

· 论 著 ·

# 孕期尼古丁暴露所致子代胎鼠肝脏和骨骼肌 IRS-1 和 IRS-2 的表达变化

蒋华<sup>1</sup>, 邓宇<sup>2</sup>

1. 成都市第二人民医院骨科, 四川 成都 610000;

2. 武汉大学中南医院骨科, 湖北 武汉 430071

**摘要:** **目的** 探讨孕期大鼠尼古丁暴露所致宫内发育迟缓 (IUGR) 子代胎鼠肝脏和骨骼肌中胰岛素受体底物 (IRS)-1 和 IRS-2 的表达变化及其相关机制。**方法** 将 24 只 Wistar 受孕大鼠自妊娠 12 d 起, 随机分成 4 组, 实验组分别皮下注射小剂量 (0.5 mg/kg)、中剂量 (1.0 mg/kg) 和大剂量 (2.0 mg/kg) 尼古丁, 对照组给予等体积、不含尼古丁的生理盐水。所有孕鼠每次给药体积均为 2 ml/kg, 每天注射两次, 直到孕鼠妊娠 20 d 后停止。待孕鼠妊娠 20 d 时, 采用异氟醚将其麻醉, 剖腹取出胎鼠。称重, 统计每组中 IUGR 胎鼠的数量, 并计算 IUGR 胎鼠的发生率。收集胎鼠的血浆, 采用酶联免疫吸附实验 (ELISA) 检测胎鼠的脂联素、皮质酮水平; 分离胎鼠肝脏和骨骼肌, 采用半定量聚合酶链式反应 (RT-PCR) 和实时定量 PCR (qRT-PCR) 检测胎鼠肝脏和骨骼肌 IRS-1、IRS-2 的 mRNA 表达水平, 采用蛋白质印迹 (Western blot) 技术检测胎鼠肝脏和骨骼肌中 IRS-1、IRS-2 的蛋白表达水平。**结果** 随尼古丁剂量的增加 (0→0.5→1.0→2.0 mg/kg), 胎鼠的体重递减 [(3.85 ± 0.14) g → (3.61 ± 0.19) g → (3.48 ± 0.16) g → (3.15 ± 0.21) g,  $P < 0.05$ ], IUGR 发生率递升 (0→14.24% → 26.35% → 75.93%,  $P < 0.05$ ), 呈剂量依赖性。不同剂量尼古丁处理后脂联素水平较对照组均显著降低 ( $P$  均  $< 0.05$ ), 中、高剂量组皮质酮水平较对照组显著升高 ( $P$  均  $< 0.05$ )。2.0 mg/kg 尼古丁处理后胎鼠肝脏中 IRS-2 mRNA、蛋白表达水平和骨骼肌中 IRS-1 mRNA、蛋白表达水平均显著低于对照组 ( $P$  均  $< 0.05$ )。**结论** 孕期大鼠尼古丁暴露可引起子代胎鼠肝脏中 IRS-2 mRNA、蛋白和骨骼肌中 IRS-1 mRNA、蛋白表达水平下降, 进而使胎鼠糖脂代谢通路发生改变, 直接影响胎鼠的生长发育, 这可能是造成 IUGR 的产生与胎儿出生后胰岛素抵抗发生的原因之一。

**关键词:** 尼古丁; 宫内发育迟缓; 胰岛素受体底物-1; 胰岛素受体底物-2

**中图分类号:** R-33 R 714.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674-8182(2018)03-0303-05

## Changes of IRS-1 and IRS-2 expressions in liver and skeletal muscle in offspring fetal rats due to exposure to nicotine in maternal pregnancy

JIANG Hua\*, DENG Yu

\* Department of Orthopedics, Chengdu Second People's Hospital, Chengdu, Sichuan 610000, China

Corresponding author: DENG Yu, E-mail: dengyu19817@163.com

**Abstract: Objective** To analyze the intrauterine growth retardation (IUGR) and the changes of expressions of insulin receptor substrate-1 (IRS-1) and insulin receptor substrate-2 (IRS-2), the proteins of insulin signaling pathway, in liver and skeletal muscle of offspring fetal rats because of exposure to nicotine of pregnant rats and explore the related mechanism. **Methods** Twenty-four Wistar rats 12 days after pregnancy were randomly divided into experiment group (hypodermic injection of nicotine of different doses, till 20 days after pregnancy) including small dose subgroup (0.5 mg/kg, 2 ml, bid), medium dose subgroup (1.0 mg/kg, 2 ml, bid) and large dose subgroup (2.0 mg/kg, 2 ml, bid) and control group (hypodermic injection of nicotine free normal saline of same volume, bid, till 20 days after pregnancy). At 20-day after rat pregnancy, fetal rats were taken out from mother's body by caesarean after isoflurane anaesthesia to weigh and count the number and incidence of IUGR fetal rats in each group. Collecting the plasma of fetal rats in each group, adiponectin and corticosterone levels were detected by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) method. Isolating liver and skeletal muscle of fetal rats, the levels of IRS-1 mRNA and IRS-2 mRNA expressions were detected by semi-

quantitative reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) and real-time quantitative polymerase chain reaction (qRT-PCR), and the levels of IRS-1 protein and IRS-2 protein expressions were detected by Western blot method. **Results**

The weight of fetal rats after exposure to nicotine of different doses significantly decreased compared with control group (all  $P < 0.05$ ). The incidence of IUGR fetal rats for small, medium and large doses of nicotine were 14.24%, 26.35% and 75.93%, respectively, and there was significant difference for comparison among groups ( $P < 0.05$ ). With the increase of nicotine concentration, weight of fetal rats decreased, and incidence of IUGR fetal rats increased in obvious dose-dependent manner. After exposure to nicotine of different doses, the concentration of plasma adiponectin of fetal rats decreased compared with control group (all  $P < 0.05$ ), and the concentration of plasma corticosterone of fetal rats after exposure to nicotine of medium and large doses increased compared with control group in dose-dependent manner (all  $P < 0.05$ ). After exposure to nicotine of large doses, the expression levels of IRS-2 mRNA and IRS-2 protein in liver of fetal rats decreased compared with control group (all  $P < 0.05$ ), and expression levels of IRS-1 mRNA and IRS-1 protein in skeletal muscle of fetal rats decreased compared with control group (all  $P < 0.05$ ). **Conclusion** Nicotine exposure in pregnant rats could lead to the decrease of expression of IRS-2 mRNA and IRS-2 protein in liver and the decrease of expression levels of IRS-1 mRNA and IRS-1 protein in skeletal muscle of fetal rats and the changes of the glycolipid metabolic pathway of fetal rats further which will make a direct impact on the growth and development of fetal rats, and this may be one of the reasons of IUGR occurrence and insulin resistance occurrence after birth of fetal rats.

**Key words:** Nicotine; Intrauterine growth retardation; Insulin receptor substrate-1; Insulin receptor substrate-2

宫内发育迟缓 (intrauterine growth retardation, IUGR) 是指新生儿体重低于同胎龄、同性别新生儿平均体重的第 10 个百分位 (或者 2 个标准差)。IUGR 在发展中国家 (约 24%) 的发病率是发达国家 (约 2%) 的 20 多倍, 其在中国的发病率约为 6.39%。多国流行病学调查结果均表明, IUGR 胎儿成年后患 2 型糖尿病、胰岛素抵抗、高血压、高血脂、缺血性心脏病等代谢综合征的几率明显高于正常体重胎儿, 且可出现遗传现象<sup>[1-3]</sup>。研究发现, 女性在孕期吸烟或被动吸烟均会造成胎儿 IUGR 的发生<sup>[4]</sup>。尼古丁即烟碱, 是烟草中导致人上瘾的关键生物碱, 因其水、脂溶性较高, 能快速穿越胎盘屏障在胎儿体内积累<sup>[5]</sup>。有研究报道, 孕鼠宫内尼古丁暴露的子代胎鼠容易发生 IUGR, 同时也发现子代胎鼠过暴露于高浓度母源性糖皮质激素中<sup>[6-7]</sup>。2 型糖尿病基本病理特征是胰岛素分泌不足和胰岛素抵抗, 而胰岛素抵抗的主要发生部位是肝脏和骨骼肌<sup>[8]</sup>。胰岛素受体底物 (insulin receptor substrate, IRS)-1 和 IRS-2 是胰岛素信号通路中重要的信号传导蛋白<sup>[9]</sup>。IRS-1 在骨骼肌中表达量较高, 有助于肌肉组织分解利用葡萄糖; IRS-2 主要在肝脏和胰腺  $\beta$  细胞中表达, 抑制肝脏中葡萄糖的输出, 促进肝脏中糖原的合成<sup>[10]</sup>。本研究通过建立孕期尼古丁暴露建立子代胎鼠 IUGR 模型, 分别半定量聚合酶链式反应 (RT-PCR)、实时定量 PCR (qRT-PCR) 和蛋白质印迹 (Western blot) 技术检测胎鼠肝脏和骨骼肌中 IRS-1、IRS-2 的 mRNA 和蛋白表达水平, 并探讨 IUGR 发生的可能机制, 以期为 IUGR 个体代谢综合征的治疗提供有价值的参考。

## 1 材料与方法

1.1 尼古丁处理孕鼠方法 挑选本实验室提供的健康成熟 Wistar 雌性处女鼠 30 只和雄性大鼠 15 只, 雌性体重 ( $200 \pm 16$ ) g, 雄性体重 ( $280 \pm 18$ ) g, 在适宜的条件下喂养 1 周, 每天 18:00 时随机将 2 只雌鼠和 1 只雄鼠合笼, 次日上午 8:00 时检查雌鼠阴栓并用显微镜进行观察, 有精子者记为受孕 0 d。将 24 只 Wistar 受孕大鼠自妊娠 12 d 起, 随机分成 4 个小组, 认真做好标记, 每组 6 只。实验组通过皮下注射的方式分别给予小剂量 (0.5 mg/kg)、中剂量 (1.0 mg/kg) 和大剂量 (1.5 mg/kg) 尼古丁 (湖北和诺生物工程股份有限公司); 对照组给予等体积、不含尼古丁的生理盐水。所有孕鼠每次给药体积是 2 ml/kg, 每天注射两次, 直到孕鼠妊娠 20 d 后停止。

1.2 标本采集 待孕鼠妊娠 20 d 时, 用异氟醚 (上海瀚思化工) 将其麻醉, 剖腹取出胎鼠。称量每只胎鼠的体重并记录性别, 统计每组中 IUGR 胎鼠的数量, 并计算每组 IUGR 胎鼠的发生率。收集每组胎鼠的血浆、肝脏和骨骼肌, 于液氮中速冻后保存在  $-80$  °C 超低温冰箱中备用。

1.3 IUGR 胎鼠及其发生率的计算方法 记录剖腹取出 1 h 内的胎鼠体重, 体重低于对照组胎鼠平均体重 2 个标准差的胎鼠确定为 IUGR。每窝胎鼠中 IUGR 胎鼠数量与总数的比值, 即为每只孕鼠 IUGR 的发生率。最后计算各组 6 只孕鼠 IUGR 发生率。

1.4 ELISA 法测定胎鼠血液中脂联素、皮质酮水平 采用 ELISA 酶联免疫试剂盒 (上海研生实业) 检测

胎鼠血浆中脂联素和皮质酮的含量。向反应板的每个孔中加入 50  $\mu\text{l}$  标准品(或样品),室温放置 1 h;加入 200  $\mu\text{l}$  洗涤液,重复洗涤 5 遍;加入生物素化抗体 50  $\mu\text{l}$ ,室温孵育 1 h;重复洗涤 5 遍;加入酶联试剂 50  $\mu\text{l}$ ,室温孵育 0.5 h;重复洗涤 5 遍;加入显色液 50  $\mu\text{l}$ ,室温孵育 10 min;加入终止液 50  $\mu\text{l}$ ,并在 10 min 内检测 OD450 值;以标准品浓度为横坐标、OD450 值为纵坐标绘制标准曲线,并根据标准曲线和样品 OD450 值计算出对应的样品浓度。

**1.5 RT-PCR 和 qRT-PCR** 各组有 58 ~ 65 只胎鼠。每组随机取 20 只子代胎鼠肝脏或骨骼肌组织,利用 Trizol 法(Trizol 总 RNA 提取试剂盒,上海翊圣生物科技)提取 RNA,并用紫外分光光度计检测其纯度及浓度,于  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  超低温冰箱中保存。取 1  $\mu\text{g}$  总 RNA,用反转录试剂(宝生物工程大连公司)合成 cDNA。最后,以胎鼠肝脏或骨骼肌 cDNA 为模版,根据美国国家生物技术信息中心(NCBI) Primer Blast 设计鼠 IRS-1、IRS-2 的定量 PCR 引物,采用 RT-PCR 和 qRT-PCR(SYBR Green qPCR Mix,广州东盛生物科技有限公司)的方法检测 IRS-1、IRS-2 的 mRNA 表达水平。检测结果表明:(1)RT-PCR:将凝胶电泳条带用成像系统照相定量分析结果,分别计算 PCR 产物条带与  $\beta$ -actin 条带吸光度值的比值,作为目的基因相对表达量。(2)qRT-PCR:将待测模板和引物加入预混合溶液(SYBR Green qPCR Master Mix,广州东盛生物科技有限公司)中进行反应,以  $2^{-\Delta\Delta\text{ct}}$  表示目的及应的表达量。

**1.6 Western blot** 每组随机取 20 只子代胎鼠肝脏或骨骼肌组织,用生理盐水洗净后切成碎片,使用组织蛋白提取试剂(南京凯基生物公司)裂解组织提取蛋白质。(1)每组样品取 50  $\mu\text{l}$ ,用 Lowry 法进行蛋白定量(总蛋白定量试剂,南京建成生物工程研究所),调节好蛋白浓度;(2)将调整好浓度的胞浆蛋白通过 5% 二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)分离上清液,接着把分离的蛋白质转印到硝酸纤维素膜(上海基因公司)上;(3)将膜在  $1\times$  乙醇胺缓冲液(TBS)中浸泡 10 min 后,在 5% 牛血清蛋白溶液中封闭 1 h,用  $1\times$  [TBS 失水山梨醇聚乙烯(Tween)TTBS] 洗涤 2 次,一次洗 5 min,接着将膜分别置于  $1:100$  的 IRS-1 和 IRS-2 兔抗大鼠 IgG 溶液(一抗溶液,美国 Santa Cruz 公司)中,  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  孵育过夜;(4)次晨将膜依次用  $1\times$  TBS、 $1\times$  TTBS 快速清洗后,转移到  $1:1\ 000$  碱磷酶标记山羊抗兔 IgG 溶液(二抗溶液,美国 Sigma 公司)中在室温下孵育 2 h,依次用  $1\times$  TTBS、 $1\times$  TBS 清洗后,用新配制的显色液进行显

色,待出现清晰的条带后终止。使用 GIS-2020 数码图像分析系统扫描并分析蛋白杂交条带,评估 IRS-1 和 IRS-2 的相对蛋白表达水平。GAPDH 为内参蛋白。

**1.7 统计学分析** 利用 SPSS 20.0 统计软件进行数据处理。计量资料以  $\bar{x}\pm s$  表示,多组间比较采用单因素方差分析,不同剂量尼古丁组与对照组的比较采用 Dunnett-*t* 检验;计数资料用“率”描述,采用  $R\times C$  表  $\chi^2$  检验。 $P<0.05$  为差异具有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 不同剂量尼古丁对子代胎鼠生长发育的影响** Wistar 受孕大鼠自妊娠 12 d 起皮下注射 0.5、1.0 和 2.0 mg/kg 尼古丁,在妊娠 20 d 时停止。结果显示,随尼古丁剂量的增加(0 $\rightarrow$ 0.5 $\rightarrow$ 1.0 $\rightarrow$ 2.0 mg/kg),胎鼠的体重递降( $P<0.05$ ),IUGR 发生率(0 $\rightarrow$ 14.24% $\rightarrow$ 26.35% $\rightarrow$ 75.93%)递升( $P<0.05$ ),呈剂量依赖性。详见表 1。

**2.2 不同剂量尼古丁对胎鼠血浆脂联素、皮质酮浓度的影响** ELISA 结果显示,在妊娠 20 d,与对照组相比,不同剂量尼古丁处理后胎鼠血浆中脂联素的浓度均有所减少,差异具有统计学意义( $P$  均  $<0.05$ );中、高剂尼古丁处理后胎鼠血浆中皮质酮的浓度均高于对照组( $P$  均  $<0.05$ );两种指标水平与尼古丁剂量均呈剂量依赖性关系。详见表 2。

**2.3 不同剂量尼古丁对胎鼠肝脏和骨骼肌中 IRS-1、IRS-2 mRNA 表达水平的影响** RT-PCR 和 qRT-PCR 结果显示,小、中剂量尼古丁处理后,胎鼠肝脏及骨骼肌中 IRS-1、IRS-2 的 mRNA 相对表达量与对照组相近( $P$  均  $>0.05$ )。大剂量尼古丁处理后,胎鼠肝脏中 IRS-2 的 mRNA 相对表达量低于对照组( $P<0.05$ );胎鼠骨骼肌中 IRS-1 的 mRNA 相对表达量显著低于对照组( $P<0.05$ )。详见表 3、图 1。

**2.4 不同剂量尼古丁对胎鼠肝脏和骨骼肌中 IRS-1、IRS-2 蛋白表达水平的影响** Western blot 结果显示,大剂量尼古丁处理后,胎鼠肝脏中 IRS-2 的蛋白表达水平低于对照组( $P<0.05$ ),胎鼠骨骼肌中 IRS-1 的蛋白表达水平显著低于对照组( $P<0.05$ )。详见表 4、图 2。

表 1 孕期不同剂量尼古丁暴露对胎鼠体重和 IUGR 发生率的影响 ( $n=6$ )

组别	胎鼠体重( $g, \bar{x}\pm s$ )	IUGR 发生率(%)
对照组	3.85 $\pm$ 0.14	0
小剂量组	3.61 $\pm$ 0.19	14.24
中剂量组	3.48 $\pm$ 0.16	26.35
大剂量组	3.15 $\pm$ 0.21	75.93
<i>P</i> 值	$<0.05$	$<0.05$

表 2 孕期不同剂量尼古丁暴露对胎鼠血浆脂联素、皮质酮浓度的影响 ( $n=6, \bar{x} \pm s$ )

组别	脂联素 (ng/ml)	皮质酮 (ng/ml)
对照组	43.20 ± 2.56	16.30 ± 2.03
小剂量组	38.54 ± 3.01 *	16.91 ± 2.36
中剂量组	33.91 ± 2.30 *	20.38 ± 1.79 *
大剂量组	34.91 ± 2.76 *	24.94 ± 2.11 *
P 值	<0.05	<0.05

注:与对照组相比, \* $P < 0.05$ 。

表 3 孕期尼古丁暴露胎鼠肝脏和骨骼肌中 IRS-1、IRS-2 mRNA 相对表达量 ( $n=20, \bar{x} \pm s$ )

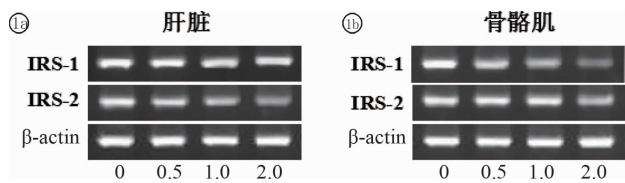
组别	肝脏		骨骼肌	
	IRS-1	IRS-2	IRS-1	IRS-2
对照组	9.81 ± 2.31	22.30 ± 3.67	10.08 ± 3.32	18.96 ± 3.21
小剂量组	8.80 ± 2.01	16.48 ± 4.10	6.35 ± 2.01	17.63 ± 4.18
中剂量组	8.09 ± 1.42	15.69 ± 3.79	4.86 ± 1.62	15.69 ± 3.97
大剂量组	7.63 ± 1.88	13.10 ± 3.02 *	3.21 ± 1.23 *	15.26 ± 2.88

注:与对照组相比, \* $P < 0.05$ ;  $\beta$ -actin 为内参基因。

表 4 孕期尼古丁暴露胎鼠肝脏和骨骼肌中 IRS-1、IRS-2 蛋白相对表达灰度值 ( $n=20, \bar{x} \pm s$ )

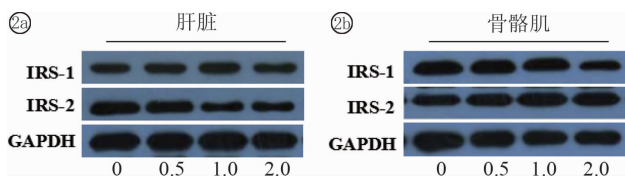
组别	肝脏		骨骼肌	
	IRS-1	IRS-2	IRS-1	IRS-2
对照组	0.553 ± 0.041	0.730 ± 0.072	0.802 ± 0.076	0.619 ± 0.048
小剂量组	0.585 ± 0.036	0.642 ± 0.056	0.785 ± 0.064	0.625 ± 0.056
中剂量组	0.612 ± 0.049	0.598 ± 0.068	0.762 ± 0.069	0.728 ± 0.060
大剂量组	0.576 ± 0.057	0.472 ± 0.053 *	0.592 ± 0.047 *	0.713 ± 0.062

注:与对照组相比, \* $P < 0.05$ ; GAPDH 为内参蛋白。



注:1a:肝脏;1b:骨骼肌;0、0.5、1.0、2.0 为尼古丁剂量 (mg/kg)。

图 1 RT-PCR 和 qRT-PCR 检测孕期尼古丁暴露胎鼠肝脏和骨骼肌中 IRS-1、IRS-2 mRNA 表达



注:2a:肝脏;2b:骨骼肌;0、0.5、1.0、2.0 为尼古丁剂量 (mg/kg)。

图 2 Western blot 检测孕期尼古丁暴露胎鼠肝脏和骨骼肌中 IRS-1、IRS-2 蛋白表达

蛋白表达水平显著低于对照组 ( $P < 0.05$ )。详见表 4、图 2。

### 3 讨论

IUGR 是围生期主要的并发症之一,不仅易引发围产儿发病甚至死亡<sup>[11]</sup>,而且还与胎儿成年后代谢综合征的发生有密切关系<sup>[12]</sup>。目前,多国流行病学

调查结果均表明 IUGR 是引发成年人糖耐量异常、2 型糖尿病的重要因素<sup>[3]</sup>。研究发现,IUGR 胎儿在婴幼儿期、青春期的胰岛  $\beta$  细胞功能以及胰岛素敏感性均明显改变,其成年后患冠心病的风险比正常出生体重胎儿更高<sup>[13-15]</sup>。

IUGR 个体产生胰岛素抵抗的机制尚未研究清楚。肝脏和骨骼肌是发生胰岛素抵抗的主要部位。在细胞水平上胰岛素抵抗常表现为细胞膜上胰岛素受体 (IR) 数量减少或者受体后信号通路发生缺陷<sup>[16-17]</sup>。人体内所有细胞的膜上都含有 IR,不同组织细胞的 IR 数量差异很大,IR 是由 2 个  $\alpha$  亚基和 2 个  $\beta$  亚基构成的跨膜糖蛋白, $\alpha$  亚基负责与胰岛素结合, $\beta$  亚基具有酪氨酸蛋白激酶活性<sup>[18]</sup>。IR 和胰岛素结合后可激活 IR 的  $\beta$  亚基,与靠近膜区 IRS 结合并使其酪氨酸残基磷酸化,从而实现信息的跨膜传递,激活胞内的信号转导通路,促进细胞分解利用葡萄糖用于生长发育活动,或者促进细胞合成糖原并储存起来<sup>[19]</sup>。IRS-1 主要在骨骼肌中表达,促进肌肉组织分解利用葡萄糖,而 IRS-2 主要在肝脏和胰腺  $\beta$  细胞中表达,可促进肝脏中糖原的合成<sup>[20-22]</sup>。脂联素是胰岛素的增敏剂,其在延缓 2 型糖尿病的发生、发展过程中扮演重要的角色,它可以通过激活磷酸腺苷蛋白激酶 (AMPK) 促进 IRS-1、IRS-2 的磷酸化,进而强化胰岛素信号传导通路<sup>[23-24]</sup>。剔除小鼠的脂联素基因,小鼠肝脏中 IRS2 的蛋白表达减少,使胰岛素信号传导通路受到损伤。皮质醇是  $11\beta$ -羟基类固醇脱氢酶 1 型 ( $11\beta$ -HSD-1) 的还原产物,而  $11\beta$ -HSD-1 是一种低亲和力的烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸 (氧化态) [NADP(H)] 依赖性脱氢酶或氧化还原酶,其在糖皮质激素的靶器官如肝脏中广泛分布,当皮质醇过多时可氧化糖皮质激素,进而使糖皮质激素失去活性<sup>[25]</sup>。

研究发现,孕期女性吸烟会造成胎儿 IUGR 的发生,而烟草重要成分—尼古丁可能在该过程中起着决定性作用<sup>[5]</sup>。本研究通过建立孕期尼古丁暴露子代胎鼠 IUGR 模型,并检测胎鼠肝脏和骨骼肌中 IRS-1、IRS-2 mRNA 和蛋白表达水平,结果发现,Wistar 受孕大鼠用不同剂量尼古丁处理后胎鼠的体重降低,IUGR 胎鼠的发生率提高,且具有剂量依赖性。ELISA 结果显示,不同剂量尼古丁处理后胎鼠血浆中脂联素的浓度均有所减少;不同剂量尼古丁处理后胎鼠血浆中皮质酮的浓度均高于对照组,且具有剂量依赖性。RT-PCR、qRT-PCR 和 Western blot 结果显示,大剂量尼古丁处理后胎鼠肝脏中 IRS-2 mRNA、蛋白表达水平低于对照组,但 IRS-1 mRNA、蛋白表达水平与对照

组相近;胎鼠骨骼肌中 IRS-1 的 mRNA、蛋白表达水平显著低于对照组,但 IRS-2 的 mRNA、蛋白表达水平与对照组相近。本研究证实,尼古丁组胎鼠骨骼肌中 IRS-1 和肝脏中 IRS-2 mRNA、蛋白的相对表达水平低于正常对照组,说明 IUGR 可能在外周组织(肝脏和骨骼肌)胰岛素信号通路传导障碍。

综上所述,孕期尼古丁暴露可提高子代胎鼠 IUGR 的发生率,且尼古丁暴露胎鼠骨骼肌中 IRS-1 和肝脏中 IRS-2 mRNA、蛋白的表达水平都降低,说明该胎鼠可能在外周组织胰岛素信号通路传导障碍,这可为 IUGR 发生的机制研究及 IUGR 个体代谢综合征的治疗提供有价值的参考。然而,IUGR 的发生及 IUGR 个体代谢综合征是一个复杂的过程,所涉及信号通路及蛋白等机制还需进行深入研究。

#### 参考文献

- [1] Tauber M. Final height and intrauterine growth retardation [J]. *Ann Endocrinol (Paris)*, 2017, 78(2): 96-97.
- [2] Reshetnikov E, Zarudskaya O, Polonikov A, et al. Genetic markers for inherited thrombophilia are associated with fetal growth retardation in the population of Central Russia [J]. *J Obstet Gynaecol Res*, 2017, 43(7): 1139-1144.
- [3] Zhang LL, Zhang H, Li Y, et al. Effects of medium-chain triglycerides on intestinal morphology and energy metabolism of intrauterine growth retarded weanling piglets [J]. *Arch Anim Nutr*, 2017, 71(3): 231-245.
- [4] Banderli G, Martelli A, Landi M, et al. Short and long term health effects of parental tobacco smoking during pregnancy and lactation: a descriptive review [J]. *J Transl Med*, 2015, 13(1): 327.
- [5] Ojeda N, Hall S, Lasley CJ, et al. Prenatal nicotine exposure augments renal oxidative stress in embryos of pregnant rats with reduced uterine perfusion pressure [J]. *In Vivo*, 2016, 30(3): 219-224.
- [6] Robb KP, Cotechini T, Allaire C, et al. Inflammation-induced fetal growth restriction in rats is associated with increased placental HIF-1 $\alpha$  accumulation [J]. *PLoS One*, 2017, 12(4): e0175805.
- [7] González-González NL, González-Dávila E, González Marrero L, et al. Value of placental volume and vascular flow indices as predictors of intrauterine growth retardation [J]. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 2017, 212: 13-19.
- [8] Wu DM, He Z, Chen T, et al. DNA hypermethylation of acetoacetyl-CoA synthetase contributes to inhibited cholesterol supply and steroidogenesis in fetal rat adrenals under prenatal nicotine exposure [J]. *Toxicology*, 2016, 340: 43-52.
- [9] Tie K, Tan Y, Deng Y, et al. Prenatal nicotine exposure induces poor articular cartilage quality in female adult offspring fed a high-fat diet and the intrauterine programming mechanisms [J]. *Reprod Toxicol*, 2016, 60: 11-20.
- [10] 王成斌,郑锐丹,高金枝,等.胰岛素受体底物在生长追赶宫内发育迟缓新生大鼠脂肪细胞中的表达 [J]. *临床儿科杂志*, 2014, 32(12): 1162-1167.
- [11] Mazarico E, Llorba E, Cumplido R, et al. Neural injury markers in intrauterine growth restriction and their relation to perinatal outcomes [J]. *Pediatr Res*, 2017, 82(3): 452-457.
- [12] Mierzynski R, Dluski D, Darmochwal-Kolarz D, et al. Intra-uterine growth retardation as a risk factor of postnatal metabolic disorders [J]. *Curr Pharm Biotechnol*, 2016, 17(7): 587-596.
- [13] Zimmermann E, Berentzen TL, Gamborg M, et al. Sex-specific associations between birth weight and adult primary liver cancer in a large cohort of Danish children [J]. *Int J Cancer*, 2016, 138(6): 1410-1415.
- [14] Embleton ND, Korada M, Wood CL, et al. Catch-up growth and metabolic outcomes in adolescents born preterm [J]. *Arch Dis Child*, 2016, 101(11): 1026-1031.
- [15] Kopec G, Shekhawat PS, Mhanna MJ. Prevalence of diabetes and obesity in association with prematurity and growth restriction [J]. *Diabetes Metab Syndr Obes*, 2017, 10: 285-295.
- [16] Mi Y, Qi G, Fan R, et al. EGCG ameliorates high-fat-and high-fructose-induced cognitive defects by regulating the IRS/AKT and ERK/CREB/BDNF signaling pathways in the CNS [J]. *FASEB J*, 2017, 31(11): 4998-5011.
- [17] Subramanian S, Pallati PK, Rai V, et al. Increased expression of triggering receptor expressed on myeloid cells-1 in the population with obesity and insulin resistance [J]. *Obesity (Silver Spring)*, 2017, 25(3): 527-538.
- [18] Tawo R, Pokrzywa W, Kevei É, et al. The ubiquitin ligase CHIP integrates proteostasis and aging by regulation of insulin receptor turnover [J]. *Cell*, 2017, 169(3): 470-482. e13.
- [19] Al-Salam A, Irwin DM. Evolution of the vertebrate insulin receptor substrate (Irs) gene family [J]. *BMC Evol Biol*, 2017, 17(1): 148.
- [20] Simon-Szabó L, Kokas M, Greff Z, et al. Novel compounds reducing IRS-1 serine phosphorylation for treatment of diabetes [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2016, 26(2): 424-428.
- [21] Cai S, Sun W, Fan Y, et al. Effect of mulberry leaf (Folium Mori) on insulin resistance via IRS-1/PI3K/Glut-4 signalling pathway in type 2 diabetes mellitus rats [J]. *Pharm Biol*, 2016, 54(11): 2685-2691.
- [22] Mercado-Matos J, Clark JL, Piper AJ, et al. Differential involvement of the microtubule cytoskeleton in insulin receptor substrate 1 (IRS-1) and IRS-2 signaling to AKT determines the response to microtubule disruption in breast carcinoma cells [J]. *J Biol Chem*, 2017, 292(19): 7806-7816.
- [23] Ruan H, Dong LQ. Adiponectin signaling and function in insulin target tissues [J]. *J Mol Cell Biol*, 2016, 8(2): 101-109.
- [24] Lopez-Jaramillo P. The role of adiponectin in cardiometabolic diseases: effects of nutritional interventions [J]. *J Nutr*, 2016, 146(2): 422S-426S.
- [25] Stalder T, Kirschbaum C, Kudielka BM, et al. Assessment of the cortisol awakening response: Expert consensus guidelines [J]. *Psychoneuroendocrinology*, 2016, 63: 414-432.