

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2021.07.006

妊娠糖尿病对仔鼠肺成熟的影响及吡格列酮的干预作用*

韩 焱 张 荣 徐 杨 黄 娜 何金孝[△]

(中国人民解放军空军军医大学第一附属医院儿科 陕西 西安 710032)

摘要 目的:探究妊娠糖尿病(GDM)对仔鼠肺成熟的影响及吡格列酮对肺发育的干预作用。**方法:**将 30 只 SD 孕鼠分为对照组、GDM 组和 GDM+ 吡格列酮组(GDM+P 组),每组 10 只。GDM 组和 GDM+P 组孕鼠通过腹腔注射链脲霉素(STZ, 45 mg/kg)和高脂饮食饲养构建 GDM 孕鼠模型, GDM+P 组大鼠建模后灌胃 10 mg/kg 的吡格列酮,对照组和 GDM 组孕鼠每天灌胃等体积生理盐水。分娩后,检测各组仔鼠的血糖和血浆胰岛素水平以及胎肺组织中的总磷脂量。通过苏木精伊红(HE)染色、油红 O 染色和透射电镜观察胎肺组织结构和形态变化。通过 RT-PCR 和 Western blot 检测胎肺组织中 SP-A、SP-B、SIRT1 和 PPAR γ 的表达。**结果:**GDM 组仔鼠的血糖水平与对照组无显著差异($P>0.05$),胰岛素水平明显高于对照组($P<0.05$)。与对照组相比, GDM 组仔鼠胎肺组织中的总磷脂含量降低($P<0.05$);胎肺组织中肺泡 II 型上皮细胞(AEC II)数量和脂滴明显减少。与对照组相比, GDM 组仔鼠胎肺组织中的 SP-A、SP-B、SIRT1 和 PPAR γ 的 mRNA 和蛋白相对表达水平均降低($P<0.05$)。吡格列酮干预显著逆转了 GDM 对仔鼠胰岛素、胎肺组织结构 and 形态变化的影响; GDM+P 组仔鼠胎肺组织中的 SP-A、SP-B、SIRT1 和 PPAR γ 的 mRNA 和蛋白相对表达水平相较 GDM 组均升高($P<0.05$)。**结论:**GDM 母鼠所生仔鼠存在肺发育延迟,吡格列酮干预可有效促进仔鼠的肺成熟。

关键词:妊娠糖尿病;仔鼠;肺泡表面活性物质;肺成熟;SIRT1/PPAR γ 信号通路

中图分类号:R-33;R714.256 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2021)07-1228-06

Effect of Gestational Diabetes Mellitus on Lung Maturity of Pups and Intervention Effect of Pioglitazone*

HAN Yi, ZHANG Rong, XU Yang, HUANG Na, HE Jin-xiao[△]

(Department of Pediatrics, The First Affiliated Hospital, Airforce Medical University of PLA, Xi'an, Shaanxi, 710032, China)

ABSTRACT Objective: To explore the effect of gestational diabetes mellitus (GDM) on lung maturity of pups and the effect of pioglitazone on lung development. **Methods:** 30 SD pregnant rats were divided into control group, GDM group and GDM+pioglitazone group (GDM+P), 10 rats in each group. GDM group and GDM+P group pregnant rats were injected with streptozotocin (STZ, 45mg/kg) and high-fat diet to construct GDM pregnant rats' model. Rats in GDM+P group was modeled with 10 mg/kg pioglitazone after intragastric administration. Pregnant rats in control group and GDM group were given an equal volume of normal saline every day. After delivery, the blood glucose and plasma insulin levels of the offspring and the total phospholipids in the fetal lung tissue in each group were measured. Fetal lung tissue structure and morphological changes were observed by hematoxylin eosin (HE) staining, oil red O staining and transmission electron microscopy. The expressions of SP-A, SP-B, SIRT1 and PPAR γ in fetal lung tissue were detected by RT-PCR and Western blot. **Results:** The blood glucose level of offspring in the GDM group was not significantly different from that of control group ($P>0.05$), but the insulin level of the offspring in GDM group was significantly higher than that of control group ($P<0.05$). Compared with control group, the total phospholipid content in the fetal lung tissue of GDM group decreased ($P<0.05$). In GDM group, the number of alveolar type II epithelial cells (AECII) and lipid droplets in fetal lung tissue was significantly reduced. Compared with control group, the relative expression levels of SP-A, SP-B, SIRT1, and PPAR γ mRNA and protein in fetal lung tissue of GDM group were reduced ($P<0.05$). Pioglitazone intervention significantly reversed the effects of GDM on the changes in insulin and fetal lung tissue structure and morphology of the offspring ($P<0.05$). Compared with GDM group, the relative mRNA and protein expression levels of SP-A, SP-B, SIRT1 and PPAR γ in the fetal lung tissue of the offspring in GDM+P group increased ($P<0.05$). **Conclusion:** The offspring born from GDM pregnant rats have delayed lung development, and pioglitazone intervention can effectively promote the lung maturity of offspring.

Key words: Gestational diabetes mellitus; Offspring; Alveolar surfactant; Lung maturation; SIRT1/PPAR γ signaling pathway

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R714.256 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2021)07-1228-06

* 基金项目:国家自然科学基金青年基金项目(81701487)

作者简介:韩焱(1981-),女,硕士研究生,主治医师,主要从事新生儿疾病和呼吸系统疾病的研究, E-mail: hanyid2009@yeah.net

[△] 通讯作者:何金孝(1984-),女,硕士研究生,主治医师,主要从事新生儿疾病和呼吸系统疾病的研究,

电话:15902945203, E-mail: hejx_2013@163.com

(收稿日期:2020-07-28 接受日期:2020-08-23)

前言

妊娠期糖尿病(Gestational Diabetes Mellitus, GDM)是一种常见的妊娠期疾病,目前,GDM在全球范围内的发病率呈现上升趋势^[1-3]。大量研究发现,GDM可引起子代在围生期和出生后的多种并发症的发生,例如GDM可影响子代的心脏发育、胰腺发育和免疫功能等^[4-6]。此外,GDM是引起新生儿呼吸窘迫综合征(Respiratory Distress Syndrome, RDS)的重要因素^[7]。RDS的发病原因主要是肺泡表面活性物质产生及分泌减少,从而引起肺泡萎陷和气体交换障碍,最终导致新生儿呼吸困难^[7]。目前关于GDM对子代肺发育的报道较少,有学者认为,GDM增加子代代谢性疾病易感性的机制与脂质代谢有关,然而,其中涉及的潜在分子机制未完全揭示。本研究通过腹腔注射链脲霉素(Streptozocin, STZ)和高脂饮食饲养构建GDM大鼠模型,并使用吡格列酮(Pioglitazone)对孕鼠进行治疗,旨在揭示GDM对仔鼠胰岛素抵抗和肺成熟的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

吡格列酮购自北京万辉双鹤药业有限责任公司。血糖测定试剂盒(葡萄糖氧化酶法)购自北京利德曼生化技术有限公司。STZ购自美国Sigma-Aldrich公司。胰岛素ELISA试剂盒购自上海酶联生物科技有限公司。苏木精伊红(HE)染色试剂盒购自北京索莱宝科技有限公司。油红O染色液购自武汉华联科生物技术有限公司。高纯度总RNA提取试剂盒购自北京百泰克生物技术有限公司。反转录试剂盒购自美国Promega公司。LightCycler 480 SYBR Green I Master购自德国Roche Diagnostics公司。BCA蛋白质测定试剂盒购自碧云天生物技术有限公司。PVDF膜购自美国Millipore公司。表面活性蛋白A和B(SP-A, SP-B)、沉默信息调节因子2相关酶1(sirtuin1, SIRT1)、过氧化物酶增殖物活化受体 γ (Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- γ , PPAR γ)一级抗体及辣根过氧化物酶标记的二抗购自英国Abcam公司。ECL化学发光检测试剂盒购自南京凯基生物科技发展有限公司。

1.2 方法

1.2.1 SD大鼠孕鼠模型建立 30只Sprague-Dawley (SD)大鼠(体重200~300 g)来自空军军医大学实验动物中心[SYXK(陕)2014-001]。将SD大鼠在23-25℃、55%相对湿度、12/12 h的光/暗周期的无特定病原体动物房中适应性饲养1周,雌雄分开喂养。每天晚上20:00~22:00将SD大鼠按照雌雄比3:1的比例放入一个笼子中,次日清晨对雌性大鼠进行阴道涂片观察,观察到涂片视野完全被精子覆盖的雌鼠视为妊娠鼠,并记为孕第0 d。

1.2.2 GDM孕鼠模型建立 妊娠第3天,对孕鼠腹腔注射STZ(45 mg/kg),对照组注射等体积柠檬酸缓冲液,每隔3天测定尾静脉空腹血糖,至少2次空腹血糖水平>13.9 mmol/L判定为造模成功。此外,于妊娠第0 d开始至生产对GDM孕鼠进行高脂饲养,高脂饲料配方为:59.75%基础饲料、15%蛋黄粉、10%猪油、8%蔗糖、1.5%胆固醇和0.25%重量胆酸盐。对照组使用基础饲料饲养。

1.2.3 动物分组 将大鼠随机分为对照组、GDM组和GDM+吡格列酮组(GDM+P组),每组10只。对照组:孕22 d剖宫产的正常大鼠,每天灌胃等体积生理盐水+基础饲料饲养。GDM组:孕22 d剖宫产的GDM大鼠,建模后每天灌胃等体积生理盐水+高脂饲养。GDM+吡格列酮组:接受吡格列酮治疗的孕22 d剖宫产的GDM大鼠,建模后每天灌胃10 mg/kg剂量的吡格列酮,并高脂饲养。

1.2.4 孕鼠和仔鼠的血糖和胰岛素测定 在清晨8:30~9:00取孕鼠或仔鼠尾静脉血,离心后收集血浆并储存于-80℃。使用血糖测定试剂盒采用葡萄糖氧化酶法测定血糖水平,使用ELISA试剂盒检测孕鼠和仔鼠的血浆胰岛素水平。孕第22天,取孕鼠静脉血,剖宫产后取仔鼠,收集仔鼠尾静脉血,测量血糖和胰岛素水平。

1.2.5 仔鼠胎肺组织总磷脂量的测定 取存活仔鼠沿肋骨开胸获取胎肺组织,然后胎肺组织用预冷的生理盐水洗净,匀浆后于4℃、3000 rpm离心5 min,收集上清液,通过考马斯亮蓝测定上清液蛋白浓度。在上清液中加入抽提剂(甲醇:氯仿=1:2)并震荡2 min,于4℃、3000 rpm离心10 min,分离下层清液置于70℃水浴箱中,使氯仿充分挥发。在试管中加入0.25 mL高氯酸,并置于电炉上消化。试管冷却后,加入显色剂,70℃水浴20 min。冷却后,用酶标仪在700 nm检测OD值。然后制作标准曲线,以上清液每克蛋白中总磷脂的多少表示磷脂的含量。

1.2.6 仔鼠胎肺组织的苏木精伊红(HE)染色 将胎肺组织包埋在石蜡中,用10%甲醛固定,制作切片。根据说明书操作步骤,将切片用苏木精伊红(HE)染色,于倒置显微镜下观察。

1.2.7 仔鼠胎肺组织的透射电镜观察 将胎肺组织在2.5%戊二醛中固定。乙醇、丙酮脱水后,用丙酮和包埋液室温下包埋,然后在37℃烘箱内固定,制作60 nm厚的切片。使用3%醋酸铀-枸橼酸铅对切片进行双染色,并在透射电镜下观察胎肺组织内的肺泡II型上皮细胞(Type II Alveolar Epithelial Cells, AEC II)。

1.2.8 仔鼠胎肺组织的油红O染色 制作10 μ m厚度的胎肺组织切片,10%多聚甲醛固定,PBS洗涤后,用60%异丙醇洗涤2 min。然后使用油红O染色液染色15 min。60%异丙醇调色,然后用双蒸水洗涤,苏木素复染2 min。之后用盐酸酒精分化、中性树胶封片,然后于倒置显微镜下观察。

1.2.9 RT-PCR检测 通过RT-PCR检测仔鼠胎肺组织中SP-A、SP-B、SIRT1和PPAR γ 的mRNA表达水平,根据说明书操作步骤,使用高纯度总RNA提取试剂盒从仔鼠胎肺组织中分离总RNA。总RNA浓度使用NanoDrop分光光度计测定。通过反转录试剂盒合成cDNA。使用LightCycler 480 SYBR Green I Master在LightCycler 480 II实时荧光定量PCR仪上进行PCR。引物序列如下: β -actin正向:5'-GGATCGAGGCGTG AAGGTTG-3',反向:5'-GTCCTGCATTGCCACACTTG-3';SP-A正向:5'-GTCGCGGATTCTACACCAC-3',反向:5'-CCAGGGGACTTCACGGATG-3';SP-B正向:5'-AAAGTCAGCCCAAC TAGCCC-3',反向:5'-CCTTAGCAGGCTAGCTGGTT-3'。SIRT1正向:5'-AATGGCAATTCATCGAGCC-3',反向:5'-CCGCTTATGTCGCTGGCTAT-3';PPAR γ 正向:5'-AACTACGCGCAACGCAACTTCC-3',反向:5'-CCGCCTGCTCCGTAGGATTTAT-

3'。扩增程序如下:95℃ 5 min,95℃ 15 s,60℃ 15 s,72℃ 30 s,40 个循环。 β -actin 用作内参,使用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算相对 mRNA 表达水平。

1.2.10 蛋白质印迹分析 (Western blot) 通过 Western blot 检测仔鼠胎肺组织中 SP-A、SP-B、SIRT1 和 PPAR γ 的蛋白表达水平。胎肺组织用预冷 PBS 洗涤并切成小块,然后在裂解缓冲液中研磨并裂解,于 4℃、12000 rpm 离心 15 min 后收集上清液,通过 BCA 蛋白质测定试剂盒测试总蛋白质浓度。加入上样缓冲液后,将蛋白在 99℃ 下煮沸 10 min。然后将变性的蛋白质通过 10%SDS-PAGE 电泳分离,并转移至 PVDF 膜上,将膜在 5%脱脂牛奶中于室温下封闭 1 h,然后与 β -actin、SP-A、SP-B、SIRT1 和 PPAR γ 一抗在 4℃ 下过夜孵育。然后将膜与辣根过氧化物酶标记的二抗在室温下孵育 1 h。使用 ECL 发光液进行显影, β -actin 用作上样对照。

1.3 统计分析

所有数据均使用 SPSS18.0 软件进行分析。3 组之间的数据差异通过单因素方差分析 (ANOVA) 进行检验,并通过 LSD 检验进行多重比较。 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 孕鼠和仔鼠的血糖和胰岛素水平

在孕第 5 d 时,GDM 组和 GDM+P 组孕鼠的血糖水平显著高于对照组 ($P<0.05$,见图 1)。此后 GDM 组孕鼠的血糖维持在较高水平,而 GDM+P 组孕鼠在吡格列酮治疗后,血糖水平明显降低。对照组孕鼠的血糖水平在不同妊娠时期基本保

持不变。

与对照组相比,GDM 组剖宫产前孕鼠的血糖和胰岛素水平明显升高 ($P<0.05$,见表 1);与 GDM 组相比,GDM+P 组剖宫产前孕鼠的血糖和胰岛素水平明显降低 ($P<0.05$)。与对照组相比,GDM 组产后仔鼠的胰岛素水平明显升高 ($P<0.05$);与 GDM 组相比,GDM+P 组产后仔鼠的胰岛素水平明显降低 ($P<0.05$),3 组产后仔鼠的血糖水平无显著差异 ($P>0.05$)。

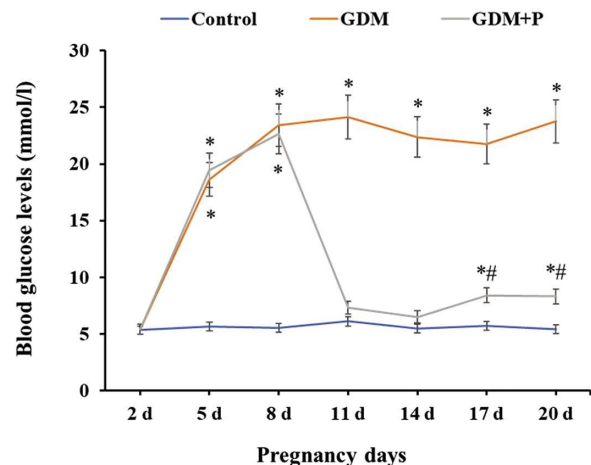


图 1 不同妊娠天数的孕鼠血糖水平

Fig. 1 Blood glucose levels of pregnant rats with different days of pregnancy

Note: Compared with control group,

* $P<0.05$; Compared with GDM group, * $P<0.05$.

表 1 剖宫产前孕鼠和产后仔鼠的血糖和胰岛素水平

Table 1 Blood glucose and insulin levels of pregnant rats before cesarean section and postnatal offspring

Groups	Pregnant rats		Offspring	
	Blood glucose(mmol/L)	Insulin(mU/L)	Blood glucose(mmol/L)	Insulin(mU/L)
Control group	5.65±1.13	12.34±2.19	4.11±0.73	13.43±1.24
GDM group	23.11±3.45 *	19.54±2.04 *	4.42±0.61	20.27±2.18 *
GDM+P group	8.26±1.68 **	14.73±1.77 **	4.28±0.59	15.66±1.63 **

Note: Compared with control group, * $P<0.05$; Compared with GDM group, * $P<0.05$.

2.2 仔鼠胎肺组织的总磷脂含量

与对照组 (554.35±54.65 mg/g) 相比,GDM 组仔鼠胎肺组织中的总磷脂含量明显降低 (189.53±17.43 mg/g, $P<0.05$,见图 2)。与 GDM 组相比,GDM+P 组仔鼠胎肺组织中的总磷脂含量明显升高 (266.51±22.64 mg/g, $P<0.05$)。

2.3 仔鼠胎肺组织的病理学变化

苏木精伊红 (HE) 染色结果显示,对照组仔鼠胎肺组织处于囊状期,肺泡腔大而圆,腔内有明显皱褶突起,肺泡间质较薄,周围结缔组织少。GDM 组仔鼠胎肺组织处于小管期,肺泡腔小而不规则,数目较少,肺泡间质和周围结缔组织明显增厚。GDM+P 组仔鼠胎肺组织结构与对照组类似 (见图 3)。

仔鼠胎肺组织的透射电镜结果显示,对照组仔鼠胎肺组织 AEC II 中板层小体体积大、数量多;AEC II 胞浆内有较多脂滴,

胞浆内细胞器丰富。GDM 组仔鼠胎肺组织中 AEC II 数量明显减少,细胞变形、体积变小、胞浆空化,胞浆脂滴较少。GDM+P 组仔鼠胎肺组织 AEC II 形态与对照组类似,但板层小体数量及脂滴较少 (见图 4)。

仔鼠胎肺组织的油红 O 染色结果显示,对照组和 GDM+P 组仔鼠胎肺组织的肺泡上皮细胞、肺泡间质及肺泡壁中可见大量红色脂滴,GDM 组仔鼠胎肺组织中红色脂滴明显减少 (见图 5)。

2.4 仔鼠胎肺组织中 SP-A 和 SP-B 的表达

与对照组相比,GDM 组仔鼠胎肺组织中 SP-A 和 SP-B 的 mRNA 和蛋白相对表达水平均明显降低 ($P<0.05$,见图 4);与 GDM 组相比,GDM+P 组仔鼠胎肺组织中 SP-A 和 SP-B 的 mRNA 和蛋白相对表达水平均明显升高 ($P<0.05$)。

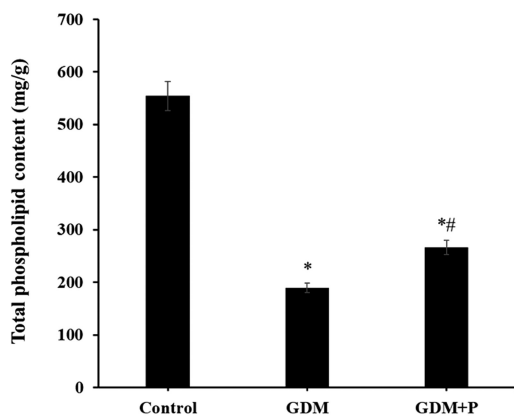


图2 各组仔鼠胎肺组织的总磷脂含量

Fig.2 Total phospholipid content of fetal lung tissue of offspring in each group

Note: Compared with control group, * $P<0.05$;Compared with GDM group, ** $P<0.05$.

2.5 仔鼠胎肺组织中 SIRT1 和 PPAR γ 的表达

与对照组相比,GDM 组仔鼠胎肺组织中 SIRT1 和 PPAR γ 的 mRNA 和蛋白相对表达水平均明显降低($P<0.05$,见图5);与 GDM 组相比,GDM+P 组仔鼠胎肺组织中 SIRT1 和 PPAR γ 的 mRNA 和蛋白相对表达水平明显升高($P<0.05$)。

3 讨论

本研究采用中剂量 STZ 一次性腹腔注射联合高脂饲养孕鼠的方式,建模后孕鼠血糖水平明显升高,这些变化与其他学者研究结果相一致^[8],而胰岛素水平有所升高,造成胰岛素抵抗和胰岛细胞功能部分受损,可成功诱导妊娠期糖尿病模型。GDM 发生后的高血糖可对胎儿生长发育产生诸多影响,其中包括胎肺发育^[9]。本研究显示,GDM 孕鼠生产后,仔鼠的胎肺组织结构和形态学发生改变,包括肺泡腔变小而不规则、数目减少、肺泡间质和周围结缔组织明显增厚等。上述形态学改变会

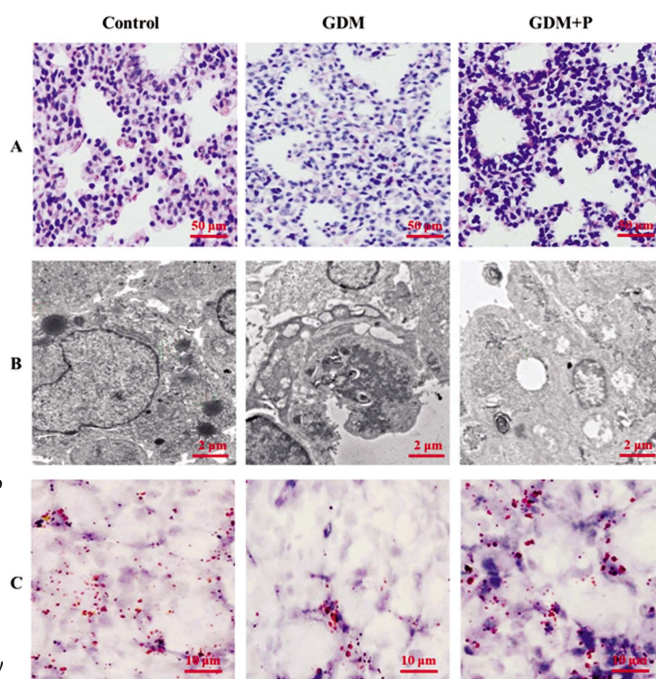


图3 各组仔鼠胎肺组织的病理学观察

Fig.3 Pathological observation of fetal lung tissues of offspring in each group

Note: A: HE staining; B: Transmission electron microscope observation;

C: Oil red O staining.

阻碍肺泡腔内气体交换。另外,本研究透射电镜结果显示,GDM 仔鼠的胎肺组织中 AEC II 数量明显减少,细胞变形、体积变小、胞浆空化,胞浆脂滴较少,上述结果说明仔鼠胎肺发育被延迟。造成胎肺发育障碍的原因可能是高糖导致了肺泡上皮细胞和肺泡间质细胞的异常增殖及胎肺组织纤维化,并抑制了 AEC II 的分化,促进了 AEC II 向间充质细胞转化^[10-12]。

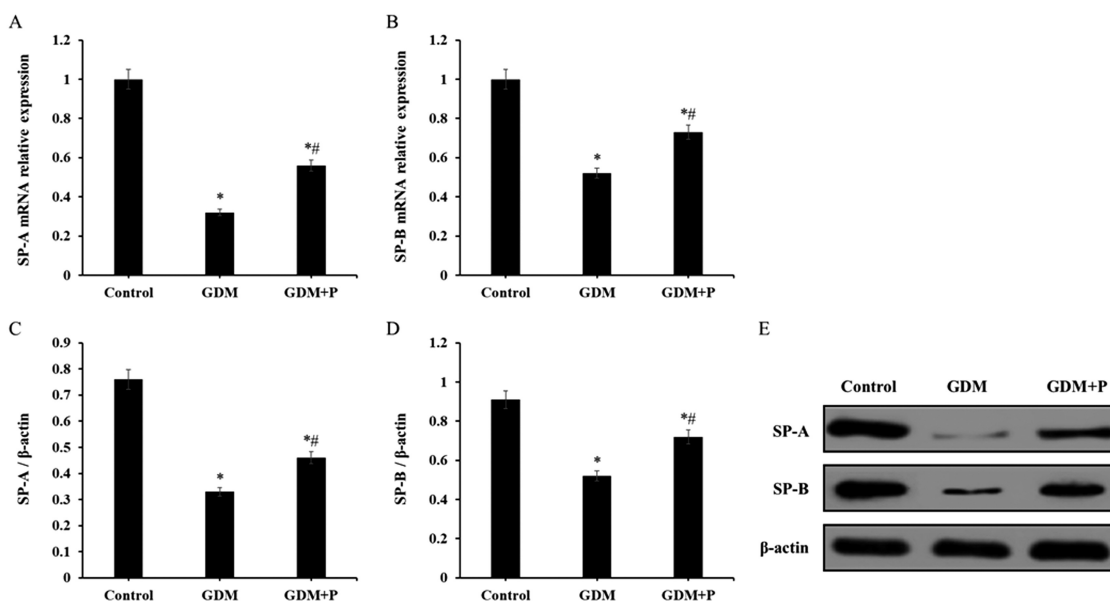


图4 各组胎肺组织中 SP-A 和 SP-B 的 mRNA 和蛋白表达

Fig. 4 SP-A and SP-B mRNA and protein expression in fetal lung tissues of each group

Note: A and B: RT-PCR detection of SP-A and SP-B mRNA levels; C~D: Western blot detection of SP-A and SP-B protein levels;

Compared with control group, * $P<0.05$; Compared with GDM group, ** $P<0.05$.

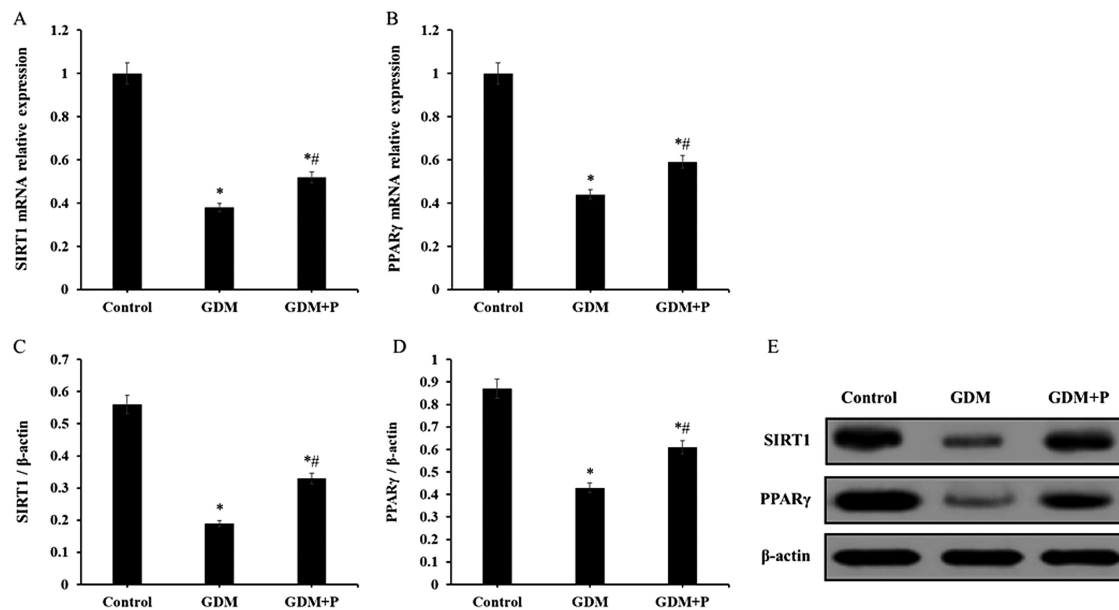


图 5 各组胎肺组织中 SIRT1 和 PPAR γ 的 mRNA 和蛋白表达

Fig. 5 mRNA and protein expressions of SIRT1 and PPAR γ in fetal lung tissue of each group

Note: A and B: RT-PCR detection of SP-A and SP-B mRNA levels; C~E: Western blot detection of SP-A and SP-B protein levels;

Compared with control group, * $P < 0.05$; Compared with GDM group, ** $P < 0.05$.

肺脏是一个有独特形态的器官,具有很大的表面积。肺泡表面活性物质是一种具有调节肺泡表面张力、减小呼吸阻力和抵御病原微生物的脂蛋白混合物。肺泡表面活性物质主要由磷脂和蛋白组成,磷脂占表面活性物质重量的 90%,蛋白占 10%^[13,14]。磷脂和蛋白(SP-A 和 SP-B)主要在肺泡 II 型上皮细胞(AEC II)中合成^[15]。SP-A 和 SP-B 对表面活性物质的形成和完整性具有重要作用,并且 SP-A 还参与调节磷脂的分泌和重吸收^[16]。本研究显示,GDM 仔鼠的胎肺组织中总磷脂含量 SP-A 和 SP-B 的表达水平明显降低,并且胎肺组织中脂滴明显减少,说明仔鼠胎肺发育被延迟。其原因可能是高血糖抑制了磷脂和蛋白的合成,进而使肺泡表面活性物质生成减少。

SIRT1 是一种在多种组织和器官中广泛表达的组蛋白脱乙酰化酶,参与调节糖脂代谢、胰岛 β 细胞功能和胰岛素信号通路^[17]。SIRT1 激活后可对 PPAR γ 等下游靶蛋白产生强烈的脱乙酰化作用并调控其转录,从而调节一系列生物学过程^[18-20]。研究显示,SIRT1 的低表达与胰岛 β 细胞功能障碍有关,上调 SIRT1 可维持胰岛 β 细胞功能、增加葡萄糖刺激的胰岛素分泌、提高胰岛素敏感性^[21]。另外,SIRT1 也参与调节脂代谢^[22]。PPAR γ 是配体激活的转录调节因子,在脂质代谢中具有关键功能^[23],同时,PPAR γ 也是 SIRT1 的关键底物^[24]。PPAR- γ 的活化可通过激活下游靶标参与调节脂肪酸储存和葡萄糖代谢。SIRT1 通过调控 PPAR- γ 的表达来调节脂代谢过程。本研究显示,GDM 仔鼠的胎肺组织中 SIRT1 和 PPAR γ 的表达水平均明显降低。上述结果提示,孕鼠发生 GDM 后可抑制仔鼠胎肺组织中 SIRT1/PPAR γ 信号通路的激活,进而破坏了仔鼠的胰岛 β 细胞功能,导致糖脂代谢障碍。

吡格列酮是一种广泛使用的降糖药物和胰岛素增敏剂^[25]。本研究使用吡格列酮对 GDM 孕鼠进行治疗,研究显示吡格列酮明显降低了孕鼠的血糖水平并降低了孕鼠和仔鼠的胰岛素

水平,此外,吡格列酮促进了 GDM 仔鼠的肺发育并激活了 SIRT1/PPAR γ 信号通路。上述结果进一步证实 GDM 导致了仔鼠肺成熟障碍可能主要是由高血糖和低胰岛素敏感性所引起。另外,吡格列酮通过升高仔鼠胎肺组织中总磷脂含量以及 SP-A、SP-B、SIRT1 和 PPAR γ 的表达进而促进了仔鼠的肺发育。因此,本研究推测通过上述指标的水平可有效抑制 GDM 引起的仔鼠肺发育障碍。

综上所述,本研究表明,采用中剂量 STZ 一次性腹腔注射联合高脂饲养孕鼠的方式,可成功诱导妊娠期糖尿病模型。GDM 母鼠存在的糖脂代谢障碍可抑制仔鼠肺发育延迟,其分子机制可能是通过抑制仔鼠肺组织中 SIRT1/PPAR γ 信号通路,进而影响仔鼠肺泡 II 型上皮细胞(AEC II)功能导致肺泡表面活性物质的合成减少,从而导致仔鼠肺成熟延迟。然而,应用吡格列酮干预后,上述病理指标变化及仔鼠肺发育延迟均得到有效改善。上述结果证实了前文中所述的 GDM 对仔鼠肺成熟的影响机制,并且提示吡格列酮可用于预防 GDM 引起的仔鼠肺发育障碍。此外,开发具有类似功能的药物可能是预防 GDM 引起的仔鼠肺发育障碍的主要研究方向。

参考文献(References)

- [1] Yamamoto J M, Kellett J E, Balsells M, et al. Gestational diabetes mellitus and diet: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials examining the impact of modified dietary interventions on maternal glucose control and neonatal birth weight[J]. *Diabetes Care*, 2018, 41(7): 1346-1361
- [2] Sun X, Yang L, Pan J, et al. Age at menarche and the risk of gestational diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis [J]. *Endocrine*, 2018, 61(2): 204-209
- [3] Xia X, Liang C, Sheng J, et al. Association between serum arsenic levels and gestational diabetes mellitus: A population-based birth cohort study[J]. *Environ Pollut*, 2018, 235: 850-856

- [4] Damm P, Houshmandoeregaard A, Kelstrup L, et al. Gestational diabetes mellitus and long-term consequences for mother and offspring: a view from Denmark[J]. *Diabetologia*, 2016, 59(7): 1396-1399
- [5] Li S, Zhu Y, Yeung E H, et al. Offspring risk of obesity in childhood, adolescence and adulthood in relation to gestational diabetes mellitus: a sex-specific association[J]. *Int J Epidemiol*, 2017, 46(5): 1533-1541
- [6] Masalin S, Laine M K, Kautiainen H, et al. Impact of maternal height and gestational diabetes mellitus on offspring birthweight[J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2019, 148: 110-118
- [7] Grotenfelt N E, Rono K, Eriksson J G, et al. Neonatal outcomes among offspring of obese women diagnosed with gestational diabetes mellitus in early versus late pregnancy [J]. *J Public Health*, 2019, 41 (3): 535-542
- [8] Patel R, Shervington A, Pariente J A, et al. Mechanism of exocrine pancreatic insufficiency in streptozotocin-induced type 1 diabetes mellitus[J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2006, 1084(1): 71-88
- [9] Damasceno D C, Netto A O, Iessi I L, et al. Streptozotocin-induced diabetes models: pathophysiological mechanisms and fetal outcomes [J]. *Biomed Res Int*, 2014, 2014: 819065-819065
- [10] He M, Wang G, Han S, et al. Negative impact of hyperglycaemia on mouse alveolar development[J]. *Cell Cycle*, 2018, 17(1): 80-91
- [11] Zhao Z. TGF β and Wnt in cardiac outflow tract defects in offspring of diabetic pregnancies [J]. *Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol*, 2014, 101(5): 364-370
- [12] Yoon D H, Lim M H, Lee Y R, et al. A novel synthetic analog of militarin, MA-1 induces mitochondrial dependent apoptosis by ROS generation in human lung cancer cells [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2013, 273(3): 659-671
- [13] Zhao Q, Li Y, Chai X, et al. Interaction of inhalable volatile organic compounds and pulmonary surfactant: Potential hazards of VOCs exposure to lung[J]. *J Hazard Mater*, 2019, 369: 512-520
- [14] Zhao Q, Li Y, Chai X, et al. Interaction of nano carbon particles and anthracene with pulmonary surfactant: The potential hazards of inhaled nanoparticles[J]. *Chemosphere*, 2019, 215: 746-752
- [15] Correll K, Edeen K E, Zemans R L, et al. TGF β inhibits expression of SP-A, SP-B, SP-C, but not SP-D in human alveolar type II cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 499(4): 843-848
- [16] Martinezcalle M, Alonso A, Perezgil J, et al. Native supramolecular protein complexes in pulmonary surfactant: Evidences for SP-A/SP-B interactions[J]. *J Proteomics*, 2019, 207: 103466
- [17] Chen S, Zhao Z, Ke L, et al. Resveratrol improves glucose uptake in insulin-resistant adipocytes via Sirt1 [J]. *J Nutr Biochem*, 2018, 55: 209-218
- [18] Amat R, Planavila A, Chen S L, et al. SIRT1 controls the transcription of the peroxisome proliferator-activated receptor- γ Co-activator-1 α (PGC-1 α) gene in skeletal muscle through the PGC-1 α autoregulatory loop and interaction with MyoD [J]. *J Biol Chem*, 2009, 284(33): 21872-21880
- [19] Canto C, Auwerx J. PGC-1 α , SIRT1 and AMPK, an energy sensing network that controls energy expenditure [J]. *Curr Opin Lipidol*, 2009, 20(2): 98-105
- [20] Kauppinen A, Suuronen T, Ojala J, et al. Antagonistic crosstalk between NF- κ B and SIRT1 in the regulation of inflammation and metabolic disorders[J]. *Cell Signal*, 2013, 25(10): 1939-1948
- [21] Ramsey K M, Mills K F, Satoh A, et al. Age-associated loss of Sirt1-mediated enhancement of glucose-stimulated insulin secretion in beta cell-specific Sirt1-overexpressing (BESTO) mice [J]. *Aging Cell*, 2008, 7(1): 78-88
- [22] Yao H, Tao X, Xu L, et al. Dioscin alleviates non-alcoholic fatty liver disease through adjusting lipid metabolism via SIRT1/AMPK signaling pathway[J]. *Pharmacol Res*, 2018, 131: 51-60
- [23] Wu W, Wang S, Xu Z, et al. Betaine promotes lipid accumulation in adipogenic-differentiated skeletal muscle cells through ERK/PPAR γ signalling pathway[J]. *Mol Cell Biochem*, 2018, 447(1): 137-149
- [24] Wang L, Miao L, Wang X, et al. CD38 deficiency suppresses adipogenesis and lipogenesis in adipose tissues through activating Sirt1/PPAR γ signaling pathway [J]. *J Cell Mol Med*, 2018, 22(1): 101-110
- [25] Yan H, Xie H, Ying Y, et al. Pioglitazone use in patients with diabetes and risk of bladder cancer: a systematic review and meta-analysis[J]. *Cancer Manag Res*, 2018, 10: 1627-1638