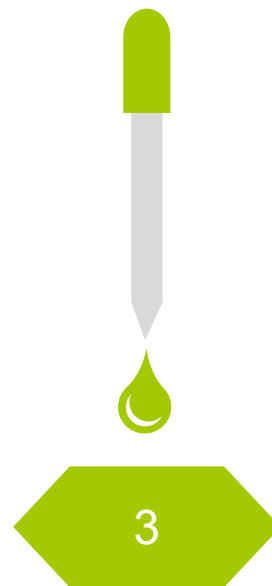
研究内容



OXA的作用



OXA作用方式



OXA作用的靶
标



OXA对胰岛素的
影响



ONE

Orexin-A的作用

Orexin-A注射到下丘脑中增加肌肉葡萄糖摄取

实验方法

葡萄糖转换率：

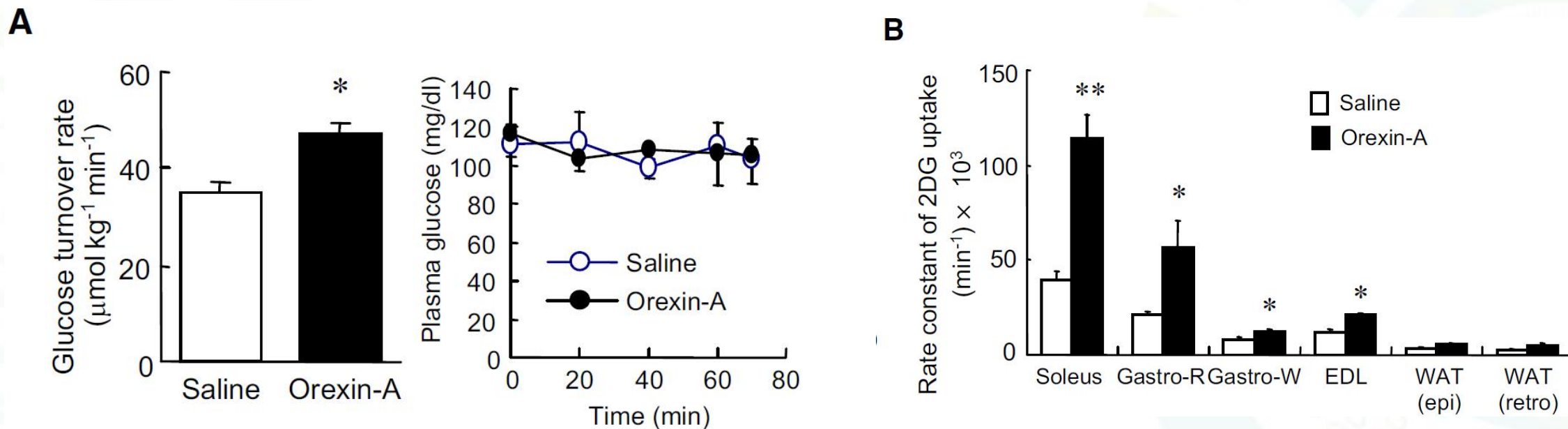
将食欲素A或盐水注射到VMH中，1h后，以10 μ Ci的推注剂量将[3-3H]葡萄糖投入颈动脉，连续输注90分钟，从颈静脉导管以15分钟间隔获得血浆样品，以测定[3-3H]葡萄糖放射性和葡萄糖浓度。

骨骼肌中葡萄糖摄取的速率：

将食欲素A或盐水注射到VMH中，将[3H]2DG (10Ci / mmol)通过颈静脉导管注射进小鼠体内，在1, 2, 3, 4, 5, 6h快速解剖骨骼肌 (EDL, 比目鱼肌, 腓肠肌的红色和白色部分) 以及附睾和腹膜后的WAT。将组织样品匀浆，将匀浆在4°C下离心，并测定所得上清液以及血浆样品的放射性。

食欲素A的含量：食欲素A酶免疫测定试剂盒 (Phoenix Pharmaceuticals, Burlingame, CA)

实验结果-Orexin-A Injection into the MH Increases Muscle Glucose Uptake

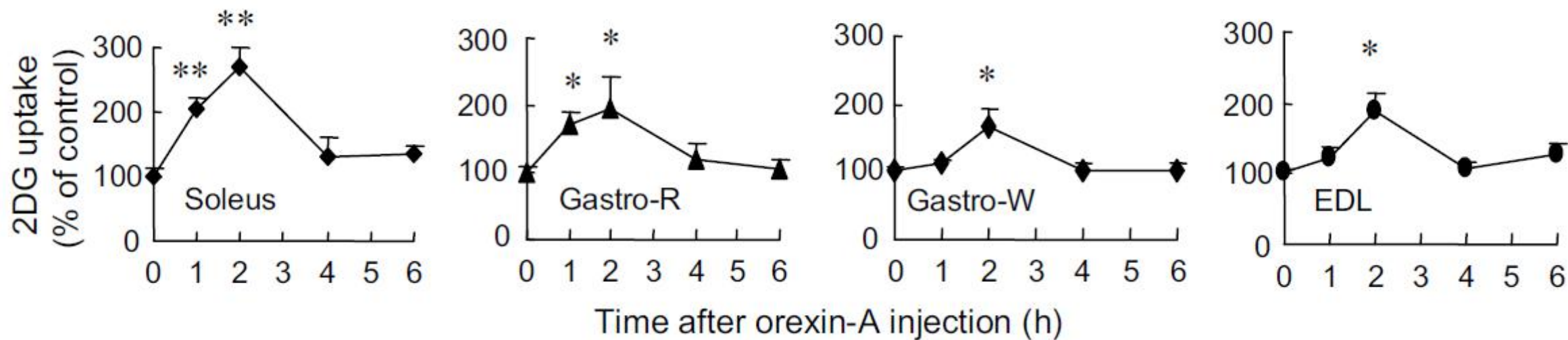


Orexin-A (5 pmol) 注射MH导致大鼠全身葡萄糖转换率增加 (图1A, 左图)。注射食欲素-A后血浆葡萄糖水平没有改变 (图1A, 右图), **表明葡萄糖利用率和产量均有所增加。**

在食欲素A注射到MH2h后, 骨骼肌中葡萄糖摄取速率显著增加 (图1B)。这种效果在红色类型的肌肉中比在白色类型中更显著。白色脂肪组织 (WAT) 中的2DG摄取没有受到影响

实验结果-Orexin-A Injection into the MH Increases Muscle Glucose Uptake

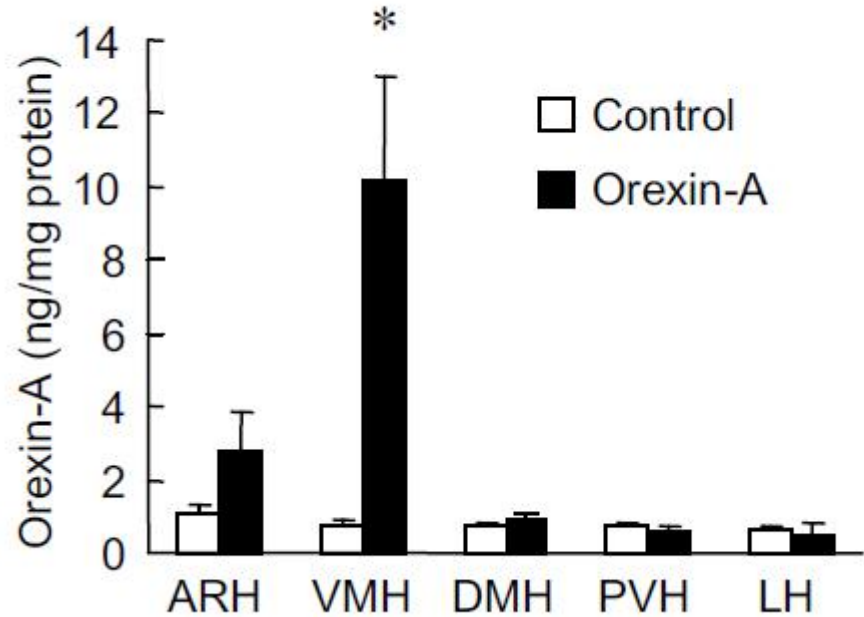
C



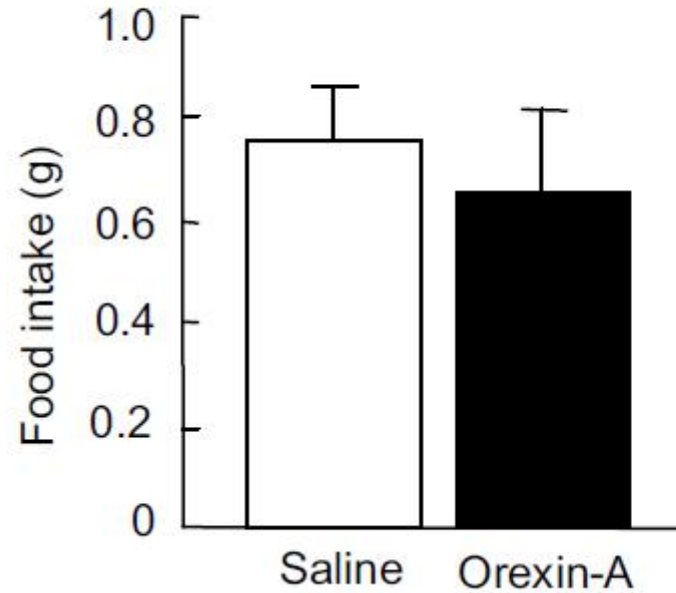
在食欲素A注射后2小时，肌肉中2DG的摄取最大，并在4小时后恢复到基线水平（图1C）。

实验结果-Orexin-A Injection into the MH Increases Muscle Glucose Uptake

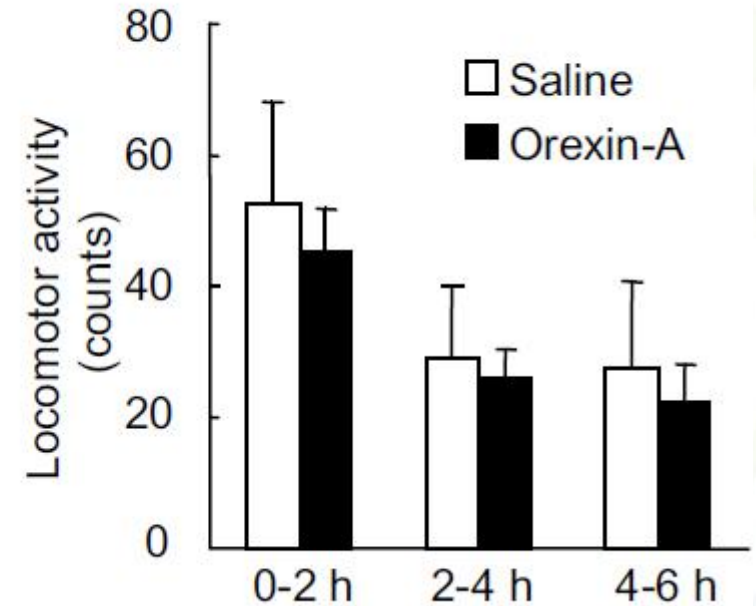
D



E



F

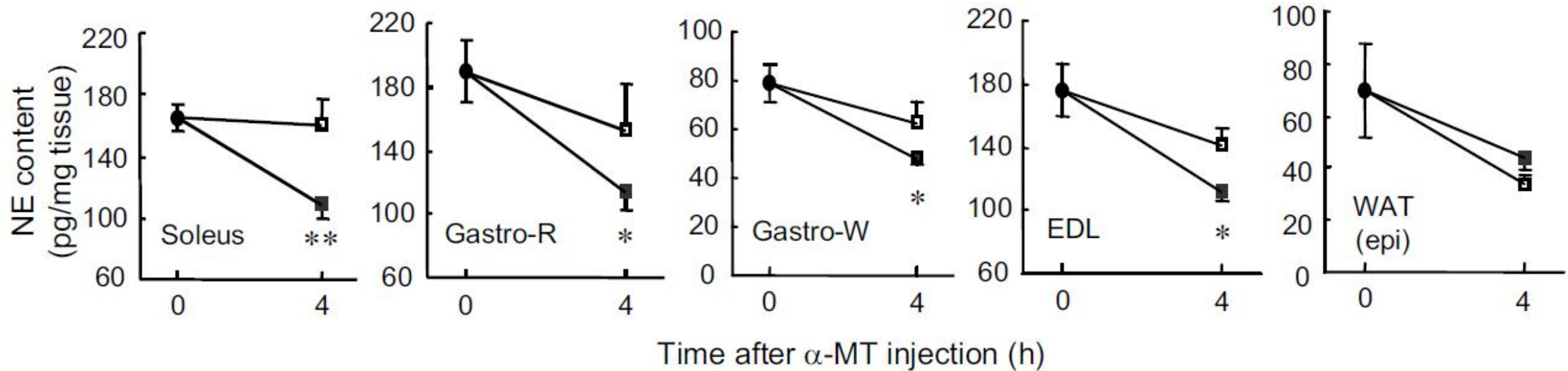


注射后2小时，Orexin-A主要限于VMH（图1D）。

注射到VMH中的食欲素A对食物摄取或运动活动没有影响（图1E和1F）。

实验结果-Orexin-A Injection into the MH Increases Muscle Glucose Uptake

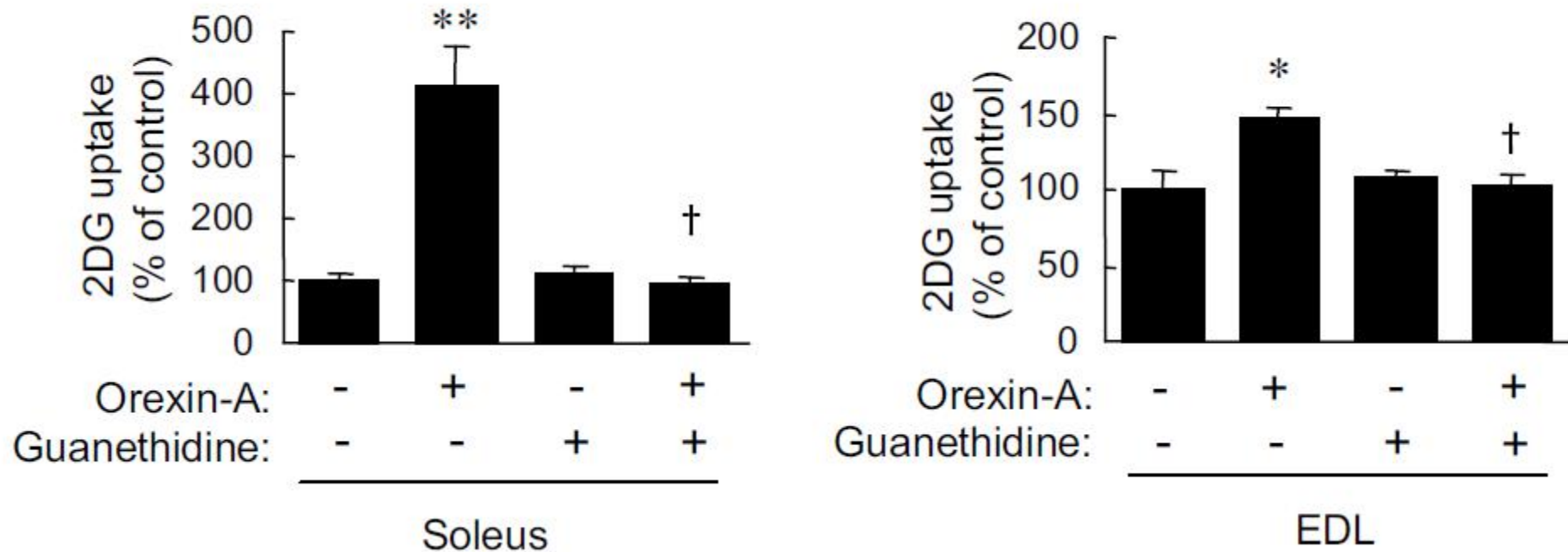
G



通过评估去甲肾上腺素NE含量的减少来确定外周组织的去甲肾上腺素（NE）周转。响应于食欲素-A的作用，骨骼肌中NE的周转率增加，但在WAT中增加（图1G）。

实验结果-Orexin-A Injection into the MH Increases Muscle Glucose Uptake

H



施用胍乙啶交感神经活性的阻断剂，能完全抑制食欲肽A对比目鱼肌（Soleus）和伸肌腱（EDL）中2DG摄取的刺激作用（图1H）。

小结

Orexin-A注射到下丘脑对骨骼肌葡萄糖摄取的影响:

1. Orexin-A注射到MH中增加肌肉葡萄糖摄取。
2. 这种效果在红色类型的肌肉中比在白色类型的肌肉中更显著。
3. 食欲素-A注射到MH中优先通过交感神经来调节骨骼肌中的葡萄糖摄取。





TWO

Orexin-A的作用方式

Orexin-A诱导的肌肉葡萄糖摄取需要肌肉细胞中的
 β 2-AR

实验方法

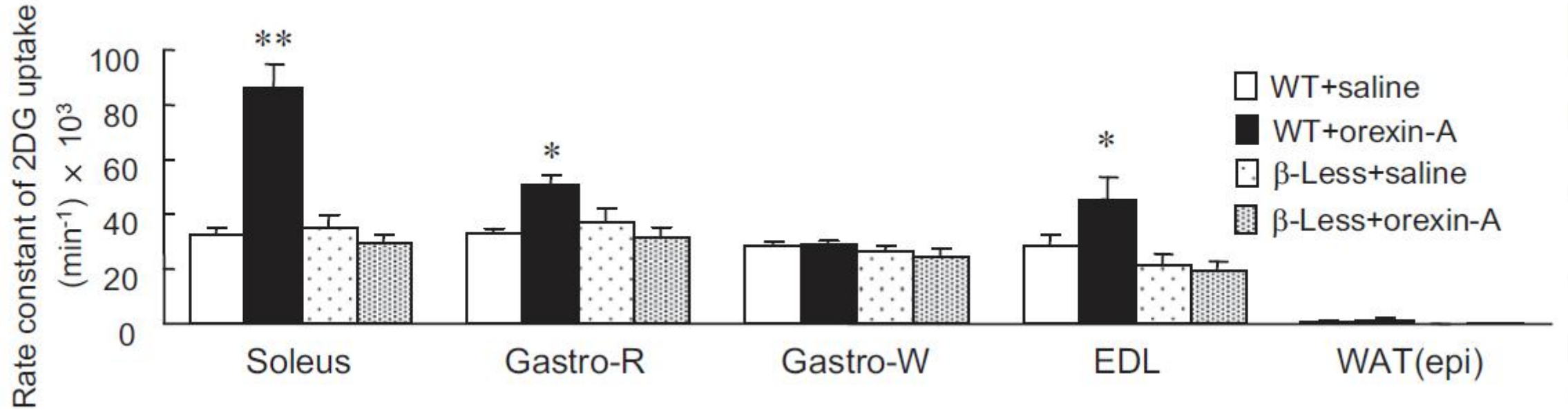
胰岛素信号分子磷酸化测定：Western blotting，通过免疫印迹的光密度扫描测定每种磷酸化蛋白质的量，并通过相应量的总蛋白进行标准化。

PI3K活性测定：色谱分析

β -AR表达量检测：RT-PCR

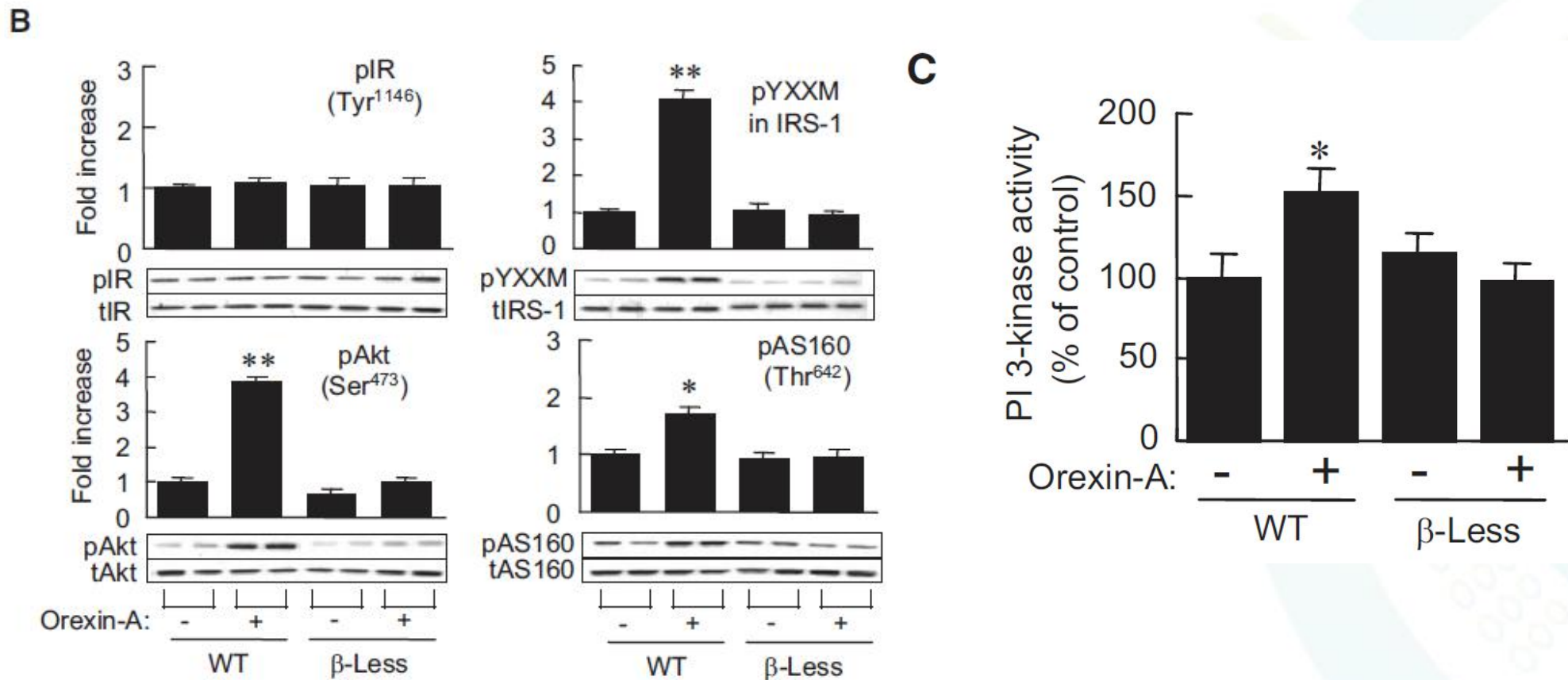
实验结果-Orexin-A-Induced Muscle Glucose Uptake Requires β 2-AR Signaling in Muscle Cells

A



检查了注射到VMH中的食欲素A对 β 1-， β 2-和 β 3-AR三重敲除小鼠（ β -less小鼠）中葡萄糖摄取的影响。Orexin-A在 β 型小鼠中没有增加肌肉葡萄糖摄取，而在野生型（WT）小鼠的红色和混合类型的肌肉中增加肌肉葡萄糖摄取（图2A）。

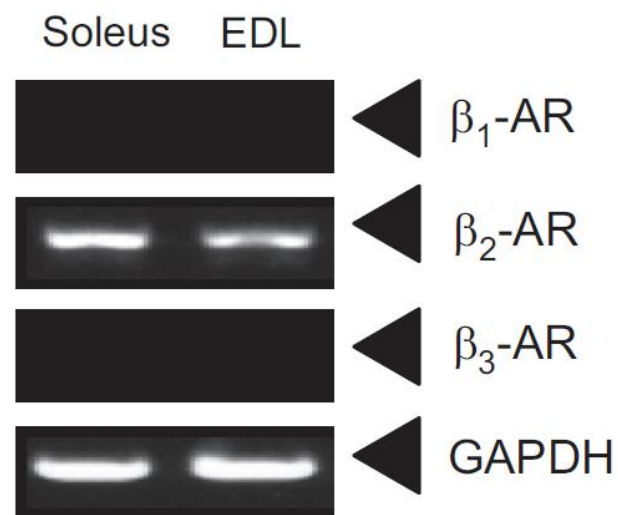
实验结果-Orexin-A-Induced Muscle Glucose Uptake Requires β 2-AR Signaling in Muscle Cells



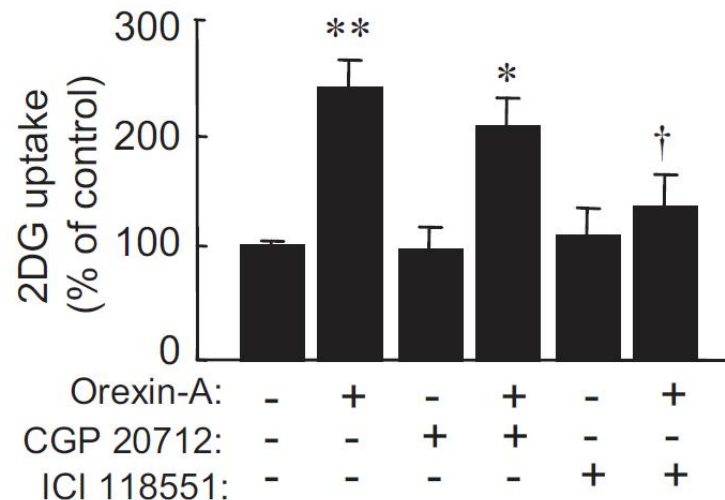
Orexin-A增加了WT小鼠的比目鱼肌中胰岛素受体底物-1 (IRS-1), Akt和AS160的磷酸化水平,但并不影响胰岛素受体 (IR) 的磷酸化水平,它对 β -less小鼠中任何这些蛋白质的磷酸化没有影响 (图2B)。食欲肽A增加了WT小鼠中与IRS-1相关的PI3K活性,但不增加 β 型小鼠的 (图2C)。食欲素A通过肌肉交感神经和 β -AR激活胰岛素信号通路 (而不是IR) 来增加肌肉中的葡萄糖摄取。

实验结果-Orexin-A-Induced Muscle Glucose Uptake Requires β_2 -AR Signaling in Muscle Cells

D



E

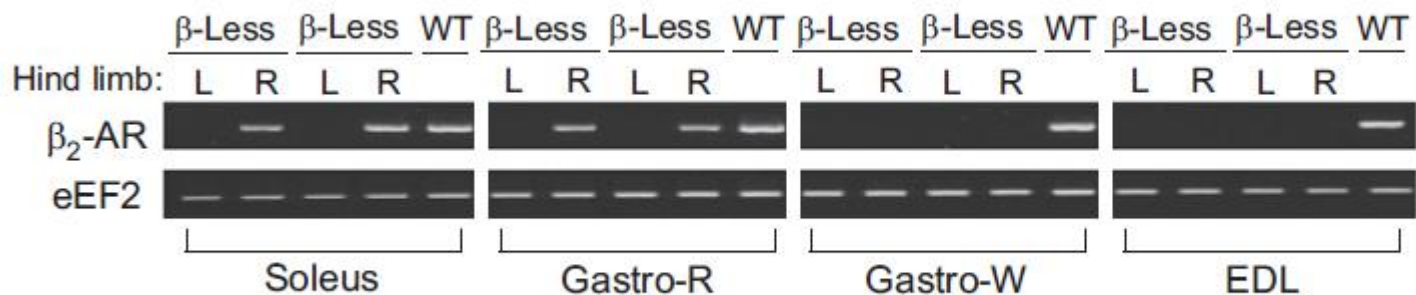


小鼠的比目鱼肌优先表达 β -AR 的 β_2 (图2D)。

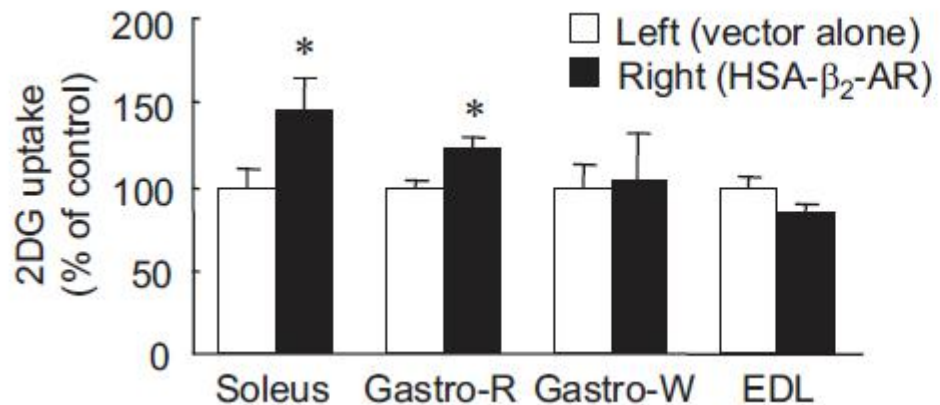
腹腔内注射 β_2 -肾上腺素能拮抗剂 ICI 118551 能抑制食欲素 A 诱导的葡萄糖摄取 (图2E)。

实验结果-Orexin-A-Induced Muscle Glucose Uptake Requires β_2 -AR Signaling in Muscle Cells

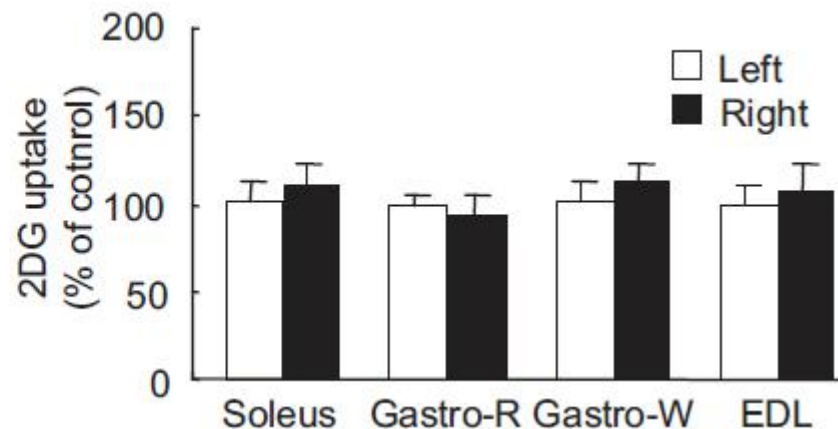
F



G



H



用电穿孔恢复了 β -less 小鼠右后肢骨骼肌 β_2 -AR 的表达, RT-PCR 分析显示右侧比目鱼肌和红腓肠肌中存在 β_2 -AR mRNA (图2F)。转染 β_2 -AR 启动子的右侧比目鱼肌和红腓肠肌的葡萄糖的摄取显著增加 (图2G)。在 β -less 小鼠的这些肌肉中葡萄糖的摄取不受注射到 VMH 中的 Orexin-A 影响 (图2H)。

小结

Orexin-A诱导的肌肉葡萄糖摄取需要肌肉细胞中的 β_2 -AR

1. 食欲素A通过肌肉交感神经和 β -AR激活胰岛素信号通路来增加肌肉中的葡萄糖摄取。
2. 能通过抑制 β_2 -肾上腺素能受体（而不是交感神经活动）来抑制食欲素A诱导的葡萄糖摄取。
3. 在骨骼肌细胞中表达的 β_2 -AR在该组织中有助于食欲肽A诱导的葡萄糖摄取。

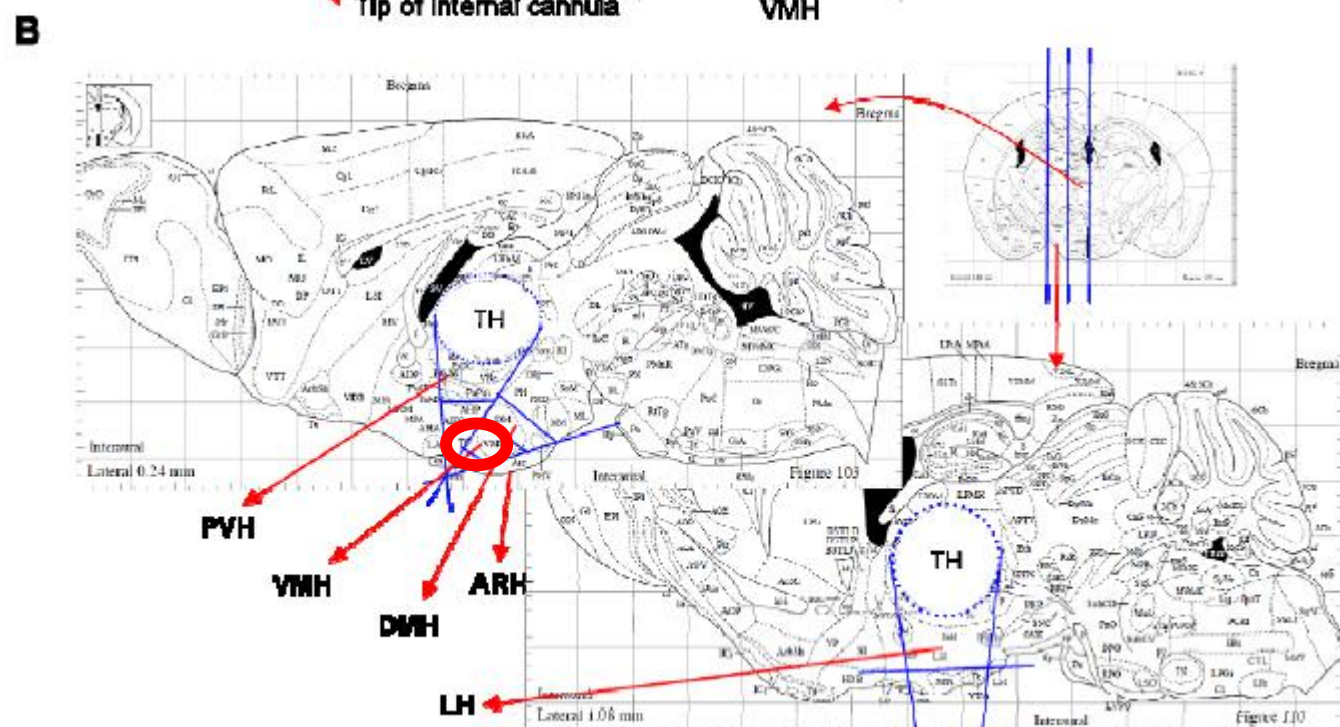
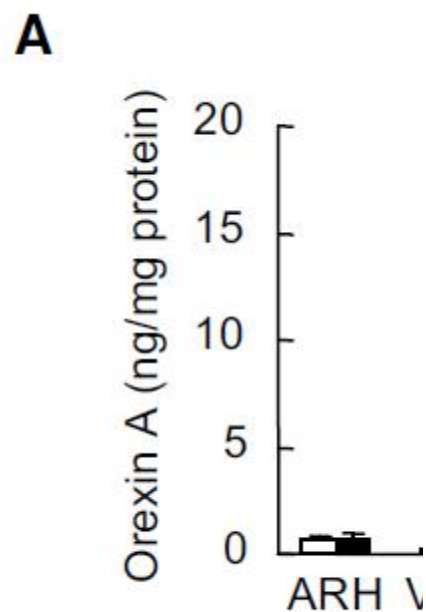
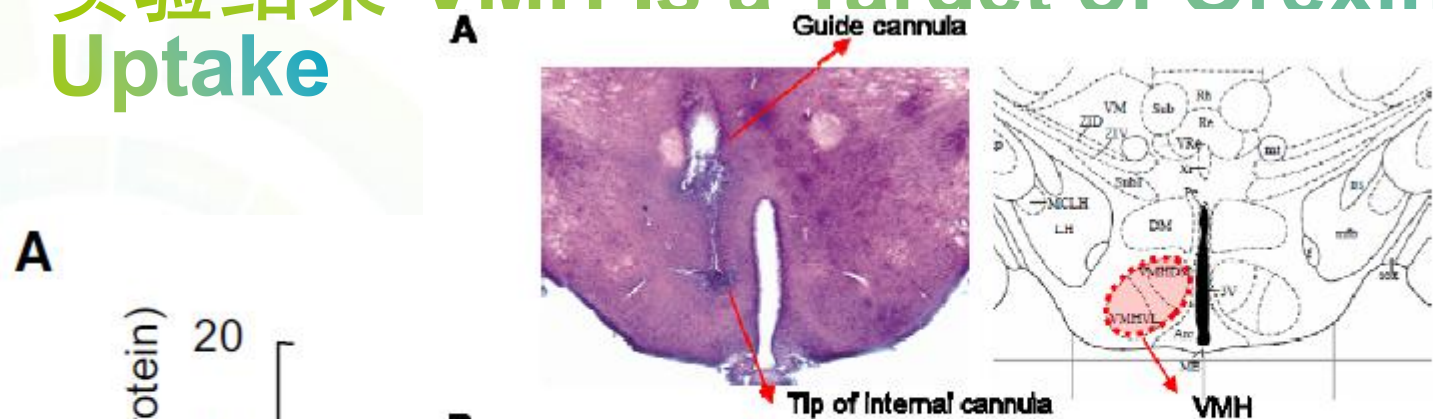


THREE

Orexin-A的作用靶标

VMH（下丘脑腹中核）是用于肌肉葡萄糖摄取的
Orexin-A的靶标

实验结果-VMH Is a Target of Orexin-A for Muscle Glucose Uptake



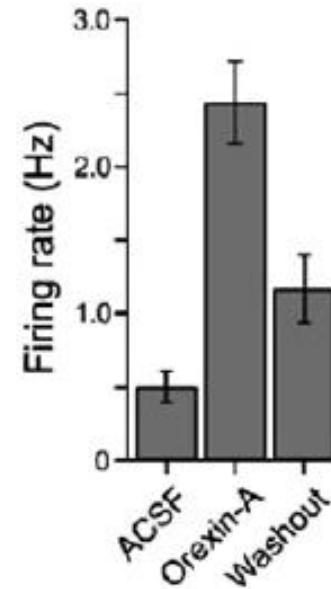
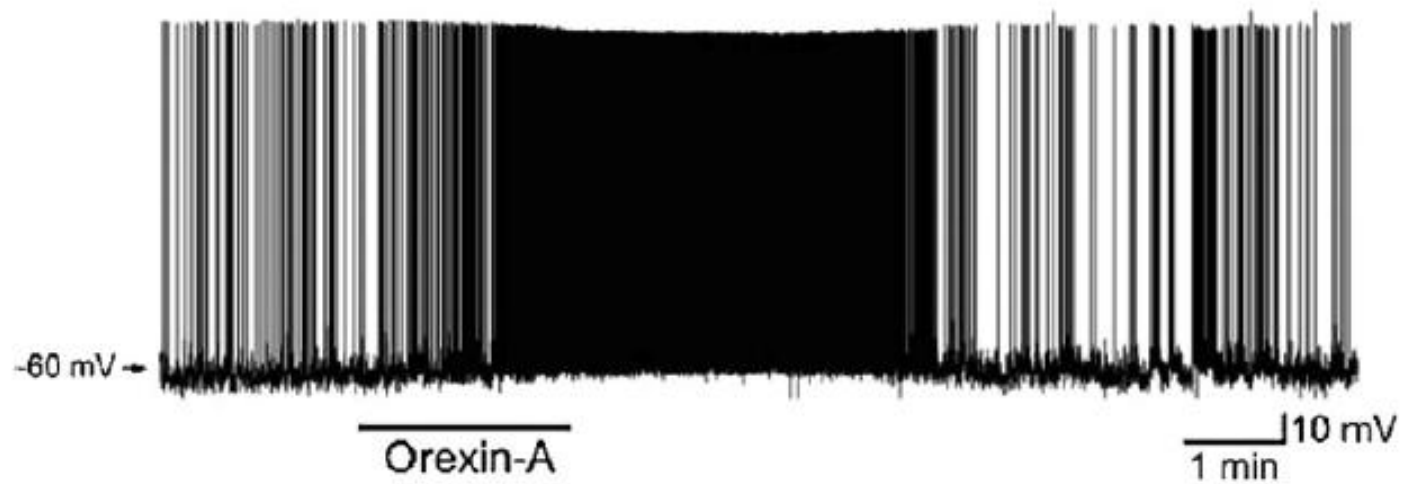
下丘脑中食欲素/主要位于小鼠的VMH (图3B)。

VMH (黑色双边椭圆形区域) 的小鼠脑冠状切片的差分干涉对比图像 (图3C)。

下丘脑2h后, 食欲素A主有许多食欲素阳性过程

实验结果-VMH Is a Target of Orexin-A for Muscle Glucose Uptake

D



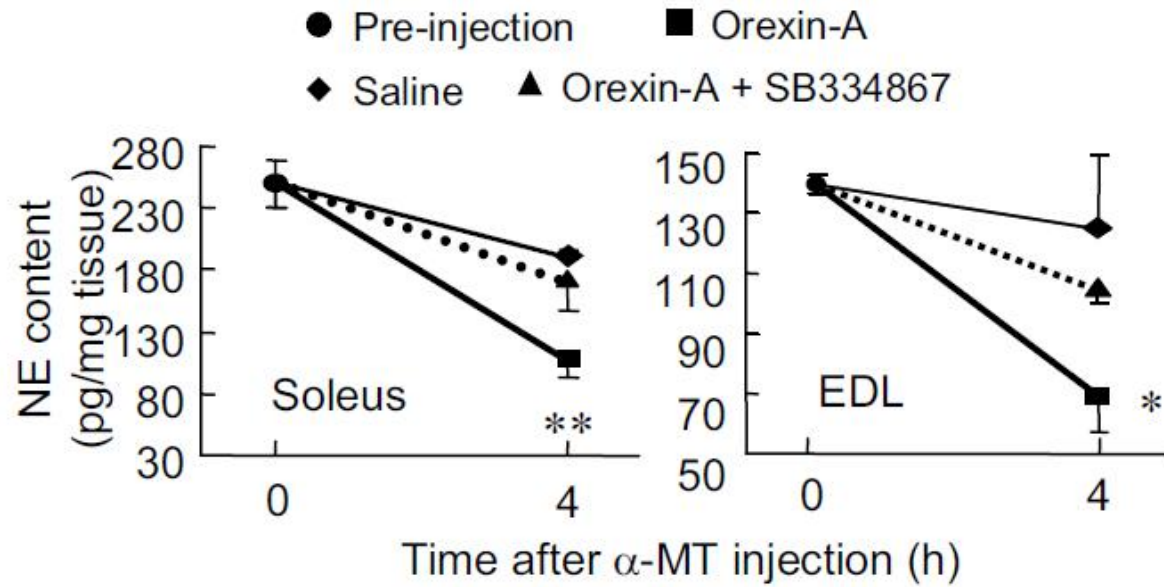
E



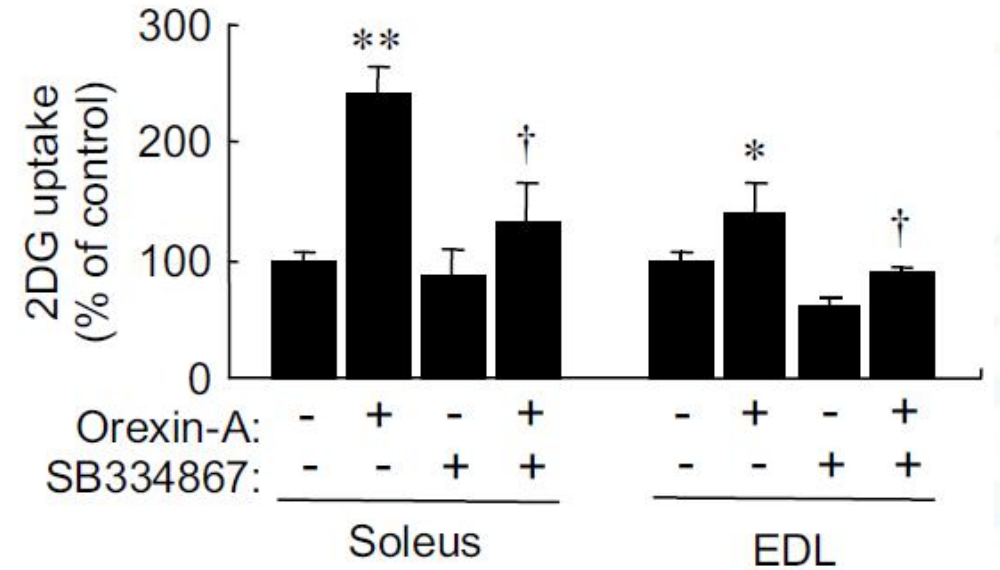
暴露于食欲素A (500nM) 的小鼠VMH神经元的电压记录。食欲肽A的加入和冲洗对食欲肽敏感性神经元的燃烧速率的影响 (图3B)。在河豚毒素 (1mM) 存在下, Orexin-A诱导的VMH神经元的去极化。(E)

实验结果-VMH Is a Target of Orexin-A for Muscle Glucose Uptake

F



G



OXR拮抗剂SB334867注射到VMH中，比目鱼肌和EDL中食欲素A对NE周转（图3F）和2DG摄取（图3G）的刺激作用被显著抑制。

小结

Orexin-A的作用靶标:

1. 食欲素A主要限于小鼠的VMH，并直接激活一些VMH神经元。
2. VMH及其附近区域的神经元介导食欲肽A对骨骼肌葡萄糖摄取的刺激作用。

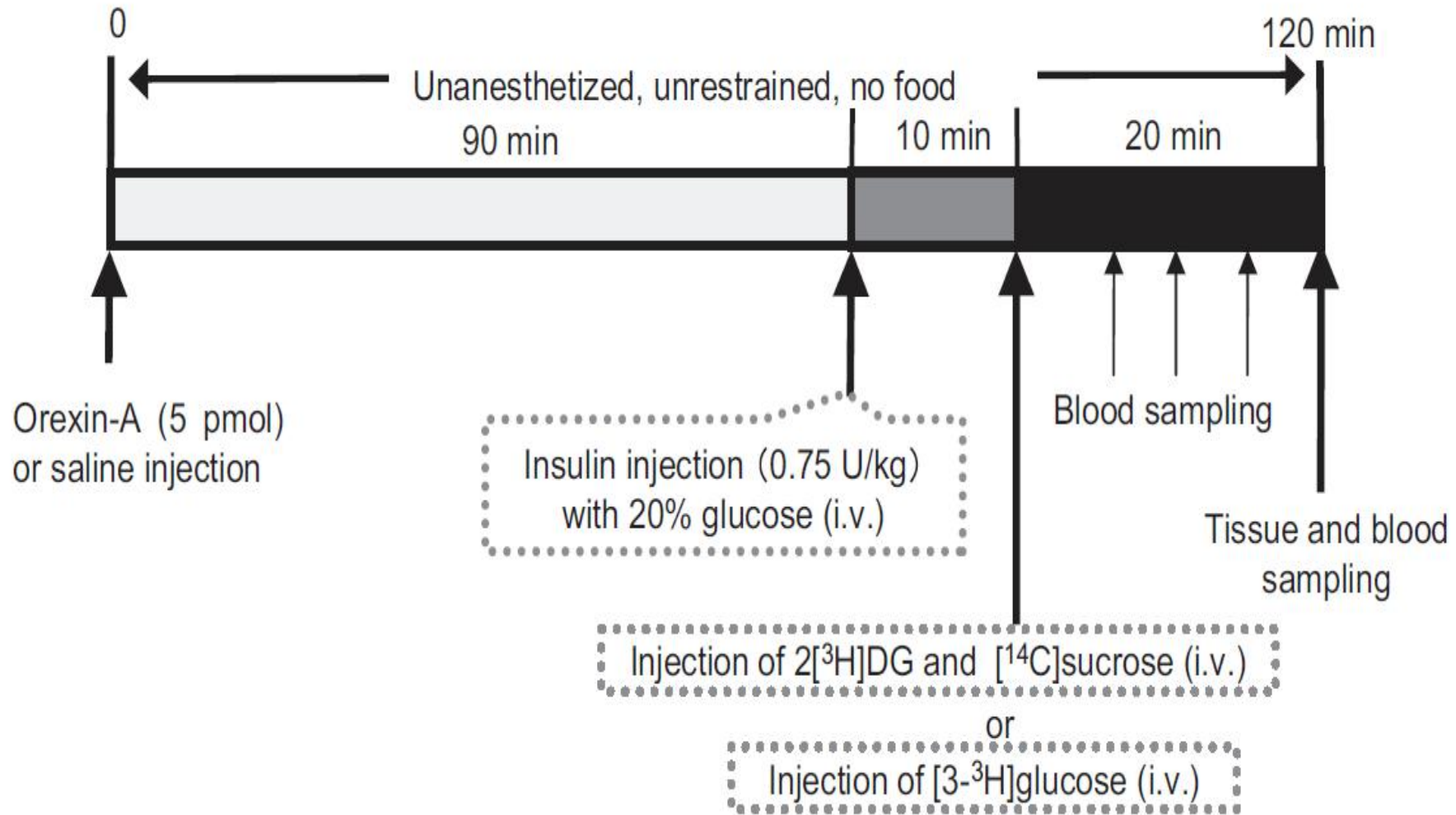




FOUR

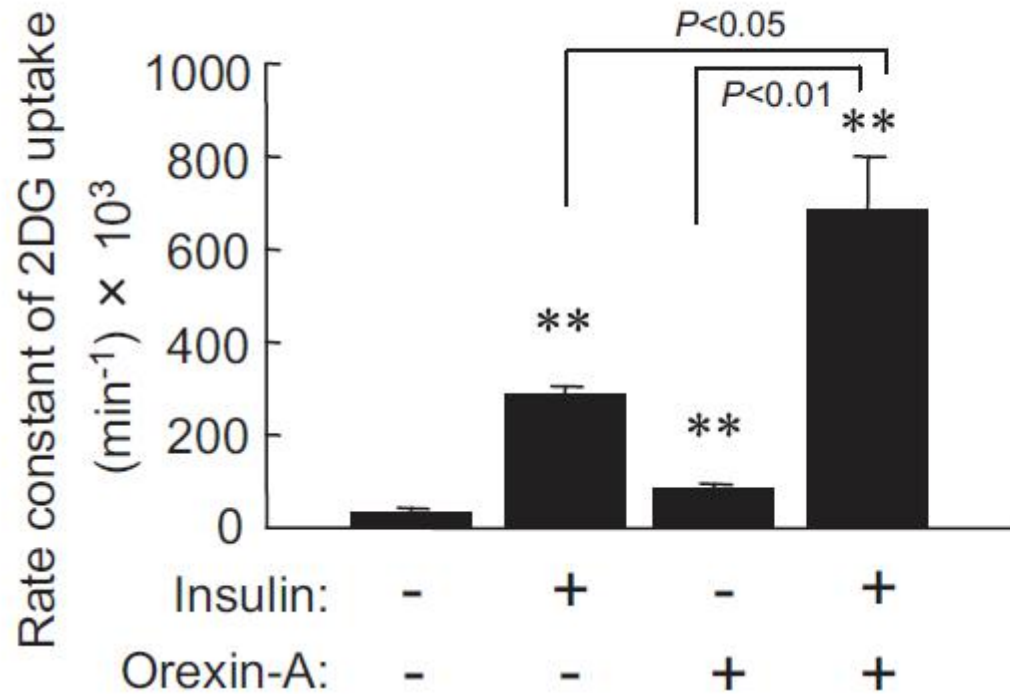
Orexin-A对胰岛素的影响

实验方法

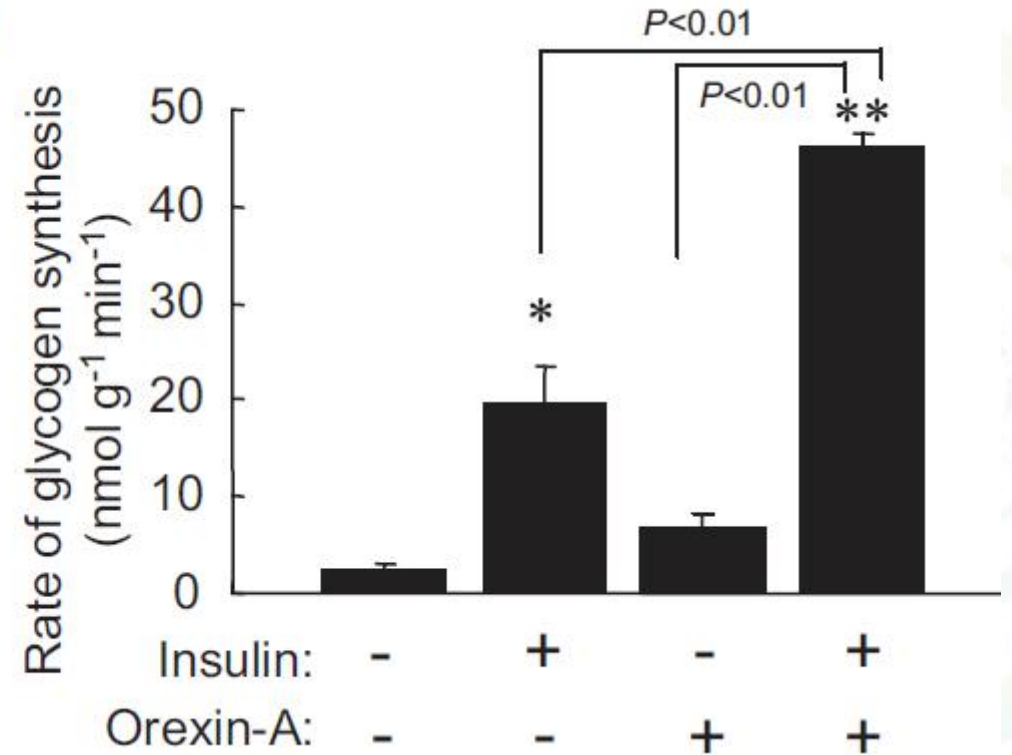


实验结果-Orexin-A Enhances Insulin-Induced Muscle Glucose Uptake and Glycogen Synthesis

B



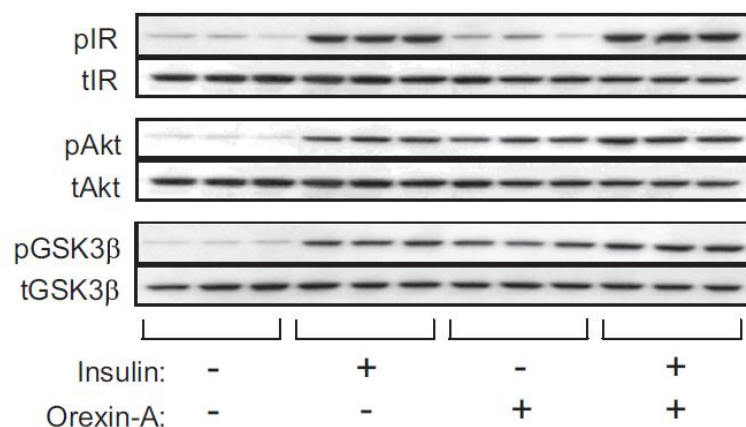
C



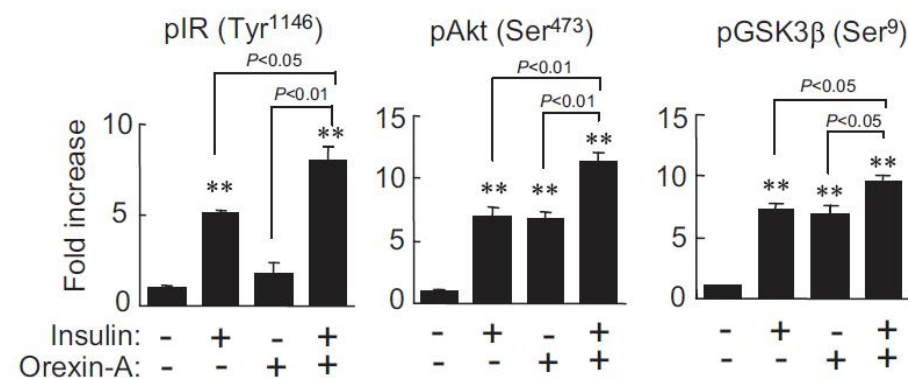
尽管食欲素A单独注射约二倍的增加葡萄糖的摄取，并且显示出增加糖原合成的趋势，但是它显著增强了对这两种过程的胰岛素效应。

实验结果-Orexin-A Enhances Insulin-Induced Muscle Glucose Uptake and Glycogen Synthesis

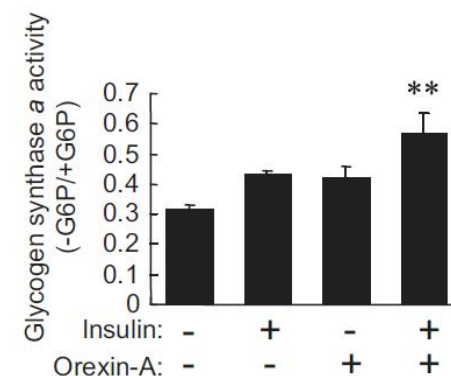
D



E



F



Orexin-A增强了比目鱼肌IR的磷酸化（图4D和4E），而单独注射食欲素A对IR磷酸化没有影响（图4D和4E；也参见图2B）。胰岛素加食欲素A诱导的比目鱼肌中Akt磷酸化和糖原合酶激酶3b（GSK3b）的磷酸化程度大于单独使用食欲素A或胰岛素（图4D和4E）。胰岛素加食欲素A使比目鱼肌糖原合成酶 α 的活性显著增加（图4F），

小结

Orexin-A对胰岛素的影响:

Orexin-A增强胰岛素诱导的肌肉葡萄糖摄取和糖原合成。



结论

研究表明，食欲素A及其受体在MH调节骨骼肌中的葡萄糖摄取和糖原合成，通过刺激交感神经和激活肌细胞和非肌细胞中的 β_2 -AR，激活胰岛素信号通路，增加骨骼肌细胞对葡萄糖的利用率。

收获与感悟

- 了解食欲素注射到下丘脑如何诱导骨骼肌细胞对葡萄糖的利用。
- 学习到结果的写作方法。本文结果部分不只是简单的描述实验数据，还简要概述了是怎么做的，为什么这么做，结果表明了什么。



敬请老师同学批评指正

