

孕鼠补充苏氨酸锌对仔鼠生长及其相关基因表达的影响

虞俊翔, 冯建萍, 谢明勇, 王光然, 周 寰, 胡晓波*
(南昌大学 食品科学与技术国家重点实验室, 江西 南昌 330047)

摘 要: 为研究母体补充苏氨酸锌对子代生长水平的影响, 实验将40只受孕SD大鼠随机分为5组, 于孕鼠妊娠期第6~15天分别灌胃补充高、中、低剂量苏氨酸锌(灌胃剂量分别为250、500、1 000 mg/(kg·d)), 孕鼠分娩后将仔鼠常规饲养, 并测量1月龄仔鼠的生长指标和相关基因的表达。结果表明, 苏氨酸锌各剂量组仔鼠体质量与对照组相比有显著提高($P<0.05$); 苏氨酸锌各剂量组与对照组相比较, 其组织中锌转运体*ZnT1*基因的相对表达量都有显著提高($P<0.05$); 苏氨酸锌高剂量组与对照组相比较, 其组织中胰岛素样生长因子*IGF1*基因相对表达量都有显著提高($P<0.05$); 且胰岛素样生长因子受体基因*IGF1R*的表达与*IGF1*的表达趋势基本保持一致。实验说明妊娠期补充苏氨酸锌能在一定程度上提升仔鼠的生长性能, 能显著提高仔鼠锌转运体*ZnT1*、胰岛素样生长因子*IGF1*及其受体*IGF1R*基因表达水平。

关键词: 苏氨酸锌; 锌转运体*ZnT1*; 胰岛素样生长因子*IGF1*; 胰岛素样生长因子受体; 基因相对表达量

Effect of Prepartum Supplementation of Pregnant Rats with Zinc Threoninate on the Growth Performance and Related Genes Expression of Their Offspring

YU Junxiang, FENG Jianping, XIE Mingyong, WANG Guangran, ZHOU Huan, HU Xiaobo*
(State Key Laboratory of Food Science and Technology, Nanchang University, Nanchang 330047, China)

Abstract: The purpose of this study was to observe the effect of prepartum supplementation of zinc threoninate (Thr-Zn) for pregnant rats on the growth performance of their offspring. Forty pregnant SD rats were randomly divided into five groups. Thr-Zn at high, medium and low doses during the sixth to fifteenth day of pregnancy was orally administered to the three experimental groups of animals, respectively. After the newborn rats were routinely fed to one month of age, the growth indicators and the expression of growth-related genes were evaluated. Compared with the control group, body weights of the offspring rats from each dose group increased significantly ($P < 0.05$). In addition, the mRNA expression levels of zinc transporter 1 (*ZnT1*) and insulin-like growth factor 1 (*IGF1*) were increased significantly ($P < 0.05$). The expression of insulin-like growth factor receptor (*IGF1R*) exhibited the same trend as *IGF1*. Therefore, the growth performance of offspring rats could be improved, and the mRNA expression levels of *ZnT1*, *IGF1* and *IGF1R* could be increased significantly by prepartum zinc supplementation.

Key words: zinc threoninate; zinc transporter 1 (*ZnT1*); insulin-like growth factor 1 (*IGF1*); insulin-like growth factor receptor; relative gene expression level

DOI:10.7506/spkx1002-6630-201705039

中图分类号: TS201.6

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2017)05-0239-05

引文格式:

虞俊翔, 冯建萍, 谢明勇, 等. 孕鼠补充苏氨酸锌对仔鼠生长及其相关基因表达的影响[J]. 食品科学, 2017, 38(5): 239-243. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201705039. <http://www.spkx.net.cn>

YU Junxiang, FENG Jianping, XIE Mingyong, et al. Effect of prepartum supplementation of pregnant rats with zinc threoninate on the growth performance and related genes expression of their offspring[J]. Food Science, 2017, 38(5): 239-243. (in Chinese with English abstract) DOI:10.7506/spkx1002-6630-201705039. <http://www.spkx.net.cn>

收稿日期: 2016-06-22

基金项目: 江西省科技支撑计划项目(20151BBF60040); 江西省自然科学基金项目(20132BAB204002);

江西省重大科技创新研究项目(20124ACF00400); 江西省教育厅2011年度产学研合作项目(GJJ11002)

作者简介: 虞俊翔(1991—), 男, 硕士研究生, 研究方向为功能食品与保健食品. E-mail: jxyu1210@163.com

*通信作者: 胡晓波(1971—), 女, 副教授, 博士, 研究方向为食品化学与营养. E-mail: hxbxq2005@163.com

锌作为人体必需的微量元素之一,与机体多种酶的生物活性密切相关,能参与机体免疫,对生物的生长发育和组织再生起着重要的生理作用^[1-4]。锌的缺乏会造成不良妊娠和胎儿畸形,锌的过量摄入会引发细胞毒性^[5]。苏氨酸锌是一种新型的锌功能强化剂^[6],与传统无机锌盐和有机酸锌盐比较,苏氨酸锌具有易被机体利用、稳定性好、毒副作用低、生物学效价高等优点^[7],显示出广泛的应用前景^[8]。

锌转运体(zinc transporter, ZnT)是负责机体锌转运和调控的一组特异性蛋白,它通过对细胞内锌的转运和外排作用,可调控机体锌的稳态平衡^[9]。ZnT1是ZnT中的一种重要的锌转运体,ZnT1基因的表达与机体血清锌浓度直接相关,研究证实ZnT1介导的锌转运与机体的生长发育密切相关^[10]。对机体的生长发育起着重要调节作用的胰岛素样生长因子1(insulin-like growth factor 1, IGF1)能对多种细胞的增殖和分化具有强烈刺激作用,从而促进机体蛋白质的生成,调节动物机体生长^[11]。IGF1的分泌与合成量除了受胰岛素和生长激素的调控外,也与机体营养状况密切相关。研究发现在饲喂高能饲料时,动物肝脏IGF1含量显著提高,动物生长速率加快^[12]。胰岛素样生长因子受体(insulin-like growth factor 1 receptor, IGF1R)是属于酪氨酸激酶一类的跨膜受体,它与IGF1密切相关,能通过信号介导细胞的增殖分化和机体的生长^[13]。

通过对妊娠期大鼠给予苏氨酸锌考察妊娠期补锌对仔鼠锌转运体ZnT1基因、胰岛素样生长因子IGF1基因及其受体IGF1R基因表达的影响,探讨妊娠期补充苏氨酸锌对子代生长发育水平的分子机制,从而更加全面地评定锌的生物利用率及锌在动物基因表达方面的调控作用。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

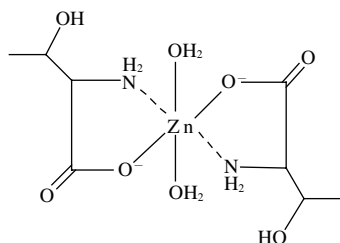


图1 苏氨酸锌结构式

Fig. 1 Structure of zinc threoninate

苏氨酸锌(化学式为 $C_8H_{16}N_2O_6Zn \cdot 2H_2O$ ^[6]),本实验室通过水热化学合成法制备,以苏氨酸和氧化锌为原料(物质的量比为2:1),水介质中90℃搅拌反

应2 h。反应液冷却晶析,过滤,洗涤固体,50℃真空干燥固体,粉碎,得到苏氨酸锌。通过乙二胺四乙酸(ethylenediaminetetraacetic acid, EDTA)络合滴定法测得产品锌含量实测值为19.40%(锌含量理论值为19.36%)。苏氨酸锌结构式如图1所示^[6]。

Trizol试剂 美国Invitrogen公司; SYBR permix Ex Taq™实时定量聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)试剂盒、0.1%焦碳酸二乙酯(diethyl pyrocarbonate, DEPC)处理水 日本Takara公司; Revert Aid™ First Strand cDNA合成试剂盒 美国Fermentas公司; 96孔PCR板 美国应用生物系统公司; 无DNA/RNA酶的一次性吸液嘴和EP管 美国Axygen公司; 无水乙醇、氯仿、异丙醇(分析纯) 天津大茂化学试剂厂。

1.2 仪器与设备

DYY-6C电泳仪 北京市六一仪器厂; E-330多功能酶标仪 美国Thermo公司; PCR仪、凝胶成像系统 美国Bio-Rad公司; 7900 HT Fast Real-time PCR System 美国ABI公司; 3K15-高速冷冻离心机 德国Sigma公司; Synchron CX4/Pro型生化分析仪 美国Beckman Coulter公司。

1.3 方法

1.3.1 实验动物及处理

实验动物购自常州卡文斯实验动物有限公司,选用8周龄成年未经产SPF级Sprague-Dawley(SD)大鼠(雄鼠20只,300~350 g;雌鼠40只,200~250 g),正常喂养常规饲料(锌含量139 mg/kg),动物自由采食饮水。

大鼠适应环境1周后选取健康的雌雄大鼠每天20:00按雌雄数量比2:1合笼,次日随机将检出的孕鼠分为5组,即低、中、高剂量组、溶媒(0.5%羧甲基纤维素钠(sodium salt of carboxy methyl cellulose, CMC-Na))对照组和空白对照组,每组8只。剂量组大鼠于妊娠期在第6~15天每天分别灌胃250、500、1 000 mg/(kg·d)(以体质量计)苏氨酸锌,溶媒对照组灌胃给予0.5% CMC-Na溶液,空白对照组灌胃给予双蒸水,灌胃容积均为1.5 mL/100 g。并于开始灌胃给药之日起,依照体质量变化灌胃相应的容积。待孕鼠自然分娩后,母鼠停止灌胃,健康仔鼠母乳喂养,断奶后将仔鼠进行常规饲料喂养。

1.3.2 样品采集

在孕鼠所产仔鼠中每组随机选取8只仔鼠饲养至1月龄,摘眼球取血后断颈处死,分别取仔鼠的肝脏、肾脏、脾脏放入EP管中,置于-80℃冰箱中保存待测。各组仔鼠血样于3 000 r/min离心分离血清,用全自动生化分析仪测定血清中的锌含量。

1.3.3 引物合成

选定 β -actin基因作为内参基因, 锌转运体ZnT1基因、胰岛素样生长因子IGF1基因、胰岛素样生长因子受体IGF1R基因为目的基因, 设计引物序列如下: β -actin基因的上下游引物分别为5'-GGAGATTACTGCCCTGGCTCCTA-3'、5'-GACTCATCGTACTCCTGCTTGCTG-3', 扩增片段的大小为150 bp; 锌转运体ZnT1基因的上下游引物分别为5'-TGGCTAACACCAGCAATTCCAA-3'、5'-CCAAGGACGTGCAGAAACACTC-3', 扩增片段的大小为184 bp; 胰岛素样生长因子IGF1基因的上下游引物分别为5'-GCACTCTGCTTGCTCACCTTTA-3'、5'-TCCGAATGCTGGAGCCATA-3', 扩增片段的大小为148 bp; 胰岛素样生长因子受体IGF1R基因的上下游引物分别为5'-GGTCTCTAAGGCCAGAGGTGGA-3'、5'-GACGAAGTGTGGCATTGAGGTA-3', 扩增片段的大小为122 bp。

1.3.4 指标检测

1.3.4.1 生长指标

观察仔鼠的生长状况和精神状态, 并测量1月龄仔鼠体质量、身长和尾长。

1.3.4.2 RNA的提取与测定

严格按照试剂盒说明书提取RNA, 测定所提RNA在260、280 nm波长处的光密度值OD_{260 nm}和OD_{280 nm}, 通过OD_{260 nm}/OD_{280 nm}值检测RNA的纯度; 同时, 用琼脂糖凝胶电泳成像分析系统检测RNA的完整性; 最后按照试剂盒要求进行反转录与荧光定量PCR, 采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 值法计算相对表达量。

1.4 数据统计处理

利用7900 HT PCR系统软件分析实时荧光定量PCR产物, 观察扩增曲线和溶解曲线, 对cDNA含量进行定量分析, 计算样本的 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 值。使用SPSS 13.0软件对数据进行统计学处理, 所有数据以 $\bar{x} \pm s$ 的形式表示, 组间两两比较采用最小显著性 t 检验, 以 $\alpha=0.05$ 为检验标准, $P<0.05$ 表明差异具有显著性, 多组间采用单因素方差分析。

2 结果与分析

2.1 孕鼠补充苏氨酸对仔鼠生长及其血清锌含量的影响

表1 孕鼠补充苏氨酸对仔鼠生长指标和血清锌含量的影响 ($n=8$)
Table 1 Effect of Thr-Zn supplementation for pregnant rats on the growth performance and serum zinc contents of their offspring ($n=8$)

组别	体质量/g	身长/cm	尾长/cm	锌含量/($\mu\text{mol/L}$)
空白对照组	69.58 $\pm$ 3.93 ^b	11.1 $\pm$ 0.43	7.94 $\pm$ 0.32	25.2 $\pm$ 3.62 ^b
溶媒对照组	69.58 $\pm$ 3.57 ^b	11.09 $\pm$ 0.43	7.98 $\pm$ 0.55	27.5 $\pm$ 4.21 ^b
高剂量组	74.29 $\pm$ 3.94 ^a	11.47 $\pm$ 0.25	7.98 $\pm$ 0.28	36.8 $\pm$ 5.17 ^a
中剂量组	74.64 $\pm$ 3.09 ^a	11.37 $\pm$ 0.67	7.76 $\pm$ 0.41	32.4 $\pm$ 4.62 ^a
低剂量组	77.06 $\pm$ 2.40 ^a	10.97 $\pm$ 0.45	7.84 $\pm$ 0.48	29.8 $\pm$ 4.95 ^b

注: 同列肩标字母不同表示组间差异显著 ($P<0.05$)。下同。

由表1可知, 苏氨酸各剂量组和空白对照组相比, 仔鼠体质量有显著性提高 ($P<0.05$); 溶媒对照组与空白对照组相比, 无显著性差异 ($P>0.05$)。苏氨酸各剂量组的仔鼠血清锌含量均高于空白对照组和溶媒对照组, 且苏氨酸高剂量和中剂量组的仔鼠血清锌含量与对照组相比有显著性提高 ($P<0.05$)。实验观察发现, 各剂量组仔鼠在生长过程中精神状态良好, 毛发雪白具光泽, 无掉毛现象。结果说明, SD大鼠在妊娠期补充苏氨酸能满足仔鼠对锌营养的需求, 锌浓度的增加能使子代的血清锌含量有一定的提高, 且呈现剂量依赖关系, 苏氨酸对子代的体质量增加也有一定促进作用。

2.2 荧光定量PCR结果

通过7900 HT PCR系统软件得到cDNA样品的扩增曲线和溶解曲线。图2中扩增曲线几乎完全重合, 验证了样品具有良好的重复性。图3中3条溶解曲线的主峰均位于85.2 $^{\circ}\text{C}$ 附近, 显示了引物具有较好的特异性。

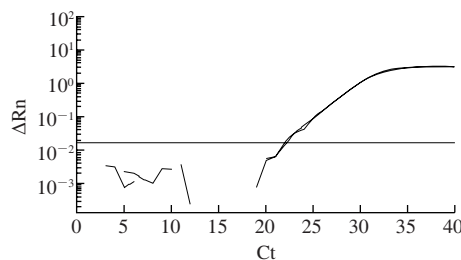


图2 荧光定量PCR扩增曲线

Fig. 2 Real-time PCR amplification plot

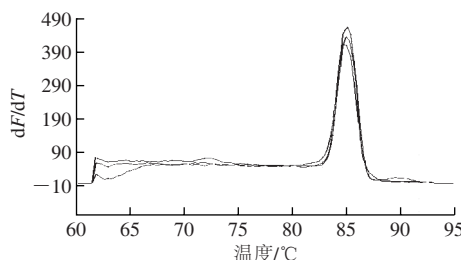


图3 荧光定量PCR溶解曲线

Fig. 3 Real-time PCR melting curve

2.3 补充苏氨酸对仔鼠基因表达的影响

2.3.1 对锌转运体ZnT1基因表达量的影响

表2 各组织中ZnT1基因的相对表达量 ($n=8$)
Table 2 Relative expression abundance of ZnT1 gene ($n=8$)

组别	相对表达量		
	肝脏	脾脏	肾脏
空白对照组	1.00 $\pm$ 0.07 ^d	1.02 $\pm$ 0.04 ^d	1.01 $\pm$ 0.07 ^d
溶媒对照组	1.33 $\pm$ 0.56 ^c	1.50 $\pm$ 0.45 ^c	1.60 $\pm$ 0.38 ^c
高剂量组	8.53 $\pm$ 0.16 ^a	4.57 $\pm$ 0.70 ^a	8.66 $\pm$ 0.16 ^a
中剂量组	4.67 $\pm$ 0.26 ^b	3.78 $\pm$ 0.55 ^b	6.57 $\pm$ 0.15 ^b
低剂量组	4.13 $\pm$ 0.15 ^b	3.27 $\pm$ 0.06 ^b	6.29 $\pm$ 0.37 ^b

通过相对定量法比较各基因的相对表达量^[15], 计算各个样品的 ΔCt 、 $\Delta\Delta\text{Ct}$ 及 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 值, 以对照样品的表达量为“1”, 将 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 值进行统计学分析结果见表2。

由表2可知, 苏氨酸锌各剂量组比溶媒对照组和空白对照组在肝脏、脾脏、肾脏中锌转运体 ZnT1 基因的相对表达量都有显著提高($P<0.05$); 苏氨酸锌高剂量组与其他苏氨酸锌剂量组相比, 在肝脏、脾脏和肾脏中 ZnT1 基因相对表达量都有显著提高($P<0.05$); 比较各组织间 ZnT1 基因相对表达量发现, 仔鼠锌转运体 ZnT1 基因的表达具有组织特异性, 在肾脏中的基因相对表达量比在其他组织中的相对表达量高, 这可能由于 ZnT1 主要存在于肾脏质膜上^[16]。因此, 实验说明肝脏、脾脏和肾脏中锌转运体 ZnT1 基因可以作为评价锌营养状况的指标, 其中肾脏中 ZnT1 基因可以作为评价锌营养状况的敏感性指标之一。

2.3.2 对胰岛素样生长因子 IGF1 基因表达的影响

表3 各个组织中 IGF1 基因的相对表达量 ($n=8$)
Table 3 Relative expression abundance of IGF1 gene ($n=8$)

组别	相对表达量		
	肝脏	脾脏	肾脏
空白对照组	1.01 ± 0.09^d	1.17 ± 0.11^c	1.02 ± 0.29^c
溶媒对照组	1.42 ± 0.23^c	1.68 ± 0.16^b	1.26 ± 0.33^b
高剂量组	3.20 ± 0.38^a	3.03 ± 0.02^a	2.36 ± 0.25^a
中剂量组	2.46 ± 0.01^b	1.72 ± 0.32^b	1.60 ± 0.28^b
低剂量组	1.72 ± 0.54^c	1.21 ± 0.23^c	1.43 ± 0.39^b

由表3可知, 苏氨酸锌高剂量组相对于溶媒对照组及空白对照组, 在各组织中 IGF1 基因表达量都有显著提高($P<0.05$); 其中在肝脏中 IGF1 基因的相对表达量与锌浓度呈正相关性。苏氨酸锌低剂量组与溶媒对照组在肝脏和肾脏中 IGF1 基因的相对表达量没有显著性差异($P>0.05$), 与空白对照组在脾脏中 IGF1 基因的相对表达量也没有显著性差异($P>0.05$)。结果说明, IGF1 基因的表达量与锌的水平呈一定正相关性; 低剂量的苏氨酸锌并不能显著提高子代 IGF1 基因的表达水平, 但高剂量的苏氨酸锌能显著提高子代 IGF1 基因的表达水平, 从而促进仔鼠生长。

2.3.3 对胰岛素样生长因子受体 IGF1R 基因表达的影响

表4 各个组织中 IGF1R 基因的相对表达量 ($n=8$)
Table 4 Relative expression abundance of IGF1R gene ($n=8$)

组别	相对表达量		
	肝脏	脾脏	肾脏
空白对照组	1.02 ± 0.07^c	1.00 ± 0.03^d	1.00 ± 0.12^c
溶媒对照组	1.77 ± 0.13^b	1.38 ± 0.13^c	1.08 ± 0.08^c
高剂量组	2.55 ± 0.41^a	2.39 ± 0.11^a	2.51 ± 0.22^a
中剂量组	2.46 ± 0.15^a	1.82 ± 0.14^b	1.70 ± 0.38^b
低剂量组	2.02 ± 0.52^b	1.77 ± 0.12^b	1.69 ± 0.22^b

由表4可知, 苏氨酸锌各剂量组与溶媒对照组及空白对照组比较在各组织中 IGF1R 基因的相对表达量均显著提高($P<0.05$); 在肝脏和脾脏中, 溶媒对照组与空白对照组比较, IGF1R 基因的相对表达量显著提高($P<0.05$)。从结果可以看出, 胰岛素样生长因子受体 IGF1R 的表达与 IGF1 的表达趋势基本保持一致, 证实胰岛素样生长因子 IGF1 的功能是通过与胰岛素样生长因子受体 IGF1R 的结合实现的^[17]。

3 讨论

微量元素锌被广泛认为能直接参与核酸和蛋白质的合成, 虽然它在动物体内含量微少, 但在机体的生长发育、生殖遗传、内分泌等生理过程中扮演重要角色^[18]。母体在孕期的锌摄入量与其子代的生长状况及某些器官功能有密切联系, 孕期缺锌会使胎儿发育迟缓、畸形^[19]。王芳等^[20]研究发现, 通过对母体摄入足量锌能对子代腭裂起到预防作用。孙晓蓉等^[21]以健康孕妇为对照, 发现妊娠不良结局组血清锌含量明显偏低; 侯爱军^[22]发现对孕中期妇女进行锌的膳食营养补充可改善妊娠结局和新生儿的体质量、头围、身长等生长发育指标。因此孕期适当补锌对机体的生长发育至关重要。

锌转运体 ZnT1 目前被认为是哺乳动物体内最早进化出的锌吸收转运特异性蛋白, 它对维持锌的稳态具有重要作用, 能反应机体锌代谢的情况^[23]。McMahon等^[24]研究发现高锌饲料(180 mg/kg)可以使大鼠肠中 ZnT1 mRNA比低锌饲料(5 mg/kg)高出大约50%。Tsuda等^[25]研究表明, 沙土鼠大脑CA1区的锥体神经元 ZnT1 mRNA的表达水平在其大脑短期缺血时有显著提高, 同时锌水平和 ZnT1 的表达两者间也存在着显著的因果关系。胰岛素样生长因子 IGF1 是一种重要的生长刺激因子, 它通过类胰岛素样作用促进组织对氨基酸和糖原的吸收, 刺激糖异生和糖酵解进而促进蛋白质和脂肪的合成^[26]。 IGF1 的生物学活性受其受体 IGF1R 介导。这种刺激生长作用决定了它们对机体生长发育的重要性。 IGF1 一方面能促进机体对氨基酸的利用, 提高蛋白质的合成水平; 另一方面, 组织中 IGF1 mRNA的表达量, 除了受生长激素和胰岛素影响之外, 还受日粮营养因素等影响, 其中, 保持机体锌元素的稳态平衡是保证 IGF1 表达量的必要因素之一。锌元素通过清除体内自由基提高机体免疫力, 在基因转录水平增加多种酶蛋白的合成, 从而促进胰岛素样生长因子 IGF1 及其受体基因表达^[27]。虞泽鹏^[28]研究发现锌的缺乏会显著降低机体 IGF1 含量。Mcnall等^[29]研究发现, 将刚断奶的SD大鼠作为研究对象, 缺锌组 IGF1 基因的表达量显著降低, 分别降低了46%和67%。Karamouzis等^[30]发现, IGF1 基因缺陷的个体易表现为侏儒症, IGF1 的给予还能对抗多种方式诱导的细胞凋亡。

锌作为必需微量元素,其促进机体生长主要有两个方面考虑的机制^[27]:一是通过促进胰岛素、IGF1的合成和分泌,加强生物体的代谢,清除体内的游离自由基等;二是通过改善食物风味刺激食欲,持续提高人或动物的食物摄入量等。而苏氨酸锌能同时满足以上两点要求,充分发挥其对人或动物的锌补充和促生长作用。苏氨酸锌是苏氨酸与锌盐通过化学合成手段制备的新型化合物,它的吸收利用率优于无机锌,并且可以利用配体氨基酸得到保护,达到更好地被机体吸收的目的。

综上所述,实验通过对妊娠期大鼠补充苏氨酸锌对仔鼠的生长进行干预,发现仔鼠生长情况良好,仔鼠各组织中锌转运体ZnT1的表达可以作为评价锌营养状况的指标之一,其中肾脏和肝脏中的ZnT1可以作为一个敏感指标。同时,胰岛素样生长因子IGF1及其受体均可以作为评价锌营养状况的敏感指标。

参考文献:

- [1] 龚毅,胡晓波,彭丽霞,等. 锌氨基酸螯合物的抑菌活性研究[J]. 食品科学, 2009, 30(17): 84-87. DOI:10.3321/j.issn:1002-6630.2009.17.018.
- [2] 李川,朱科学,聂少平,等. 苏氨酸锌对糖尿病大鼠肝脏损伤的保护作用[J]. 食品科学, 2011, 32(19): 198-200.
- [3] PRASAD A S. Discovery of human zinc deficiency: its impact on human health and disease[J]. Advances in Nutrition, 2013, 4(2): 176-190. DOI:10.3945/an.112.003210.
- [4] HEUGTEN E, SPEARS J W, KEGLEY E B, et al. Effects of organic forms of zinc on growth performance, tissue zinc distribution, and immune response of weanling pigs[J]. Journal of Animal Science, 2003, 81(8): 2063-2071. DOI:10.2527/2003.8182063.
- [5] 王慧,黄美州,王胜义,等. 微量元素硒、铜、锌在饲料添加应用中存在的问题与对策[J]. 畜牧与兽医, 2015, 47(8): 123-126.
- [6] 乔李娜,胡晓波,龚毅,等. 苏氨酸锌的制备与表征[J]. 食品工业科技, 2012, 33(24): 355-357. DOI:10.13386/j.issn1002-0306.2012.24.053.
- [7] 刘向伟,刘祥银,李华,等. 饲料中微量元素添加剂的发展历程及应用研究现状[J]. 饲料工业, 2013, 34(19): 28-31. DOI:10.3969/j.issn.1001-991X.2013.19.009.
- [8] PIET V D A, 金立志. 猪配合饲料中铜和锌的需要量的最新研究进展[J]. 饲料工业, 2013, 34(12): 1-5.
- [9] URANI C, MELCHIORETTO P, GRIBALDO L. Regulation of metallothioneins and ZnT-1 transporter expression in human hepatoma cells HepG2 exposed to zinc and cadmium[J]. Toxicology in Vitro, 2010, 24(2): 370-374. DOI:10.1016/j.tiv.2009.11.003.
- [10] LANGMADE S J, RAVINDRA R, DANIELS P J. The transcription factor MTF-1 mediates metal regulation of the mouse *ZnT1* gene[J]. Journal of Biological Chemistry, 2000, 275(11): 34803-34809. DOI:10.1074/jbc.M007339200.
- [11] POLLAK M. The insulin and insulin-like growth factor receptor family in neoplasia: an update[J]. Nature Reviews Cancer, 2012, 12(3): 159-169. DOI:10.1038/nrc3215.
- [12] DAVIS M E, SIMMEN R C. Genetic parameter estimates for serum insulin-like growth factor- I concentration and carcass trait in Angus beef cattle[J]. Journal of Animal Science, 2000, 78(9): 2305-2313. DOI:10.2527/2000.7892305x.
- [13] 李士英. IGF1R在骨肉瘤组织中的表达及临床意义[D]. 苏州: 苏州大学, 2014: 1-2.
- [14] 王光然,虞俊翔,姜雯雯,等. 妊娠期大鼠补充苏氨酸锌对仔鼠金属硫蛋白基因*MT1*表达的影响[J]. 食品科学, 2015, 36(13): 235-238. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201513043.
- [15] LIVAK K J, SCHMITTGEN T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta Ct}$ method[J]. Methods, 2001, 25(4): 402-408. DOI:10.1006/meth.2001.1262.
- [16] 张莉,郭敏,张萍,等. 锌转运体-1在小鼠肾脏的表达[J]. 解剖科学进展, 2010, 16(6): 547-549. DOI:10.16695/j.cnki.1006-2947.2010.06.007.
- [17] 鄂长勇. 类胰岛素生长因子IGF-1及其受体抑制剂PPP对肝细胞肝癌生长和侵袭作用的影响及其机制研究[D]. 长春: 吉林大学, 2013: 3-5.
- [18] MARET W. Zinc biochemistry: from a single zinc enzyme to a key element of life[J]. Advances in Nutrition, 2013, 4(1): 82-91. DOI:10.3945/an.112.003038.
- [19] EICHHOLZER M. Is periconceptional use of folic acid associated with a reduced risk of cleft lip with or without cleft palate?[J]. European Journal of Nutrition, 2007, 96(40): 1531-1537. DOI:10.1024/1661-8157.96.40.1531.
- [20] 王芳,宋庆高,王斌,等. 小鼠孕期锌摄入量与其子代腭裂发生关系研究[J]. 口腔医学研究, 2012, 28(3): 210-212. DOI:10.13701/j.cnki.kqxyj.2012.03.013.
- [21] 孙晓蓉. 妊娠不良结局孕妇孕期血清微量元素的变化分析[J]. 广西医学, 2014, 36(7): 956-958. DOI:10.11675/j.issn.0253-4304.2014.07.30.
- [22] 侯爱军. 孕中期膳食锌对妊娠结局和新生儿生长发育的影响[J]. 中国妇幼保健, 2010, 25(28): 4031-4032.
- [23] LYUBARTSEVA G, SMITH J L, MARKESBERY WR, et al. Alterations of zinc transporter proteins ZnT-1, ZnT-4 and ZnT-6 in preclinical Alzheimer's disease brain[J]. Brain Pathology, 2010, 20(2): 343-350. DOI:10.1111/j.1750-3639.2009.00283.x.
- [24] McMAHON R J, COUSINS R J. Regulation of the zinc transporter ZnT-1 by dietary zinc[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 1998, 95(9): 4841-4846.
- [25] TSUDA M, IMAIZUMI K, KATAYAMA T, et al. Expression of zinc transporter gene, *ZnT-1*, is induced after transient forebrain ischemia in the gerbil[J]. The Journal of Neuroscience, 1997, 17(17): 6678-6684.
- [26] 张日金. miR-125a靶向基因对肝癌细胞类胰岛素生长因子1及其受体抑制剂表达的影响[J]. 中国老年学杂志, 2015, 35(19): 5451-5452. DOI:10.3969/j.issn.1005-9202.2015.19.035.
- [27] 许梓荣,王敏奇. 高剂量锌促进猪生长的机理探讨[J]. 畜牧兽医学报, 2001, 32(1): 11-17. DOI:10.3321/j.issn:0366-6964.2001.01.003.
- [28] 虞泽鹏. 锌及锌源对动物的生长、免疫调节及其分子机制研究[D]. 无锡: 江南大学, 2005: 35-37.
- [29] MCNALL A D, ETHERTON T D, FOSMIRE G J. The impaired growth induced by zinc deficiency in rats is associated with decreased expression of the hepatic insulin-like growth factor I and growth hormone receptor genes[J]. The Journal of Nutrition, 1995, 125(4): 874-879.
- [30] KARAMOUZIS M V, PAPAVALASSILIOU A G. The IGF-1 network in lung carcinoma therapeutics[J]. Trends in Molecular Medicine, 2006, 12(12): 595-602. DOI:10.1016/j.molmed.2006.10.003.