

番茄红素对肥胖小鼠糖脂代谢的影响及其对胰腺组织 TLR4/MyD88/NF- κ B 信号通路的调节作用

田恽淼, 李蕊, 朱如愿, 白颖, 陈贝贝, 夏兵可, 张浩, 赵丹丹, 张东伟

北京中医药大学中医学院糖尿病研究中心, 北京 100029

摘要:目的 探讨番茄红素对肥胖小鼠糖脂代谢和胰腺组织炎症的影响及其可能的作用机制。方法 利用高脂饲料复制肥胖小鼠模型。番茄红素干预 8 周后, 观察其对小鼠体重、血糖、血脂和体脂率的影响。采用 HE 染色法观察胰腺病理改变, Western blotting 法检测 Toll 样受体 4 (TLR4) /髓样分化因子 88 (MyD88) /核转录因子- κ B (NF- κ B) 信号通路相关蛋白表达水平, 免疫组化法检测各组小鼠胰腺组织巨噬细胞浸润程度。结果 番茄红素能显著抑制高脂饮食诱导的肥胖小鼠体重增长, 降低空腹血糖, 改善糖耐量及血脂水平; 减轻胰腺组织的空泡化、水肿变性以及胰岛肥大等炎性病变; 同时, 番茄红素可明显降低 TLR4、MyD88 和 NF- κ B 蛋白在胰腺组织中的表达水平, 减轻胰腺炎性浸润。结论 番茄红素能够改善高脂饮食诱导肥胖小鼠的血糖、血脂水平和胰腺炎症, 其作用机制可能与调控 TLR4/MyD88/NF- κ B 信号通路有关。

关键词: 番茄红素; 肥胖; 胰腺; TLR4/MyD88/NF- κ B 信号通路; 炎症

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2020)16-4236-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.16.017

Effect of lycopene on glycolipid metabolism and pancreatic tissue through regulation of TLR4/MyD88/NF- κ B signaling pathway in high-fat diet induced obese mice

TIAN Yi-miao, LI Rui, ZHU Ru-yuan, BAI Ying, CHEN Bei-bei, XIA Bing-ke, ZHANG Hao, ZHAO Dan-dan, ZHANG Dong-wei

Diabetes Research Center, School of Traditional Chinese Medicine, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China

Abstract: Objective To investigate the effects of lycopene on glycolipid metabolism and pancreatic tissue inflammation in obese mice and its underlying mechanism. **Methods** The obese mouse model was induced by a high-fat diet (HFD). The effects of lycopene on body weight, blood glucose, blood lipid and body fat were observed after 8 weeks of administration. Pathological changes of pancreas were observed by HE staining. Protein expressions involved in TLR4/MyD88/NF- κ B signaling pathway were detected by Western blotting, and the degree of macrophage infiltration in the pancreatic tissues of obese mice were detected by IHC. **Results** Lycopene significantly inhibited body weight gain and reduced fasting blood glucose, as well as improved glucose tolerance and blood lipid level in obese mice. In addition, lycopene also reduced vacuolization, edema degeneration, islet hypertrophy and other inflammatory lesions in pancreatic tissues. Moreover, the protein expression levels of TLR4, MyD88 and NF- κ B in pancreatic tissue were decreased and the inflammatory infiltration was reduced. **Conclusion** Lycopene can improve blood glucose, lipid metabolism and pancreatic inflammation in obese mice, and its mechanism may be related to the regulation of TLR4/MyD88/NF- κ B signaling pathway.

Key words: lycopene; obesity; pancreas; TLR4/MyD88/NF- κ B signaling pathway; inflammation

肥胖是一种全球流行的慢性代谢性疾病, 以机体能量长期处于过剩状态诱发的脂肪异常分布或过度堆积为主要特征^[1]。不良的生活习惯、遗传和环境因素均参与肥胖的发病过程^[2]。肥胖能够诱发全

收稿日期: 2020-03-23

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (81874373); 北京市自然科学基金面上项目 (7172126)

作者简介: 田恽淼, 硕士研究生, 研究方向为中医药防治代谢性疾病的作用机制研究。E-mail: tytmianyimiao@126.com

*通信作者 张东伟, 博士生导师。E-mail: zhdw1006@163.com

身的能量代谢紊乱, 增加心血管疾病、消化系统疾病、呼吸系统疾病、内分泌系统疾病、心理疾病等的发病风险, 已成为危害人类健康的公共卫生问题之一^[3]。研究表明, 肥胖可导致糖脂代谢紊乱, 并使机体处于慢性炎症状态, 而慢性炎症会进一步诱发代谢综合征。肥胖状态下的胰岛 β 细胞内脂质过量堆积诱发慢性持续性炎症, 致使胰岛功能受损、胰腺组织遭到破坏, 胰腺内外分泌功能亦产生渐进性和不可逆性的损害^[4-6]。胰腺内分泌功能受损主要表现为胰岛 β 细胞数量锐减、产生胰岛素的能力下降, 引起体内葡萄糖和脂肪的异常^[7-8]、脂蛋白酯酶活性降低等病理表现^[9-10]。

番茄红素是一种功能性天然食用色素, 因最早在番茄中被发现而得名^[11-12]。番茄又称蕃柿、西番柿、西红柿, 最早记载于明代赵崐所撰《植品》。中医认为, 番茄味甘、酸, 性微寒, 有生津止渴、凉血平肝、清热解毒、健胃消食等功效^[13]。研究发现, 番茄红素具有抗氧化、抗癌、保护心脑血管、延缓衰老、调节免疫系统等作用^[14]。因此, 番茄红素在健康产品、化妆品和食品添加等领域得到了广泛的应用, 已成为近年来研究的热点^[15]。

本实验室和其他团队的研究结果均表明番茄红素能够调节高脂饮食诱导肥胖动物模型的糖脂水平, 降低炎症反应^[16]。研究发现, 番茄红素具有抑制胰腺炎模型大鼠炎症标记物水平升高, 减轻腺泡细胞坏死、间质炎症浸润和出血, 保护胰腺的功能^[17]; 能够抑制高脂饮食引起的肥胖、炎症反应和相关代谢紊乱^[18]。Toll 样受体 4 (TLR4)/髓样分化因子 88 (MyD88)/核转录因子- κ B (NF- κ B) 信号通路是与炎症密切相关的经典通路之一, 番茄红素能否通过调控该信号通路抑制胰腺炎症, 进而改善肥胖小鼠胰岛功能和糖脂代谢, 目前未见相关报道。因此, 本实验以高脂饮食诱发肥胖小鼠为模型, 探讨胰腺组织 TLR4/MyD88/NF- κ B 通路的变化及番茄红素对其的影响, 阐释番茄红素对高脂饮食诱导的肥胖小鼠糖脂代谢及胰腺组织炎症的作用机制, 为膳食补充剂防治肥胖等代谢性疾病提供新的思路。

1 材料

1.1 实验动物

SPF 级 8 周龄雄性 ICR 小鼠, 购自斯贝福 (北京) 生物技术有限公司, 许可证号 SCXK (京) 2011-0004, 饲养于北京中医药大学科研实验中心清洁级动物实验室, 合格证号 SCXK (京) 2011-0024,

恒定室温 (22 ± 2) $^{\circ}\text{C}$, 相对湿度 (50 ± 5) %, 12 h/12 h 光暗周期。实验期间小鼠自由饮水, 笼具、垫料、饮用水等定期更换、清洁。实验方案经北京中医药大学动物实验伦理委员会批准。

1.2 药物与试剂

番茄红素 (批号 F-003, 质量分数为 96%, 规格 70 mg/瓶), 购自成都瑞芬思生物科技有限公司; 盐酸二甲双胍片 (批号 ABF2453), 购自中美上海施贵宝制药有限公司; F4/80、MyD88、 β -actin、Lamin B1 一抗购自美国 Proteintech Group 公司; TLR4、NF- κ B p65、p-NF- κ B p65 (ser536) 一抗及 HRP 标记山羊抗兔 IgG、HRP 标记兔抗小鼠 IgG 购自沈阳万类生物科技有限公司; 兔二步法试剂盒、浓缩型 DAB 试剂盒购自北京中杉金桥生物技术有限公司; 总胆固醇 (TC)、三酰甘油 (TG)、高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C) 测定试剂盒购自南京建成生物工程研究所; ECL 超敏发光液、苏木素染液、伊红染液购自北京索莱宝生物科技有限公司; 玉米油购自中国金龙鱼粮油食品股份有限公司; 45%高脂饲料购自江苏美迪森生物医药有限公司; 普通饲料采用 AIN-96G 全价营养饲料, 由北京中医药大学动物房提供。

1.3 仪器

拜安康血糖仪及配套血糖检测试纸 (Bayer 医药保健有限公司, 德国); EchoMRI-100H 身体成分分析仪 (EchoMRI 有限公司, 美国); Leica EG 1150 H 包埋机、EG 1150 C 冰冻机、RM 2255 轮转式切片机 (Leica Biosystems 有限公司, 德国); Olympus BX53 倒置荧光显微镜 (Olympus 有限公司, 日本); FLUO star Omega 多功能酶标仪 (BMG Labtech 公司, 德国); Azure c500 凝胶成像仪 (Azure Biosystems 股份有限公司, 美国)。

2 方法

2.1 模型制备、分组及给药

给予普通饲料适应性喂养 1 周后, 参照文献方法^[16]复制肥胖小鼠模型, 即高脂饲料诱导 12 周后, 将体质量增加 20% 及以上、空腹血糖超过 7.8 mmol/L 作为肥胖小鼠成模的标准。并根据此标准, 将造模成功的 ICR 小鼠随机分为模型组、阳性对照二甲双胍组和番茄红素组, 每组 10 只, 并继续给予高脂饲料喂养。同时, 设立对照组, 该组小鼠给予普通饲料喂养。

实验期间, 各组小鼠每日 ig 给药。其中, 番茄

红素组给予番茄红素玉米油溶液 (15 mg/kg)^[16], 对照组和模型组给予等量玉米油, 二甲双胍组给予二甲双胍 (100 mg/kg), 共 8 周。给药期间继续原饲养方式, 小鼠自由摄食、饮水。

2.2 血液和胰腺组织收集

药物干预 8 周后, 各组小鼠过夜禁食不禁水, 称量空腹体质量。用 1%戊巴比妥钠 (4 mL/kg) ip 麻醉小鼠, 测量体长 (鼻尖至肛门外沿的距离) 后进行眼眶取血, 并置于普通离心管中, 静置 1.5~2.0 h, 4 ℃、3 000 r/min 离心, 15 min 后吸取血清于新的离心管中, -80 ℃低温冰箱保存待用, 用于血清学指标检测。取血后将小鼠置于冰块上, 剥离胰腺组织, 一部分迅速冻存于液氮, 而后转入-80 ℃低温冰箱保存备用, 另一部分放入 4%多聚甲醛溶液中固定做病理检测。

2.3 指标测定

2.3.1 一般情况观察 实验期间每天观察并记录小鼠毛发、精神状态以及动作反应等一般情况。

2.3.2 体质量和血糖检测 给药期间每 2 周测量一次各组小鼠的体质量和空腹血糖。将小鼠过夜禁食 12 h 后, 采血针刺尾静脉取血, 用拜安康血糖仪检测血糖。收集并统计实验数据。

2.3.3 体脂率测定 分别在药物干预的第 1 周和第 8 周采用 EchoMRI-100H 身体成分分析仪, 测定并记录各组小鼠体内脂肪含量, 计算小鼠脂肪与体质量的比值。实验期间, 小鼠给予正常饮食饮水。

2.3.4 口服葡萄糖耐量实验 (OGTT) 分别在药物干预的第 4 周和第 8 周, 行 OGTT, 所有小鼠禁食 12 h 后, 根据每只小鼠的体质量 ig 给予葡萄糖溶液 (2 g/kg), 按顺序分别检测 0、30、60、90、120 min 的血糖, 绘制血糖变化折线图, 并计算曲线下面积 (AUC)。

2.3.5 Lee's 指数检测 实验结束时称取小鼠体质量, 并测量体长 (鼻尖至肛门外沿的距离), 计算 Lee's 指数^[16]。

Lee's 指数 = 体质量^{1/3} × 10³ / 体长

2.3.6 血清学指标检测 TC、TG、LDL-C、HDL-C 分别按照试剂盒说明书进行测定。

2.3.7 HE 染色 将固定在 4%多聚甲醛溶液中的胰腺组织按照常规 HE 染色法进行脱水包埋切片染色, 按照如下方法进行胰腺组织病理评分。根据胰腺损伤的评价标准, 对胰腺组织的水肿、炎性细胞浸润、腺泡细胞的坏死和空泡这 4 项进行评分: ①

水肿程度: 0=无水肿, 1=小叶间水肿, 2=小叶间和中度的小叶内水肿, 3=小叶间和重度的小叶内水肿; ②炎细胞浸润: 由 0 无炎细胞浸润~3 重度炎细胞浸润; ③坏死: 0=无坏死, 1=1~3 个坏死灶/高倍视野, 2=3~5 个坏死灶/高倍视野, 3=>5 个坏死灶/高倍视野; ④空泡化: 由 0=无空泡~3 大量空泡。损伤总评分=水肿评分+炎性评分+坏死评分+空泡评分, 病理综合评分越高, 表示组织损伤程度越严重^[19]。

2.3.8 免疫组化 (IHC) 测定 取胰腺组织石蜡切片, 60 ℃烤片 2 h 后常规脱蜡至水, 3% H₂O₂ 室温孵育 30 min, 常规抗原修复液进行抗原修复。10%山羊血清封闭 30 min 后, 滴加 1%BSA (PBS 配制) 稀释的 F4/80 一抗 (1:500), 4 ℃孵育过夜。次日滴加辣根过氧化物酶标记的二抗, DAB 溶液避光显色, 苏木素复染, 经酒精梯度脱水和二甲苯透明后用中性树胶封固, 并置于显微镜下观察、拍照。利用 Image-Pro Plus 软件进行图像分析, 计算镜下照片中阳性区域的平均吸光度 (A) 值, 即 F4/80 蛋白阳性表达的强度。

2.3.9 Western blotting 检测 在低温条件下, 将胰腺研磨破碎, 加 RIPA 裂解液后用超声法提取组织蛋白, BCA 法测定蛋白浓度, 之后将蛋白样品加到 10%的 SDS-PAGE 电泳胶上进行电泳分离, 再转印至 PVDF 膜上, 然后分别和 MyD88 (1:5 000)、TLR4 (1:1 000)、NF-κB p65 (1:500)、p-NF-κB p65 (1:500)、β-actin (1:5 000) 和 Lamin B1 (1:2 000) 抗体 4 ℃孵育过夜。次日, 将膜与相应辣根过氧化物酶标记二抗室温孵育 1 h 后, 用 ECL 超敏发光液显色, Azure 凝胶成像仪拍照, 各目标条带的灰度值使用 Image J 图像软件分析处理。

2.4 统计学处理

采用 GraphPad prism 6.0 软件对数据进行统计分析, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间数值比较采用单因素方差分析。

3 结果

3.1 各组小鼠一般情况比较

对照组小鼠体毛光滑浓密、无零乱蓬松现象, 身形匀称、食欲良好, 精神状态较好, 活泼好动、反应灵敏。模型组小鼠体毛失去光泽、疏松蓬乱, 食欲增加, 精神萎靡, 动作迟缓、反应迟钝。二甲双胍组和番茄红素组小鼠毛发恢复光泽, 食欲较好, 精神状态及反应灵敏度均优于模型组。

3.2 番茄红素对肥胖小鼠体质量的影响

如图 1-A 所示,与对照组比较,模型组小鼠的体质量显著增加 ($P<0.05$)。从第 4 周开始,二甲双胍和番茄红素的干预显著降低了肥胖小鼠的体质量 ($P<0.05$)。4 组小鼠的总体质量增长率见图 1-B,第 8 周与第 0 周相比,模型组小鼠体质量呈正性增长,二甲双胍组、番茄红素组小鼠体质量呈负性增长,与模型组比较差异显著 ($P<0.05$)。观察第 1 周和第 8 周的体脂率,发现模型组小鼠的体脂率明

显高于对照组 (图 1-C、D, $P<0.05$),而分别给予二甲双胍和番茄红素 8 周后,二甲双胍组小鼠与番茄红素组小鼠的体脂率均显著降低 (图 1-D, $P<0.05$)。此外,作为评估肥胖程度的指标,模型组小鼠的 Lee's 指数也有所增加 (图 1-E, $P<0.05$),给予二甲双胍和番茄红素则明显逆转了这一改变 (图 1-E, $P<0.05$)。这说明,番茄红素可抑制肥胖小鼠脂肪过度生成诱发的体质量增加,这种作用与二甲双胍相比无明显差异。

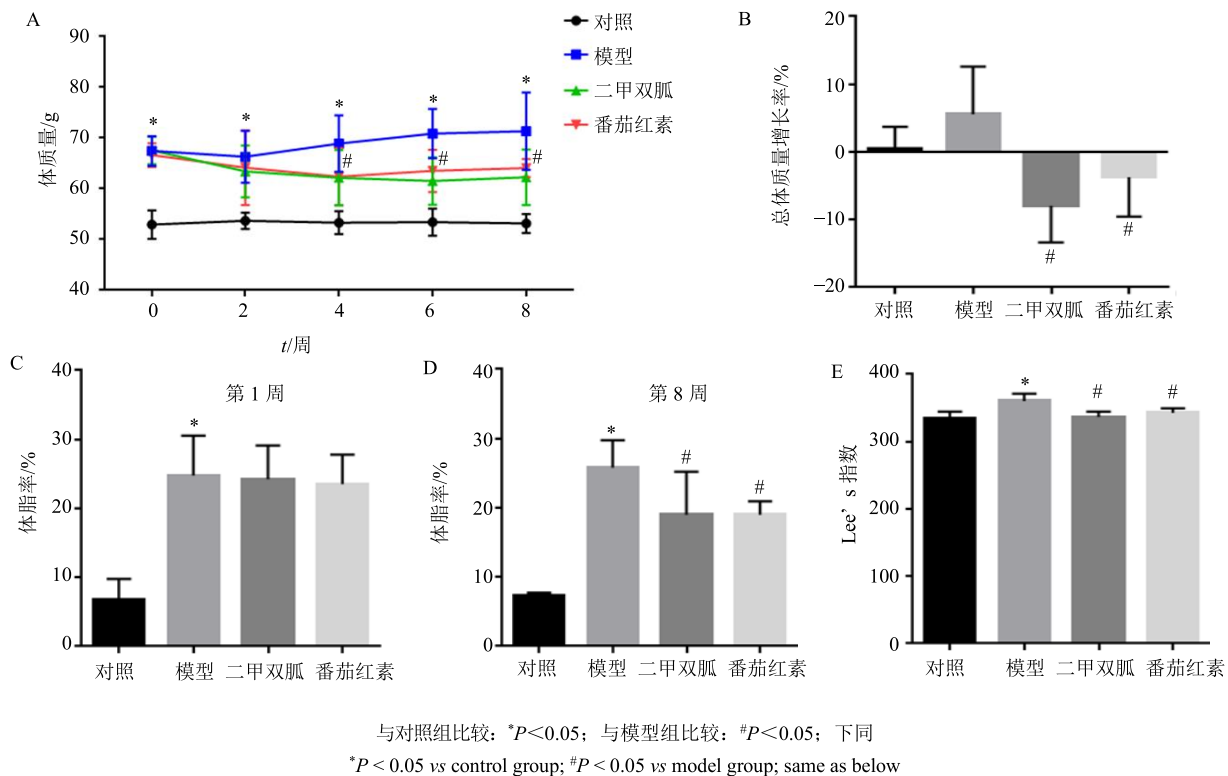


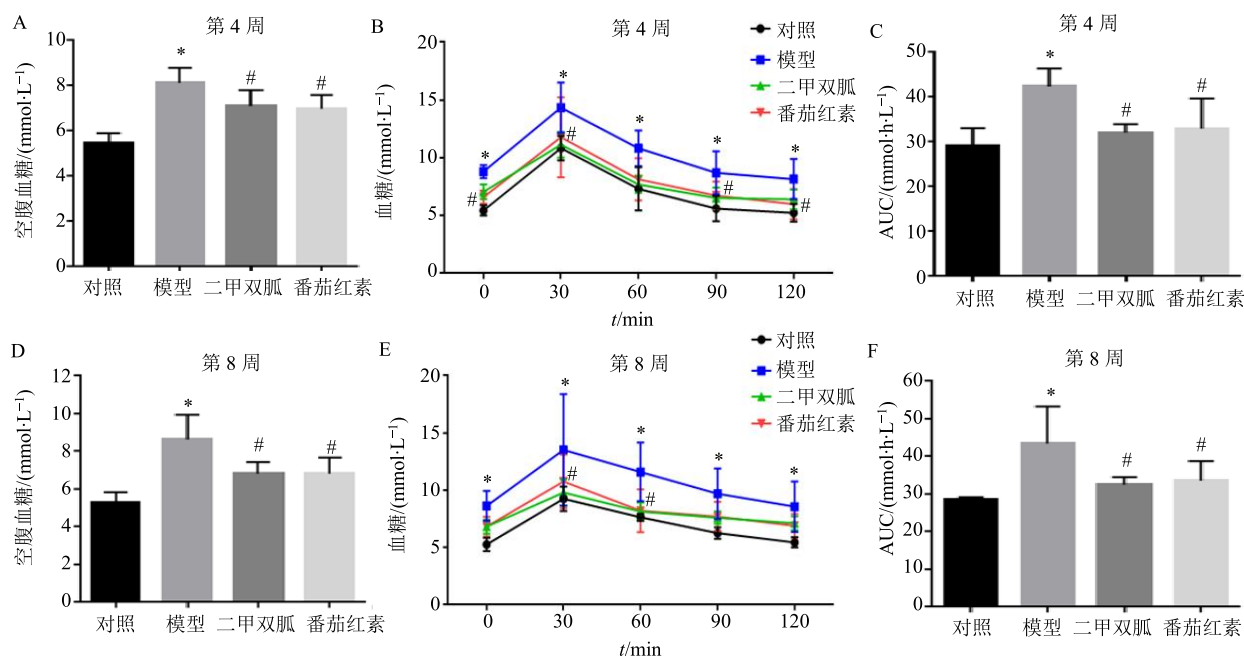
图 1 番茄红素对肥胖小鼠体质量 (A)、体质量总增长率 (B)、体脂率 (C、D) 及 Lee's 指数 (E) 的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)
Fig. 1 Effects of lycopene on body weight (A), total growth rate of weight (B), body fat rate (C and D) and Lee's index (E) in obese mice ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

3.3 番茄红素对肥胖小鼠糖脂代谢的影响

在糖代谢方面,模型组小鼠第 4 周和第 8 周的空腹血糖水平均明显高于对照组、二甲双胍组和番茄红素组 (图 2-A、D, $P<0.05$)。第 4 周和第 8 周葡萄糖耐量 (图 2-B、E) 显示,模型组小鼠的血糖值在 0、30、60、90、120 min 均处于较高水平。尤其在 30 min 和 60 min 时,二甲双胍组和番茄红素组小鼠的血糖水平与模型组比较差异显著 ($P<0.05$);第 4 周和第 8 周模型组小鼠 AUC 与对照组比较分别升高了 45.5%和 52.3% (图 2-C 和 F, $P<$

0.05);与模型组比较,二甲双胍组 AUC 分别降低了 24.2%和 25.1%,番茄红素组则分别降低了 22.2%和 22.8% (图 2-C 和 F, $P<0.05$)。

在脂代谢方面,如表 1 所示,模型组小鼠血清 TC、TG 和 LDL-C 水平较对照组明显升高, HDL-C 水平下降 ($P<0.05$),二甲双胍和番茄红素干预均显著降低了肥胖小鼠血清 TC、TG 和 LDL-C 水平,升高了 HDL-C 水平 ($P<0.05$)。以上结果提示,番茄红素可以改善肥胖小鼠的糖耐量及血脂功能,调节糖脂代谢紊乱,这种作用与二甲双胍比较无显著差异。



A、D-各组小鼠第4周和第8周的空腹血糖水平 B、E-各组小鼠第4周和第8周 OGTT C、F-各组小鼠第4周和第8周 OGTT 的曲线下面积
A, D-Levels of fasting blood glucose in each group of mice at 4th week and 8th week B, E-OGTT at 4th week and 8th week C, F-AUC of OGTT at 4th week and 8th week

图2 番茄红素对肥胖小鼠空腹血糖及葡萄糖耐量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Fig. 2 Effects of lycopene on fasting blood glucose and glucose tolerance in obese mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

表1 番茄红素对肥胖小鼠血清 TC、TG、LDL-C 和 HDL-C 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 1 Effects of lycopene on serum levels of TC, TG, LDL-C and HDL-C in obese mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	TC/(mmol·L ⁻¹)	TG/(mmol·L ⁻¹)	LDL-C/(mmol·L ⁻¹)	HDL-C/(mmol·L ⁻¹)
对照	—	3.90 ± 0.12	0.89 ± 0.08	1.05 ± 0.16	5.01 ± 0.50
模型	—	7.54 ± 0.38*	1.33 ± 0.10*	1.96 ± 0.22*	3.93 ± 0.31*
二甲双胍	100	5.90 ± 0.25 [#]	1.08 ± 0.09 [#]	1.26 ± 0.22 [#]	5.73 ± 0.33 [#]
番茄红素	15	6.03 ± 0.18 [#]	1.16 ± 0.07 [#]	1.35 ± 0.17 [#]	5.82 ± 0.21 [#]

与对照组比较: * $P < 0.05$; 与模型组比较: [#] $P < 0.05$

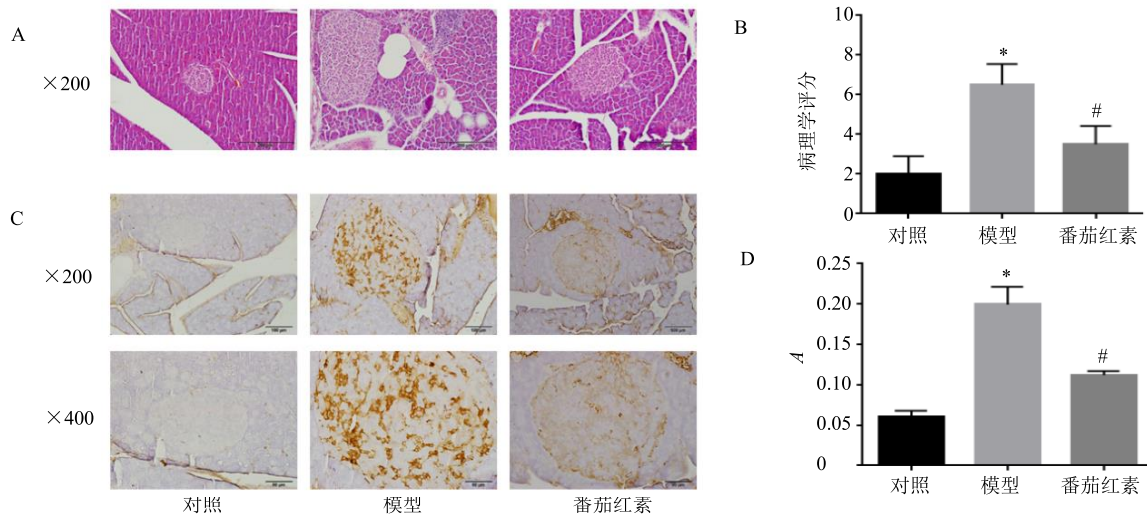
* $P < 0.05$ vs control group; [#] $P < 0.05$ vs model group

3.4 番茄红素对肥胖小鼠胰腺组织炎性病变的影响

HE 染色显示 (图 3-A), 对照组小鼠的胰腺组织致密, 小叶和细胞间未出现脂滴样空泡; 胰岛结构完整、形状规则, 为椭圆形或圆形的细胞团, 界限清楚, 胰岛内细胞排列紧密。模型组小鼠的胰腺结构紊乱、疏松, 胰腺组织腺泡细胞发生水肿、脂肪变性, 红细胞和炎性细胞浸润于血管周围; 胰岛扩充肥大、组织结构松散, 部分胰岛呈现“空洞样”改变。番茄红素组小鼠胰腺组织的整体病变程度低于模型组, 但仍有轻微的胰岛代偿性肥大。模型组小鼠的组织病理学评分显著高于对照组和番茄红素组 (图 3-B, $P < 0.05$),

提示番茄红素能够改善肥胖小鼠胰腺组织的病理学变化。

F4/80 作为巨噬细胞标记物, 能够直接反映巨噬细胞的浸润程度, 与炎症的发生和发展密切相关。胰腺组织 F4/80 免疫组化染色结果显示 (图 3-C、D), 模型组小鼠的巨噬细胞浸润显著, 胰岛组织可见大量棕褐色颗粒, 表达较对照组显著增强 ($P < 0.05$)。与模型组小鼠比较, 番茄红素干预后, 肥胖小鼠的巨噬细胞浸润显著减少, 平均吸光度值有所降低。这说明番茄红素可以改善肥胖小鼠胰腺组织巨噬细胞的浸润程度, 抑制炎症的发生与发展, 从而改善胰岛功能。



A-胰腺 HE 染色 ($\times 200$) B-胰腺组织病理学评分 C-胰腺 F4/80 免疫组化 ($\times 200$ 、 $\times 400$) D-胰腺 F4/80 平均 A 值
A-pancreas H&E staining ($\times 200$) B-pancreatic histopathology scores C-immunohistochemistry of pancreas F4/80 ($\times 200$, $\times 400$) D-average optical density value analysis of pancreas F4/80

图 3 番茄红素对肥胖小鼠胰腺组织病理学改变及炎症反应的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Fig. 3 Effects of lycopene on pancreatic histopathological changes and inflammatory responses in obese mice ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

3.5 番茄红素对肥胖小鼠胰腺组织 TLR4、MyD88 和 NF- κ B 蛋白表达的影响

Western blotting 结果显示 (图 4), 与对照组比较, 模型组小鼠胰腺 TLR4、MyD88, 胞质 NF- κ B p65

和 p-NF- κ B p65, 胞核 NF- κ B p65 和 p-NF- κ B p65 的表达水平以及胞质、胞核中 p-NF- κ B p65 与 NF- κ B p65 的比值均显著升高 ($P < 0.05$)。与模型组比较, 番茄红素组小鼠上述蛋白的表达水平明显

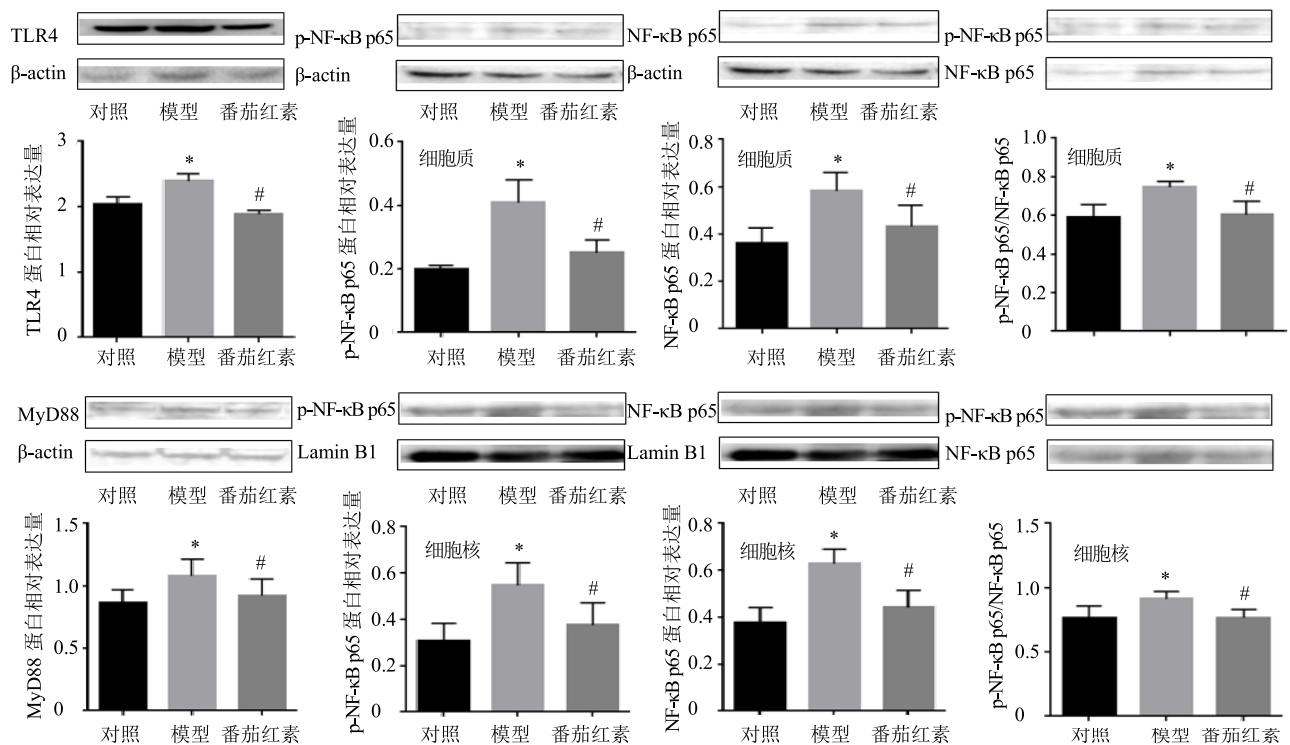


图 4 番茄红素对肥胖小鼠胰腺组织 TLR4/MyD88/NF- κ B 通路相关蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Fig. 4 Effects of lycopene on expressions of pancreas related proteins in obese mice ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

降低 ($P < 0.05$)。这说, 番茄红素可以抑制肥胖小鼠胰腺组织 TLR4/MyD88/NF- κ B 信号通路相关蛋白的表达, 进而缓解胰腺组织的炎症反应。

4 讨论

本实验采用经典的高脂饮食诱导法复制肥胖小鼠模型, 发现小鼠成模后体质量和体脂率显著增加, 空腹血糖水平升高、糖耐量降低; 血清 TC、TG 和 LDL-C 水平升高, HDL-C 水平下降; 胰腺组织发生空泡化、水肿变性以及胰岛肥大等炎性病变, 巨噬细胞标记物 F4/80、炎症相关蛋白 TLR4、MyD88、胞质 NF- κ B p65 和 p-NF- κ B p65、胞核 NF- κ B p65 和 p-NF- κ B p65 的表达升高, 肥胖小鼠呈现明显的糖脂代谢紊乱症状和炎症状态。番茄红素干预肥胖小鼠 8 周后, 能显著抑制其体质量和体脂率的增长, 改善空腹血糖水平、糖耐量及血脂功能, 降低 TLR4/MyD88/NF- κ B 信号通路相关蛋白的表达水平, 减轻胰腺巨噬细胞浸润程度和炎性病变, 从而改善肥胖小鼠糖脂代谢。

番茄红素是一种广泛存在于番茄、西瓜、南瓜、李子等果蔬中的类胡萝卜素^[20], 基础研究发现其可通过多种途径发挥抗代谢紊乱和抗炎的作用, 临床上也常将其应用于肥胖症、糖尿病等慢性代谢性疾病的防治^[21]。本实验通过观察小鼠体质量、血糖和糖耐量等一般情况, 检测小鼠血清中 TC、TG、HDL-C 和 LDL-C 水平, 发现模型组小鼠体质量较对照组显著增加, 空腹血糖和血清 TC、TG 和 LDL-C 水平显著升高, 糖耐量、HDL-C 水平显著降低, 该结果与文献报道^[16,18,22]一致。番茄红素干预能明显抑制肥胖小鼠体质量的增长, 降低空腹血糖、TC、TG 和 LDL-C 水平, 升高 HDL-C 水平, 改善糖耐量, 提示番茄红素具有调节糖脂代谢紊乱的作用。

TLR4/MyD88/NF- κ B 信号通路在炎症发生和发展的过程中发挥着重要作用。TLR4 是最早的模式识别受体, 能够识别脂多糖和脂肪酸等配体, 与 MyD88 的羧基端结合后激活经典的 MyD88 依赖通路^[23]; 而 MyD88 又可以促进 NF- κ B 的活化和核转移, 启动 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 等促炎细胞因子的表达, 级联式放大炎症反应^[24-25]。本实验结果显示, 造模成功 8 周后肥胖小鼠胰腺腺泡细胞发生水肿、脂肪变性, 胰岛代偿性增生、组织结构松散, F4/80、TLR4、MyD88、胞质 NF- κ B p65 和 p-NF- κ B p65、胞核 NF- κ B p65 和 p-NF- κ B p65 的表达水平较对照组均显著升高, 说明高脂饮食诱导肥胖小鼠的胰腺

组织发生了明显的炎性病变, 这种状态可能与 TLR4/MyD88/NF- κ B 信号通路有关。而番茄红素干预肥胖小鼠 8 周后, HE 染色、Western blotting 和 IHC 结果均表明番茄红素能够减轻胰腺组织空泡化、水肿变性以及胰岛肥大等炎性病变, 显著降低巨噬细胞标记物 F4/80, 炎症相关蛋白 TLR4、MyD88、胞质 NF- κ B p65 和 p-NF- κ B p65、胞核 NF- κ B p65 和 p-NF- κ B p65 的表达水平, 具有减轻胰腺组织炎症反应、恢复胰岛功能的作用。王刚等^[17]也发现, 番茄红素能够减轻重症胰腺炎模型大鼠腺泡细胞坏死、间质炎性浸润和出血, 减轻腺泡细胞内线粒体和内质网肿胀, 抑制炎症标记物水平的升高, 提高腺泡细胞活力, 对腺泡细胞起到保护作用。Fenni 等^[18]发现补充番茄红素能显著降低肥胖小鼠血清 TG 和游离脂肪酸的水平, 提高了葡萄糖稳态, 这种作用可能与抑制 NF- κ B p65 磷酸化诱发的炎症反应有关。而下调胰腺 TLR4、MyD88 和 NF- κ B 的表达量, 能够减轻肥胖小鼠的胰腺炎症反应, 保护胰岛 β 细胞, 从而改善糖代谢^[26]。以上研究结果表明, 番茄红素改善肥胖小鼠糖脂代谢, 可能与降低胰腺组织炎症, 进而改善胰岛功能有关。

本实验的不足之处在于没有观察小鼠摄食量、饮水量的变化。本课题组前期研究表明, 番茄红素虽然不能降低肥胖小鼠的摄食量, 但能显著降低其饲料利用率。已有文献^[27]证明, 番茄红素能够降低糖尿病模型大鼠的饮水量, 使其“多饮”症状得到缓解。因此在今后的实验中应观察番茄红素对肥胖小鼠饮水量的影响。

综上所述, 本实验研究表明, 番茄红素能够通过调节 TLR4/MyD88/NF- κ B 信号通路减轻胰腺组织的炎症反应, 改善胰岛功能, 从而改善肥胖小鼠糖脂代谢, 进而抑制体质量的增加。然而, 番茄红素能否通过抑制巨噬细胞的异常激活、调节 M1、M2 巨噬细胞的极化来减轻炎症反应、恢复胰岛的功能还有待于进一步探索。本研究为番茄红素的抗肥胖临床应用提供了一定的科学依据, 也为代谢性疾病的研究和防治提供了有益的思路。

参考文献

- [1] World Health Organization. Obesity: Preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation [J]. *World Health Organ Tech Rep Ser*, 2000, doi: 10.1002/jps.3080150106.

- [2] Stunkard A J, Foch T T, Hrubec Z. A twin study of human obesity [J]. *JAMA*, 1986, 256(1): 51-54.
- [3] Rangel-Huerta O D, Pastor-Villaescusa B, Gil A. Are we close to defining a metabolomic signature of human obesity? A systematic review of metabolomics studies [J]. *Metabolomics*, 2019, 15(6): 93.
- [4] Herndon A M, Breshears M A, McFarlane D. Oxidative modification, inflammation and amyloid in the normal and diabetic cat pancreas [J]. *J Comp Pathol*, 2014, 151(4): 352-362.
- [5] Ahren B, Foley J E. Improved glucose regulation in type 2 diabetic patients with DPP-4 inhibitors: Focus on alpha and beta cell function and lipid metabolism [J]. *Diabetologia*, 2016, 59(5): 907-917.
- [6] 张敏, 姚光怀, 童智慧, 等. 肥胖在胰腺疾病中的临床研究进展 [J]. 医学综述, 2019, 25(7): 1338-1342.
- [7] 袁雪璐, 祝祥云, 李玲. 慢性胰腺炎与 3c 型糖尿病相关性的研究进展 [J]. 中国全科医学, 2017, 20(25): 3184-3186.
- [8] Flierl U, Bauersachs J, Schafer A. Modulation of platelet and monocyte function by the chemokine fractalkine (CX3 CL1) in cardiovascular disease [J]. *Eur J Clin Invest*, 2015, 45(6): 624-633.
- [9] 吴堂珍, 李建聪, 梁丽华. 探讨超声检查胰腺回声增强与糖尿病及血脂增高的关系 [J]. 中国现代药物应用, 2019, 13(12): 47-49.
- [10] 白璐, 张江华, 张晋升, 等. 益气养阴活血通络方对糖尿病肾病患者糖、脂代谢及血流变的影响 [J]. 河北中医学报, 2016, 31(3): 9-11.
- [11] 张雅琦. 番茄红素提取提纯方法的研究进展 [J]. 农产品加工, 2019, 18(6): 84-86.
- [12] 修伟业, 黎晨晨, 王艺鎬, 等. 番茄红素生物学功能研究进展 [J]. 食品科技, 2020, 45(1): 322-325.
- [13] 丁晓蕾, 王思明. 美洲原产蔬菜作物在中国的传播及其本土化发展 [J]. 中国农史, 2013, 32(5): 26-36.
- [14] 张莉, 王政军. 番茄红素的保健功能综述 [J]. 中国调味品, 2009, 34(9): 98-100.
- [15] 齐若宁. 番茄红素的生理功能及提取工艺研究 [J]. 科技创新导报, 2015, 12(33): 95-96.
- [16] Zhu R, Wei J, Liu H, *et al.* Lycopene attenuates body weight gain through induction of browning via regulation of peroxisome proliferator-activated receptor gamma in high-fat diet-induced obese mice [J]. *J Nutr Biochem*, 2017, 61(9): 1601083.
- [17] 王刚, 孙备, 吕嘉晨, 等. 番茄红素对重症急性胰腺炎腺泡细胞保护作用的实验研究 [A] // 第三十一届全国中西医结合消化系统疾病学术会议论文集 [C]. 北京: 中国中西医结合学会消化系统疾病专业委员会, 中国中西医结合学会, 2019.
- [18] Fenni S, Hammou H, Astier J, *et al.* Lycopene and tomato powder supplementation similarly inhibit high-fat diet induced obesity, inflammatory response, and associated metabolic disorders [J]. *Mol Nutr Food Res*, 2017, doi: 10.1002/mnfr.201601083.
- [19] Vonlaufen A, Phillips P A, Xu Z, *et al.* Withdrawal of alcohol promotes regression while continued alcohol intake promotes persistence of LPS-induced pancreatic injury in alcohol-fed rats [J]. *Gut*, 2011, 60(2): 238-246.
- [20] 李士雨, 李子颖. 番茄红素的提取与合成工艺研究进展 [J]. 中草药, 2003, 34(1): 99-100.
- [21] Senkus K E, Tan L, Crowe-White K M. Lycopene and metabolic syndrome: A Systematic review of the literature [J]. *Adv Nutr*, 2019, 10(1): 19-29.
- [22] Kim Y, Kwon M J, Choi J W, *et al.* Anti-obesity effects of boiled tuna extract in mice with obesity induced by a high-fat diet [J]. *Int J Mol Med*, 2016, 38(4): 1281-1288.
- [23] 司原成, 苗维纳, 何嘉悦, 等. 电针对食源性肥胖小鼠肠黏膜 TLR4/MyD88 信号通路的影响 [J]. 辽宁中医杂志, 2017, 44(10): 2193-2196.
- [24] 农汝楠, 王竞静, 吴燕春, 等. 基于 TLR4 信号通路的中药抗肝脏疾病作用研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(16): 201-212.
- [25] 李红梅, 王显. TLR4/MyD88/NF- κ B 信号通路动脉粥样硬化性心血管疾病的相关性研究进展 [J]. 中国循证心血管医学杂志, 2017, 9(9): 1132-1134.
- [26] 李菊满, 杨桃根. 2-十二烷基-6-甲氧基-2,5-二烯-1,4-环己二酮对胰岛素抵抗小鼠的影响 [D]. 南宁: 广西医科大学, 2017.
- [27] 黄玥, 沈新南, 刘艳妮, 等. 番茄红素预防大鼠高血糖及其作用机制 [J]. 营养学报, 2006, 28(3): 244-246.