

# 维生素 D 通过调控磷脂酰肌醇 3 激酶信号通路对妊娠糖尿病小鼠糖脂代谢的影响及机制研究<sup>△</sup>

崔丽娟\*, 薛洁, 彭志美(邯郸市第一医院产科, 河北邯郸 056000)

中图分类号 R977.2<sup>+</sup>4 文献标志码 A 文章编号 1672-2124(2022)07-0842-06

DOI 10.14009/j.issn.1672-2124.2022.07.018

**摘要** 目的:探讨维生素 D 通过调控磷脂酰肌醇 3 激酶(PI3K)信号通路对妊娠糖尿病(GDM)小鼠糖脂代谢的影响及机制。方法:筛选 75 只妊娠期昆明小鼠,随机分为对照组(灌胃花生油)、GDM 组(灌胃花生油)、维生素 D 低剂量组(灌胃 0.05 μg/kg 维生素 D)、维生素 D 高剂量组(灌胃 0.20 μg/kg 维生素 D)和激动剂组(灌胃 0.20 μg/kg 维生素 D+腹腔注射 2 mg/kg 茴香霉素),每组 15 只。除对照组外,其余组小鼠均腹腔注射 50 mg/kg 链脲佐菌素建立 GDM,从妊娠第 8 日干预至妊娠第 19 日。检测五组小鼠的总胆固醇(TC)、三酰甘油(TG)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、空腹胰岛素(FINS)、血清糖化血红蛋白(HbA<sub>1c</sub>)和空腹血糖(FBG)水平,观察肝组织病理变化,采用实时荧光定量聚合酶链反应检测肝组织中 PI3K、葡萄糖转运蛋白 4(GLUT-4)、蛋白激酶 B(AKT)mRNA 相对表达量,采用蛋白质印迹法检测肝组织中 PI3K、AKT、磷酸化 AKT(p-AKT)和 GLUT-4 蛋白相对表达量。结果:与 GDM 组比较,维生素 D 低剂量组、维生素 D 高剂量组及激动剂组小鼠的 FBG、HbA<sub>1c</sub>、FINS、TC、TG 和 LDL-C 水平均降低;维生素 D 高剂量组小鼠上述指标水平明显低于维生素 D 低剂量组和激动剂组,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。病理结果显示,GDM 组小鼠肝细胞脂肪明显变性,肝细胞排列杂乱,维生素 D 低剂量组、维生素 D 高剂量组和激动剂组小鼠肝细胞脂肪变性明显减轻,其中维生素 D 高剂量组小鼠肝细胞恢复最好。与 GDM 组比较,维生素 D 低剂量组、维生素 D 高剂量组及激动剂组小鼠肝组织中 PI3K、GLUT-4 mRNA 和蛋白相对表达量均升高,p-AKT 蛋白相对表达量升高,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ );维生素 D 高剂量组小鼠肝组织中 PI3K、GLUT-4 mRNA 和蛋白相对表达量,p-AKT 蛋白相对表达量均高于维生素 D 低剂量组、激动剂组,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。结论:维生素 D 可以显著改善 GDM 糖脂代谢,减轻肝组织损伤,其调控机制可能与 PI3K 通路有关。**关键词** 妊娠糖尿病;维生素 D;磷酸肌醇 3 激酶

## Effects and Mechanism of Vitamin D on Glucose and Lipid Metabolism by Regulating Phosphoinositide 3-Kinase Signaling Pathway in Mice with Gestational Diabetes Mellitus<sup>△</sup>

CUI Lijuan, XUE Jie, PENG Zhimei (Dept. of Obstetrics, Handan First Hospital, Hebei Handan 056000, China)

**ABSTRACT** **OBJECTIVE:** To probe into the effects and mechanism of vitamin D on glucose and lipid metabolism by regulating phosphoinositide 3-kinase (PI3K) signaling pathway in mice with gestational diabetes mellitus (GDM). **METHODS:** Seventy-five pregnant Kunming mice were screened and randomly divided into the control group (gavage of peanut oil), GDM group (gavage of peanut oil), low-dose vitamin D group (gavage of 0.05 μg/kg vitamin D), and high-dose vitamin D group (gavage of 0.20 μg/kg vitamin D), and agonist group (gavage of 0.20 μg/kg vitamin D+ intraperitoneal injection of 2 mg/kg anisomycin), with 15 rats in each group. Except for the control group, mice in other groups were intraperitoneally injected with 50 mg/kg streptozotocin to establish GDM from the 8th d of gestation to the 19th d of gestation. The total cholesterol (TC), triacylglycerol (TG), low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C), fasting insulin (FINS), glycosylated hemoglobin (HbA<sub>1c</sub>), fasting blood glucose (FBG) levels of 5 groups of rats were detected. The pathological changes of liver tissues were observed. The relative mRNA expressions of PI3K, glucose transporter 4 (GLUT-4) and protein kinase B (AKT) in liver tissues were detected by real-time quantitative PCR. The relative expressions of PI3K, AKT, phosphorylated AKT (p-AKT) and GLUT-4 in liver tissues were detected by Western blot. **RESULTS:** Compared with the GDM group, the levels of FBG, HbA<sub>1c</sub>, FINS, TC, TG and LDL-C decreased in the low-dose vitamin D group, high-dose vitamin D group and agonist group, and the above indicators in high-dose vitamin D group were lower than those in low-dose vitamin D group and agonist group, with statistically significant difference ( $P < 0.05$ ). The pathological results showed that the hepatocytes in GDM group had obvious steatosis and disordered arrangement. The steatosis of hepatocytes in low-dose vitamin D group, high-dose vitamin D group and agonist group decreased significantly, among which the liver cells of high-dose vitamin D group had the best recovery. Compared with the GDM group, the mRNA and protein relative expressions of PI3K and GLUT-4 increased, the protein relative expressions of p-AKT increased in the low-dose vitamin D group, high-dose vitamin D group and

△ 基金项目:2019 年度河北省医学科学研究课题(No. 20191806)

\* 主治医师。研究方向:妇产科学。E-mail:cuilijuan0310@163.com

agonist group, with statistically significant difference ( $P < 0.05$ ). The mRNA and protein relative expressions of PI3K and GLUT-4, and the protein relative expressions of p-AKT of mice in the high-dose vitamin D group were higher than those in the low-dose vitamin D group and agonist group, with statistically significant difference ( $P < 0.05$ ). CONCLUSIONS: Vitamin D can significantly improve glucose and lipid metabolism of GDM and reduce liver tissue damage, its regulatory mechanism may be related to the PI3K pathway.

**KEYWORDS** Gestational diabetes mellitus; Vitamin D; Phosphatidylinositol 3-kinase

妊娠糖尿病 (gestational diabetes mellitus, GDM) 是妊娠期间由胰岛素分泌紊乱或胰岛素功能障碍引起的,为妊娠期常见并发症<sup>[1]</sup>。据报道,我国 2013 年 GDM 的发病率在 5%~10%<sup>[2]</sup>。随着社会经济的发展及生活水平的提高,GDM 发病率逐年升高,增加了妊娠及生产风险,给母婴健康造成严重危害,及时干预治疗对于母体及胎儿具有重要意义。维生素 D 属于类固醇激素,一般由皮肤中的 7-脱氢胆固醇经紫外线照射合成,病理性缺乏时则通过药物补给<sup>[3]</sup>。维生素 D 可以保护胰岛  $\beta$  细胞,促进肝糖原合成;维生素 D 缺乏会导致糖代谢异常,引起血糖水平升高,增加糖尿病发生风险<sup>[4-5]</sup>。但维生素 D 在体内的作用机制尚不明确。研究表明,磷脂酰肌醇 3 激酶 (PI3K) 信号通路为胰岛素转录的重要途径,其信号分子的异常可能参与 GDM 的发生和发展<sup>[6]</sup>。本研究通过于妊娠期小鼠腹腔注射链脲佐菌素 (STZ) 构建小鼠 GDM 模型,观察维生素 D 对 GDM 小鼠糖脂代谢的作用,并通过 PI3K 信号通路阐述维生素 D 调节糖脂代谢的作用机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 实验动物:SPF 级雌性昆明小鼠 80 只,雄性昆明小鼠 40 只,体质量 18~20 g,购自杭州子源实验动物科技有限公司,许可证号为 SCXK(浙)2019-0004。所有小鼠适应性喂养 1 周,湿度为 (50±5)% ,温度为 (22±3)℃ ,自由饮食进水。测定小鼠空腹 12 h 血糖,均 ≤6.1 mmol/L。

1.1.2 仪器:CM1520 型冷冻切片机、DM500 型显微镜 (日本 Leica 公司);TRUE MTRIX 型血糖仪 (湖南三诺生物传感股份有限公司);D10 型糖化血红蛋白检测仪 (美国 Bio-Rad 公司);iMark 型酶标仪 (美国 Bio-Rad 公司);Nanodrop2000 型超微量紫外分光光度计 (美国 Thermo 公司);ABI7500 型荧光定量 PCR 仪 (美国 ABI 公司);ChemiDoc XRS<sup>+</sup> 型化学发光成像仪 (美国 Bio-Rad 公司);HE-120 型水平电泳、VE-180 型垂直电泳 (上海天能科技有限公司)。

1.1.3 药品与试剂:维生素 D 滴剂 [国药控股星鲨制药 (厦门) 有限公司,批准文号为国药准字 H35021450,批号为 12923002,规格为 400 IU/粒 (国际标准:1 IU 维生素 D=0.025  $\mu$ g 维生素 D<sub>3</sub>)] ;柠檬酸钠、STZ (美国 Sigma 公司,货号为 S0130);激动剂 (茴香霉素,德国 Merck 公司,货号为 A5862,规格为 10 mg/支);三酰甘油 (TG)、低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C) 及总胆固醇 (TC) 试剂盒 (南京建成生物工程研究所,货号为 A110-1-1、A113-1-1 及 A111-1-1);空腹胰岛素 (FINS) 试剂盒 (上海研吉生物科技有限公司,货号为 BS-E7687H1);苏木精-伊红染色 (HE 染色) 试剂盒 (北京索莱宝科技有限公司,货号为 G1120);兔抗鼠 PI3K、葡萄糖转运蛋白 4 (GLUT-4)、蛋白激酶 B (AKT) 和小鼠抗大鼠 GAPDH 抗体 (美国 Abcam 公司,货号为 ab283852、ab33780、ab38449 和 ab8245);蛋白 Marker [宝

日医生物技术 (北京) 有限公司];2×SYBR Green 荧光染料 (美国 Roche 公司);反转录试剂盒、二喹啉甲酸 (BCA) 蛋白定量试剂盒和 ECL 显影液 (美国 Bio-Rad 公司,货号为 12004856、5000114 和 1705062)。

### 1.2 方法

1.2.1 妊娠期小鼠的筛选及分组:雌性与雄性小鼠 2:1 合笼饲养,每日清晨进行雌鼠阴道检查,以阴栓和精子为受孕标记,记为妊娠第 1 日。将 75 只妊娠期昆明小鼠,随机分为五组,即对照组、GDM 组、维生素 D 低剂量组、维生素 D 高剂量组和激动剂组,每组 15 只。

1.2.2 模型制备:确定妊娠后第 1 日,GDM 组、维生素 D 低剂量组、维生素 D 高剂量组和激动剂组小鼠连续 3 d 腹腔注射 50 mg/kg STZ (STZ 溶于 0.1 mol/L 柠檬酸缓冲液,配制 STZ 原液 20 mg/mL,pH 为 4.4±0.3),1 日 1 次,最后 1 次注射后空腹 12 h,测定空腹血糖 (FBG) ≥11.1 mmol/L 为造模成功<sup>[7]</sup>。GDM 组 12 只、维生素 D 低剂量组 13 只、维生素 D 高剂量组 14 只和激动剂组 12 只小鼠造模成功。对照组小鼠每日腹腔注射等量柠檬酸缓冲液。妊娠期间,对照组小鼠饲喂普通饲料维持饲养,其余组小鼠饲喂高糖高脂饲料。

1.2.3 干预方法:从妊娠第 8 日开始,对照组、GDM 组小鼠每日灌胃花生油 0.05 mL,维生素 D 低剂量组、维生素 D 高剂量组小鼠每日分别灌胃维生素 D (溶于 0.05 mL 花生油) 0.05、0.20  $\mu$ g/kg,至妊娠第 19 日结束。激动剂组小鼠从第 8 日开始,每日灌胃维生素 D (溶于 0.05 mL 花生油) 0.20  $\mu$ g/kg+腹腔注射茴香霉素 2 mg/kg,至妊娠第 19 日结束。

1.2.4 组织收集:妊娠第 19 日给药结束后 2 h 处死小鼠,每只取血 2.5 mL,4℃ 下静置 1 h,以 4 500 r/min 离心 (离心半径为 13.5 cm) 10 min,置于 -20℃ 保存备用。取部分肝组织以 0.9% 氯化钠溶液清洗后,用甲醛固定,用于 HE 染色;部分置于 -80℃ 保存,用于基因及蛋白提取,后续通过实时荧光定量 PCR (RT-qPCR) 及蛋白质印迹法检测。

1.2.5 血糖化血红蛋白 (HbA<sub>1c</sub>)、FBG、FINS、TC、TG 和 LDL-C 水平测定:采用血糖仪测定 FBG 水平,采用糖化血红蛋白仪测定 HbA<sub>1c</sub> 水平。取 -20℃ 冻存血清,通过酶联免疫吸附试验测定 FINS、TC、TG 和 LDL-C 水平,按照试剂盒说明操作,测定光密度 (OD),根据标准曲线,计算各指标含量。

1.2.6 肝脏病理学检查:采用多聚甲醛固定肝组织后通过乙醇脱水,石蜡包埋,切片厚度为 5  $\mu$ m,60℃ 烘干,HE 染色,待二甲苯彻底脱水透明后以中性树脂胶封盖,于显微镜下观察肝细胞损伤情况。

1.2.7 PI3K、AKT 和 GLUT-4 mRNA 相对表达量检测:用液氮冻存小鼠肝脏组织,匀浆提取 RNA 并测定含量,逆转录合成 cDNA,-20℃ 稳定保存,反应体系为 RNAase free 水 8  $\mu$ L,dT18 1.5  $\mu$ L,RNA 5.5  $\mu$ L。RT-qPCR 反应体系为上下游引物

(浓度 10 μmol/L) 各 1 μL, cDNA 3 μL, 预混液 (Ex Taq) 12 μL, ddH<sub>2</sub>O 8 μL。反应程序为 98 °C, 10 min; 95 °C, 45 s; 59 °C, 30 s; 72 °C, 60 s; 共 45 个循环。以 GAPDH 为内参, 记录反应 CT 值, 计算 PI3K、AKT 和 GLUT-4 mRNA 相对表达量 (2<sup>-ΔΔCT</sup> 法), 上下游引物序列见表 1。

表 1 引物序列  
Tab 1 Primer sequence

基因	引物序列
PI3K	F: 5'-AAGGACCTGTGGCCACA-3' R: 5'-CTTGAGCGGTACATTAGTC-3'
AKT	F: 5'-CTACAGCCGAGTTCGTGTG-3' R: 5'-ACTATCCTGTCTCTGGCCC-3'
GLUT-4	F: 5'-TTGACCTCCAGTTGCTAGT-3' R: 5'-GTTGCTGATTACCTATAACCAC-3'
GAPDH	F: 5'-GTCCTTATACAGACGGACTC-3' R: 5'-TCTCTGGATACTAGGACT-3'

1.2.8 PI3K、AKT、p-AKT 和 GLUT-4 蛋白相对表达量检测: 取肝组织 80 mg, 以液氮研磨后加入 RIPA 裂解液 1 mL, 4 °C、12 000 r/min 下离心 (离心半径为 13.5 cm) 15 min, 通过 BCA 法测定蛋白含量。通过十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE) 分离蛋白, 上层浓缩胶, 下层分离胶, 蛋白样品与上样缓冲液混合后, 使用移液枪加入上样孔, 120 V 浓缩胶电泳, 200 V 分离胶电泳至结束。取甲醇活化后的 PVDF 膜湿转印 100 V、60 min, 封闭 PVDF 膜 2.5 h 后加入已稀释一抗 (1:5 000), 4 °C 过夜, 次日加入稀释二抗 (1:2 500), 常温孵育 2 h, TBST 冲洗后加入 ECL 孵育 5 min, 曝光成像, 对比 PI3K、AKT、p-AKT 和 GLUT-4 与 GAPDH 灰度值计算蛋白表达情况。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 20.0 统计学软件分析数据, 符合正态分布的计量资料均以  $\bar{x} \pm s$  描述, 多样本计量资料比较采用单因素方差分析, 两两样本比较采用 SNK-*q* 检验; 校验水准  $\alpha = 0.05, P < 0.05$  为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 五组小鼠糖代谢指标 FBG、HbA<sub>1c</sub> 和 FINS 水平比较

与对照组比较, GDM 组小鼠 FBG、HbA<sub>1c</sub> 和 FINS 水平均升高, 差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 与 GDM 组比较, 维生素 D 低剂量组、维生素 D 高剂量组及激动剂组小鼠 FBG、HbA<sub>1c</sub> 和 FINS 水平均降低, 其中维生素 D 高剂量组低于维生素 D 低剂量组和激动剂组, 差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 维生素 D 低剂量组与激动剂组小鼠 FBG、HbA<sub>1c</sub> 和 FINS 水平的差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 见表 2。

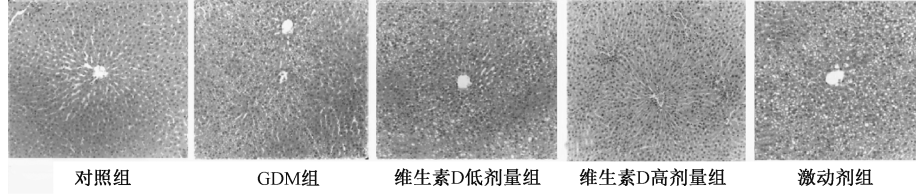


图 1 肝组织病理学切片 (HE, ×100)  
Fig 1 Liver histopathology (HE, ×100)

2.4 五组小鼠肝组织中 PI3K、AKT 和 GLUT-4 mRNA 相对表达量比较

五组小鼠肝组织中 AKT mRNA 相对表达量比较, 差异均

表 2 五组小鼠糖代谢指标 FBG、HbA<sub>1c</sub> 和 FINS 水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

Tab 2 Comparison of FBG, HbA<sub>1c</sub> and FINS among five groups ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	FBG/(mmol/L)	HbA <sub>1c</sub> /%	FINS/(μU/mL)
对照组 (n=15)	4.91±0.87	6.62±1.71	5.92±0.99
GDM 组 (n=12)	8.29±1.36 <sup>a</sup>	18.34±2.25 <sup>a</sup>	9.88±1.25 <sup>a</sup>
维生素 D 低剂量组 (n=13)	7.01±1.12 <sup>b</sup>	15.37±1.82 <sup>b</sup>	7.64±0.92 <sup>b</sup>
维生素 D 高剂量组 (n=14)	5.83±0.93 <sup>bc</sup>	12.11±1.27 <sup>bc</sup>	6.81±0.75 <sup>bc</sup>
激动剂组 (n=12)	6.96±1.05 <sup>bd</sup>	15.28±1.66 <sup>bd</sup>	7.53±0.81 <sup>bd</sup>
F	117.361	128.497	94.385
P	<0.001	<0.001	<0.001

注: 与对照组相比, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ; 与 GDM 组相比, <sup>b</sup> $P < 0.05$ ; 与维生素 D 低剂量组相比, <sup>c</sup> $P < 0.05$ ; 与维生素 D 高剂量组相比, <sup>d</sup> $P < 0.05$

Note: vs. the control group, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ; vs. the GDM group, <sup>b</sup> $P < 0.05$ ; vs. the low-dose vitamin D group, <sup>c</sup> $P < 0.05$ ; vs. the high-dose vitamin D group, <sup>d</sup> $P < 0.05$

2.2 五组小鼠脂代谢指标 TC、TG 和 LDL-C 水平比较

与对照组比较, GDM 组小鼠 TC、TG 和 LDL-C 水平均升高, 差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 与 GDM 组比较, 维生素 D 低剂量组、维生素 D 高剂量组及激动剂组小鼠 TC、TG 和 LDL-C 水平均降低, 其中维生素 D 高剂量组低于维生素 D 低剂量组和激动剂组, 差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 维生素 D 低剂量组与激动剂组小鼠 TC、TG 和 LDL-C 水平的差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 见表 3。

表 3 五组小鼠脂代谢指标 TC、TG 和 LDL-C 水平比较 ( $\bar{x} \pm s, \text{mmol/L}$ )

Tab 3 Comparison of TC, TG and LDL-C among five groups ( $\bar{x} \pm s, \text{mmol/L}$ )

组别	TC	TG	LDL-C
对照组 (n=15)	3.57±0.31	1.27±0.26	2.29±0.32
GDM 组 (n=12)	8.79±0.61 <sup>a</sup>	5.95±0.81 <sup>a</sup>	4.97±0.73 <sup>a</sup>
维生素 D 低剂量组 (n=13)	6.51±0.42 <sup>b</sup>	4.28±0.63 <sup>b</sup>	3.78±0.69 <sup>b</sup>
维生素 D 高剂量组 (n=14)	4.68±0.23 <sup>bc</sup>	2.75±0.34 <sup>bc</sup>	2.75±0.55 <sup>bc</sup>
激动剂组 (n=12)	6.37±0.54 <sup>bd</sup>	4.17±0.74 <sup>bd</sup>	3.69±0.71 <sup>bd</sup>
F	69.821	58.374	41.356
P	<0.001	<0.001	<0.001

注: 与对照组相比, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ; 与 GDM 组相比, <sup>b</sup> $P < 0.05$ ; 与维生素 D 低剂量组相比, <sup>c</sup> $P < 0.05$ ; 与维生素 D 高剂量组相比, <sup>d</sup> $P < 0.05$

Note: vs. the control group, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ; vs. the GDM group, <sup>b</sup> $P < 0.05$ ; vs. the low-dose vitamin D group, <sup>c</sup> $P < 0.05$ ; vs. the high-dose vitamin D group, <sup>d</sup> $P < 0.05$

2.3 五组小鼠肝组织病理学染色观察

对照组小鼠肝细胞及肝小叶结构正常; GDM 组小鼠肝细胞凌乱松散, 嗜酸性脂肪病变, 肝索结构紊乱; 维生素 D 低剂量组小鼠肝细胞排列稍乱, 肝小叶结构少量炎细胞浸润, 未见病灶坏死; 维生素 D 高剂量组肝细胞排列整齐, 汇管区未见炎症, 少量肝细胞脂肪变性; 激动剂组肝小叶结构正常, 散在脂肪细胞变性, 未见组织增生, 见图 1。

无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。与对照组比较, GDM 组小鼠肝组织中 PI3K、GLUT-4 mRNA 相对表达量降低, 差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 与 GDM 组比较, 维生素 D 低剂量组、维生素 D

高剂量组及激动剂组小鼠肝组织中 PI3K、GLUT-4 mRNA 相对表达量升高,其中维生素 D 高剂量组高于维生素 D 低剂量组和激动剂组,差异均有统计学意义( $P<0.05$ );维生素 D 低剂量组与激动剂组小鼠肝组织中 PI3K、GLUT-4 mRNA 相对表达量的差异无统计学意义( $P>0.05$ ),见表 4。

**表 4 五组小鼠肝组织中 PI3K、AKT 和 GLUT-4 mRNA 相对表达量比较 ( $\bar{x}\pm s$ )**

**Tab 4 Comparison of relative expression of PI3K, AKT, GLUT-4 mRNA in liver tissues among five groups ( $\bar{x}\pm s$ )**

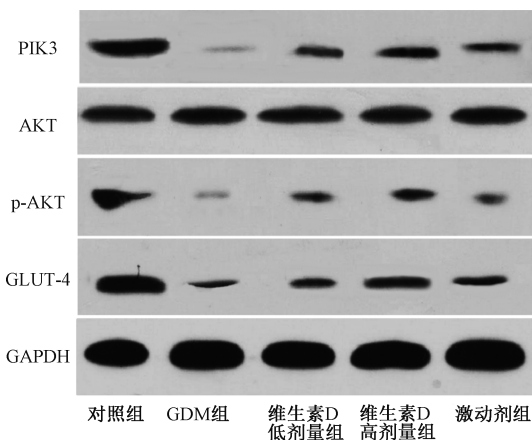
组别	PI3K	AKT	GLUT-4
对照组 ( $n=15$ )	1.36±0.15	1.12±0.12	1.28±0.13
GDM 组 ( $n=12$ )	0.53±0.05 <sup>a</sup>	1.07±0.14	0.61±0.06 <sup>a</sup>
维生素 D 低剂量组 ( $n=13$ )	0.88±0.07 <sup>b</sup>	1.13±0.18	0.92±0.09 <sup>b</sup>
维生素 D 高剂量组 ( $n=14$ )	1.13±0.11 <sup>bc</sup>	1.14±0.10	1.15±0.17 <sup>bc</sup>
激动剂组 ( $n=12$ )	0.85±0.06 <sup>bd</sup>	1.15±0.17	0.93±0.08 <sup>bd</sup>
<i>F</i>	109.874	0.763	110.862
<i>P</i>	<0.001	0.628	<0.001

注:与对照组相比,<sup>a</sup> $P<0.05$ ;与 GDM 组相比,<sup>b</sup> $P<0.05$ ;与维生素 D 低剂量相比,<sup>c</sup> $P<0.05$ ;与维生素 D 高剂量组相比,<sup>d</sup> $P<0.05$

Note:vs. the control group, <sup>a</sup> $P<0.05$ ; vs. the GDM group, <sup>b</sup> $P<0.05$ ; vs. the low-dose vitamin D group, <sup>c</sup> $P<0.05$ ; vs. the high-dose vitamin D group, <sup>d</sup> $P<0.05$

### 2.5 五组小鼠肝组织中 PI3K、AKT、p-AKT 和 GLUT-4 蛋白相对表达量比较

五组小鼠肝组织中 AKT 蛋白相对表达量比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ )。与对照组比较,GDM 组小鼠肝组织中 PI3K、p-AKT 和 GLUT-4 蛋白相对表达量降低,差异均有统计学意义( $P<0.05$ );与 GDM 组比较,维生素 D 低剂量组、维生素 D 高剂量组及激动剂组小鼠肝组织中 PI3K、p-AKT 和 GLUT-4 蛋白相对表达量升高,其中维生素 D 高剂量组高于维生素 D 低剂量组和激动剂组,差异均有统计学意义( $P<0.05$ );维生素 D 低剂量组与激动剂组小鼠肝组织中 PI3K、p-AKT 和 GLUT-4 蛋白相对表达量的差异均无统计学意义( $P>0.05$ ),见图 2、表 5。



**图 2 蛋白条带**

**Fig 2 Western blot protein bands**

### 3 讨论

GDM 的发生可导致机体在妊娠期间出现糖代谢异常,引起先兆子痫、胎儿过大、分娩损伤甚至炎症感染等一系列生产风险,严重影响妊娠期妇女及胎儿的生命安全<sup>[8-10]</sup>。PI3K 通路参与胰岛素细胞活化、胰岛素合成和血糖调节等过程息息相关<sup>[11]</sup>。维生素 D 的主要作用是维持钙磷稳态和促进骨骼发

**表 5 五组小鼠肝组织中 PI3K、AKT、p-AKT 和 GLUT-4 蛋白相对表达量比较 ( $\bar{x}\pm s$ )**

**Tab 5 Comparison of relative expression of PI3K, AKT, p-AKT, GLUT-4 protein in liver tissues among five groups ( $\bar{x}\pm s$ )**

组别	PI3K	AKT	p-AKT	GLUT-4
对照组 ( $n=15$ )	0.87±0.05	0.97±0.09	0.85±0.06	1.03±0.11
GDM 组 ( $n=12$ )	0.09±0.01 <sup>a</sup>	0.95±0.08	0.13±0.01 <sup>a</sup>	0.31±0.04 <sup>a</sup>
维生素 D 低剂量组 ( $n=13$ )	0.31±0.02 <sup>b</sup>	0.93±0.06	0.23±0.03 <sup>b</sup>	0.51±0.07 <sup>b</sup>
维生素 D 高剂量组 ( $n=14$ )	0.55±0.03 <sup>bc</sup>	0.91±0.07	0.47±0.05 <sup>bc</sup>	0.76±0.09 <sup>bc</sup>
激动剂组 ( $n=12$ )	0.30±0.02 <sup>bd</sup>	0.92±0.09	0.24±0.04 <sup>bd</sup>	0.53±0.06 <sup>bd</sup>
<i>F</i>	180.052	1.075	216.378	200.418
<i>P</i>	<0.001	0.138	<0.001	<0.001

注:与对照组相比,<sup>a</sup> $P<0.05$ ;与 GDM 组相比,<sup>b</sup> $P<0.05$ ;与维生素 D 低剂量相比,<sup>c</sup> $P<0.05$ ;与维生素 D 高剂量组相比,<sup>d</sup> $P<0.05$

Note:vs. the control group, <sup>a</sup> $P<0.05$ ; vs. the GDM group, <sup>b</sup> $P<0.05$ ; vs. the low-dose vitamin D group, <sup>c</sup> $P<0.05$ ; vs. the high-dose vitamin D group, <sup>d</sup> $P<0.05$

育,近年来有研究结果表明,维生素 D 可以上调胰岛素转录基因表达,增加胰岛素分泌,促进葡萄糖转运,抑制脂肪合成,防止脂质积累,维持机体糖脂代谢平衡,因此,维生素 D 缺乏可能是导致糖脂代谢紊乱的原因之一<sup>[12-14]</sup>。但维生素 D 在 GDM 中的具体作用机制仍不明确。本研究通过探讨 PI3K 通路阐述维生素 D 调控糖脂代谢的作用机制,为进一步阐明维生素 D 参与 GDM 发生发展奠定基础。

本研究结果发现,GDM 组小鼠肝细胞排列杂乱,嗜酸性脂肪病变,肝索结构紊乱,肝小叶可见少量结缔组织增生,提示 GDM 小鼠存在肝损伤。肝脏是胰岛素作用的重要器官,可以合成肝糖原,降低血糖水平<sup>[15]</sup>。有研究结果显示,STZ 对胰岛 β 细胞有高度特异毒性,可以导致胰岛素分泌减少,无法维持血糖稳定,故 STZ 成为构建糖尿病模型的理想药物<sup>[16]</sup>。本研究的病理结果显示,维生素 D 各剂量组及激动剂组小鼠肝细胞损伤均减轻,其中维生素 D 高剂量组病变较轻,提示维生素 D 可以减轻 GDM 小鼠的肝损伤。与对照组比较,GDM 组小鼠 FBG、HbA<sub>1c</sub>、FINS、TC、TG 和 LDL-C 水平均升高,提示 GDM 小鼠存在糖脂代谢紊乱;与 GDM 组比较,维生素 D 低剂量组、维生素 D 高剂量组上述糖脂代谢指标水平均降低,且维生素 D 高剂量组更低,提示维生素 D 可以调节 GDM 小鼠的糖脂代谢水平。HbA<sub>1c</sub> 是血糖及血红蛋白的代谢物,其含量是衡量血糖控制的“金标准”<sup>[17-18]</sup>。HbA<sub>1c</sub> 结合 FBG 及 FINS 水平可反映糖尿病患者体内糖代谢水平。HbA<sub>1c</sub> 水平紊乱可导致游离脂肪酸水平升高,多种酶活性降低,TC、TG 和 LDL-C 水平升高,造成脂代谢紊乱。

PI3K 属于磷酸化磷脂酰肌酶家族,胰岛素通过结合胰岛素 β 受体可激活 PI3K,PI3K 活化后将信号传递至 GLUT-4,进而调节下游信号分子,调整机体糖脂代谢<sup>[19-21]</sup>。本研究结果发现,与对照组比较,GDM 组小鼠肝组织中 PI3K、GLUT-4 mRNA 和蛋白相对表达量及 p-AKT 蛋白相对表达量均降低;与 GDM 组比较,维生素 D 低剂量组、维生素 D 高剂量组小鼠肝组织中 PI3K、GLUT-4 mRNA 和蛋白相对表达量及 p-AKT 蛋白相对表达量均升高,且维生素 D 高剂量组最高,提示维生素 D 可以激活 GDM 小鼠肝脏中 PI3K 通路,激活 PI3K、GLUT-4 活性及 AKT 蛋白磷酸化水平。本研究在维生素 D 基础上进一步应用 PI3K 激动剂干预,结果显示,激动剂组小鼠肝组织中 PI3K、GLUT-4 mRNA 和蛋白相对表达量及 p-AKT 蛋白相对表达量

低于维生素 D 高剂量组,且糖脂代谢指标高于维生素 D 高剂量组,证实维生素 D 的确可通过 PI3K 信号通路改善 GDM 糖脂代谢紊乱,促进机体糖脂代谢平衡,并且随着剂量增加,可以进一步上调 PI3K 通路表达。

综上所述,维生素 D 可能通过调控 PI3K 通路,改善肝细胞损伤。本研究可为维生素 D 在 GDM 中的科学应用提供依据。

## 参考文献

[1] BANDAY M Z, SAMEER A S, NISSAR S. Pathophysiology of diabetes: An overview[J]. *Avicenna J Med*, 2020, 10(4): 174-188.

[2] 关怀,尚丽新. 妊娠期糖尿病流行现状[J]. *中国实用妇科与产科杂志*, 2015, 31(1): 91-94.

[3] 陈旭,孔佩慧. 防晒剂的光防护作用和维生素 D 状态[J]. *中华皮肤科杂志*, 2020, 53(1): 75-76.

[4] ZHANG Y, GONG Y, XUE H, et al. Vitamin D and gestational diabetes mellitus: a systematic review based on data free of Hawthorne effect[J]. *BJOG*, 2018, 125(7): 784-793.

[5] 周锋,王冬霞,李艳艳,等. 维生素 D 补充对糖尿病模型大鼠胰岛铁过载和  $\beta$  细胞凋亡的影响[J]. *营养学报*, 2019, 41(6): 587-592.

(上接第 841 页)

较发现,IFG 组患者联合用药的改善效果优于二甲双胍,推测是由于 IFG 组患者一方面胰岛素总体水平降低,另一方面升糖激素、胰高血糖素分泌过多。GLP-1 可通过调节胰岛  $\alpha$  细胞内游离钙的浓度以抑制胰高血糖素的释放,降低 FBG 水平,因此对于 IFG 的干预效果更佳。

目前,国内 GLP-1 受体激动剂干预糖尿病前期的系统研究较少。仅有研究结果发现,加用利拉鲁肽能更好地改善 IGT 合并多囊卵巢综合征患者的糖、脂代谢水平<sup>[19-20]</sup>。本研究结果发现,与单纯生活方式干预比较,二甲双胍和二甲双胍联合利拉鲁肽均能改善 IFG 和 IGT 情况,降低糖尿病前期人群进展为糖尿病的风险。联合应用利拉鲁肽效果更佳。

## 参考文献

[1] LI Y Z, TENG D, SHI X G, et al. Prevalence of diabetes recorded in mainland China using 2018 diagnostic criteria from the American Diabetes Association: national cross sectional study [J]. *BMJ*, 2020, 369: m997.

[2] 中华医学会糖尿病学分会,国家基层糖尿病防治管理办公室. 国家基层糖尿病防治管理指南(2022) [J]. *中华内科杂志*, 2022, 61(3): 249-262.

[3] 巩秋红,李光伟. 生活方式干预降低糖耐量受损人群发病率和死亡率:大庆糖尿病预防研究 30 年随访结果[J]. *中华内科杂志*, 2019, 58(8): 609.

[4] 中华医学会糖尿病学分会. 中国 2 型糖尿病防治指南(2020 年版) [J]. *中华内分泌代谢杂志*, 2021, 37(4): 311-398.

[5] 中华医学会内分泌学分会,中华医学会糖尿病学分会,中国医师协会内分泌代谢科医师分会,等. 中国成人糖尿病前期干预的专家共识[J]. *中华内分泌代谢杂志*, 2020, 36(5): 371-380.

[6] ARMATO J P, DEFRONZO R A, ABDUL-GHANI M, et al. Successful treatment of prediabetes in clinical practice using physiological assessment (STOP DIABETES) [J]. *Lancet Diabetes Endocrinol*, 2018, 6(10): 781-789.

[7] 中华医学会内分泌学分会. 中国成人 2 型糖尿病预防的专家共

[6] 王雨,罗臻,吉兆宁. 鸦胆子苦素 D 通过 PI3K/Akt 信号通路抑制人乳腺癌 MDA-MB-231 细胞的能量代谢研究[J]. *蚌埠医学院学报*, 2020, 45(5): 561-565.

[7] 张吟,黄丹丹,张淑芬,等. C57BL/6J 糖尿病小鼠模型的优化研究[J]. *中国现代应用药学*, 2019, 36(6): 655-660.

[8] RIZZO G, GARZON S, FICHERA M, et al. Vitamin D and gestational diabetes mellitus: is there a link? [J]. *Antioxidants (Basel)*, 2019, 8(11): 511.

[9] RODRIGUES M R K, LIMA S A M, MAZETO G M F D S, et al. Efficacy of vitamin D supplementation in gestational diabetes mellitus: systematic review and meta-analysis of randomized trials[J]. *PLoS One*, 2019, 14(3): e0213006.

[10] NGUYEN-NGO C, JAYABALAN N, SALOMON C, et al. Molecular pathways disrupted by gestational diabetes mellitus[J]. *J Mol Endocrinol*, 2019, 63(3): R51-R72.

[11] CHEN S H, LIU X N, PENG Y. MicroRNA-351 eases insulin resistance and liver gluconeogenesis via the PI3K/AKT pathway by inhibiting FLOT2 in mice of gestational diabetes mellitus[J]. *J Cell Mol Med*, 2019, 23(9): 5895-5906.

(下转第 850 页)

识[J]. *中华内分泌代谢杂志*, 2014, 30(4): 277-283.

[8] 张曦元,覃月佳,陈晓扬. 运动处方联合二甲双胍对糖尿病前期患者胰岛素抵抗指数、糖耐量受损情况的影响[J]. *中国医院用药评价与分析*, 2019, 19(10): 1209-1211.

[9] 李蕊,刘芳丽,陈霞,等. 基于质性研究的糖尿病前期患者疾病态度和生活方式转变影响因素的系统综述[J]. *中国全科医学*, 2021, 24(12): 1506-1511.

[10] 王俊薇,管丽华,邢媛,等. 社区 2 型糖尿病及糖尿病前期管理现状调查研究[J]. *中国全科医学*, 2021, 24(27): 3439-3443, 3450.

[11] HUANG Y L, CAI X Y, MAI W Y, et al. Association between prediabetes and risk of cardiovascular disease and all cause mortality: systematic review and meta-analysis[J]. *BMJ*, 2016, 355: i5953.

[12] 王琳,李博,李宝柱,等. 轻度认知功能障碍与老年 2 型糖尿病及糖尿病前期的相关性[J]. *中华老年多器官疾病杂志*, 2019, 18(10): 747-752.

[13] 李欣,刘红燕. 高血压、糖尿病前期的老年患者人群焦虑抑郁现状及影响因素分析[J]. *中华保健医学杂志*, 2019, 21(4): 377-379.

[14] 程飞,王凡,王贺,等. 临床前期糖尿病视网膜病变的研究进展[J]. *徐州医科大学学报*, 2020, 40(4): 305-308.

[15] 母义明,纪立农,李春霖,等. 二甲双胍临床应用专家共识(2018 年版) [J]. *中国糖尿病杂志*, 2019, 27(3): 161-173.

[16] 韩立梅,李云华. 生活方式干预同期口服二甲双胍治疗糖尿病前期患者效果分析[J]. *社区医学杂志*, 2019, 17(11): 649-652.

[17] 李晓庆. 阿卡波糖与二甲双胍治疗糖尿病前期的疗效分析[J]. *实用糖尿病杂志*, 2020, 16(3): 90-91.

[18] 王颖颖,汤立达,靳京,等. 胰高血糖素样肽-1 受体激动剂药理作用的研究进展[J]. *现代药物与临床*, 2020, 35(1): 179-183.

[19] 黄昭穗,栾丽丽,杨骄,等. 利拉鲁肽对多囊卵巢综合征合并糖耐量异常及肥胖患者的代谢及受孕的影响[J]. *中华糖尿病杂志*, 2015, 7(7): 437-441.

[20] 周珈莉,栗琼,张建伟,等. 利拉鲁肽在治疗糖耐量异常合并多囊卵巢综合征的临床效果[J]. *实用糖尿病杂志*, 2020, 16(5): 132-133.

(收稿日期:2022-01-10 修回日期:2022-05-10)