

DOI:10.19296/j.cnki.1008-2409.2024-02-002

· 专家论坛 ·  
· EXPERT FORUM ·

## 激活转录因子 ATF4 对 2 型糖尿病肠道炎症的影响

陈宋涛<sup>1ab</sup>, 尹凯<sup>2</sup>, 贺庆芝<sup>1ab</sup>, 朱肖<sup>1a</sup>

(1. 桂林医学院 a. 广西糖尿病系统医学重点实验室, b. 智能医学与生物技术学院, 桂林 541199;

2. 南方医科大学附属第五医院全科, 广州 510920)

**专家简介** 朱肖, 女, 1992 年 2 月生, 医学博士, 副研究员, 硕士研究生导师, 广西糖尿病系统医学重点实验室副主任, 中国医药卫生文化协会医工融合分会委员, 教育部学位中心论文评审专家; 长期致力于糖脂代谢紊乱与血管病变的临床与基础研究, 主持国家自然科学基金青年项目 1 项, 广西自然科学基金面上项目、青年项目各 1 项, 广西高校中年教师科研基础能力提升项目 1 项, 湖南省研究生科研创新项目 1 项; 以第一作者/通信作者在 *Trends Endocrinology Metabolism* (Cell 子刊)、*Obesity Review*、*Acta Pharmacologica Sinica*、*Atherosclerosis* 等国际知名杂志发表 SCI 收录论文多篇。



**摘要** **目的** 探究 2 型糖尿病 (T2D) 状态下激活转录因子 4 (ATF4) 的表达变化及对肠道炎症发生发展的影响。**方法** 采用链脲佐菌素 (STZ) 联合高糖高脂饮食构建 T2D 小鼠模型; 蛋白免疫印迹 (WB) 和免疫组化 (IHC) 检测小鼠肠道组织中 ATF4 蛋白的表达水平; 苏木素-伊红 (HE) 染色观察小鼠肠道组织病理变化; 实时荧光定量 (qRT-PCR) 检测小鼠肠道组织炎症因子水平; 用高浓度葡萄糖培养基模拟高糖状态, 处理 Caco-2 细胞, WB 和免疫荧光 (IF) 检测高糖对细胞 ATF4 蛋白表达的影响; 构建 ATF4 过表达质粒转染 Caco-2 细胞, WB 检测 ATF4 蛋白的表达水平; qRT-PCR 检测观察 ATF4 过表达对细胞炎症因子水平的影响。**结果** 与正常小鼠相比, 糖尿病小鼠肠道组织中 ATF4 蛋白显著下调, 肠道组织出现显著病理变化, 如肠壁变薄、杯状细胞稀疏等, 肠道组织炎症因子水平显著升高, 差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 与正常小鼠相比, 高糖处理后, ATF4 蛋白表达显著下调, 细胞中炎症因子水平升高, 过表达 ATF4 可以显著逆转高糖诱导的炎症因子水平升高 ( $P < 0.05$ )。**结论** 高血糖可能通过抑制肠道 ATF4 表达, 促进 T2D 状态下肠道炎症反应。

**关键词**: 2 型糖尿病; 高血糖; 激活转录因子 4; 肠道炎症

中图分类号: R587.1

文献标志码: A

文章编号: 1008-2409(2024)02-0010-08

**基金项目**: 国家自然科学基金项目 (82370463, 82100932, 82060065, 81970390); 广西自然科学基金项目 (2020GXNSFDA297011, 2021GXNSFBA196042)。

**第一作者**: 陈宋涛, 硕士研究生, 研究方向为系统生物学。

**通信作者**: 朱肖, 1365681080@qq.com; 贺庆芝, 578663073@qq.com。

## Effects of activating transcription factor ATF4 on the development of intestinal inflammation in type 2 diabetes mellitus

CHEN Songtao<sup>1ab</sup>, YIN Kai<sup>2</sup>, HE Qingzhi<sup>1ab</sup>, ZHU Xiao<sup>1a</sup>

(1. a. Guangxi Key Laboratory of Diabetes System Medicine, b. College of Intelligent Medicine and Biotechnology, Guilin Medical University, Guilin 541199, China; 2. General Practice, the Fifth Affiliated Hospital of Southern Medical University, Guangzhou 510920, China)

**Abstract Objective** To explore the expression changes of activated transcription factor 4 (ATF4) and its effect on the occurrence and development of intestinal inflammation in type 2 diabetes (T2D), state. **Methods** Streptozotocin (STZ) combined with high-fat diet was used to construct a mouse model of T2D. The protein expression level of ATF4 in intestinal tissues of mice was detected by Western Blot (WB) and immunohistochemistry (IHC). The pathological change of intestinal tissue was observed by hematoxylin-eosin (HE) staining. Real-time quantitative PCR (qRT-PCR) was used to detect the levels of inflammatory factors in the intestinal tissues of mice. Caco-2 cells were treated with high-concentration glucose medium to simulate the hyperglycemic state, and the protein expression level of ATF4 in the cells was detected by WB and immunofluorescence (IF). Caco-2 cells were transfected with ATF4 overexpression plasmid, and the protein expression level of ATF4 was detected by WB. The level of inflammatory was detected by qRT-PCR. **Results** Compared with normal mice, ATF4 protein expression in intestinal tissues of diabetic mice was significantly down-regulated, and the intestinal tissue showed significant pathologic changes, such as thinning of intestinal wall and sparse goblet cells. The levels of inflammatory factors in intestinal tissues of diabetic mice were significantly increased compared with those in normal mice, the difference is statistically significant ( $P < 0.05$ ). Compared with normal group, the protein expression of ATF4 in Caco-2 cells was significantly down-regulated after high glucose treatment ( $P < 0.05$ ). The levels of inflammatory factors in Caco-2 cells were significantly increased compared with those in normal group. Overexpression of ATF4 reversed the expression levels of inflammatory factors in cells induced by high glucose environment ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** Hyperglycemia may promote intestinal inflammatory response in T2D by inhibiting the expression of intestinal ATF4.

**Keywords:** type 2 diabetes; hyperglycemia; activated transcription factor 4; intestinal inflammation

流行病学调查<sup>[1-2]</sup>结果显示,中国糖尿病患者达 1.164 亿人,居世界第一位,而其中 90% 患有 2 型糖尿病 (type 2 diabetes, T2D), 严重威胁人们的生命健康。T2D 是由胰岛素抵抗和  $\beta$  细胞功能受损引起,以高血糖为特征的代谢性疾病,长期高血糖可引起心、脑、肾等人体重要脏器血管的广泛损伤,同时也会促进肠道炎症的发生发展<sup>[3]</sup>。肠道是人体最大的免疫器官,主要参与机体消化、吸收、免疫稳态、内分泌调节等多种生理功能,肠上皮稳态破坏可诱发炎症反应,介导外周胰岛素抵抗与肠促胰岛素反应迟钝一起加重 T2D 进展<sup>[4]</sup>。因此,肠道稳态与 T2D 的发生发展密切相关<sup>[5]</sup>,维护肠道稳态可为 T2D 及相

关并发症的防治提供有效靶点<sup>[6]</sup>。

ATF4 是一种亮氨酸拉链转录因子,在许多组织中表达,包括肠道组织。ATF4 参与包括炎症反应、脂质代谢、内质网应激和能量稳态等生理过程的调节<sup>[7-8]</sup>,其表达失调可诱发多种疾病。相关研究<sup>[9]</sup>结果表明,活动性克罗恩病或溃疡性结肠炎患者的发炎肠黏膜中的 ATF4 水平降低,提示 ATF4 可能在肠道炎症反应中发挥作用,但 ATF4 是否参与 T2D 患者的肠道炎症目前尚不明确。因此,本研究拟观察 T2D 介导的高糖环境是否会通过影响肠道 ATF4 表达引发肠道炎症进而加重 T2D 进展。

## 1 材料与方法

### 1.1 细胞

人结直肠腺癌 Caco-2 细胞株<sup>[10-11]</sup>为桂林医学院糖尿病重点实验室传代保存。

### 1.2 动物

健康 C57BL/6J 小鼠购于长沙市天勤生物技术有限公司,动物生产合格证号为 SCXK(湘)2022-0011,体质量(20±2)g,全雄。所有小鼠适应性喂养1周后开始实验,喂养条件为温度(20±3)℃,相对湿度45%~50%,明暗交替环境12h。本试验获得桂林医学院动物实验伦理委员会审核批准(批准编号:GLMC202105049)。

### 1.3 主要试剂

高糖 DMEM 培养基购于美国 Gibco 公司,青霉素-链霉素购于北京 Solarbio 生物科技公司,PBS 粉末购于中国雷根生物公司,胎牛血清(FBS)购于美国 Gemini 公司,高效 RIPA 组织/细胞裂解液、PMSF 购于中国 Solarbio 生物科技公司,蛋白上样缓冲液 5× 购于上海 Beyotime Biotechnology 公司,30% 丙烯酰胺-亚甲基双丙烯酰胺(Acr-Bis)(29:1)、1 mol/L Tris-HCl pH=8.8、1 mol/L Tris-HCl pH=6.8、四甲基二乙胺(TEMED)、过硫酸铵(APS)购于北京 Solarbio 科技公司,彩色蛋白预染分子量 Marker、ATF4 兔源性多克隆抗体购于英国 ABclonal 公司,GAPDH 鼠源性抗体购于北京中杉金桥生物技术有限公司,Cy3 标记的羊抗兔荧光二抗、488 标记的羊抗鼠荧光二抗购于美国 Proteintech 公司,DAPI 荧光染料购于北京 Solarbio 科技公司,PVDF 膜购于德国 Merck Millipore 公司,黏附载玻片购于江苏世泰实验器材公司,TRIzol 购于美国 Invitrogen 公司,MonScript™ RTIII All-in-One Mix with dsDNase、MonAmp™ SYBR® Green qRT-PCR Mix 购于莫纳生物科技公司,逆转录试剂盒(ReverAid™ First Strand cDNA Synthesis Kit,#k1622)购于加拿大 MBI Fermentas 公司,PCR 引物购于生工生物工程(上海)股份公司,ATF4 过表达质粒载体购于上海吉凯基因化学技术公司。

### 1.4 仪器

荧光显微镜购于美国 BioTeK 公司,冷冻离心机、超高速离心机、多用途高效离心机、Applied Biosystems 实时荧光定量购于美国 ThermoFisher 公

司,凝胶成像系统、电泳仪及电源、湿转膜系统购于美国伯乐公司,倒置生物显微镜购于日本 Olympus Corporation 公司。

### 1.5 方法

1.5.1 细胞实验 采用 DMEM 液体培养基添加 10% 优质胎牛血清、双抗(penicillin/streptomycin)等培养 Caco-2 细胞。在 37℃,5% CO<sub>2</sub>条件下传至 3~5 代用于实验。当细胞融合度约为 80%时,将培养基更换为无血清培养基,培养 24 h,用于后续实验。细胞分别用含 5 mmol/L 葡萄糖(正常组)、30 mmol/L 葡萄糖(高糖组)的 DMEM 培养基处理 48 h<sup>[12]</sup>。ATF4 空载体及过表达质粒转染细胞后,将分组设为高糖组(30 mmol/L)、ATF4 空载体+高糖组(30 mmol/L)、Ov-ATF4+高糖组(30 mmol/L),每组处理 48 h。

1.5.2 动物分组与处理 将 12 只 C57BL/6J 小鼠随机分为正常组、T2D 组,每组 6 只,高糖高脂饲料喂养 1 个月后,连续小剂量(1%)链脲霉素(STZ)腹腔注射 5 d,继续高糖高脂饲料喂养 2 周,禁食 18 h 后,取鼠尾静脉血,测血糖浓度大于 16.7 mmol/L 则糖尿病建模成功<sup>[13]</sup>。随后,分别取两组小鼠相同部位的肠道组织,将部分肠道组织固定于 4%多聚甲醛中用于冰冻切片,其余肠道组织用锡箔纸包裹,迅速浸入液氮中,3 h 后转移至-80℃保存,用于后续实验。

1.5.3 蛋白免疫印迹法(Western blot, WB)检测 提取细胞蛋白,添加适量含 1%蛋白酶抑制剂的 RIPA 裂解液置于生物样品均质仪中进行匀浆,提取上清液;称取两组小鼠相同部位肠道组织 60 mg,添加适量含 1%蛋白酶抑制剂的 RIPA 裂解液置于生物样品均质仪中进行匀浆,提取上清液。严格按照 BCA 蛋白浓度测定试剂盒说明书操作,测定上清液蛋白浓度,加入蛋白上样缓冲液并高温变性蛋白质后,将蛋白样本在 10% SDS-PAGE 中电泳分离,冰浴 300 mA 转膜 3 h,5%脱脂奶粉中轻摇封闭 2 h,TBST 清洗 3 次共 30 min,添加一抗:ATF4(1:1 000),4℃孵育过夜。次日,TBST 清洗后,二抗(1:5 000)常温孵育 2 h,TBST 清洗后用全自动化学发光图像分析系统显影,Image Lab 软件分析条带灰度值,计算蛋白质表达量。

1.5.4 细胞免疫荧光检测 ATF4 含量 细胞在 4%

多聚甲醛中固定 15 min 后,用 2 mL 0.2%~0.5% triton X-100 (PBS 配制)对细胞进行透化处理 15 min,5% BSA 封闭 15 min,PBS 溶液清洗组织切片 3 次,每次 5 min,添加一抗 ATF4(1:100),4 °C 孵育过夜,用 PBS 溶液清洗,二抗 cy-3(红色荧光)避光常温孵育 2 h。随后 DAPI 染料孵育 5~10 min,抗荧光淬灭剂封片,在荧光显微镜下观察细胞内 ATF4 表达水平。

1.5.5 实时荧光定量实验(qRT-PCR)检测细胞和肠道组织 TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-1 $\beta$  含量 用 TRIzol 试剂从细胞和肠道组织中提取总 RNA。使用 GenStar 试剂盒(HiScript RT Super Mix)将 RNA 反转录成 cDNA,然后用 GenStar 试剂(Ace Q-PCR SYBR Green Master Mix)与反转录成的 cDNA 在 qRT-PCR 仪器中检测 IL-1 $\beta$ 、IL-6 和 TNF- $\alpha$  等 mRNA 的表达,其中 GAPDH 为内参,采用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  法计算 mRNA 相对表达量。引物由生工生物工程(上海)股份有限公司合成,Primer sequences 引物序列(5'→3'):鼠 TNF- $\alpha$  F: CCGACTCTGACCCCCATTAC R: CCCAGAGCCA-CAATTCCTT; IL-1 $\beta$  F: CAGGATGAGGACCAAG-CAC R: GTCGTCATCATCCCACGAGT; IL-6: TGCCT-TCTTGGGACTGATGT R: TGGTCTGTTGTGGGTGG-TATC; GAPDH F: AGTGCCAGCCTCGTCTCATA R: AGAGAAGGCAGCCCTGGTAA; 人 TNF- $\alpha$ F: GTGAG-GAGGACGAACATC R: GAGCCAGAAGAGGTTGAG; IL-6 F: TTCGCTCCAGTTGCCTTCT R: GGTGAGTG-GCTGTCTGTGTG; IL-1 $\beta$  F: TTACAGTGGCAATGAG-GATGAC R:GTGCTGCTCGGAGATTCGTA。

1.5.6 小鼠肠道病理学检测 4%多聚甲醛固定小鼠肠道组织,脱水,冰冻包埋剂包埋,切片、烤片后,PBS 脱包埋剂,苏木素-伊红(HE)染色后,在显微镜下观察组织病理情况。

1.5.7 小鼠肠道免疫组织化学检测肠组织 ATF4 含量 4%多聚甲醛固定小鼠肠道组织,脱水,冰冻包埋剂包埋,切片、烤片后,PBS 脱包埋剂,按组化试剂盒操作步骤进行,在明场显微镜下观察组织内蛋白含量情况。

## 1.6 统计学方法

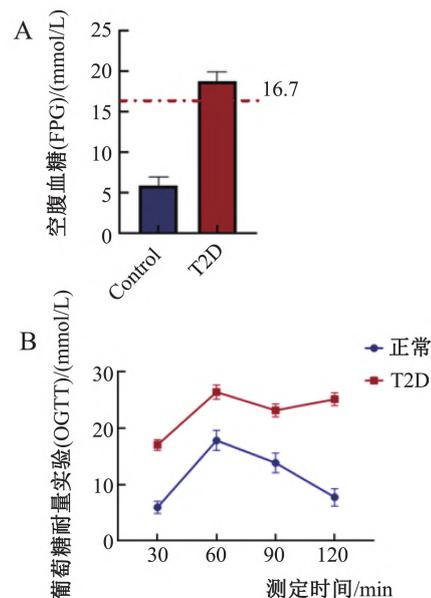
采用 Prism 6.0 软件,计量资料以  $\bar{x}\pm s$  表示,采用 *t* 检验;组间比较用单因素方差分析和 LSD 法分析。

$P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 构建 C57 小鼠 T2D 模型

使用高糖高脂饲料喂养小鼠 1 个月后,连续腹腔注射 1%浓度 STZ 5 d,继续高糖高脂喂养 2 周,构建 T2D 小鼠模型<sup>[14]</sup>。将 T2D 组和对照组小鼠禁食 18 h,尾静脉取血,血糖检测结果显示, T2D 组小鼠血糖浓度均  $\geq 16.7$  mmol/L,明显高于对照组,差异有统计学意义( $P<0.05$ ) (图 1A)。随后,通过 D-葡萄糖溶液(2 g/kg)灌胃进行口服葡萄糖耐量(OGTT)实验,分别测定 30、60、90、120 min 的血糖值<sup>[15]</sup>,结果显示, T2D 组小鼠存在葡萄糖代谢异常情况,且血糖值明显高于对照组,差异有统计学意义( $P<0.05$ ) (图 1B)。以上数据显示, T2D 小鼠模型构建成功。



注:A.禁食 18 h 后,取鼠尾血测量空腹血糖值;B. D-葡萄糖溶液灌胃(2 g/kg)进行口服葡萄糖耐量(OGTT)实验,分别测定 30、60、90、120 min 的血糖值(2 型糖尿病小鼠构建标准为空腹血糖水平高于 16.7 mmol/L)。

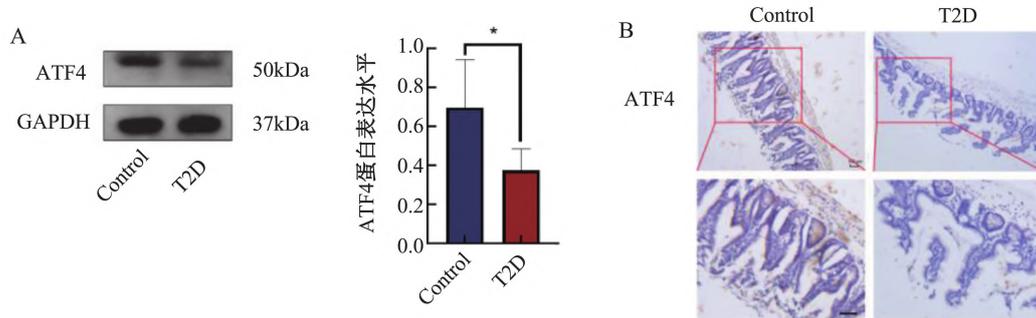
图 1 构建小鼠(C57)T2D 模型( $n=6$ )

### 2.2 T2D 小鼠肠道的 ATF4 蛋白表达降低

动物实验 WB 结果显示,与对照组相比, T2D 小鼠肠道组织中 ATF4 蛋白表达明显降低,差异有统计学意义( $P<0.05$ ) (图 2A)。随后对小鼠肠道组织的冰冻切片进行免疫组织化学染色,结果显示, T2D 小

鼠肠道组织中 ATF4 阳性区域明显减少,表明 ATF4 蛋白表达降低,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ) (图 2B)。以上结果说明,T2D 状态下小鼠肠道组织的

ATF4 蛋白呈现低表达趋势,与正常组相比,差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。



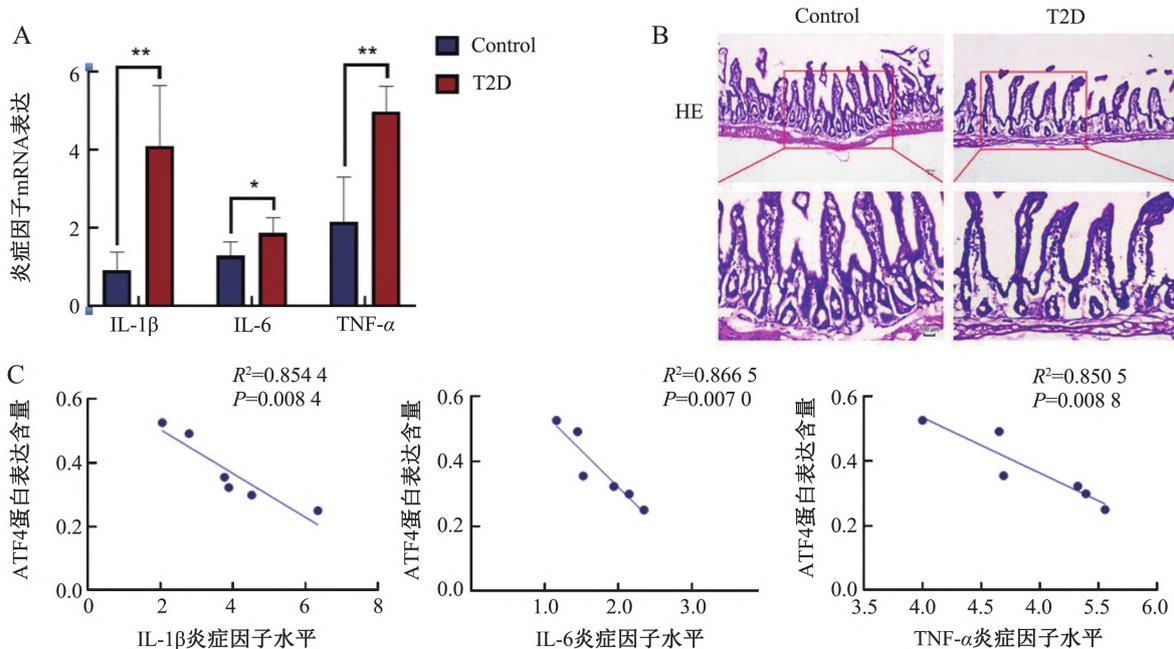
注:A.蛋白印迹法(WB)检测 ATF4 的蛋白表达以及灰度值量化;B.免疫组织切片化学染色检测 ATF4 的蛋白表达。与正常组比较,\*  $P < 0.05$ 。

图 2 T2D 小鼠肠道组织 ATF4 蛋白表达含量 ( $n = 6$ )

### 2.3 T2D 小鼠出现炎症水平升高、形态变化与 ATF4 相关

使用 qRT-PCR 检测肠道组织内炎症因子水平,结果显示,与对照组比较,T2D 小鼠肠道组织炎症因子 IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$  水平显著升高,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ) (图 3A)。同时,HE 染色显示,与正

常小鼠肠道相比,T2D 小鼠肠道出现肠壁变薄、杯状细胞稀疏等病理学变化(图 3B)<sup>[16]</sup>。进一步相关性分析结果表明,T2D 状态下小鼠肠道中的 ATF4 表达与炎症因子 IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$  的表达水平呈现负相关(图 3C),提示 T2D 肠道炎症因子水平升高可能由 ATF4 降低引起。



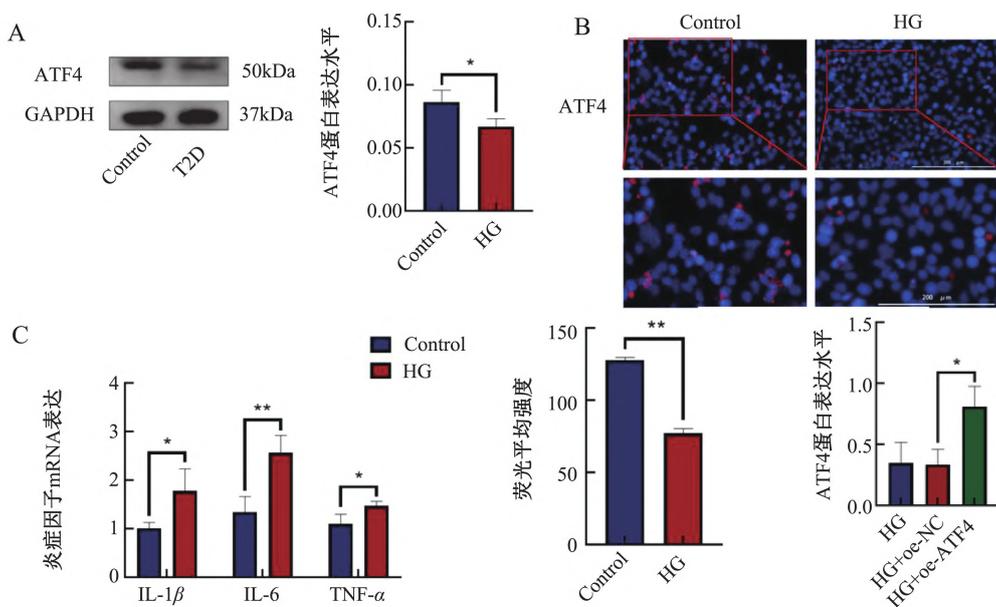
注:A.实时荧光定量检测肠道组织中炎症因子 IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$  的表达水平;B.小鼠肠道组织切片 HE 染色观察肠道组织形态学变化;C.ATF4 表达水平与炎症因子水平相关性分析。与正常组比较,\*  $P < 0.05$ ,\*\*  $P < 0.01$ 。

图 3 T2D 小鼠肠道组织形态学变化及炎症因子表达 ( $n = 6$ )

## 2.4 高糖条件下 Caco-2 细胞 ATF4 蛋白表达降低、炎症水平升高

在体外实验中,用 30 mmol/L 的高糖培养基处理肠上皮 Caco-2 细胞 48 h。WB 数据显示,与正常组比较,高糖组中肠上皮 Caco-2 细胞的 ATF4 蛋白表达显著下调(图 4A)。免疫荧光结果显示,高糖处

理后 ATF4 荧光区域减少、荧光强度减弱(图 4B),同样验证了高糖组中 ATF4 蛋白表达减少,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。同时,qRT-PCR 结果显示,高糖诱导后,肠上皮 Caco-2 细胞中炎症因子 IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$  水平升高,差异有统计学意义( $P<0.05$ )(图 4C)<sup>[17-18]</sup>,以上结果均与体内实验结果相印证。

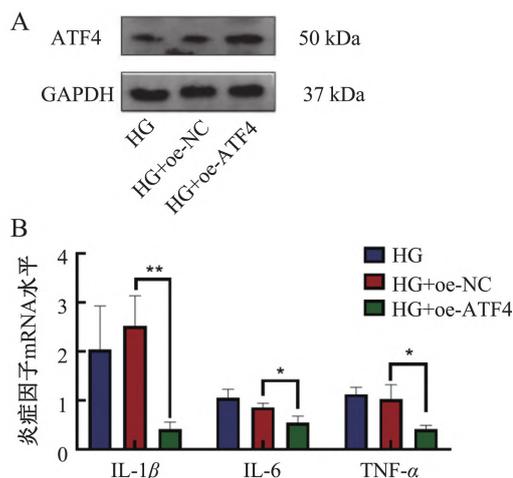


注:A.蛋白印迹法检测 ATF4 的蛋白表达以及灰度值量化;B.细胞免疫荧光染色检测 ATF4 的蛋白表达及量化;C.qRT-PCR 检测细胞中炎症因子 IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$  的表达水平。与正常组比较,\* $P<0.05$ ,\*\* $P<0.01$ 。

图 4 高糖诱导条件下 Caco-2 细胞 ATF4 蛋白表达和炎症因子表达水平( $n=3$ )

## 2.5 过表达 ATF4 缓解高糖诱导的细胞炎症

为明确肠道 Caco-2 细胞在高糖条件下是否通过抑制 ATF4 表达促进炎症因子释放,利用质粒转染构建 ATF4 过表达的细胞模型。在 30 mmol/L 高糖诱导 48 h 后,分析过表达 ATF4 处理后的蛋白表达情况(图 5A),明确细胞 ATF4 过表达模型构建成功,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。qRT-PCR 实验结果显示,过表达 ATF4 后可以显著降低高糖诱导后的细胞炎症因子 IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$  表达水平,差异有统计学意义( $P<0.05$ )(图 5B)。以上结果说明,过表达 ATF4 可以缓解高糖诱导的肠道细胞炎症。



注:A.蛋白印迹法检测 ATF4 的蛋白表达以及灰度值量化;B.实时荧光定量检测细胞中炎症因子 IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$  的表达水平。与正常组比较,\* $P<0.05$ ,\*\* $P<0.01$ 。

图 5 过表达 ATF4 缓解高糖诱导下炎症因子表达水平( $n=3$ )

### 3 讨论

肠道是一个非常复杂的生物系统,被认为是人体中最大的免疫器官,因为它拥有人体约 80% 的免疫细胞<sup>[19]</sup>。肠道的主要功能不仅限于营养物质的消化和吸收以及电解质和水的稳态,其另一个极其重要的功能是通过屏障机制调节环境和宿主之间大分子的转运<sup>[20]</sup>。肠上皮细胞不仅塑造肠道内的微生物群落,还通过微生物群落产生各种抗菌肽<sup>[21]</sup>。前沿研究<sup>[22-23]</sup>理论指出,糖尿病的发生发展可能是由肠道稳态被破坏所导致,而糖尿病被证实与涉及控制黏膜屏障状态、血糖水平、发挥促炎或抗炎活性的基因富集或减少密切相关。目前,关于肠道菌群与 T2D 等代谢性疾病的关系被广泛研究与证实<sup>[6]</sup>,肠道稳态的破坏可能是 T2D 发生发展的重要环节。本研究结果表明,T2D 小鼠肠道炎症水平升高,肠道切片出现肠壁变薄、杯状细胞稀疏等病理形态学变化。Caco-2 细胞模型是一种人克隆结肠腺癌细胞,结构和功能类似于分化的小肠上皮细胞,具有微绒毛等结构,并含有与小肠刷状缘上皮相关的酶系,可以用来进行模拟体内肠道炎症、肠道功能和肠转运等实验<sup>[11]</sup>,因此,本研究选取 Caco-2 细胞作为研究对象,体外研究发现在高糖培养基培养下的 Caco2 细胞炎症因子释放增加。

激活转录因子 4 是基本的亮氨酸拉链之一,而且是在全身多种组织中表达的转录因子。它可以参与体内许多生理过程的调节,包括炎症反应,氨基酸和脂质代谢,内质网应激,和能量稳态等<sup>[9]</sup>。因此,ATF4 表达异常可诱发多种疾病。在炎症反应中,ATF4 可通过激活蛋白激酶 R (PKR) 样内质网激酶 (PERK) 进而磷酸化并激活 NRF2<sup>[24]</sup>,然后通过活化核因子- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) 或直接激活 IL6 启动子将细胞代谢应激与炎症因子产生联系起来<sup>[25]</sup>。ATF4 缺乏可以促进肠道炎症<sup>[9]</sup>,但 T2D 状态下 ATF4 与肠道炎症的关系尚不清楚。本研究发现,T2D 小鼠肠道 ATF4 表达降低,高糖培养基培养下的 Caco2 细胞 ATF4 表达减少。过表达 ATF4 可以逆转高糖所导致的肠道细胞炎症因子水平升高。

低度炎症是 T2D 患者的重要特征,炎症会导致循环细胞因子浓度升高。炎性细胞因子由不同类型

的细胞产生并分泌到循环系统中,通过局部、中枢和外周的作用影响不同的组织<sup>[26]</sup>,进而导致 T2D 及其并发症进一步恶化。

### 4 结论

本研究结果表明,高糖环境可能通过减少 ATF4 的表达促进肠道炎症,过表达 ATF4 可以显著减少炎症因子的产生,但其更深层次的调控机制仍需深入探讨。糖尿病状态下,肠道炎症所扮演的角色也需要进一步的研究。本研究发现,高糖环境下 ATF4 对肠道炎症水平产生影响,这为通过调控肠道功能控制糖尿病发生发展的探究提供了新思路。

### 参考文献

- [1] ALI M K, PEARSON-STUTTARD J, SELVIN E, et al. Interpreting global trends in type 2 diabetes complications and mortality[J]. *Diabetologia*,2022,65(1):3-13.
- [2] SUN H, SAEEDI P, KARURANGA S, et al. IDF Diabetes Atlas: global, regional and country-level diabetes prevalence estimates for 2021 and projections for 2045[J]. *Diabetes Res Clin Pract*,2022,183:109119.
- [3] THAISS C A, LEVY M, GROSHEVA I, et al. Hyperglycemia drives intestinal barrier dysfunction and risk for enteric infection[J]. *Science*,2018,359(6382):1376-1383.
- [4] RAY K. Intestinal tract: a breach in the intestinal barrier during hyperglycaemia[J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2018,15(5):255.
- [5] 汪丽娟,朱晓波.肠道慢性炎症与 2 型糖尿病[J].*生理学进展*,2018,49(6):443-447.
- [6] GUO Z N, PAN J J, ZHU H Y, et al. Metabolites of gut microbiota and possible implication in development of diabetes mellitus[J]. *J Agric Food Chem*,2022,70(20):5945-5960.
- [7] WEN Z L, XIONG X, CHEN D C, et al. Activating transcription factor 4 protects mice against sepsis-induced intestinal injury by regulating gut-resident macrophages differentiation[J]. *Chin Med J*,2022,135(21):2585-2595.
- [8] GUO S J, HUANG W W, CAO Q Q, et al. (Epi) catechin damage effects on the development of mouse intestinal epithelial structure through the PERK-eIF2 $\alpha$ -ATF4-CHOP pathway[J]. *Food Funct*,2023,14(14):6665-6677.

- [9] HU X M, DENG J L, YU T M, et al. ATF4 deficiency promotes intestinal inflammation in mice by reducing uptake of glutamine and expression of antimicrobial peptides[J]. *Gastroenterology*, 2019, 156(4): 1098–1111.
- [10] LAN H, ZHANG L Y, HE W, et al. Sinapic acid alleviated inflammation-induced intestinal epithelial barrier dysfunction in lipopolysaccharide-(LPS-) treated caco-2 cells[J]. *Mediators Inflamm*, 2021, 2021: 5514075.
- [11] PONCE DE LEÓN-RODRÍGUEZ M D C, GUYOT J P, LAURENT-BABOT C. Intestinal *in vitro* cell culture models and their potential to study the effect of food components on intestinal inflammation[J]. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2019, 59(22): 3648–3666.
- [12] SU H M, MO J L, NI J D, et al. Andrographolide exerts antihyperglycemic effect through strengthening intestinal barrier function and increasing microbial composition of *Akkermansia muciniphila*[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2020, 2020: 6538930.
- [13] 许芳芳, 王楠, 李刚强, 等. 2 型糖尿病小鼠模型的建立与评价[J]. *中国医学科学院学报*, 2017, 39(3): 324–329.
- [14] GU H Y, JIANG W, YOU N, et al. Soluble klotho improves hepatic glucose and lipid homeostasis in type 2 diabetes[J]. *Mol Ther Methods Clin Dev*, 2020, 18: 811–823.
- [15] WANG R R, QIU X Y, PAN R, et al. Dietary intervention preserves  $\beta$  cell function in mice through CTCF-mediated transcriptional reprogramming [J]. *J Exp Med*, 2022, 219(7): e20211779.
- [16] LI X, GUI R, WANG X F, et al. Oligosaccharides isolated from *Rehmannia glutinosa* protect LPS-induced intestinal inflammation and barrier injury in mice[J]. *Front Nutr*, 2023, 10: 1139006.
- [17] JIANG T T, GAO X J, WU C, et al. Apple-derived pectin modulates gut microbiota, improves gut barrier function, and attenuates metabolic endotoxemia in rats with diet-induced obesity[J]. *Nutrients*, 2016, 8(3): 126.
- [18] ZENG Z, GUO X X, ZHANG J L, et al. *Lactobacillus paracasei* modulates the gut microbiota and improves inflammation in type 2 diabetic rats [J]. *Food Funct*, 2021, 12(15): 6809–6820.
- [19] MUCIDA D, ESTERHAZY D. SnapShot: gut immune niches[J]. *Cell*, 2018, 174(6): 1600–1600.
- [20] FU Q H, SONG T Y, MA X Q, et al. Research progress on the relationship between intestinal microecology and intestinal bowel disease[J]. *Animal Model Exp Med*, 2022, 5(4): 297–310.
- [21] IYER K, ERKERT L, BECKER C. Know your neighbors: microbial recognition at the intestinal barrier and its implications for gut homeostasis and inflammatory bowel disease[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2023, 11: 1228283.
- [22] HOWARD E J, LAM T K T, DUCA F A. The gut microbiome: connecting diet, glucose homeostasis, and disease[J]. *Annu Rev Med*, 2022, 73: 469–481.
- [23] CIANCI R, FRANZA L, MASSARO M G, et al. The crosstalk between gut microbiota, intestinal immunological niche and visceral adipose tissue as a new model for the pathogenesis of metabolic and inflammatory diseases: the paradigm of type 2 diabetes mellitus[J]. *Curr Med Chem*, 2022, 29(18): 3189–3201.
- [24] SARCINELLI C, DRAGIC H, PIECYK M, et al. ATF4-dependent *NRF2* transcriptional regulation promotes antioxidant protection during endoplasmic reticulum stress [J]. *Cancers*, 2020, 12(3): 569.
- [25] IWASAKI Y, SUGANAMI T, HACHIYA R, et al. Activating transcription factor 4 links metabolic stress to interleukin-6 expression in macrophages [J]. *Diabetes*, 2014, 63(1): 152–161.
- [26] YAN L T, HE X X, TANG Y H, et al. HGF can reduce accumulation of inflammation and regulate glucose homeostasis in T2D mice[J]. *J Physiol Biochem*, 2021, 77(4): 613–624.

[收稿日期: 2023-11-02]

[责任编辑: 桂根浩 英文编辑: 周寿红]