

高能量膳食对中老年食蟹猴糖尿病 相关基因表达的影响

张秀娟^① 李学家^① 季芳^① 靳丽莎^① 孙云霄^①
刘晓明^① 周彤^② 饶军华^② 彭白露^{②③*}

① 广东省昆虫研究所 广州 510260; ② 广东蓝岛生物技术有限公司 广州 510555;

③ 南方医科大学 广州 510515

摘要: 本研究选择空腹血糖值(FPG)在正常范围内($3.20 \text{ mmol/L} \leq \text{FPG} < 5.50 \text{ mmol/L}$)的中老年食蟹猴(*Macaca fascicularis*) 60只,高能量膳食诱导12个月后,将其分为正常血糖组和诱高血糖组($\text{FPG} \geq 5.50 \text{ mmol/L}$)。采用荧光定量PCR技术对2组中36个糖尿病相关基因在诱导前后外周血白细胞中的mRNA表达量进行分析。结果表明,高能量膳食诱导后,诱高血糖组FPG和甘油三酯(TG)显著高于正常血糖组($P < 0.05$),而胆固醇(TCHO)、高密度脂蛋白(HDL-C)、低密度脂蛋白(LDL-C)与分组无显著相关性($P > 0.05$)。基因表达水平上,诱高血糖组和正常血糖组均有血管紧张素转换酶基因(ACE)、肝糖原磷酸化酶基因(PYGL)、水通道蛋白基因(AQP2)等19个基因的mRNA表达量在高能量膳食诱导前后存在显著差异($P < 0.05$),且基因的表达模式变化一致,但诱高血糖组的mRNA表达量变化大,且三磷酸腺苷柠檬酸裂解酶(ACLY)、选择素L(SELL)、突触相关蛋白23(SNAP23)、突触融合蛋白(STX4)这4个基因的mRNA表达水平仅在诱高血糖组高能量膳食诱导前后呈差异表达($P < 0.05$)。

关键词: 食蟹猴; 2型糖尿病; 外周血白细胞; 基因表达

中图分类号: Q955 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263(2012)06-112-07

Diabetes-associated Genes Expression after High Energy Diet in Middle-age and Aged Cynomolgus Monkeys

ZHANG Xiu-Juan^① LI Xue-Jia^① JI Fang^① JIN Li-Sha^① SUN Yun-Xiao^①
LIU Xiao-Ming^① ZHOU Tong^② RAO Jun-Hua^② PENG Bai-Lu^{②③*}

① Guangdong Entomological Institute, Guangzhou 510260; ② Guangdong Landao Biotechnology Co., LTD, Guangzhou 510555;

③ Southern Medical University, Guangzhou 510515, China

Abstract: A total of 60 middle-age and aged (above 10 years) Cynomolgus Monkeys (*Macaca fascicularis*) with normal fasting plasma glucose (FPG) values ($3.20 \text{ mmol/L} \leq \text{FPG} < 5.50 \text{ mmol/L}$) were fed by high energy diet for twelve months. After feeding, they were classified into two groups, normal FPG group and induced high FPG group ($\text{FPG} \geq 5.50 \text{ mmol/L}$). Diabetes-associated gene expression profiles of peripheral blood leukocytes of the two groups were analyzed using quantitative real-time PCR before and after high energy

基金项目 国家“十二五”科技支撑计划研究项目(No. 2011ZX09307-303-037),广州市重大科技专项项目(No. 2010U1-E00811),广东省自然科学基金项目(No. 10451026001004520);

* 通讯作者, E-mail: pengbailu@hotmail.com;

第一作者介绍 张秀娟,女,博士;研究方向:非人灵长类实验动物学;E-mail: hallen6424@tom.com。

收稿日期: 2012-05-17,修回日期:2012-09-12

diet, respectively. The results showed that FPG and triglyceride (TG) of induced high FPG group were strikingly higher than normal FPG group ($P < 0.05$), but there was no significant difference in high density lipoprotein (HDL-C), low density lipoprotein (LDL-C), cholesterol (TCHO) between the two feeding groups ($P > 0.05$). Among 36 diabetes-associated genes tested, 19 genes (including angiotensin I converting enzyme (ACE), phosphorylase, glycogen, liver (PYGL), aquaporin 2 (AQP2)) displayed a similar expression pattern between induced high FPG group and normal FPG group and they were significantly up-regulated or down-regulated after high energy diet feeding ($P < 0.05$), while expression variation of all these 19 genes were stronger in induced FPG group compared to normal FPG group. The expressions of ATP-citrate lyase (ACLY), selectin-L (SELL), synaptosomal-associated protein 23 (SNAP23) and syntaxin 4A (STX4) were significantly different only in induced high FPG group ($P < 0.05$).

Key words: Cynomolgus Monkey (*Macaca fascicularis*); Type 2 diabetes mellitus (T2DM); Peripheral blood leucocytes; Gene expression

2 型糖尿病 (type 2 diabetes mellitus, T2DM) 是由遗传因素和环境因素共同作用导致的一种双重缺陷性(胰岛素作用缺陷和胰岛 β 细胞功能受损/ β 细胞胰岛素分泌障碍)疾病^[1],其发病率呈逐年递增的趋势,国际糖尿病联盟预计,到 2030 年全球糖尿病人口将达到 4.35 亿^[2]。据调查中国成年人糖尿病患病率已达 9.7%,糖尿病前期的患病率达 15.5%,中国已成为全世界糖尿病发生的重灾区^[3]。因此,在目前 2 型糖尿病发生率走向新高的严峻形势下探索其风险预警和早期诊断指标尤为重要。

T2DM 发病率的扩大趋势与人 (*Homo sapiens*) 的饮食结构有重大相关性。高能量膳食或西式饮食习惯导致的肥胖是增加 T2DM 患病敏感性的一个重要诱发因素^[4],据统计,在肥胖人群中患 T2DM 显著增加^[5],且报道的各种动物模型也证实了高能量膳食、肥胖和 T2DM 三者具有高度相关性^[6-8],因此称 2 型糖尿病是吃出来的“富贵病”。

因 T2DM 的早期诊断或风险预警指标从人样本中得出较为困难,只能借助于与人尽可能相近的动物模型。从糖尿病角度讲,膳食诱导的非人灵长类动物模型最为理想,食蟹猴 (*Macaca fascicularis*) 体型小巧,基因组与人类同源性高,且其发病过程中也存在与人类 T2DM 进程相似的糖代谢紊乱、胰岛素抵抗和高胰岛素血症等病理过程^[9-10],因而近年来食

蟹猴越来越多地被用于糖尿病相关研究中。

目前,利用全基因组扫描,基因表达系列分析、DNA 微阵列等方法已筛选出了大量糖尿病相关基因^[11-12],也有从糖尿病相关基因的多态性来预测糖尿病风险^[13],但关于 2 型糖尿病的早期诊断或风险预警指标研究报道较少。本研究通过高能量膳食饲喂中老年食蟹猴,以空腹血糖值(fasting plasma glucose, FPG)为主要评价指标,并以连续取材方便且对动物创伤小的外周血白细胞为实验材料,研究高能量膳食诱导前后糖尿病相关基因的 mRNA 表达差异,以此来探讨非人灵长类实验动物高能量膳食和 2 型糖尿病发病进程的相关性,初步遴选出一些可作为 T2DM 早期风险预警的候选基因。

1 材料与方法

1.1 实验动物的选择 选择 60 只 10 岁以上的中老年食蟹猴(雄性 31 只,雌性 29 只),由广东蓝岛生物技术有限公司提供,动物许可证号 SCXK(粤)2009-0010。实验猴采用特制的高糖高脂饮食(其中 40% 的能量来源于脂肪)喂养 12 个月。所有饲料均由广州饲料研究所生产,置于 4℃ 冷库中保存,保质期 2 个星期。

1.2 血清生化指标的测定和实验动物分组 血清样本的采集:食蟹猴禁食 14~16 h 后,隐静脉采血 3 ml,置于促凝管中,室温放置 30 min,4 000 r/min 离心 20 min 分离血清,立即用日立 7020 全自动生化分析仪检测 FPG、胆固醇

(cholesterol, TCHO)、甘油三脂 (triglyceride, TG)、高密度脂蛋白 (high density lipoprotein, HDL-C) 和低密度脂蛋白 (low density lipoprotein, LDL-C) 5 项指标。

参考实验室前期对食蟹猴的血糖值调查和研究分析^[14-15], 本研究中选择空腹血糖值 (FPG) 均处于正常范围内 ($3.20 \text{ mmol/L} \leq \text{FPG} < 5.50 \text{ mmol/L}$) 的食蟹猴 60 只, 膳食诱导 12 个月后再检测其 FPG 值, 按照诱导后的 FPG 值将其分为 2 组, 正常血糖组和诱高血糖组 ($\text{FPG} \geq 5.50 \text{ mmol/L}$)。

1.3 提取外周血白细胞总 RNA 及其 cDNA 的制备 股静脉采血 3 ml 置于含肝素抗凝管中, 将其与 15 ml 红细胞裂解液^[16] (1.6 mmol/L EDTA, 10 mmol/L KHCO_3 , 153 mmol/L NH_4Cl , pH 7.4) 混匀, 冰上放置 30 min, $1\,500 \text{ r/min}$ 离心 5 ~ 10 min 收集外周血白细胞。Trizol 法 (Invitrogen 公司产品) 提取外周血白细胞总 RNA。通过凝胶电泳检测 RNA 的质量, 并计算其浓度。取大约 $0.5 \mu\text{g}$ RNA, 用 EasyScript First-Strand cDNA Synthesis SuperMix (北京全式金生物技术有限公司) 将 RNA 逆转录成 cDNA, 所得 cDNA 于 -20°C 保存备用。

1.4 荧光定量 PCR 反应 以人糖尿病 PCR 芯片 (http://sabiosciences.com/rt_pcr_product/HTML/PAHS-023A.html) 为参考, 前期研究表明, 其中 36 个糖尿病相关基因可在食蟹猴外周血白细胞中有效表达^[15], 本研究采用荧光定量 PCR 技术分别检测这 36 个糖尿病相关基因在高能量膳食前后外周血白细胞中 mRNA 表达状况。这 36 个基因按功能分为如下 6 类。

代谢酶类: *ACE*、*ACLY*、*G6PD*、*GSK3B*、*IDE*、*PRKCB1*、*PRKAA1*、*PRKAG2*、*PYGL*; 受体、通道和运输蛋白类: *AQP2*、*CCR2 β* 、*CEACAM1*、*CTLA4*、*ICAM1*、*NSF*、*RAB4A*、*SELL*、*SNAP23*、*STX4*、*STXBP2*、*TNFRSF1A*、*VAMP3*、*VAPA*; 分泌因子类: *AGT*、*IFNG*、*INS*、*TNF*; 信号转导类: *IGFBP5*、*PIK3C2B*、*PIK3R1*、*I κ B α* ; 转录因子类: *NEUROD1*、*PPARGC1*、*IGF2BP2*; 肥胖基因: *CDKN2B*、*FTO*。

以 *GAPDH* 作内参^[17], 所有糖尿病相关基因和内参基因的 PCR 产物长度均在 200 ~ 300 bp 之间。采用 SYBR Green I 染料 (TaKaRa) 在 Applied Biosystems StepOne™ Real-Time PCR System 上进行荧光定量 PCR, 采用 $20 \mu\text{l}$ 反应体系: $10 \mu\text{l}$ SYBR® Premix Ex Taq™ ($2 \times$), $0.4 \mu\text{l}$ PCR Forward Primer ($10 \mu\text{mol/L}$), $0.4 \mu\text{l}$ PCR Reverse Primer ($10 \mu\text{mol/L}$), $2 \mu\text{l}$ cDNA, $7.2 \mu\text{l}$ ddH_2O 。荧光定量 PCR 反应步骤: 95°C 30 s; 95°C 5 s, 60°C 34 s, 共 40 个循环; 溶解曲线分析采用系统默认设置 (即 95°C 15 s, 60°C 1 min, 95°C 15 s, 60°C 15 s; 速度为 1.6°C/s)。所有基因 PCR 产物均纯化回收, 并测序验证, 将测序结果与华大基因食蟹猴数据库中相应基因比对验证。所有荧光定量 PCR 反应均重复 3 次。

1.5 数据处理和分析 去除无扩增荧光信号、溶解曲线差、 $\text{Ct} < 8$ 或 $\text{Ct} > 35$ 及 $\Delta\text{Ct} > 13$ 的荧光定量 PCR 反应, 采用 Applied Biosystems StepOne™ Software v2.1 对荧光定量 PCR 结果进行初步分析。正常血糖组和诱高血糖组分别以膳食诱导前为参照样本, $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 法分析各基因的相对表达量, 相关数据以 $\text{Mean} \pm \text{SE}$ 表示。用软件 SPSS17.0 独立样本 t 检验, $P < 0.05$ 认为有显著性差异。

2 结 果

2.1 高能量膳食诱导对中老年食蟹猴血生化指标的影响 中老年食蟹猴饲喂高能量膳食 12 个月后, 46.67% (28/60) 食蟹猴个体的血糖从正常值进入高血糖范围, 从而成为诱发 2 型糖尿病的高危群体。统计 5 个血生化指标在高能量膳食诱导前后的结果, 诱高血糖组 FPG 和 TG 在膳食诱导后显著高于诱导前及正常血糖组 ($P < 0.05$), 而正常血糖组在诱导前后 FPG 和 TG 无显著变化; 其他 3 个脂代谢指标, TCHO、HDL-C 和 LDL-C 在正常血糖组和诱高血糖组诱导后均显著高于诱导前 ($P < 0.05$), 而诱导后 2 组之间无显著差异 (表 1)。

表 1 5 个血生化指标在高能量膳食诱导前后的统计分析

Table 1 Statistical analysis of five blood biochemical indicators before and after high energy diet

组别 Group	时期 Phase	生化指标 Biochemical indicators (mmol/L)				
		空腹血糖 Fasting plasma glucose (FPG)	胆固醇 Cholesterol (TCHO)	高密度脂蛋白 High density lipoprotein (HDL-C)	低密度脂蛋白 Low density lipoprotein (LDL-C)	甘油三酯 Triglyceride (TG)
正常血糖组 Normal FPG group(<i>n</i> = 32)	诱导前 Before high energy diet	4. 25 ± 0. 57 ^a	2. 66 ± 0. 58 ^a	1. 34 ± 0. 43 ^a	0. 80 ± 0. 31 ^a	0. 69 ± 0. 21 ^a
	诱导后 After high energy diet	4. 66 ± 0. 57 ^a	10. 24 ± 4. 81 ^b	2. 07 ± 0. 67 ^b	8. 33 ± 4. 87 ^b	0. 86 ± 0. 42 ^a
诱高血糖组 Induced high FPG group (<i>n</i> = 28)	诱导前 Before high energy diet	4. 39 ± 0. 61 ^a	2. 58 ± 0. 56 ^a	1. 25 ± 0. 39 ^a	0. 74 ± 0. 32 ^a	0. 79 ± 0. 23 ^a
	诱导后 After high energy diet	7. 27 ± 1. 81 ^b	8. 6 ± 4. 34 ^b	1. 90 ± 0. 55 ^b	7. 02 ± 4. 94 ^b	1. 08 ± 0. 47 ^b

同一列数值后有不同小写字母者表示差异显著 ($P < 0.05$, Duncan's 法)。
The different small letter in the same column indicates significant difference ($P < 0.05$, Duncan's method)。

2.2 高能量膳食诱导前后糖尿病相关基因的 mRNA 表达分析 高能量膳食诱导后,36 个糖尿病相关基因的检测结果(表 2)显示,在正常血糖组和诱高血糖组分别有 22 个和 23 个基因在诱导前后存在差异性表达($P < 0.05$),其中,ACE 等 16 个基因表达在两组均显著上调,PPKAG2 等 3 个基因表达在两组均显著下调。相对正常血糖组,诱高血糖组在诱导前后表达变化幅度大。诱高血糖组 ACLY、SELL、SNAP23、STX4 基因的表达水平在诱导前后存在显著差异($P < 0.05$),而这些基因在诱导前后的正常血糖组表达无显著差异。

3 讨 论

2010 年美国糖尿病协会制定的人类糖尿病诊断标准:糖化血红蛋白(glycosylated hemoglobin, HbA1c) $\geq 6.5\%$ 或空腹血糖 ≥ 7.0 mmol/L 或口服糖耐量试验(oral glucose tolerane test, OGTT) 2 h 血糖 ≥ 11.1 mmol/L 或有高血糖的症状或高血糖危象,且随机血糖 ≥ 11.1 mmol/L。而对于非人灵长类动物糖尿病诊断标准,尚缺少统一的结论,近年来一些报道在筛选猕猴属物种自发性糖尿病猴时提出了一些相关标准,如 Leroith 等^[18]定义猕猴(*M. mulatta*)糖尿病血糖值为 ≥ 5.6 mmol/L, Wanger 等^[19]研究推断,当食蟹猴的血糖值达

5.5 ~ 7.0 mmol/L 则极其可能为糖尿病,本实验室前期研究推断,食蟹猴血糖值 ≥ 5.5 mmol/L 为疑似糖尿病个体,后经 OGTT 和尿糖结果进一步验证该推断可作为食蟹猴糖尿病筛选标准^[20]。本研究中以 FPG > 5.5 mmol/L 为分界,将高能量膳食诱导前后的食蟹猴群分为两组,即诱导前后血糖正常组和诱导前后诱高血糖组,具有合理的分组依据,因此探讨两组在诱导前后的血脂变化和筛选糖尿病相关基因中的差异基因具有重要意义。

20 世纪 70 年代末诞生了基因诊断,可以在尚未出现症状时揭示与疾病相关基因的状态,从而对表型正常的携带者及某种疾病的易感者作出诊断和预测。高能量膳食诱导 T2DM 动物模型可在短期内引发糖尿病相关基因的变化。高脂饮食喂养 C57B/6J 小鼠(*Mus musculus*)1 周后,其空腹血糖值已显著上升,虽然其胰岛结构和胰岛仍保持完整,但其糖代谢相关基因胰十二指肠同源异型盒基因(*pdx-1*)和葡萄糖转运因子基因(*GLUT-2*)等的表达已出现显著变化^[21]。较早的研究结果阐述了一些基因与 T2DM 的易感性有高度相关性,如癌基因家族成员(*RAB4a*),在肥胖的糖尿病患者和小鼠的脂肪组织中观察到该基因 mRNA 表达量下降^[22],可溶性 N-乙基马来酰亚胺敏感因子基因(*NSF*)在糖尿病患者和糖尿病模型猴外

表 2 高能量膳食诱导前后糖尿病相关基因的相对表达量

Table 2 Relative quantity of diabetes-associated genes before and after high energy diet

基因 Gene	GenBank 登录号 Accession No.	相对表达量 Relative quantity			
		正常血糖组 Normal FPG group (n = 32)		诱导高血糖组 Induced high FPG group (n = 28)	
		诱导前 Before high energy diet	诱导后 After high energy diet	诱导前 Before high energy diet	诱导后 After high energy diet
代谢酶类 Metabolic enzymes					
ACE	NM_001135696	1.38 ± 1.23	12.56 ± 6.13 **	1.06 ± 0.85	25.74 ± 16.49 **
ACLY	DQ147961	1.55 ± 1.13	0.97 ± 0.75	0.98 ± 0.57	0.24 ± 0.22 **
G6PD	XM_001095273	0.78 ± 0.62	1.72 ± 0.89	0.82 ± 0.41	1.76 ± 1.36
GSK3B	XM001110547	0.68 ± 0.49	1.68 ± 1.21	1.33 ± 0.78	1.88 ± 1.26
IDE	XM_001090017	1.33 ± 0.78	2.15 ± 1.32	1.13 ± 0.67	2.19 ± 1.87
PRKCB1	XM001095880	1.29 ± 0.79	0.81 ± 0.69	0.99 ± 0.64	0.56 ± 0.78
PRKAA1	CO581780.1	1.29 ± 1.02	2.88 ± 2.41 *	0.97 ± 0.74	5.25 ± 3.07 **
PRKAG2	AF087875	1.28 ± 0.98	0.02 ± 0.01 **	1.45 ± 0.75	0.04 ± 0.03 **
PYGL	XM_001102253	0.89 ± 0.73	3.97 ± 2.74 **	1.61 ± 1.56	4.62 ± 2.37 **
受体、通道和运输蛋白类 Receptors, transporters and channels					
AQP2	XM_001110572	2.65 ± 2.19	30.65 ± 15.99 **	0.64 ± 0.58	71.86 ± 40.40 **
CCR2β	AF013958	0.39 ± 0.30	23.03 ± 11.49 **	0.34 ± 0.29	27.73 ± 21.00 **
CEACAM1	NM_001712	0.59 ± 0.45	16.89 ± 7.94 **	0.50 ± 0.58	46.20 ± 31.89 **
CTLA4	AF344846	0.88 ± 0.71	9.98 ± 4.36 **	0.80 ± 0.61	8.92 ± 5.24 **
ICAM1	NM001047135	0.89 ± 0.76	4.56 ± 3.38 **	1.20 ± 1.00	5.56 ± 4.06 **
NSF	XM_001105450	0.91 ± 0.63	19.46 ± 10.82 **	1.30 ± 0.75	11.07 ± 7.77 **
RAB4a	XM001082985	1.72 ± 1.04	0.39 ± 0.35 **	0.95 ± 0.44	0.69 ± 0.42
SELL	NM_001042763	1.05 ± 0.64	1.09 ± 0.45	0.84 ± 0.33	2.87 ± 1.19 **
SNAP23	AB172037	1.08 ± 1.23	0.63 ± 0.55	1.32 ± 0.92	0.43 ± 0.32 *
STX4	XM_0011111716	0.65 ± 0.28	0.49 ± 0.38	0.84 ± 0.57	2.51 ± 2.07 *
STXBP2	XM_001097163	3.23 ± 3.05	0.77 ± 0.44 **	1.39 ± 0.99	0.31 ± 0.21 **
TNFRSF1A	XM_001118232	1.42 ± 1.28	2.13 ± 1.98	1.79 ± 1.55	2.44 ± 1.89
VAMP3	XM_001095950	1.23 ± 0.62	2.02 ± 1.63 *	0.83 ± 0.40	2.75 ± 1.99 **
VAPA	AB174175	1.58 ± 0.99	1.62 ± 0.69	0.67 ± 0.36	0.55 ± 0.42
分泌因子类 Secreted factors					
AGT	XM_001107315	1.26 ± 0.81	31.43 ± 18.57 **	1.64 ± 1.08	45.07 ± 39.20 **
IFNG	NM001032905	0.61 ± 0.57	0.55 ± 0.46	0.75 ± 0.61	0.64 ± 0.39
INS	J00336	1.76 ± 1.08	3.09 ± 2.01	1.75 ± 1.54	2.76 ± 1.88
TNF	NM_001047149.1	1.09 ± 0.25	1.17 ± 0.88	0.91 ± 0.77	1.06 ± 0.99
信号转导类 Signal transduction					
IGFBP5	XM_001087426	1.87 ± 1.03	0.59 ± 0.43	0.67 ± 0.53	0.46 ± 0.45
PIK3C2B	AB172565	1.48 ± 1.35	16.40 ± 13.69 **	1.58 ± 1.39	2.86 ± 2.03
PIK3R1	XM_001088964	0.92 ± 0.64	0.43 ± 0.37 **	1.18 ± 1.09	2.43 ± 2.02
IκBα	XM_001087248	0.62 ± 0.53	0.05 ± 0.03 **	1.44 ± 0.62	0.02 ± 0.01 **
转录因子类 Transcription factors					
NEUROD1	XM_001101024	0.87 ± 0.71	17.45 ± 12.45 **	0.62 ± 0.52	27.12 ± 15.72 **
PPARGC1	XM_001105289	0.92 ± 0.48	14.04 ± 7.37 **	1.08 ± 0.86	31.82 ± 18.60 **
IGF2BP2	XM_001087426	0.81 ± 0.71	10.63 ± 7.22 **	1.24 ± 1.14	14.79 ± 11.45 **
肥胖相关类 Obesity associated					
CDKN2B	XM001107263.1	0.83 ± 0.64	3.67 ± 3.17 **	0.96 ± 0.74	7.29 ± 7.07 **
FTO	XM_001092038.2	1.35 ± 1.27	2.48 ± 1.13 *	1.46 ± 1.16	3.59 ± 2.02 **

“*”和“**”分别表示与各自分组的诱导前相比差异显著($P < 0.05$)和极显著($P < 0.01$)。

The * and ** over bars indicate significantly different with $P < 0.05$ and $P < 0.01$, respectively.

周血白细胞中的表达水平下降^[23]。*SNAP23* 和 *STX4* 也是与胰岛素抵抗相关的基因,有报道 *SNAP23* 在 2 型糖尿病患者骨骼肌内的 mRNA 表达水平和蛋白表达水平均显著升高^[24],*STX4* 在糖尿病人的外周组织^[25]和外周血白细胞^[26]中表达量上调。本研究以方便连续取材和对动物损伤小的外周血白细胞为主要研究材料,在 mRNA 水平上发现高危食蟹猴群(诱高血糖组)中有 4 个基因包括 *ACLY*、*SELL*、*SNAP23*、*STX4* 的表达水平存在显著差异($P < 0.05$),但在高能量膳食诱导前后的正常血糖组无差异。这 4 个基因涉及到糖代谢、糖尿病血管病变及胰岛素抵抗方面,对糖尿病进程的发生发展都具有重要作用。

综上所述,本研究在中老年食蟹猴群中将高能量膳食和糖尿病相关基因的变化模式相联系,证明高能量膳食会推进中老年食蟹猴糖脂代谢传统生化指标的增加,如 TCHO、HDL-C、LDL-C 的增加,尤其是 FPG 的升高,从而增加患 T2DM 的潜在风险;在高能量膳食诱导早期,这些传统生化指标无法为 T2DM 提供风险评估的情况下,从基因组的转录水平上发现诱高血糖组在高能量诱导前后与 T2DM 发生发展高度相关的 *ACLY*、*SELL*、*SNAP23*、*STX4* 4 个基因的 mRNA 表达水平的显著变化。这些结果可为进一步寻找 T2DM 早期风险预警基因提供重要的实验基础,具有重要参考意义。

参 考 文 献

- [1] Kahn H S, Cheng Y J, Thompson T J, et al. Two risk-scoring systems for predicting incident diabetes mellitus in U. S. adults age 45 to 64 years. *Annals of Internal Medicine*, 2009, 150(11): 741 – 751.
- [2] International Diabetes Federation. *Diabetes Atlas*. 2011. [EB/OL]. [2011-11-15]. <http://www.diabetesatlas.org/>.
- [3] Yang W Y, Lu J M, Weng J P, et al. Prevalence of diabetes among men and women in China. *New England Journal Medicine*, 2010, 362(25): 2425 – 2426.
- [4] Parillo M, Ricardi G. Diet composition and the risk of type 2 diabetes: epidemiological and clinical evidence. *British Journal of Nutrition*, 2004, 92(1): 7 – 19.
- [5] Korner J, Woods S C, Woodworth K A. Regulation of energy homeostasis and health consequences in obesity. *American Journal of Medicine*, 2009, 122(4): S12 – S18.
- [6] Kahn S E. The relative contribution of insulin resistance and beta-cell dysfunction to the pathophysiology of type 2 diabetes. *Diabetologia*, 2003, 46(1): 3 – 19.
- [7] Winzell M S, Ahrén B. The high-fat diet-fed mouse; a model for studying mechanisms and treatment of impaired glucose tolerance and type 2 diabetes. *Diabetes*, 2004, 53 (Suppl 3): 215 – 219.
- [8] Ohtsubo K, Chen M Z, Olefsky J M, et al. Pathway to diabetes through attenuation of pancreatic beta cell glycosylation and glucose transport. *Nature Medicine*, 2011, 17(9): 1067 – 1075.
- [9] Wagner J D, Cline J M, Shadoan M K, et al. Naturally occurring and experimental diabetes in cynomolgus monkeys: a comparison of carbohydrate and lipid metabolism and islet pathology. *Toxicologic Pathology*, 2001, 29(1): 142 – 148.
- [10] Tigno X T, Gerzanich G, Hansen B C. Age-related changes in metabolic parameters of nonhuman primates. *Journal Gerontology A: Biological Sciences Medicine Sciences*, 2004, 59(11): 1081 – 1088.
- [11] Rome S, Clement K, Rabasa-Lhoret R, et al. Microarray profiling of human skeletal muscle reveals that insulin regulates 800 genes during a hyperinsulinemic clamp. *Journal of Biological Chemical*, 2003, 278(20): 18063 – 18068.
- [12] Yang Y L, Xiang R L, Yang C, et al. Gene expression profile of human skeletal muscle and adipose tissue of Chinese han patients with type 2 diabetes mellitus. *Biomedical and Environmental Sciences*, 2009, 22(5): 359 – 368.
- [13] Jeon J P, Shim S M, Nam H Y, et al. Copy number variation at leptin receptor gene locus associated with metabolic traits and the risk of type 2 diabetes mellitus. *Biology and Medicine Central Genomics*, 2010, 11: 426.
- [14] 郝香芬, 万玉玲, 李学家, 等. 食蟹猴的基础血糖值调查. *四川动物*, 2011, 30(1): 111 – 114.
- [15] 张秀娟, 李学家, 夏机良, 等. 中老年食蟹猴群中糖尿病相关基因的表达状态. *动物学研究*, 2011, 32(3): 300 – 306.
- [16] Ma J, Dempsey A A, Stamatiou D, et al. Identifying leukocyte gene expression patterns associated with plasma lipid levels in human subjects. *Atherosclerosis*, 2007, 191(1): 63 – 72.

[17]

Sluimer J C, Kisters N, Cleutjens K B, et al. Dead or alive: gene expression profiles of advanced atherosclerotic plaques from autopsy and surgery. *Physiological Genomics*, 2007, 30(3): 335 – 341.

[18]

Leroith D. *Diabetes Mellitus: A Fundamental and Clinical Text*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2004: 1060 – 1066.

[19]

Wagner J D, Cline J M, Shadoan M K, et al. Naturally occurring and experimental diabetes in cynomolgus monkeys: a comparison of carbohydrate and lipid metabolism and islet pathology. *Toxicologic Pathology*, 2001, 29(1): 142 – 148.

[20]

王玉玲, 张艳春, 彭白露, 等. 中老年食蟹猴群体自发
型糖尿病的筛选. *动物学研究*, 2011, 32(3): 307
– 310.

[21]

Reimer M K, Åhrén B. Altered beta-cell distribution of
pdx-1 and GLUT-2 after a short-term challenge with a
high-fat diet in C57BL/6J mice. *Diabetes*, 2002, 51
(Suppl 1): 138 – 143.

[22]

Kaddai V, Gonzalez T, Keslair F, et al. Rab4b is a small
GTPase involved in the control of the glucose transporter
GLUT4 localization in adipocyte. *Plos One*, 2009, 4(4):
e5257.

[23]

Yechoor V K, Patti M E, Ueki K, et al. Distinct pathways
of insulin regulated versus diabetes regulated gene
expression: an *in vivo* analysis in MIRKO mice.
Proceedings of the National Academy of Sciences, 2004,
101(47): 16525 – 16530.

[24]

Bostrom P, Andersson L, Vind B, et al. the SNARE
protein SNAP23 and the SNARE interactive protein
munc18c in human skeletal muscle are implicated in
insulin resistance/type 2 diabetes. *Diabetes*, 2010, 59
(8): 1870 – 1878.

[25]

Ragvin A, Moro E, Fredman D, et al. Long-range gene
regulation links genomic type 2 diabetes and obesity risk
regions to HHEX, SOX4, and IRX3. *Proceeding of the
National Academy of Sciences*, 2010, 107(2): 775
– 780.

[26]

季芳, 张艳春, 靳丽莎, 等. 2 型糖尿病相关基因在人
和食蟹猴外周血白细胞中的表达模式. *四川动物*,
2012, 32(2): 185 – 190.



《动物学杂志》第十一届编辑委员会

名誉主编：马 勇

主 编：宋延龄

副 主 编：赵 勇 彭景榧 孙悦华 梁 冰(常务)

编 委：(以姓氏笔画为序)

丁长青 马 勇 马志军 马建章 王德华 计 翔 石树群 孙青原 孙悦华
刘迺发 许木启 李 明 李保国 李枢强 李新正 张正旺 张春光 张明海
张树义 张海燕 宋延龄 宋林生 宋昭彬 杨增明 宛新荣 郑光美 赵 勇
费 梁 钟文勤 桂建芳 夏国良 徐存拴 徐宏发 徐延恭 梁 冰 彭贤锦
彭景榧 蒋志刚 戴家银 魏辅文

责任编辑：顾亦农 梁 冰