

◇基础医学研究◇

日本血吸虫感染对 C57BL/6J 小鼠脂肪肝及胰岛素抵抗的影响

赵娜¹ 李素梅¹ 王维² 李春燕¹ 方星星¹ 孙科¹

摘要 目的 观察血吸虫感染对高脂饮食诱导的脂肪肝小鼠肝组织结构与功能、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、核因子- κ B (NF- κ B) 及 Ym-1 mRNA 表达的影响,探讨巨噬细胞选择性活化对肥胖鼠肝脏及胰岛素抵抗的影响及可能机制。方法

建立日本血吸虫感染复合高脂饲养 C57BL/6J 小鼠模型,测定空腹血糖 (FBG)、血浆胰岛素水平 (FINS)、计算胰岛素抵抗指数 (HOMA-IR);测定肝匀浆液谷丙转氨酶 (ALT)、三酰甘油 (TG) 及胆固醇 (TC) 水平;HE 染色观察肝组织病理改变,RT-PCR 检测肝组织 TNF- α 、NF- κ B 及 Ym-1 转录水平等。结果 ① 感染后第 6 周,高脂 (HF) 组及高脂感染 (HSj) 组小鼠体重均较对照 (NC) 组增加 >20%,肥胖模型造模成功。结合肝组织病理,脂肪肝造模成功。② 感染后第 6 周及第 12 周,HSj 组小鼠肝细胞脂肪变性及炎性细胞浸润较同期 HF 组轻,HSj 组 HOMA-IR 较同期 HF 组下降 ($P < 0.05$)。③ 感染后第 6 周和第 12 周时,HF 组 TNF- α mRNA 及 NF- κ B mRNA 表达高于 HSj 组和 NC 组 ($P < 0.05$);第 6 周末时,HF 组 Ym-1 mRNA 的表达高于 NC 组和 HSj 组 ($P < 0.05$),第 12 周末时 HSj 组表达强度高于 HF 组和 NC 组 ($P < 0.05$),且较 6 周时表达增强 ($P < 0.05$)。④ HF 组小鼠 HOMA-IR 与肝组织 TNF- α mRNA 光密度相对值呈正相关 ($r = 0.680$, $P = 0.018$);HSj 组小鼠 HOMA-IR 与肝组织 Ym-1 mRNA 光密度相对值呈负相关 ($r = -0.724$, $P = 0.015$)。结论 肥胖鼠脂肪肝组织中炎症因子 TNF- α 及调控因子 NF- κ B 的表达水平与胰岛素抵抗的形成有一定关系,日本血吸虫感染通过诱导肥胖鼠巨噬细胞选择性活化 Ym-1 转录水平增高及 TNF- α 和 NF- κ B 转录水平的降低,改善胰岛素抵抗,为糖尿病防治研究提供新思路。

关键词 血吸虫;巨噬细胞;炎症因子;胰岛素抵抗

中图分类号 R 383.2;R 589.2

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2014)11-1525-06

经典活化巨噬细胞 (classically activated macrophage, CAMs or M1) 和旁路活化巨噬细胞 (alternatively activated macrophage, AAMs or M2) 是巨噬细胞

的两大极化类型,功能截然不同甚至相互抑制,在不同免疫反应和疾病过程中发挥重要的调控作用^[1-2]。高脂饮食 (high-fat diet, HF) 诱导肥胖引起的 M1 型巨噬细胞的数量以及 M1/M2 值的增加均与胰岛素抵抗的发生、发展密切相关^[3]。慢性血吸虫感染促使组织中巨噬细胞向 M2 分化,抑制炎症反应,参与血管再生、组织修复等,表现出对机体的保护功能^[4]。目前血吸虫卵感染与肥胖相关性疾病发病机制的研究报道较少,其调节饮食性肥胖小鼠巨噬细胞 M2 亚型转化等研究国内外报道尚不多见,该研究通过 HF 建立肥胖 C57BL/6J 小鼠,并观察日本血吸虫感染对小鼠肝脏 M2 型巨噬细胞特异性标志蛋白 Ym-1 及炎症因子表达的影响,拟探讨巨噬细胞极化对饮食性肥胖小鼠肝脏组织功结构及胰岛素抵抗的影响及可能机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物分组 3 周龄雄性 C57BL/6J 小鼠 36 只,清洁级,体重 (13.7 ± 2.5) g,购于安徽医科大学实验动物中心。适应性喂养 1 周后随机分为 3 组:对照 (normal controls, NC) 组 12 只,标准饲料喂养;HF 组 12 只,高脂饲料喂养 (标准小鼠饲料中添加 15% 的蔗糖、15% 的熟猪油、2% 的胆固醇、0.3% 的胆酸);高脂饮食复合血吸虫感染 (high-fat-diet with *Schistosoma japonicum* infected, HSj) 组 12 只,经腹部皮肤感染日本血吸虫尾蚴,同时予以高脂饲养,尾蚴由安徽医科大学寄生虫学教研室提供。

1.1.2 标本的采集 分别于感染后第 6、12 周末予以 10% 的水合氯醛 (0.003 5 ml/g) 腹腔注射麻醉后断颈、剖杀小鼠,眼球摘除法收集血液,解剖小鼠取肝组织,部分肝组织置 4% 多聚甲醛溶液固定,其余肝组织放冻存管中置 -80 °C 冰箱保存。

1.1.3 主要试剂及仪器 血糖仪 (德国罗氏公司);血浆胰岛素 (fasting plasma insulin, FINS) 试剂盒 (北京北方研究所);谷丙转氨酶 (alanine aminotransferase, ALT) 试剂盒 (南京建成公司);三酰甘油 (triglyceride, TG) 及胆固醇 (cholesterol, TC) 试剂

2014-05-09 接收

基金项目:安徽省卫生厅医学科研基金 (编号:13zc017)

作者单位:¹安徽医科大学附属省立医院内分泌科,合肥 230001

²安徽医科大学寄生虫学教研室,合肥 230032

作者简介:赵娜,女,硕士研究生;

李素梅,女,主任医师,副教授,硕士生导师,责任作者, E-mail: Lisumei0808@126.com

盒(长春汇力公司);TRIzol(美国 Invitrogen 公司);逆转录试剂盒(立陶宛 Fermentas 公司);扩增试剂盒(美国 Thermo 公司)。

1.2 方法

1.2.1 空腹血糖(fasting peripheral blood glucose, FBG)及 FINS 水平测定并计算胰岛素抵抗指数(insulin resistance index, HOMA-IR) 小鼠隔夜禁食不禁水,剪尾,血糖仪测定 FBG,摘除眼球取血,常温下 3 500 r/min 离心 10 min,收集上清液,采用放射免疫法测定 FINS, $HOMA-IR = FBG \times FINS / 22.5$ 。

1.2.2 ALT、TG 及 TC 水平的测定 取 500 mg 肝组织,加入 1 ml 匀浆液(1 片蛋白酶抑制剂:10 ml PBS:10 μ l 0.1% Triton X-100),充分研磨,4 $^{\circ}$ C、12 000 r/min 离心 10 min,取上清液得到肝匀浆液,采用赖氏法测定 ALT,采用氧化酶法测定 TG、TC,按照试剂盒说明书操作。

1.2.3 肝组织病理学观察 新鲜肝组织置 4% 多聚甲醛溶液中固定 48 h,石蜡包埋,切片连续切片(片厚 4 μ m),进行 HE 染色,每张切片平均采图 5 幅。

1.2.4 RT-PCR 法检测肝脏肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、核因子- κ B(nuclear factor kappa B, NF- κ B)及 Ym-1 mRNA 表达 取 100 mg 新鲜肝组织置匀浆器中,加入 1 ml TRIzol 充分研磨,按说明书提取总 RNA。按照逆转录试剂盒逆转录 cDNA,以此为模板进行 PCR 扩增,Ym-1 上游引物:5'-GGGCATACCTTTATCCTGAG-3',下游引物:TGAAGTCATCCATGTC-3',304 bp;TNF- α 上游引物:5'-CTGTGAAGGGAATGGGTGTT-3',下游引物:5'-CAGGGAAGAATCTGGAAGGTC-3',384 bp;NF- κ B 上游引物:5'-CCAGGCGGACATCTACAA-3',下游引物:5'-CAAGGCCAAATGAAAGGA-3',230 bp。取 PCR 产物 6 μ l 经 1% 琼脂糖凝胶电泳,并用凝胶成像系统扫描,进行产物灰度图像分析,与 GAPDH 的电泳条带光密度值的比值作为相对表达量。

1.3 统计学处理 应用 SPSS 13.0 统计软件进行分析,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间数据比较采用单因素

方差分析,相关性采用 Pearson 相关性分析。

2 结果

2.1 小鼠一般情况 感染第 6 周末时每组随机选择 6 只小鼠取材,其中 HSj 组 1 只小鼠未感染血吸虫,淘汰出组;7 周时 NC 组小鼠死亡 1 只,10 周时 HSj 组死亡 1 只,故第 12 周末时 NC 组 5 只,HF 组 6 只,HSj 组 5 只小鼠完成实验。

2.2 各组小鼠体重、FBG、FINS、HOMA-IR 水平的变化 第 6 周末,HF 组及 HSj 组小鼠体重较 NC 组增加 >20%,肥胖模型造模成功。第 12 周末,HSj 组较 HF 组体重下降差异有统计学意义($P < 0.05$)。第 6 周末时 HF 组 FINS、HOMA-IR 较 NC 组升高($P < 0.05$),HF 组 FBG 较 NC 组升高差异无统计学意义,HSj 组 HOMA-IR 较 HF 组下降($P < 0.05$),而 HSj 组 FBG、FINS 与 HF 组比较差异无统计学意义。第 12 周末时 HF 组 FBG、FINS、HOMA-IR 均进一步升高且明显高于同期 NC 组($P < 0.05$),HSj 组 FBG、FINS、HOMA-IR 均较同期 HF 组下降($P < 0.05$),见表 1。

2.3 HF 及血吸虫感染对小鼠肝匀浆 TC、TG、ALT 水平的影响 第 6 周末 HF 组小鼠肝匀浆 TG 较 NC 组升高差异有统计学意义($P < 0.05$),TC 及 ALT 含量与 NC 组比较差异无统计学意义。第 6 周末时 HSj 组 TC、TG 水平较 HF 组下降组($P < 0.05$),ALT 变化不明显。第 12 周末时 HF 组肝匀浆 TC、TG、ALT 进一步较 NC 组升高($P < 0.05$),HSj 组 TC、TG 较同期 HF 组下降差异有统计学意义($P < 0.05$),但 ALT 升高($P < 0.05$)。见表 2。

2.4 C57BL/6J 小鼠肝组织外观及病理改变 肉眼观,在第 6 周末时,NC 组小鼠肝脏红润,HF 组小鼠肝脏边缘变钝、微黄色,可见黄色脂肪斑,HSj 组小鼠肝脏呈红褐色,体积较 HF 组肝脏小,可见颗粒状结节;第 12 周末时,NC 组小鼠肝脏外观无明显异常,HF 组及 HSj 组小鼠肝脏上述表现更加明显,见图 1。

表 1 3 组小鼠体重及 FBG、FINS 和 HOMA-IR 动态比较($\bar{x} \pm s$)

组别	6 周				12 周			
	体重(g)	FBG(mmol/L)	FINS(μ IU/ml)	HOMA-IR	体重(g)	FBG(mmol/L)	FINS(μ IU/ml)	HOMA-IR
NC	21.05 $\pm$ 2.32	8.03 $\pm$ 1.14	11.20 $\pm$ 2.74	3.11 $\pm$ 1.21	26.30 $\pm$ 2.0	7.35 $\pm$ 1.39	11.98 $\pm$ 3.87	3.66 $\pm$ 1.33
HF	26.98 $\pm$ 1.60*	9.22 $\pm$ 1.85	29.05 $\pm$ 11.66*	9.35 $\pm$ 2.76*	32.59 $\pm$ 2.03*	9.71 $\pm$ 1.46*	45.06 $\pm$ 9.51*	15.44 $\pm$ 5.38*
HSj	25.79 $\pm$ 2.98*	8.93 $\pm$ 1.84	24.35 $\pm$ 6.25	7.57 $\pm$ 1.21 [#]	28.14 $\pm$ 3.37 [#]	7.92 $\pm$ 1.79 [#] ▲	24.48 $\pm$ 5.68 [#]	8.82 $\pm$ 2.04 [#]
F 值	13.07	2.24	18.59	22.61	12.57	4.29	41.07	33.24

与同期 NC 组比较: * $P < 0.05$; 与同期 HF 组比较: [#] $P < 0.05$; 与第 6 周末时 HSj 组比较: ▲ $P < 0.05$

表2 各组小鼠肝匀浆 TC、TG 和 ALT 动态比较($\bar{x} \pm s$)

组别	6 周			12 周		
	TC (mmol/L)	TG (mmol/L)	ALT (mmol/L)	TC (mmol/L)	TG (mmol/L)	ALT (mmol/L)
NC	0.40 ± 0.03	0.21 ± 0.04	24.51 ± 4.75	0.44 ± 0.04	0.22 ± 0.02	24.56 ± 7.82
HF	0.49 ± 0.10	0.39 ± 0.08 [*]	32.15 ± 5.62	0.70 ± 0.06 [*]	0.56 ± 0.05 [*]	59.94 ± 6.72 [*]
HSj	0.39 ± 0.03 [#]	0.23 ± 0.04 [#]	32.85 ± 11.08	0.50 ± 0.10 ^{#▲}	0.43 ± 0.03 ^{#▲}	86.64 ± 10.55 ^{#▲}
F 值	4.99	35.99	3.41	41.48	26.66	55.61

与同期 NC 组比较: ^{*} $P < 0.05$; 与同期 HF 组比较: [#] $P < 0.05$; 与第 6 周末时 HSj 组比较: [▲] $P < 0.05$

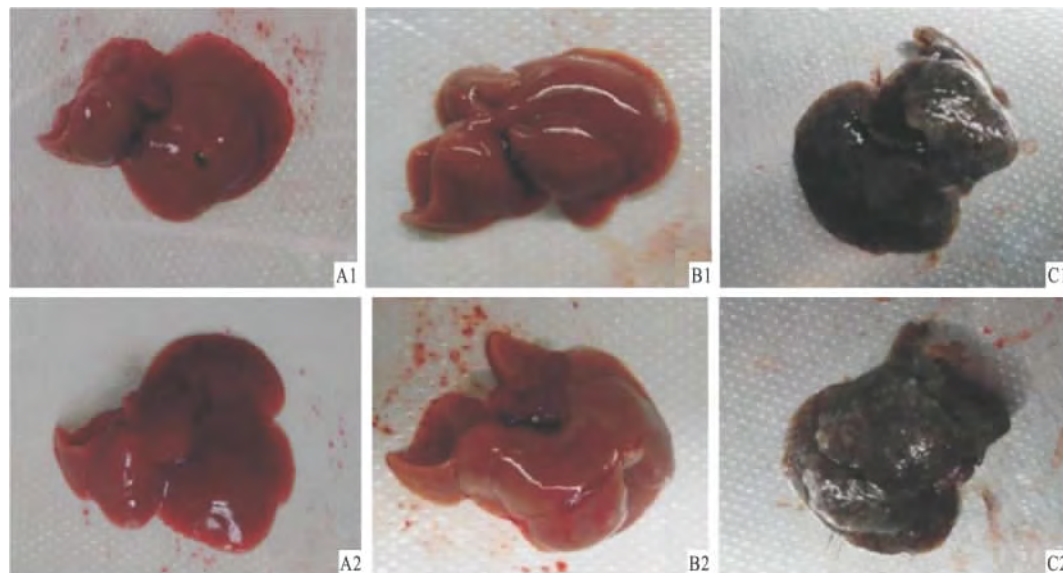


图1 各组小鼠肝脏动态比较

A: NC 组; B: HF 组; C: HSj 组; 1: 6 周末; 2: 12 周末

光学显微镜下, 在第 6 周末和第 12 周末 NC 组小鼠肝组织 HE 染色均未见明显异常。第 6 周末时 HF 组小鼠肝细胞内可见大小不等的脂滴空泡, 第 12 周末肝细胞内脂滴空泡更加明显, 可见气球样变及纤维化, HSj 组小鼠第 6 周末可见少量大小不等的脂滴空泡及肝细胞坏死, 第 12 周末时肝细胞坏死和肝纤维化加重。第 6 周末及第 12 周末 HF 组肝小叶内及汇管区均可见炎性细胞浸润, 较同期 HSj 组浸润增多, 见图 2。

2.5 C57BL/6J 肥胖小鼠肝组织 Ym-1、TNF- α 、NF- κ B mRNA 的表达 Ym-1 mRNA 的表达: 第 6 周末时, HF 组高于 NC 组和 HSj 组 ($P < 0.05$)。随着感染周数的增加 HSj 组 Ym-1 mRNA 表达逐渐增强 ($P < 0.05$)。至 12 周末时 HSj 组表达强度高于 HF 组和 NC 组 ($P < 0.05$)。且较 6 周末时表达增强 ($P < 0.05$)。

TNF- α mRNA 的表达: 第 6 周末时, HF 组高于 NC 组和 HSj 组 ($P < 0.05$)。第 12 周末时 HF 组仍高于 NC 组和 HSj 组 ($P < 0.05$)。但 HF 组第 6 周末与 12 周末间的变化无统计学意义。同样 HSj 组在第 6

周末与 12 周末间的变化差异无统计学意义。

NF- κ B mRNA 的表达: 第 6 周末时, HF 组高于 NC 组和 HSj 组 ($P < 0.05$)。随着高脂饮食周数的增加, HF 组 NF- κ B mRNA 表达逐渐增强 ($P < 0.05$)。至第 12 周末时 HF 组表达强度显著高于 HSj 组和 NC 组 ($P < 0.01$)。HSj 组较第 6 周末变化差异无统计学意义, 见图 3。

2.6 C57BL/6J 小鼠肝组织 Ym-1、TNF- α 、NF- κ B mRNA 的表达分别与 HOMA-IR 的相关分析 HF 组小鼠 HOMA-IR 与肝组织 Ym-1 mRNA 光密度相对值呈负相关, 与 TNF- α 、NF- κ B mRNA 光密度相对值呈正相关, 其中仅与 TNF- α mRNA 表达的正相关性具有统计学意义 ($r = 0.680$, $P = 0.018$)。HSj 组小鼠 HOMA-IR 与肝组织 Ym-1 mRNA 光密度相对值呈负相关 ($r = -0.724$, $P = 0.015$)。与 TNF- α 、NF- κ B mRNA 光密度相对值无相关性。

3 讨论

HF 诱导的肥胖及脂肪肝可促进巨噬细胞向 M1 型极化, 引起组织炎性反应及胰岛素抵抗 (insulin

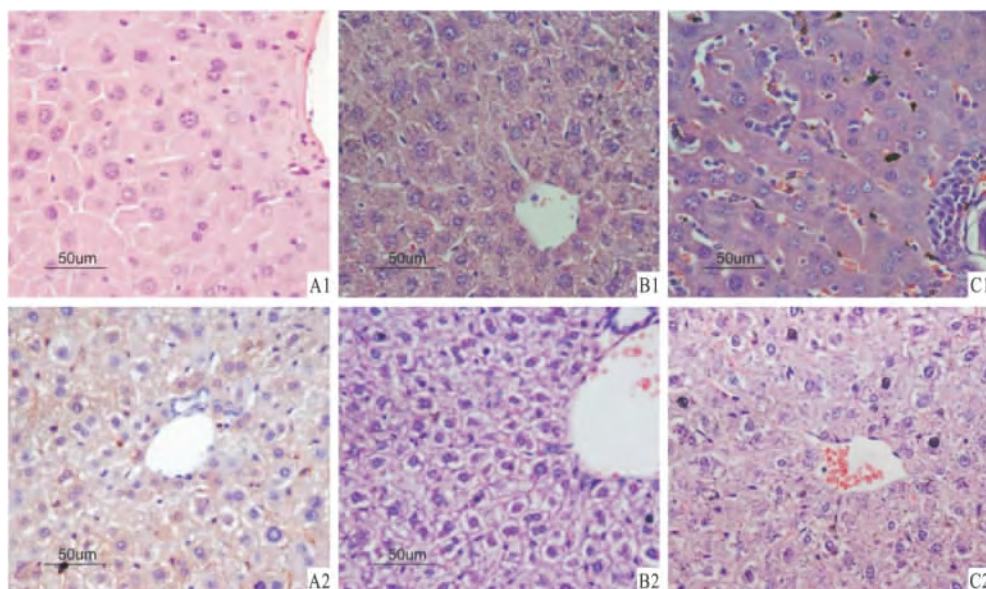


图2 动态观察 C57BL/6J 小鼠肝组织切片 HE ×400

A: NC 组; B: HF 组; C: HSj 组; 1:6 周末; 2:12 周末

resistance IR)^[5]。本研究通过 HF 诱导 C57BL/6J 小鼠肥胖模型, HF 组小鼠体重高于 NC 组, 超过 20%, 达到肥胖的标准, 出现高胰岛素血症, 高 HOMA-IR 病理见肝小叶内及汇管区炎性细胞浸润, 肝细胞脂滴空泡, 符合脂肪肝建模标准^[6], 且随着喂养周数的增加, 各指标升高及肝脏脂肪病变愈加明显, 提示 HF 促进了 C57BL/6J 小鼠糖脂代谢异常、非酒精性脂肪肝 (non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD) 及 IR 的发生发展。本研究显示炎症因子 TNF- α 及其调控因子 NF- κ B 与 NAFLD 和 IR 的发生发展相关。TNF- α 是由巨噬细胞产生的一种具有多种生物学效应的多肽, 其中促炎是其主要的功能。不仅从基因水平促进肝脏脂质的合成^[7], 还可以使血浆中的游离脂肪酸 (free fatty acids, FFA) 升高, 最终导致过多脂质在肝脏沉积。NF- κ B 是一种能与免疫球蛋白 κ 链基因的增强子 κ B 序列特异结合的核蛋白因子, 与许多靶基因的转录调控有关。其中, 被 NF- κ B 调控的炎症因子特别是 TNF- α 和分泌干扰素- γ (interferon- γ , IFN- γ), 是介导肝细胞凋亡的主要危险因子^[8]。研究^[9]显示, HF 诱导建立的大鼠模型中 FFA 可促进肝脏 NF- κ B 通路的激活和 IR。本研究中, 第 6 周末时 HF 组小鼠出现肝脏脂肪病变、高胰岛素血症及炎症细胞浸润, 肝组织 TNF- α 及 NF- κ B mRNA 表达增高, 且相关性分析显示 HF 组小鼠 HOMA-IR 与 TNF- α mRNA 表达呈正相关, 上述研究均表明炎症因子在 NAFLD 和 IR 中发挥一

定的作用。

辅助性 T 细胞 (T helper cells, Th) 被普遍认为是血吸虫感染后重要的免疫细胞, 通过分泌细胞因子发挥作用。根据分泌细胞因子的种类至少分为两大类: Th1 和 Th2。Th1 细胞主要分泌 IFN- γ 和 TNF- α , 促进巨噬细胞向 M1 活化, 引起 T 淋巴细胞介导的细胞毒作用和细胞免疫; Th2 细胞则产生白细胞介素-4 (interleukin, IL-4)、IL-5、IL-10 等, 介导抗体产生, 促进巨噬细胞向 M2 极化, 下调宿主的免疫反应。Th 亚群及其之间的平衡在免疫应答的调节中起着关键作用。炎症反应早期, 炎症因子及促炎因子等多种介质均能够诱导 M1 比例升高, 有利于清除病原微生物; 随着炎症进展, M2 数量或 M2/M1 逐渐增加, M2 占主导地位, 抑制炎症反应, 促进损伤修复^[10]。

研究^[11]显示, 机体内 Th 反应极化的方向随着血吸虫感染阶段的不同而不同, 感染第 6 周是 Th1 极化向 Th2 极化的转折点。血吸虫感染全过程宿主免疫应答经历了 Th1 向 Th2 漂移。血吸虫虫卵释放可溶性抗原, 介导虫卵肉芽组织的反应。巨噬细胞是重要的抗血吸虫感染的效应细胞, 通常血吸虫感染 6 周后, 虫卵沉积, 肝脏肉芽肿中 M2 的数量显著增加, 诱导 Th2 的产生, 参与下调宿主的免疫反应^[11]。M2 表达的趋化因子招募嗜酸性粒细胞参与组织修复与重塑, 有抵御蠕虫感染的作用。同时, M2 通过分泌抗炎因子 IL-10 和 (或) 转化生长因子

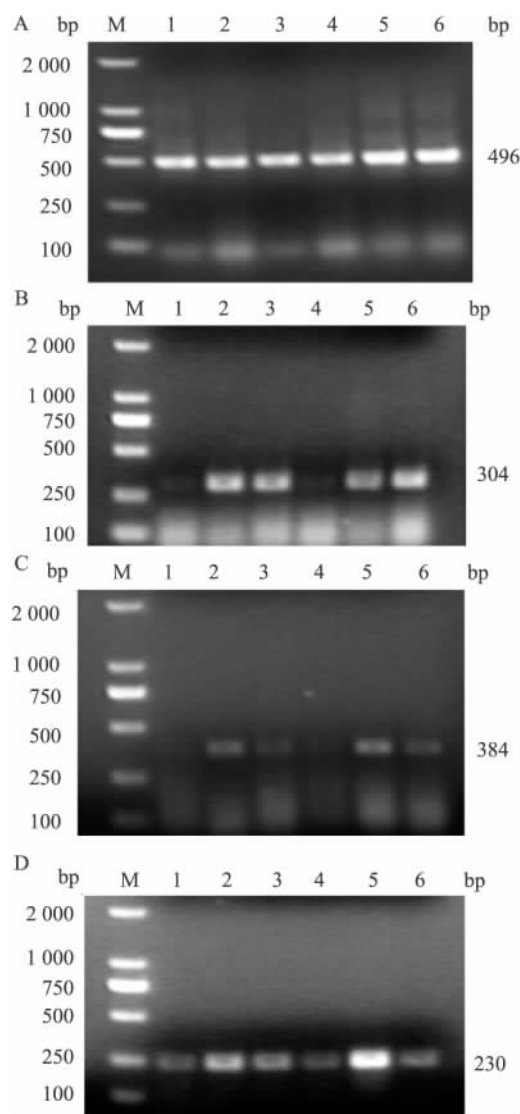


图3 动态观察肝组织 Ym-1、TNF- α 、NF- κ B mRNA 表达

A: GAPDH; B: Ym-1; C: TNF- α ; D: NF- κ B; M: Marker; 1~3: 6 周末 NC 组、HF 组、HSj 组; 4~6: 12 周末 NC 组、HF 组、HSj 组

β 等抑制 T 细胞的增值, 限制炎症反应和 I 型适应性免疫, 清除残留物, 促进血管生成, 参与组织重塑和修复, 增加胰岛素敏感性^[12-13], 可能的机制为 M2 诱导信号下调 NF- κ B 及信号转导及转录活化因子 1, 限制 I 型免疫反应和炎症相关趋化因子的表达^[14]。有学者提出血吸虫感染可诱导 Th2 应答, 促进 IL-13、IL-21 等 Th2 细胞因子表达, 具有防止 1 型糖尿病发生的作用^[15]。也有研究^[16]显示慢性血吸虫感染使腹腔巨噬细胞高表达 M2 型标志物, 同时抑制了 TNF- α mRNA 表达。近期对曾经血吸虫感染率较高的地区研究^[17]显示, 血吸虫感染人群较非感染人群的体质指数、腰臀比、FBG、饭后血糖、糖化血红蛋白、HOMA-IR 及 TG 水平降低, 且随着感

染时间的延长, 上述指标下降趋势愈明显。Ym-1 蛋白是一种嗜酸粒细胞趋化因子, 参与机体的免疫反应, 是 M2 特征性标志物之一, 本研究选择该因子作为巨噬细胞 M2 偏移的标志。本研究中 HSj 组小鼠在 12 周末时肝细胞脂肪变性及炎症细胞浸润, NF- κ B 及 TNF- α mRNA 表达, 及 HOMA-IR 均较同期 HF 组弱, 但 Ym-1 mRNA 的表达较强, 且与 HOMA-IR 呈负相关, 上述研究均提示血吸虫感染可能促进 M2 活化, 同时活化的 M2 具有抑制炎症因子表达的效应, 从而改善脂肪肝组织的功能及 IR。同时, 本研究显示 HSj 组肝细胞坏死及肝纤维化较 HF 组重, 肝匀浆 ALT 增高, 但具体的信号通路目前尚不明确。

总之, 炎症因子在 IR 中发挥一定的作用, 而慢性血吸虫感染有可能改善胰岛素敏感性, 这可能与激活 M2 型巨噬细胞的同时抑制促炎因子的活性有关, 其机制尚待深入研究。

参考文献

- [1] Mosser D M, Edwards J P. Exploring the full spectrum of macrophage activation [J]. Nat Rev Immunol, 2008, 8(12): 958-69.
- [2] Mosser D M, Zhang X. Activation of murine macrophages [J]. Curr Protoc Immunol, 2008, Chapter 14: Unit 14.2.
- [3] Fujisaka S, Usui I, Bukhari A, et al. Regulatory mechanisms for adipose tissue M1 and M2 macrophages in diet-induced obese mice [J]. Diabetes, 2009, 58(11): 2574-82.
- [4] Reyes J L, Terrazas L I. The divergent roles of alternatively activated macrophages in helminthic infections [J]. Parasite Immunol, 2007, 29(12): 609-19.
- [5] Fujii M, Inoguchi T, Batchuluun B, et al. CTLA-4Ig immunotherapy of obesity-induced insulin resistance by manipulation of macrophage polarization in adipose tissues [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2013, 438(1): 103-9.
- [6] 中华肝病学会脂肪肝和酒精性脂肪肝病组. 非酒精性脂肪性肝病诊疗指南(2010 年修订版) [J]. 中华肝病杂志, 2010, 18(30): 163-6.
- [7] Fon Tacer K, Kuzman D, Seliskar M, et al. TNF- α interferes with lipid homeostasis and activates acute and proatherogenic processes [J]. Physiol Genomics, 2007, 31(2): 216-27.
- [8] Hirano F, Komura K J, Fukawa E, et al. Tumor necrosis factor- α (TNF- α) induced RANTES chemokine expression via activation of NF- κ B and p38 MAP kinase: roles of TNF- α in alcoholic liver diseases [J]. J Hepatol, 2003, 38(4): 483-9.
- [9] Boden G, She P, Mozzoli M, et al. Free fatty acids produce insulin resistance and activate the proinflammatory nuclear factor- κ B pathway in rat liver [J]. Diabetes, 2005, 54(12): 3458-65.
- [10] Odegaard J I, Ricardo-Gonzalez R R, Goforth M H, et al. Macrophage-specific PPARgamma controls alternative activation and im-

- proves insulin resistance [J]. Nature ,2007 ,447(7148) :1116 – 20.
- [11] 祁瑶,宋晓蓉,徐元宏,等. Tim-2 在日本血吸虫感染小鼠 Th2 优势应答中的作用 [J]. 安徽医科大学学报,2012 ,47(11) :1273 – 7.
- [12] Tateya S ,Kim F ,Tamori Y. Recent advances in obesity-induced inflammation and insulin resistance [J]. Front Endocrinol (Lansanne) ,2013 ,4:93.
- [13] Espinoza – Jiménez A ,Peón A N ,Terrazas L I. Alternatively activated macrophages in types 1 and 2 diabetes [J]. Mediators Inflamm ,2012 ,2012:815953.
- [14] Biswas S K ,Gangi L ,Paul S ,et al. A distinct and unique transcriptional program expressed by tumor-associated macrophages (defective NF- κ B and enhanced IRF-3/STAT1 activation) [J]. Blood ,2006 ,107(5) :2112 – 22.
- [15] Zacccone P ,Burton O ,Miller N ,et al. Schistosoma mansoni egg antigens induce Treg that participate in diabetes prevention in NOD mice [J]. Eur J Immunol ,2009 ,39(4) :1089 – 107.
- [16] 杜林林,梁艳冰,唐皓,等. 慢性血吸虫感染对脓毒症小鼠保护作用的研究[J]. 中国危重病急救医学,2011 ,3(5) :290 – 3.
- [17] Chen Y H ,Lu J L ,Huang Y ,et al. Association of previous schistosoma infection with diabetes and metabolic syndrome: a cross-sectional study in rural china [J]. J Clin Endocrinol Metab ,2013 ,98(2) :E283 – 7.

Effects of *Schistosoma japonicum* infection on fatty liver and insulin resistance of C57BL/6J mice

Zhao Na¹ , Li Sumei¹ , Wang Wei² , et al

(¹ Dept of Endocrinology ,The Affiliated Provincial Hospital of Anhui Medical University Hefei 230001 ;

² Dept of Parasitology ,Anhui Medical University Hefei 230032)

Abstract Objective To observe the effects of schistosoma infection on fatty liver of C57BL/6J mice induced by high-fat diet , in which the following factors are considered: liver tissue structure and function , tumor necrosis factor- α (TNF- α) , nuclear factor- κ B (NF- κ B) and Ym-1. Besides , to explore influence and possible mechanism of macrophages alternative activation to liver and insulin resistance in obese mice. **Methods** High-fat-diet with *Schistosoma japonicum* infected mice were obtained. The levels of fasting blood glucose (FBG) , fasting plasma insulin (FINS) were measured , and insulin resistance index (HOMA-IR) was calculated. Then the contents of liver homogenate alanine aminotransferase (ALT) , triglyceride (TG) and cholesterol (TC) were detected. Finally , the pathological changes of liver were observed by HE staining. At the same time TNF- α , NF- κ B and Ym-1 mRNA were detected by RT-PCR. **Results** ① By the end of 6th week after infection , the weight of HF and HSj group achieved a 20% rise in comparison with the NC group. Combined with the pathological of liver , obesity and fatty liver of mice were obtained. ② Compared with the same period of HF group , hepatic steatosis , inflammatory cell infiltration and HOMA-IR were weakened in HSj group at 6th and 12th week after infection ($P < 0.05$). ③ The expression of TNF- α and NF- κ B mRNA in HF group were higher than HSj group and NC group by the end of 6th and 12th week after infection ($P < 0.05$). And the expression of Ym-1 mRNA in HF group was higher than NC group and HSj group by the end of 6th week ($P < 0.05$). The expression intensity of HSj group was higher than that of HF and NC group by the end of 12th week ($P < 0.05$) , and higher than before ($P < 0.05$). ④ A positive and significant correlation was observed between the HOMA-IR and TNF- α mRNA of HF mice ($r = 0.680$, $P = 0.018$) , no relationship with NF- κ B mRNA. Meanwhile , negative relationship was found between HOMA-IR and Ym-1 mRNA of HSj mice ($r = -0.724$, $P = 0.015$). **Conclusion** There is a certain relationship between the expression of TNF- α , NF- κ B and the development of insulin resistance of obese mice. *Schistosoma japonicum* infection increases expression of Ym-1 , which is one of the markers of alternatively activated macrophage , at the same time reduces the expression of TNF- α and NF- κ B , in addition , improves insulin resistance in obese mice. This may provide a new idea for prevention of diabetes mellitus.

Key words *Schistosoma japonicum* macrophage; inflammatory factors; insulin resistance