

· 疾病控制 ·

围产期苯并[a]芘暴露对仔鼠胰腺PDX-1、TFAM表达及线粒体DNA拷贝数的影响

崔蓉¹, 郑玉建¹, 鲁英², 夏力旦·阿力甫¹

1.新疆医科大学护理学院, 新疆 乌鲁木齐 830011; 2.海南医学院, 海南 海口 570216

摘要: **目的** 观察围产期苯并[a]芘(B[a]P)暴露对仔鼠胰腺十二指肠同源框-1(PDX-1)、线粒体转录因子A(TFAM)表达和线粒体DNA拷贝数的影响,探讨围产期B[a]P暴露对仔鼠胰腺功能的损伤。**方法** 40只孕鼠随机分为对照组、最低剂量组(2 μg/kg)、低剂量组(200 μg/kg)、中剂量组(800 μg/kg)和高剂量组(1 600 μg/kg),每组8只。各染毒组孕1 d起采用B[a]P玉米油混合物0.2 mL/100 g体重灌胃,对照组采用相同剂量玉米油灌胃,每日1次,至产后3周。对3周龄仔鼠进行腹腔麻醉,取胰腺组织进行胰岛素免疫组化检测;检测PDX-1、TFAM的蛋白和mRNA表达量,以及线粒体DNA拷贝数;采用Spearman秩相关分析B[a]P暴露剂量与以上指标的相关性。**结果** 中、高剂量组胰岛素阳性面积比率和胰岛素平均光密度值低于对照组(均 $P < 0.05$);胰岛素阳性面积比率和胰岛素平均光密度值与B[a]P剂量呈负相关($r_s = -0.826$ 、 -0.858 ,均 $P < 0.05$)。高剂量组PDX-1和TFAM蛋白表达量低于对照组(均 $P < 0.05$);PDX-1和TFAM蛋白表达量与B[a]P剂量呈负相关($r_s = -0.756$ 、 -0.799 ,均 $P < 0.05$)。中、高剂量组PDX-1的mRNA表达量和线粒体DNA拷贝数低于对照组,高剂量组TFAM的mRNA表达量低于对照组(均 $P < 0.05$);PDX-1、TFAM的mRNA表达量和线粒体DNA拷贝数与B[a]P剂量呈负相关($r_s = -0.722$ 、 -0.550 、 -0.840 ,均 $P < 0.05$)。**结论** 围产期B[a]P暴露导致仔鼠胰腺功能损伤可能与PDX-1、TFAM及线粒体DNA拷贝数表达降低有关。

关键词: 苯并[a]芘; 胰腺十二指肠同源框-1; 线粒体转录因子A; 线粒体DNA拷贝数

中图分类号: R322.4 **文献标识码:** A **文章编号:** 2096-5087(2024)01-0065-05

Effects of perinatal exposure to benzo[a]pyrene on the expression of PDX-1 and TFAM in pancreas and mitochondrial DNA copy number in offspring rats

CUI Rong, ZHENG Yujian, LU Ying, Xialidan Alifu

1.School of Nursing, Xinjiang Medical University, Urumqi, Xinjiang 830011, China; 2.Hainan Medical College, Haikou, Hainan 570216, China

Abstract: Objective To observe the effects of perinatal exposure to benzo[a]pyrene (B[a]P) on the expression of pancreatic duodenal homeobox-1 (PDX-1) and mitochondrial transcription factor A (TFAM) and mitochondrial DNA copy number in offspring mice, and to explore the role of maternal exposure to B[a]P in the pancreatic function damage of offspring mice. **Methods** Forty pregnant rats were randomly divided into the control group, the lowest dose group (2 μg/kg), the low dose group (200 μg/kg), medium dose group (800 μg/kg) and high dose group (1 600 μg/kg), with 8 rats in each group. From day 1 of pregnancy, each exposed group was given 0.2 mL/100 g body weight of B[a]P and corn oil mixture by gavage once a day until 3 weeks after delivery, while the control group was given the same dose of corn oil. The pancreatic tissue of three-week-old mice were collected after abdominal anesthesia for insulin immunohistochemical detection. The protein and mRNA expression levels of PDX-1 and TFAM, as well as mitochondrial DNA copy number were detected. Spearman rank correlation analysis was used to analyze the correlation between B[a]P exposure dose

DOI: 10.19485/j.cnki.issn2096-5087.2024.01.017

基金项目: 新疆维吾尔自治区自然科学基金项目(2021D01C244)

作者简介: 崔蓉, 博士研究生在读, 讲师, 主要从事教育工作

通信作者: 鲁英, E-mail: 316139862@qq.com

and the above indicators. **Results** The insulin-positive area ratio and average optical density of insulin in the medium and the high dose groups were significantly lower than those in the control group (all $P<0.05$). The insulin-positive area ratio and average optical density of insulin were negatively correlated with the B[a]P dose ($r_s=-0.862$ and -0.858 , both $P<0.05$). The protein expression levels of PDX-1 and TFAM in the high dose group were significantly lower than those in the control group (both $P<0.05$). The protein expression levels of PDX-1 and TFAM were negatively correlated with the B[a]P dose ($r_s=-0.756$ and -0.799 , both $P<0.05$). The mRNA expression levels of PDX-1 and mitochondrial DNA copy number in the medium and high dose groups were significantly lower than those in the control group, and the mRNA expression level of TFAM in the high dose group was significantly lower than that in the control group (all $P<0.05$). The mRNA expression levels of PDX-1, TFAM, and mitochondrial DNA copy number were negatively correlated with the B[a]P dose ($r_s=-0.722$, -0.550 and -0.840 , all $P<0.05$). **Conclusion** Perinatal exposure to B[a]P can induce the damage of islet β cells in offspring rats, which may be related to the decreased expression of PDX-1 and TFAM and the copy number of mitochondrial DNA.

Keywords: benzo[a]pyrene; PDX-1; TFAM; mitochondrial DNA

苯并[a]芘(B[a]P)是一种典型的多环芳烃,可通过受污染的食物、水或空气微粒等多种方式进入机体,具有亲脂性,易通过胎盘屏障引起不良妊娠^[1],可使胎儿出现宫内发育迟缓、代谢紊乱等^[2-3],增加成年后肥胖和2型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)风险。T2DM是由胰岛素相对分泌不足或胰岛素利用障碍引起的代谢紊乱性疾病^[4],动物实验结果显示,宫内B[a]P暴露可导致胚胎胰腺发育异常^[5]。胰腺十二指肠同源框-1(pancreatic duodenal homeobox-1, PDX-1)被认为是 β 细胞主基因,对胚胎发育和分化功能至关重要^[6]。线粒体功能障碍在胰岛素抵抗及相关并发症的发病过程中发挥核心作用,与线粒体功能障碍相关的分子受到强烈的遗传和表观遗传控制。其中线粒体转录因子A(mitochondrial transcription factor A, TFAM)在直接调控线粒体DNA拷贝过程中起重要作用^[7]。本研究通过建立大鼠围产期B[a]P暴露模型,观察仔鼠胰腺功能损伤,PDX-1、TFAM的蛋白和mRNA表达量,以及线粒体DNA拷贝数,探讨围产期B[a]P暴露对子代胰腺功能影响的分子机制。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

多功能酶标仪(美国 Thermo Fisher);基因扩增仪(美国 BIO-RAD);荧光定量PCR仪7500(美国 Thermo Fisher);化学发光成像仪系统 Chemiscope 3000(上海勤翔科学);PowerPac Universal 电泳仪电源(美国 Bio-Rad);纯度为99.0%的B[a]P(德国 Dr. Ehrenstorfer GmbH 公司);玉米油(中粮集团);大鼠胰岛素酶联免疫吸附测定试剂盒(上海江莱生物);免疫组化试剂盒(武汉贝茵莱);动物组织

RNA提取试剂盒 Total RNA Kit I(美国 OMEGA);动物组织基因组DNA提取试剂盒(北京索莱宝);TaKaRa PrimeScript™ RT reagent Kit with gDNA Eraser PCR 试剂盒(日本 Thermo Fisher);INS polyclonal Antibody(武汉贝茵莱);Anti-PDX-1和Anti-TFAM抗体(英国 Abcam); β -actin(中国 Bioss);高效RIPA组织/细胞快速裂解液(北京索莱宝);聚丙烯酰胺凝胶电泳(sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE)凝胶快速制备试剂盒(中国 Biosharp);10%TBST(北京索莱宝);EasySee Western blot kit(中国 TRANS);光学显微镜(日本 Olympus)。

1.2 实验动物

40只SPF级90日龄健康Wistar雌性大鼠和20只同龄Wistar雄鼠,由新疆医科大学医学实验动物中心提供,生产许可证号:SCXK(新)2018-0002。实验前雌鼠适应性饲养1周,雌雄鼠按2:1合笼过夜,取雌鼠阴道分泌物涂片,显微镜下看到少量镰刀样精子确认交配成功,记为孕0d。固体饲料由实验动物中心提供,生产许可证号:SCXK(新)2023-0003。本研究通过新疆医科大学第一附属医院伦理委员会审查,审批号:20190226-30。

1.3 方法

1.3.1 动物分组与染毒

将孕鼠随机分为对照组、最低剂量组、低剂量组、中剂量组和高剂量组,每组8只,B[a]P剂量依次为0、2、200、800、1600 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。各染毒组自雌鼠孕1d开始采用B[a]P玉米油混合物0.2 mL/100 g体重灌胃,对照组采用相同剂量玉米油灌胃,每日1次,至产后3周仔鼠断乳分离。最低剂量组依据世界卫生组织公布的孕产妇多环芳烃接触

最低安全限值^[8],其他剂量组依据美国环境保护署公布的B[a]P致癌风险水平^[9],根据人和动物间体表面积折算的等效剂量比值换算设置。

1.3.2 仔鼠胰腺组织形态学观察与胰岛素表达量测定

每组随机选取3周龄仔鼠8只(雌雄各半),腹腔麻醉后,于胰腺接近脾脏处剪取胰头组织,4%多聚甲醛固定,常规石蜡包埋,4 μm切片。采用免疫组化试剂盒进行胰岛素染色。采用IPP 6.0图像分析软件观察胰腺β细胞与胰岛素阳性情况,检测胰岛素表达量。胰岛素阳性面积比率为胰岛素阳性面积与胰岛面积的比值,代表β细胞占胰岛的相对比例;胰岛素平均光密度值为累积光密度值与胰岛面积的比值,代表单位面积β细胞内胰岛素的相对浓度。

1.3.3 仔鼠胰腺组织PDX-1、TFAM的蛋白表达量测定

每组随机选取3周龄仔鼠8只(雌雄各半),腹腔麻醉后摘取胰腺组织提取总蛋白,进行免疫印迹实验。按照每20 mg组织加入200 μL裂解液的比例裂解组织,采用BCA试剂盒测定蛋白浓度后100℃变性暂存。蛋白样品经过10% SDS-PAGE分离、以恒流100 mA转膜90 min,封闭,TBST洗膜,加入PDX-1(1:800)、TFAM(1:800)一抗、内参β-actin(1:10 000)抗体4℃孵育过夜,再加入二抗稀释液进行孵育洗膜、化学显色,重复3次,检测目标蛋白表达。采用Quantity One 4.6.2软件分析蛋白条带灰度值,以目的蛋白与内参蛋白的灰度值比值表示蛋白的表达量。

1.3.4 仔鼠胰腺组织PDX-1、TFAM的mRNA表达量测定

采用动物组织RNA提取试剂盒提取组织总RNA,反转录为cDNA,采用荧光定量PCR法进行扩增反应,测定仔鼠胰腺组织PDX-1和TFAM的mRNA表达量。引物由上海生工生物公司合成,序列:TFAM-F,5'-CCGGCAGAAACGCCTAAAGA-3';R,5'-ATCCTTAGCCCCCTGGAAGC-3';PDX-1-F,5'-GGTATAGCCAGCGAGATGCT-3';R,5'-CAGGTGGGAGCCTGATTCT-3';GAPDH-F,5'-GGGTGTGAACCACGAGAAATA-3';R,5'-AGTTGTCATGGATGACCTTGG-3'。扩增条件:预变性95℃,2 min;PCR循环,95℃变性5 s,退火温度55℃,10 s,40次循环。应用SYBR green法,以核基因GAPDH为参照,每个样品重复3次,以 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算mRNA表达量。

1.3.5 仔鼠胰腺组织中线粒体DNA拷贝数测定

采用动物组织基因组DNA提取试剂盒提取胰腺组织DNA,浓度为50~300 μg/μL, A_{260}/A_{280} 为1.6~1.8。采用实时荧光定量PCR法检测线粒体编码NADH脱氢酶亚基1(ND-1)和核基因GAPDH含量。按试剂盒说明,上下游引物各1 μL,模板DNA产物2 μL加至20 μL PCR反应体系。引物序列:ND1-F,5'-CAAACACGAGCCCCGCCTGT-3';R,5'-GTCAGGATACCGCGGCCGTT-3'。扩增条件:预变性95℃,2 min;PCR循环,95℃变性5 s,退火温度55℃,10 s,40次循环。所有反应设立3个复孔,以 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算线粒体DNA拷贝数。

1.4 统计分析

采用SPSS 25.0软件统计分析。定量资料服从正态分布的采用均数±标准差($\bar{x}\pm s$)描述,组间比较采用单因素方差分析,进一步两两比较采用Bonferroni法;相关性分析采用Spearman秩相关分析,检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 胰腺组织形态学观察结果与胰岛素表达情况

光镜下观察到对照组、最低剂量组和低剂量组仔鼠的胰岛结构呈圆形或类圆形,边界清晰,散在分布于胰腺腺泡中。对照组、最低剂量组和低剂量组的胰岛素染色阳性β细胞胞质呈现棕色颗粒状,着色较深;中、高剂量组着色较浅。与对照组相比,中、高剂量组的胰岛素阳性面积比率和胰岛素平均光密度值较低(均 $P<0.001$)。胰岛素阳性面积比率($r_s=-0.826$, $P<0.001$)和胰岛素平均光密度值($r_s=-0.858$, $P<0.001$)与B[a]P剂量呈负相关。见表1。

2.2 胰腺组织PDX-1、TFAM蛋白表达情况

与对照组比较,高剂量组的PDX-1($P=0.009$)和TFAM蛋白表达量降低($P=0.009$)。PDX-1($r_s=-0.756$, $P=0.001$)和TFAM蛋白表达量($r_s=-0.799$, $P<0.001$)均与B[a]P剂量呈负相关。见表2。

2.3 胰腺组织PDX-1、TFAM的mRNA表达情况与线粒体DNA拷贝数

与对照组比较,中($P=0.004$)、高剂量组($P<0.001$)PDX-1的mRNA表达量降低;高剂量组TFAM的mRNA表达量降低($P=0.007$);中、高剂量组线粒体DNA拷贝数降低(均 $P<0.001$)。PDX-1($r_s=-0.722$, $P<0.001$)、TFAM($r_s=-0.550$, $P=0.002$)的mRNA表达量和线粒体DNA拷贝数($r_s=-0.840$, $P<0.001$)与B[a]P剂量呈负相关。见表3。

表1 各剂量组仔鼠胰岛素表达水平比较

Table 1 Comparison of insulin expression levels in offspring rats of each dose group

组别	胰岛素阳性 面积比率	胰岛素平均 光密度值
对照组	0.69±0.04	0.56±0.01
最低剂量组	0.68±0.02	0.56±0.01
低剂量组	0.65±0.05	0.55±0.01
中剂量组	0.52±0.03 ^①	0.44±0.01 ^①
高剂量组	0.55±0.03 ^①	0.44±0.11 ^①
F值	28.081	161.661
P值	<0.001	<0.001

注: ^①表示与对照组比较 $P < 0.001$ 。

表2 各剂量组仔鼠胰腺组织 PDX-1、TFAM 蛋白表达量比较

Table 2 Comparison of protein expression levels of PDX-1 and TFAM in pancreas of offspring rats

组别	PDX-1 蛋白表达量	TFAM 蛋白表达量
对照组	0.89±0.18	1.92±0.09
最低剂量组	0.89±0.17	1.84±0.02
低剂量组	0.87±0.19	1.79±0.11
中剂量组	0.52±0.09	1.32±0.25
高剂量组	0.47±0.09 ^①	1.10±0.48 ^①
F值	6.238	6.297
P值	0.009	0.009

注: ^①表示与对照组比较 $P < 0.05$ 。

表3 各剂量组仔鼠胰腺组织 PDX-1、TFAM 的 mRNA 表达量和线粒体 DNA 拷贝数比较

Table 3 Comparison of mRNA expression levels of PDX-1 and TFAM and copy number of mitochondrial DNA in pancreas of offspring rats

组别	PDX-1 mRNA 表达量	TFAM mRNA 表达量	线粒体 DNA 拷贝数
对照组	1.09±0.49	1.05±0.40	1.04±0.30
最低剂量组	0.96±0.29	1.03±0.33	1.07±0.18
低剂量组	0.83±0.19	0.97±0.53	0.83±0.14
中剂量组	0.55±0.24 ^①	0.75±0.43	0.18±0.07 ^②
高剂量组	0.18±0.13 ^②	0.37±0.28 ^①	0.16±0.10 ^②
F值	9.277	3.087	38.201
P值	<0.001	0.034	<0.001

注: ^①表示与对照组比较 $P < 0.05$; ^②表示与对照组比较 $P < 0.001$ 。

3 讨论

既往研究表明,仔鼠的胰腺质量、胰体比随着 B [a] P 染毒剂量增加而降低,出现不同程度的胰腺发育障碍^[10]。本文对胰岛素表达的免疫组化分析结果与前期研究一致,中、高剂量组仔鼠的胰岛素阳性

面积比率和胰岛素平均光密度值较对照组降低,表明 β 细胞在胰岛中的相对比例和胰岛素含量降低。 β 细胞胰岛素阳性细胞胞质随剂量增加逐渐减少,表明胰岛的分泌功能受损。

有研究发现, B [a] P 静脉给药 5 min 后,在胰腺中的代谢产物会导致胰腺 β 细胞损伤^[11-12]。PDX-1 基因的靶向破坏会导致胰腺再生障碍性发育,该基因在动物中的表达仅限于 β 细胞和十二指肠上皮, PDX-1 水平降低导致 β 细胞功能障碍,从而导致糖尿病发生^[13]。研究表明, PDX-1 的过表达可以调节胰腺发育,促进 β 细胞分化和胰岛素分泌,在细胞重塑、基因编辑和药物开发中受到关注^[14]。结果显示,3 周龄仔鼠 PDX-1 的 mRNA 和蛋白表达量随 B [a] P 暴露剂量的增加逐渐降低,存在剂量-反应关系,提示 B [a] P 暴露可能通过影响 PDX-1 的 mRNA 表达损害胰岛细胞的增殖,参与胰腺损伤过程。

胰岛素抵抗与人类组织活检中线粒体数量减少相关,线粒体作为葡萄糖传感器和调节中心受到损害^[15-16]。当 β 细胞功能出现障碍, β 细胞功能相关的基因表达 PDX-1、TFAM 和 Ins 1 均受到影响^[17]。TFAM 作为一种线粒体 DNA 结合蛋白,在线粒体转录起始和维持中起着双重作用^[18]。结果显示, TFAM 蛋白、mRNA 表达量和线粒体 DNA 拷贝数随 B [a] P 暴露剂量的增加而降低,存在剂量-反应关系,提示 TFAM 和线粒体 DNA 参与了 B [a] P 致胰腺损伤过程。研究表明, PDX-1 沉默抑制可通过调节 TFAM 改变线粒体编码基因表达导致胰岛素分泌受损^[18],但具体生物学机制有待进一步研究。

综上所述,围产期 B [a] P 暴露可导致仔鼠胰腺发育和 β 细胞功能障碍,其机制可能与 PDX-1、TFAM 的表达和线粒体 DNA 拷贝数降低有关,但 PDX-1 与 TFAM 的靶向关系需在以后研究中进一步探讨和阐明。

参考文献

- [1] WHELOCK K, ZHANG J J, MCCONNELL R, et al. A novel method for source-specific hemoglobin adducts of nitro-polycyclic aromatic hydrocarbons [J/OL]. Environ Sci Process Impacts, 2018 [2023-11-20]. <https://doi.org/10.1039/C7EM00522A>.
- [2] ZHAO N, WU W W, CUI S W, et al. Effects of benzo [a] pyrene-DNA adducts, dietary vitamins, folate, and carotene intakes on preterm birth: a nested case-control study from the birth cohort in China [J/OL]. Environ Health, 2022, 21 (1) [2023-11-20]. <https://doi.org/10.1186/s12940-022-00859-7>.
- [3] ZHANG Y, YANG Y H, ZHANG Q, et al. Effect of benzo [a]

- pyrene-DNA adduct in cord blood on the neurodevelopment of 12-month-old infants in Qingdao City [J]. *Neuropsychiatr Dis Treat*, 2019, 15: 3351-3357.
- [4] 李珊珊. 胰岛素抵抗及高胰岛素血症促进胰腺癌发生的研究进展 [J]. *预防医学*, 2021, 33 (11): 1122-1125, 1129.
- [5] OU K L, SONG J L, ZHANG S Q, et al. Prenatal exposure to a mixture of pahs causes the dysfunction of islet cells in adult male mice: association with type 1 diabetes mellitus [J/OL]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2022, 239 [2023-11-20]. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2022.113695>.
- [6] WANG N, TONG R, XU J, et al. PDX1 and MC4R genetic polymorphisms are associated with type 2 diabetes mellitus risk in the Chinese Han population [J/OL]. *BMC Medical Genomics*, 2021, 14 [2023-11-20]. <https://doi.org/10.1186/s12920-021-01037-3>.
- [7] ŠPAČEK T, PAVLUCH V, ALÁN L, et al. Nkx6.1 decline accompanies mitochondrial DNA reduction but subtle nucleoid size decrease in pancreatic islet β -cells of diabetic Goto Kakizaki rats [J/OL]. *Sci Rep*, 2017, 7 (1) [2023-11-20]. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-15958-6>.
- [8] World Health Organization, International Programme on Chemical Safety. Selected non-heterocyclic polycyclic aromatic hydrocarbons [EB/OL]. [2023-11-20]. <https://iris.who.int/handle/10665/41958>.
- [9] ALEXANDER D A, NORTHCROSS A, KARRISON T, et al. Pregnancy outcomes and ethanol cook stove intervention: a randomized-controlled trial in Ibadan, Nigeria [J]. *Environ Int*, 2018, 111: 152-163.
- [10] 崔蓉, 郑玉建, 鲁英, 等. 子宫内 B[a]P 暴露与子代鼠 BPDE-DNA 加合物及胰腺功能损伤的关系 [J]. *预防医学*, 2022, 34 (4): 335-339, 345.
- [11] ZHANG H X Y, HAN Y Q, QIU X H, et al. Association of internal exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons with inflammation and oxidative stress in prediabetic and healthy individuals [J/OL]. *Chemosphere*, 2020, 253 [2023-11-20]. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126748>.
- [12] CHEN J S, ZHONG L, WU J, et al. A murine pancreatic islet cell-based screening for diabetogenic environmental chemicals [J/OL]. *J Vis Exp*, 2018, 25 (136) [2023-11-20]. <https://doi.org/10.3791/57327>.
- [13] BREUNIG M, MERKLE J, MELZER M K, et al. Differentiation of human pluripotent stem cells into pancreatic duct-like organoids [J/OL]. *STAR Protoc*, 2021, 2 (4) [2023-11-20]. <https://doi.org/10.1016/j.xpro.2021.100913>.
- [14] Zhang Y J, FANG X Y, WEI J H, et al. PDX-1: a promising therapeutic target to reverse diabetes [J/OL]. *Biomolecules*, 2022, 12 [2023-11-20]. <https://doi.org/10.3390/biom12121785>.
- [15] JEZEK P, DLASKOVA A. Dynamic of mitochondrial network, cristae, and mitochondrial nucleoids in pancreatic beta-cells [J]. *Mitochondrion*, 2019, 49: 245-258.
- [16] FAZZINI F, LAMINA C, RAFTOPOULOU A, et al. Association of mitochondrial DNA copy number with metabolic syndrome and type 2 diabetes in 14 176 individuals [J]. *J Intern Med*, 2021, 290 (1): 190-202.
- [17] KANG G G, FRANCIS N, HILL R, et al. Coloured rice phenolic extracts increase expression of genes associated with insulin secretion in rat pancreatic insulinoma beta-cells [J/OL]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21 (9) [2023-11-20]. <https://doi.org/10.3390/ijms21093314>.
- [18] YASUKAWA T, KANG D. Assessing TFAM binding to human mitochondrial DNA [J]. *Methods Mol Biol*, 2023, 26 (15): 139-151.

收稿日期: 2023-08-24 修回日期: 2023-11-20 本文编辑: 刘婧出

(上接第64页)

- [16] WEWER A N J, JUNKER A E, CHRISTENSEN M, et al. Hyperglucagonemia correlates with plasma levels of non-branched-chain amino acids in patients with liver disease independent of type 2 diabetes [J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2018, 314 (1): 91-96.
- [17] SRUGO S A, BLOISE E, NGUYEN T, et al. Impact of maternal malnutrition on gut barrier defense: implications for pregnancy health and fetal development [J]. *Nutrients*, 2019, 11 (6): 1-25.
- [18] 付焯, 高晖, 阿米娜, 等. 2 型糖尿病患者血糖水平及血糖变异性与糖化血红蛋白水平的相关性研究 [J]. *中华诊断学电子杂志*, 2020, 8 (4): 32-37.
- [19] HAY-LOMBARDIE A, KAMEL S, BIGOT-CORBEL E. Insights on glycated albumin [J]. *Ann Biol Clin (Paris)*, 2019, 77 (4): 407-414.
- [20] 邱恩毅, 赵喜越, 金璋, 等. 肠内营养治疗对改善中国食管癌放疗患者营养状况的 Meta 分析 [J]. *预防医学*, 2018, 30 (2): 153-157.

收稿日期: 2023-09-07 修回日期: 2023-10-26 本文编辑: 徐亚慧