

补肾益气活血方对 FGR 大鼠小肠上 LAT1 表达的影响

刘倩¹ 郑小红² 彭静³ 马健⁴ 吴菁^{1*}

(1. 广东省妇幼保健院 医学遗传中心; 2. 广东省妇幼保健院 中医科; 3. 广东省妇幼保健院 产科; 4. 广东省妇幼保健院 转化医学中心, 广东 广州 510000)

【摘要】目的 观察补肾益气活血方对宫内生长受限(fetal growth restriction, FGR)大鼠小肠上氨基酸转运蛋白 LAT1 表达的影响,探讨该方治疗胎儿宫内生长受限的可能机制。**方法** 应用被动吸烟法构建 Wistar 大鼠 FGR 模型,将 35 只孕鼠随机分为空白组、模型组、中药组、西药组及中西药结合组,其中 5 只孕鼠未获得胎鼠,最终 30 只孕鼠入组。采用 Realtime RT-PCR 法、Western Blot 法检测胎鼠及孕鼠小肠上氨基酸转运蛋白 LAT1(SLC7A5)及其重链 4F2hc(SLC3A2)的 mRNA 及蛋白表达,并比较其表达差异。**结果** FGR 模型组孕鼠小肠上氨基酸转运蛋白 LAT1 及其对应 mRNA SLC7A5 表达上调,经补肾益气活血方和(或)精氨酸治疗后出现不同程度的表达下调,且各治疗组胎鼠体重均高于 FGR 模型组。**结论** 孕鼠小肠上 LAT1 蛋白及 mRNA 表达下调可能与补肾益气活血方治疗宫内生长受限的作用机制有关。

【关键词】 氨基酸转运蛋白 LAT1;胎儿宫内生长受限;补肾益气活血方

【中图分类号】 R714.43+1 **【文献标识码】** A

Study of effect of Bushen Yiqi Huoxue recipe on LAT1 expression in small intestine of FGR rats

Liu Qian¹, Zheng Xiaohong², Peng Jing³, Ma Jian⁴, Wu Jing^{1*}

(Guang dong Women and Children Hospital 1. Department of Medical Genetics Center; 2. Traditional Chinese Medicine Department; 3. Department of Obstetric; 4. Translational Medicine Center)

【Abstract】Objective To observe the effect of Bushen Yiqi Huoxue recipe (BYHR) on the expression of amino acid transporter LAT1 in the small intestine of rats with intrauterine growth restriction (FGR), and to explore the possible mechanism of this formula in the treatment of fetal intrauterine growth restriction.

Methods The FGR model of Wistar rats was established by passive smoking method, and 35 pregnant rats were randomly divided into blank group, model group, traditional Chinese medicine group (treated with BYHR), western medicine group (treated with arginine), and Chinese and Western medicine combination group. 5 pregnant rats did not obtain fetal rats, and finally 30 pregnant rats were included in the group. Realtime RT-PCR and Western Blot were used to detect mRNA and protein expressions of amino acid transporter LAT1 (SLC7A5) and heavy chain 4F2hc (SLC3A2) in the small intestine of fetal and pregnant mice. One-way analysis of variance was used to compare mRNA and protein expression differences of target genes in each group. **Results** The expression of amino acid transporter LAT1 and its corresponding mRNA SLC7A5 in the small intestine of pregnant mice in the FGR model group was up-regulated, and the expression was down-regulated to varying degrees after the treatment of BYHR with or

DOI: 10.13470/j.cnki.cjpd.2023.02.004

* 通信作者:吴菁,Email:wujing020@126.com

基金项目:广东省中医药局科研项目(20211051);广州市科技局科研项目(202201011768)

without arginine, and the body weight of fetal mice in all treatment groups was higher than that in the FGR model group. **Conclusion** The down-regulation of LAT1 protein and mRNA expression in the small intestine of pregnant mice may be related to the mechanism of BYHR in the treatment of intrauterine growth restriction.

【Key words】 L-type amino acid transporter 1 LAT1; fetal intrauterine growth restriction; Bushen Yiqi Huoxue recipe BYHR

胎儿宫内生长受限(fetal growth restriction, FGR)是常见的妊娠合并症之一,是导致围产儿死亡的第二大原因,同时也对儿童期及成年期健康构成严重威胁^[1],增加成年后的高血压、2型糖尿病、肥胖、冠心病等代谢性疾病的发生风险,被誉为“健康与疾病的发育起源”(developmental origins of health and disease, DOHaD)^[2]。然而,FGR的病理生理机制尚不明确,病因复杂,缺乏有效的预防以及针对性治疗手段。

宫内生长受限通常表现为胎儿低营养状态,有学者研究发现 FGR 大鼠血浆中氨基酸浓度降低^[3,4]。我们以往关于人类胎儿^[5]和新生儿^[6]的研究发现胎儿期 FGR 组氨基酸浓度低于对照组而新生儿期 FGR 氨基酸浓度高于对照组,我们推测可能 FGR 与氨基酸吸收利用相关。小肠是氨基酸吸收的主要场所^[9],且在维持氨基酸平衡过程中起重要作用^[10],故而可作为氨基酸营养代谢研究的重要研究对象。可对必须氨基酸进行跨膜转运的 L 型氨基酸转运蛋白-1(L-type amino acid transporter, LAT1)广泛分布于含小肠在内的多种机体组织中,以非 Na⁺ 依赖方式介导氨基酸转运。LAT1 与重链细胞表面抗原 4F2(4F2 heavy chain, 4F2hc)相结合后方可发挥作用^[11,12],在胎儿生长发育过程中起重要作用,常用于氨基酸代谢的研究。有研究显示补充精氨酸可促进 FGR 大鼠生长,提高胎鼠血液中精氨酸浓度^[7]。因而,精氨酸常作为探索中药方治疗 FGR 的西药阳性对照。

中医学称宫内生长受限为“胎痿不长”,认为 FGR 胎儿存在气血不足、血瘀症的表现,治疗上益气养血与活血化瘀并重^[14],补肾益气活血方是临床防治 FGR 行之有效的方剂^[14-16],作用机制未明。本研究采用 qRT-PCR 法、Western Blot 法检测胎

鼠及孕鼠小肠上氨基酸转运蛋白 LAT1(对应 mRNA 为 SLC7A5)及其重链 4F2hc(对应 mRNA 为 SLC3A2)的 mRNA 及蛋白表达,进行补肾益气活血方防治 FGR 作用机制初探。

1 材料和方法

1.1 实验动物 购置 35 只 SPF 级 Wistar 性成熟未孕雌鼠,体重 220~240 g;12 只 SPF 级 Wistar 成年性成熟雄鼠,体重 250~300 g。所需动物全部购自南方医科大学实验动物中心,许可证号 SCXK(粤)2016-0041。动物室温度 20~22℃,湿度 40%~70%,12h-12h 昼夜交替,自由饮水,垫料及实验动物维持饲料购自江苏协同生物有限公司,均已进行辐照消毒。

1.2 药物及制备 补肾益气活血方由桑寄生 18 g、黄芪 14 g、当归 9 g、川芎 9 g、丹参 9 g(免煎颗粒)组成,购自广东省妇幼保健院中药房,(来源及批号:厂家:广东一方厂;当归批号:RY005101000027;黄芪批号:RY005090000003;桑寄生批号:RY005081000028;川芎批号:RY005081000063;丹参批号:RY005072000079)用无菌蒸馏水配成 1.5 g/ml 原生药浓度的无菌制剂,4℃保存。西药组使用精氨酸注射液(上海信谊金朱药业有限公司,国药准字 H31021692,规格:20 ml:5 g),购自广东省妇幼保健院西药房。

1.3 主要试剂 DAB 显色试剂盒及 Cocktail 蛋白酶抑制剂由武汉谷歌生物科技有限公司提供;组织总蛋白提取试剂以及 BCA 蛋白浓度测定试剂盒购自上海碧云天生物科技有限公司。PCR 引物由苏州金维智生物科技有限公司合成;TRIzol 总 RNA 提取试剂盒购自 Invitrogen 公司,ImProm-IITM 逆转录试剂盒(A3800)购自 Promega 公司,鼠抗人 LAT1 多克隆抗体(Santa cruz,sc-374232)购自美国

默克生物技术公司;山羊抗鼠单克隆抗体(BA1050)购自武汉博士德生物有限公司;β-actin 内参多克隆抗体(AF7018)购自美国 Affinity 生物科技公司。

1.4 分组与造模 将所购置大鼠按雌雄比例 3:1 合笼饲养,次日上午 8—10 时进行阴道涂片,光学显微镜下进行观察,精子阳性者确定为妊娠第 0 天,孕鼠随机编号入组,每组单独饲养,设置空白对照组、模型对照组、精氨酸组、中药组、中西药组,每组 7 只,在实验过程中部分孕鼠流产,最终入组情况:空白组 5 只,模型对照组 7 只,西药组 5 只,中西药组 7 只,中药组 6 只。

除空白对照组外,其余 4 组在妊娠 1~20d,每天熏烟 4 次,将孕鼠置于一个相对封闭的养殖箱中,每次燃烟 3 支(红梅香烟,红塔烟草集团有限公司;每支烟:烟碱含量 0.8mg,焦油量 10mg,一氧化碳量 12mg),被动吸烟 15~20min,两次间隔时间为 2~2.5 h。在妊娠 7~20d,中药组、中西药组每日清晨每只孕鼠以补肾益气活血方 2ml 灌胃,每毫升含原生药 1.5 克,西药组以精氨酸 0.2 g/100ml 浓度配置饮用水,中西药组除灌胃外,以精氨酸 0.2 g/100ml 浓度^[16]配置饮用水。

1.5 取材 于妊娠 21d 时,采用脱臼法处死孕鼠,立即剖腹,逐一取出胎鼠,断脐,保暖,擦净羊水,称重。胎盘从子宫蜕膜剥离,无菌生理盐水漂洗,去除血液,擦净称重。每只孕鼠均进行解剖,每窝胎鼠随机选 3 只进行解剖,取孕鼠、胎鼠小肠,称重并于一 80℃ 保存备用。

1.6 检测

1.6.1 qRT-PCR 法检测孕鼠及胎鼠小肠上 LAT1 及其重链 mRNA 表达情况 北京博迈德基因技术有限公司设计引物序列见表 1。用 TRIzol 试剂提取胎鼠、孕鼠小肠 RNA,按照逆转录试剂盒说明书指引合成 cDNA,按 PCR 反应体系(表 2)进行加样,参照文献中^[17]反应条件:95℃ 预变性 10 分,95℃ 变性 15 秒,60℃ 退火 1 分,重复 45 个循环;在循环反应后,按以下条件测溶解曲线,95℃ 1 分,55℃ 3 秒,95℃ 30 秒。待反应结束后,据溶解曲线判断

PCR 反应的特异性。根据各样本目的基因 Ct 值及内参 Ct 值,据公式^[18] 计算得出各样本目的基因 mRNA 相对表达量。每个孕鼠、胎鼠样本设三个平行样。

表 1 引物列表

基因	序列	扩增长度 (bp)
SLC3A2	F 5'TAGCAACTCCCAAACCTCAA	160
	R TGAGGAAGACAGTGCATCAA	
SLC7A5	F TCTGTCAATGGGTCTCTGTTC	150
	R GTACATCAGGGTCATGACACA	
β-actin	F AGGGAAATCGTGCCTGACAT	150
	R GAACCGCTCATTGCCGATAG	

表 2 PCR 反应体系

试剂	体积(μl)
cDNA(1:20 稀释)	5.0
上游引物	0.5
下游引物	0.5
2x SYBR Green qPCR SuperMix	10
dH ₂ O	4.0
总体积	20

1.6.2 蛋白免疫印迹法(Western Blot)检测孕鼠及胎鼠小肠上 LAT1 及其重链蛋白(4F2hc)表达情况 蛋白提取 采用冰裂解液提取组织样本中总蛋白,应用 BCA 蛋白测定试剂盒检测样品中总蛋白,各样本大致定容,再加入 5×loading buffer,煮沸 10 分钟以使蛋白变性,样品存于一 80℃ 备用。

聚丙烯酰胺凝胶(SDS-PAGE)电泳 制备分离胶(聚丙烯酰胺凝胶),将样品蛋白液混匀并快速离心后上样,以 80 V 恒压电泳至样品跑过浓缩胶后,120 V 恒压电泳至目标蛋白跑至分离胶 2/3 处停止。

转膜及孵育 按 Marker 指示标记后进行切胶、转膜,1×TBST 洗膜 10 分钟,在牛奶封闭液中室温平缓摇动封闭 2 小时,1×TBST 洗膜 3 次,加入一抗稀释液(1:1000)4℃ 孵育过夜,1×TBST 洗膜 3 次;加入辣根过氧化物酶标记的二抗稀释液(1:1000)室温平缓摇动 1 小时,1×TBST 洗膜 3 次。

显像及分析 化学发光胶片显影胶片曝光定影,采用 Image J 软件系统对检测结果进行分析,目的蛋白相对表达量=目的蛋白条带灰度值/同样本 β-actin 灰度值。每个孕鼠、胎鼠样本设三个平行样。

1.7 统计分析 采用 SPSS 21.0 统计软件(SPSS

21, IBM, 美国)对所有数据进行统计分析, 本研究所得检测结果为计量资料, 用 $\bar{x} \pm s$ 进行统计描述。首先采用 *Kolmogorov-Smirnov* 法对资料进行正态性检验(检验水准 $\alpha=0.10$), 若目的基因及蛋白表达量呈正态分布, 且方差齐(检验水准 $\alpha=0.10$), 采用单因素方差分析比较各组目的基因、蛋白表达差异(检验水准 $\alpha=0.05$); 若数据呈非正态分布, 采用非参数检验分析各组目的基因、蛋白表达差异(检验水准 $\alpha=0.05$), 用 *Graphpad Prism 9.0* 绘制统计图。

1.8 伦理 本研究方案遵守动物实验研究伦理原则, 并通过了广东省妇幼保健院医学伦理委员会审批(广东省妇幼保健院医伦第[202001071]号)。

2 结果

2.1 各组实验动物一般情况 如表3所示, 各组孕鼠检疫后体重、产前体重及胎仔数无统计学差异。模型组胎鼠平均体重明显降低, 造模成功, 五组胎鼠体重及胎盘重量差异均有统计学意义。中西药组胎鼠体重最重, 胎鼠体重空白组与中药组、西药组与模型组两组间差异无统计学意义, 其余任两组间差异均有统计学意义($\alpha=0.05$), 胎盘重量中药组与西药组、模型组与西药组胎鼠间差异无统计学意义, 其余任两组间差异均有统计学意义($\alpha=0.05$)。

表3 各组实验动物一般情况

组别	孕鼠检疫后体重 (g)	孕鼠产前体重 (g)	胎仔数 (n)	胎鼠体重 (g)	胎盘重量 (g)
空白组(n=5)	242.46±19.60	342.40±45.49	13.40±2.70	2.33±0.56	0.51±0.11
模型组(n=7)	258.34±22.62	353.06±13.37	15.14±1.57	1.99±0.49	0.42±0.09
中药组(n=6)	229.02±13.67	323.80±24.38	11.33±3.20	2.38±0.23	0.46±0.06
西药组(n=5)	246.54±27.33	463.18±37.55	15.80±1.92	2.05±0.40	0.43±0.07
中西药组(n=7)	234.47±15.99	313.37±47.92	12.71±1.68	2.71±0.28	0.47±0.09
P	0.111	0.088	0.125	<0.001	<0.001

2.2 孕鼠、胎鼠小肠上 *SLC3A2* 及 *SLC7A5* 基因表达情况 如表4及图1所示: 不同处理因素孕鼠小肠上氨基酸转运蛋白 *LAT1* 基因 *SLC7A5* 及重链 4F2hc 基因 *SLC3A2* 在表达差异有统计学意义, 模型组孕鼠小肠上 *SLC7A5* 及 *SLC3A2* 基因表达水平最高($P<0.001$)。组间 *SLC7A5* 基因表达差

异比较显示: 空白组与西药组间差异无统计学意义($P=0.663$), 其余各组任两组组间差异均有统计学意义。组间 *SLC3A2* 基因表达差异比较显示: 模型组与其余四组任意组间两两比较差异有统计学意义($P<0.001$), 中药组仅与模型组组间差异有统计学意义。

表4 各组孕鼠、胎鼠小肠上目的基因相对表达情况

组别	<i>SLC7A5</i> (<i>LAT1</i>)		<i>SLC3A2</i> (4F2hc)	
	孕鼠小肠	胎鼠小肠	孕鼠小肠	胎鼠小肠
空白组	0.74±0.28	0.91±0.44	1.11±0.32	1.29±0.49
模型组	2.58±0.28	0.11±0.04	3.13±1.07	2.01±0.52
中药组	1.67±0.48	0.46±0.15	0.89±0.19	3.56±1.11
西药组	0.86±0.30	0.22±0.19	1.56±0.20	1.90±0.83
中西药组	1.89±0.63	0.10±0.03	0.85±0.27	1.32±0.33
P	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

不同处理因素胎鼠小肠上氨基酸转运蛋白 *LAT1* 基因 *SLC7A5* 及重链 4F2hc 基因 *SLC3A2* 在表达差异有统计学意义, 空白组胎鼠小肠上 *SLC7A5* 基因表达水平最高, 中药组小肠上 *SLC3A2* 基因表达水平最高($P<0.001$)。组间 *SLC7A5* 基因表达差异比较显示: 模型组与中西药组、模型组与西药组组间差异无统计学意义, 其余各

组任两组组间差异均有统计学意义($\alpha=0.05$)。组间 *SLC3A2* 基因表达差异比较显示: 空白组与中西药组、模型组与西药组组间差异无统计学意义, 其余各组任两组组间差异均有统计学意义($\alpha=0.05$)。

2.3 孕鼠、胎鼠小肠上 *LAT1* 及其重链 4F2hc 蛋白表达情况 如表5及图2-3所示: *LAT1* 蛋白表达水平在各组孕鼠小肠间有统计学差异($P=$

0.025),模型组表达丰度最高,各组胎鼠小肠间表达无统计学差异,重链蛋白 4F2hc 各组孕鼠及胎鼠小肠上表达水平无统计学差异。LAT1 蛋白在孕鼠小

肠上表达各组间比较:模型组蛋白表达高于其余四组且差异有统计学意义($\alpha=0.05$)。

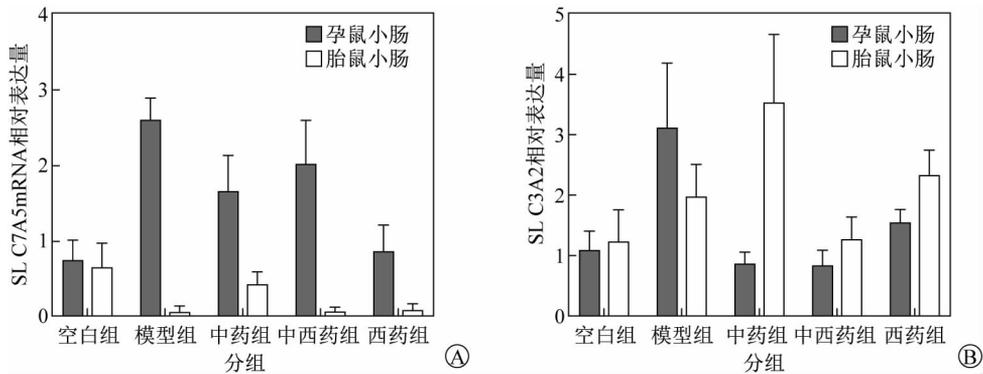


图 1 各组孕鼠、胎鼠小肠上目的基因相对表达情况

表 5 各组孕鼠、胎鼠小肠上目的蛋白表达情况

组别	LAT1		4F2hc	
	大鼠小肠	胎鼠小肠	大鼠小肠	胎鼠小肠
空白组	0.25±0.10	0.26±0.13	0.13±0.10	0.22±0.12
模型组	0.39±0.19	0.32±0.16	0.30±0.25	0.30±0.17
中药组	0.18±0.07	0.35±0.17	0.26±0.17	0.41±0.23
西药组	0.23±0.11	0.31±0.17	0.33±0.13	0.40±0.22
中西药组	0.18±0.07	0.16±0.05	0.20±0.18	0.21±0.17
P	0.025	0.129	0.331	0.221

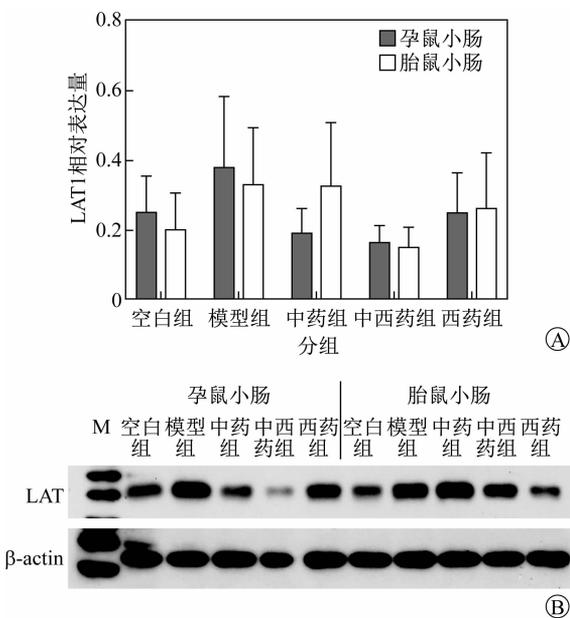


图 2 各组孕鼠、胎鼠小肠上 LAT1 蛋白相对表达情况

气活血方及西药(精氨酸)对照治疗后孕鼠及胎鼠小肠上氨基酸转运蛋白 LAT1 (SLC7A5) 及重链 4F2hc(SLC3A2)mRNA 及蛋白表达变化情况,探索补肾益气活血方治疗胎儿宫内生长受限的可能相关机制。

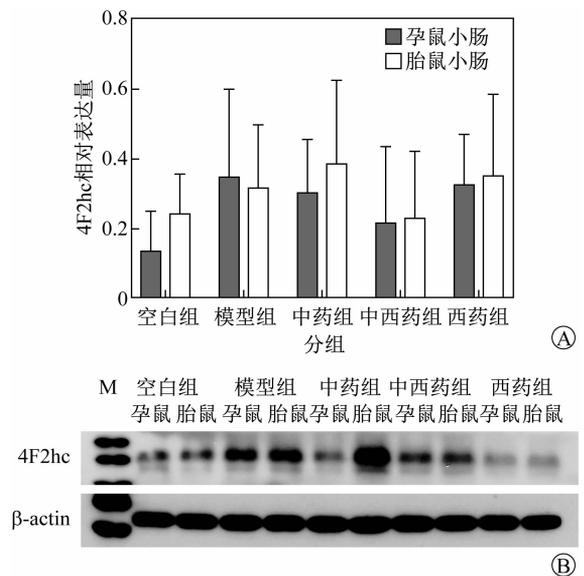


图 3 各组孕鼠、胎鼠小肠上 4F2hc 蛋白相对表达情况

3 讨论

本研究采用已被证实有效的被动吸烟造模方式构建胎儿宫内生长受限大鼠模型,通过检测补肾益

首先,本研究显示 FGR 模型组胎鼠体重明显低于其余各组,差异有统计学意义,说明 FGR 造模成功,为后续研究奠定基础。胎儿宫内生长受限在中医上称“胎萎不长”,多与由气血不足、血虚血瘀等所致,补肾益气活血方是临床上行之有效的方剂。补肾益气活血方立方依据为:肾虚则胎元不固,脾气受损,胎萎不长,气血不足则胎失所养^[19]。该方将补肾、益气、活血有机结合,方中桑寄生补肾为君药,黄芪健脾益气,当归、川芎、丹参补血、养血、活血,共为臣药,通过改善子宫胎盘血流量和胎鼠脑灌注量,促进胎儿生长^[16]。本研究中各治疗组胎鼠体重均高于 FGR 组,中药组比西药组胎鼠体重增加更显著,中西药组胎鼠体重明显高于空白组。说明补肾益气活血方确能改善生长受限的胎儿宫内发育,经中西药联合处理后,甚至能获得额外的体重增加。本研究从动物模型角度证实了补肾益气活血方有助于宫内生长受限胎儿的生长发育。

其次,本研究发现 FGR 组孕鼠及胎鼠小肠上氨基酸转运蛋白 LAT1 对应 mRNA 及蛋白量表达上调,采用补肾益气活血方、精氨酸或中西药结合治疗后,孕鼠及胎鼠目的基因 mRNA 及蛋白表达量出现不同程度下调。孕鼠小肠上目的基因和蛋白的表达差异均有统计学意义,胎鼠小肠上 LAT1 蛋白表达差异无统计学意义,但也有与孕鼠小肠相似的变化趋势。有学者发现小鼠小肠上 LAT1 及其重链 4F2hc 的对应 mRNA SLC7A5 和 SLC3A2 的表达可在一定程度上反映小鼠氨基酸吸收能力^[20],被用于各种病理生理状态下的小肠氨基酸代谢研究^[21, 22],如肿瘤、糖尿病、免疫系统疾病及神经系统疾病等^[11]。从本研究中的发现推测,FGR 组目的基因 mRNA 和蛋白表达上调可能缘于 FGR 组孕鼠体内氨基酸浓度下降反馈性引起小肠上必须氨基酸的主要转运蛋白 LAT1 及其对应基因 mRNA 表达上调,以吸取更多的必需氨基酸从而促进胎仔生长发育。胎鼠小肠上 LAT1 蛋白表达差异无统计学意义可能因为胎鼠小肠氨基酸吸收功能发育尚不完全,改变不显著。具体机制尚需进一步研究。

第三,经补肾益气活血方、精氨酸或中药方剂及西药共同处理后,孕鼠及胎鼠小肠上 LAT1 mRNA

及蛋白表达有所下降,以中药组下降最为显著,治疗后各处理组胎鼠体重均高于 FGR 组胎鼠,中西药组胎鼠体重增幅最大。以往学者研究显示母婴分离后子鼠小肠上 LAT1 蛋白表达上调与氨基酸摄取能力下降有关,且导致体重下降、生长缓慢^[23]。我们推测大鼠小肠上 LAT1 蛋白表达水平上调可能与生长缓慢及低体重相关,但其相关调控机制尚需进一步研究。已有学者通过动物模型研究表明补充精氨酸可提供胎儿氨基酸浓度、促进胎儿生长发育^[3]。本研究发现经补肾益气活血方处理后的 FGR 孕鼠小肠上 LAT1 蛋白及 mRNA 表达下调,其与西药组及中西药组间差异在 mRNA 水平和蛋白水平的改变略有不同,mRNA 水平西药组目的基因表达下调更显著,蛋白水平中药组与中西药组下调程度一致且优于西药组。我们推测出现此改变的可能原因包括:不同处理因素间 mRNA 水平和蛋白表达水平的变化差异可能略有不同;孕鼠补充精氨酸后小肠上 LAT1 蛋白表达下调,氨基酸摄取能力提高,从而促进胎鼠生长发育;补肾益气活血方处理后,孕鼠经由补肾、益气、活血三方面综合作用后,氨基酸摄取能力及胎儿生长发育能力优于西药处理组;中西药处理组,在中药整体调理基础上补充精氨酸,虽然小肠氨基酸转运蛋白 LAT1 表达未较中药处理组下调,但中西药组胎鼠体重高于中药组且差异有统计学意义,其具体调控机制尚需进一步研究。

此外,各组间胎鼠小肠上 LAT1 蛋白、孕鼠及胎鼠重链 4F2hc 蛋白表达差异无统计学意义。各组间胎鼠小肠上 LAT1 蛋白表达差异无统计学意义,可能缘于胎鼠小肠氨基酸吸收能力尚未发育完全,对 FGR 造模及有关治疗处理没有相应反馈效应。且已有研究证实胎鼠出生后小肠上皮细胞分化发育与出生前成熟度不同^[24],与本研究结果不冲突。孕鼠及胎鼠重链 4F2hc 蛋白表达差异无统计学意义可能缘于重链蛋白可与 L-型氨基酸转运蛋白家族其余亚型结合形成异源二聚体共同发挥氨基酸转运功能^[25],故而其变化趋势不一定与 LAT1 蛋白变化趋势一致。

本研究的局限性在于仅针对动物模型开展相关研究,其有关信息无法直接外推到人类宫内生长受

限的研究及治疗中,尚需进一步深入研究实现从基础研究到临床应用的转化。

综上所述,胎儿宫内生长受限治疗方法及可能机制的探索是研究热点,补肾益气活血方可下调 FGR 孕鼠孕鼠及胎鼠小肠上 LAT1 蛋白表达,改善 FGR 胎鼠的生长发育及体重增长,具体作用机制尚需进一步研究,我们将在后续的研究中对其调控机制进行探索。

参 考 文 献

- [1] 盛超,王志坚. 胎儿生长受限对子代的远期影响[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2021,37(02):162-165.
- [2] LAPEHN S, PAQUETTE A G. The Placental Epigenome as a Molecular Link Between Prenatal Exposures and Fetal Health Outcomes Through the DOHaD Hypothesis[J]. *Curr Environ Health Rep*, 2022,9(3):490-501.
- [3] BOURDON A, HANNIGSBERG J, MISBERT E, et al. Maternal supplementation with citrulline or arginine during gestation impacts fetal amino acid availability in a model of intrauterine growth restriction (IUGR)[J]. *Clin Nutr*, 2020, 39(12):3736-3743.
- [4] ALKHALEFAH A, DUNN W B, ALLWOOD J W, et al. Maternal intermittent fasting during pregnancy induces fetal growth restriction and down-regulated placental system A amino acid transport in the rat[J]. *Clin Sci (Lond)*, 2021, 135(11):1445-1466.
- [5] 刘倩,饶腾子,沈文,等. 胎儿生长受限的氨基酸代谢学研究[J]. 中国产前诊断杂志(电子版), 2019,11(04):42-45.
- [6] 刘倩,王萍,石晓梅,等. 非复杂妊娠新生儿氨基酸浓度与孕龄相关性[J]. 广东医学, 2019,40(S1):167-169.
- [7] BOURDON A, HANNIGSBERG J, MISBERT E, et al. Maternal supplementation with citrulline or arginine during gestation impacts fetal amino acid availability in a model of intrauterine growth restriction (IUGR)[J]. *Clin Nutr*, 2020, 39(12):3736-3743.
- [8] ALKHALEFAH A, DUNN W B, ALLWOOD J W, et al. Maternal intermittent fasting during pregnancy induces fetal growth restriction and down-regulated placental system A amino acid transport in the rat[J]. *Clin Sci (Lond)*, 2021, 135(11):1445-1466.
- [9] 韩宁,陈莹莹,许雅娟,等. 胎儿生长受限与小肠细菌过度生长的相关性研究[J]. 实用妇产科杂志, 2021,37(03):208-211.
- [10] YANG X, WANG G, GONG X, et al. Effects of chronic stress on intestinal amino acid pathways[J]. *Physiol Behav*, 2019,204:199-209.
- [11] KAHLHOFER J, TEIS D. The human LAT1-4F2hc (SLC7A5-SLC3A2) transporter complex: Physiological and pathophysiological implications[J]. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 2022. Online ahead of print.
- [12] 王晓杰. Lat1 在妊娠小鼠子宫内膜蜕膜化进程的功能研究[D]. 重庆:重庆医科大学, 2017.
- [13] BLANCO-CASTANEDA R, ZAPATA-VAZQUEZ Y, LAZALDE-RAMOS B P, et al. Effect of levetiracetam on the gene expression of placental transporters in a murine model[J]. *Epilepsia*, 2022,63(5):1266-1275.
- [14] 申孟瑶. 胎儿宫内生长受限 NMDA 受体和相关蛋白的改变及补肾益气活血方的治疗机理的研究[D]. 天津中医药大学中西医结合临床, 2015.
- [15] 王琪,熊丽萍,屠庆年. 补肾益气活血方对胎儿生长受限胎鼠补肾益气活血方对胎儿生长受限胎鼠脑胰岛素样生长因子-I 与胰岛素样生长因子结合蛋白-3 表达的影响[J]. 医药导报, 2011,30(08):975-978.
- [16] 王琪,熊丽萍,陶秀良. 补肾益气活血方对胎儿生长受限胎鼠 IGFBP-1 及 IGFBP-3 表达的影响[J]. 湖北中医药大学学报, 2011,13(5):6-9.
- [17] 王庆彦,郑洪新. 补肾益气活血方对去势大鼠 Wnt7b/ β -catenin 信号通路的调控机制[J]. 中华中医药杂志, 2019,34(09):4249-4253.
- [18] PFAFFL M W. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR[J]. *Nucleic Acids Res*, 2001,29(9):e45.
- [19] 樊俊华. 中西医结合治疗胎萎不长临床观察[J]. 实用中医药杂志, 2016,32(06):568-569.
- [20] SCOTT N A, LAWSON M A E, HODGETTS R J, et al. Macrophage metabolism in the intestine is compartment specific and regulated by the microbiota[J]. *Immunology*, 2022,166(1):138-152.
- [21] SUI Y, HOSHI N, OHGAKI R, et al. LAT1 expression influences Paneth cell number and tumor development in Apc (Min/+) mice[J]. *J Gastroenterol*, 2023, 58(5): 444-457.
- [22] KLEEMOLA M, TOIVONEN M, MYKKANEN J, et al. Heterodimerization of γ (+)LAT-1 and 4F2hc visualized by acceptor photobleaching FRET microscopy [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2007,1768(10):2345-2354.
- [23] 张玉荣,王瑞忠,王莉,等. 母婴分离诱导子代抑郁大鼠肠道氨基酸代谢失调[J]. 浙江大学学报(医学版), 2021,50(3):298-304.
- [24] QUARONI A. Fetal characteristics of small intestinal crypt cells[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1986,83(6):1723-1727.
- [25] FORT J, NICOLÁS-ARAGÓ A, PALACÍN M. The Ectodomains of rBAT and 4F2hc Are Fake or Orphan α -Glucosidases[J]. *Molecules*, 2021,26(20):6231.

(收稿日期:2023-04-11)

编辑:刘邓浩