

# 甘氨酸调控肝脏 IGF-1 的表达及信号通路

徐敬仁, 刘时忠, 张梦媛, 万小娟, 蔡兴才, 王丽娜, 朱晓彤, 高萍, 王松波, 江青艳, 束刚

(华南农业大学动物科学学院, 广东广州 510642)

**摘要:** 为研究甘氨酸 (Glycine, Gly) 对肝脏 IGF-1 表达和分泌的影响, 本文一方面采用不同浓度 Gly 离体处理 HepG2 肝细胞, 另一方面采用小鼠尾静脉注射 1.0 g/kg Gly 和等摩尔 Ala, 0.5 h 和 1 h 后采集血液、肝脏和肌肉样品。研究采用定量 PCR 检测了 *IGF-1* 以及 *IGFBPs* 基因表达水平的影响, 同时运用 Western blot 法分析了肝细胞和肝脏生长激素受体通路 (JAK2/STAT5) 与肌肉 IGF-I 受体通路 (ERK/Akt/mTOR) 的变化。研究结果发现, 不同浓度的 Gly 能剂量依赖性提高 HepG2 细胞 IGF-1 的蛋白和 mRNA 表达水平; 1.0 g/kg Gly 能显著提高小鼠血清中的 IGF-1 和白蛋白含量, 且极显著提高肝脏 *IGF-1* 和 *IGFBP-3* mRNA 水平, 下调 *IGFBP-1* mRNA 水平。细胞和活体试验均表明, Gly 能够有效激活肝细胞和肝脏 JAK2/STAT5 信号通路, 同时提高腓肠肌 IGF-I 受体信号通路磷酸化水平。这些研究说明甘氨酸可能直接提高肝脏生长激素受体信号通路敏感性, 从而促进 IGF-1 的表达和分泌。研究结果为深入揭示甘氨酸的分子营养学功能和作用机制提供了实验依据。

**关键词:** 甘氨酸; 胰岛素样生长因子 1; 肝脏; HepG2 细胞; 信号通路

文章编号: 1673-9078(2017)3-1-7

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2017.3.001

## Effects of Glycine on Hepatic IGF-I Expression Regulation and the Underlying Signaling Pathways

XU Jing-ren, LIU Shi-zhong, ZHANG Meng-yuan, WAN Xiao-juan, CAI Xing-cai, WANG Li-na, ZHU Xiao-tong, GAO Ping, WANG Song-bo, JIANG Qing-yan, SHU Gang

(College of Animal Science, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

**Abstract:** To investigate the effects of Glycine (Gly) on the expression and secretion of hepatic insulin-like growth factor 1 (IGF-1), HepG2 cells were treated with different concentrations of Gly *in vitro*. Meanwhile, mice were injected (i.v.) with 1.0 g/kg Gly or equimolar alanine (Ala) via tail veins, and blood, liver, and gastrocnemius samples were collected at 0.5 h and 1 h post-injection. The expression of *IGF-1* and insulin-like growth factor binding proteins (*IGFBPs*) mRNAs in hepatocytes and mouse liver was analyzed by quantitative polymerase chain reaction (qPCR). Meanwhile, changes in the hepatic growth hormone receptor pathway (JAK2/STAT5) and muscular IGF-I receptor pathway (ERK/Akt/mTOR) were also detected by western blot. The results showed that the expression levels of IGF-1 protein and mRNA in HepG2 cells were elevated by Gly in a dose-dependent manner. The *in vivo* data demonstrated that 1.0 g/kg Gly could remarkably increase the serum IGF-1 and albumin levels, significantly upregulate the expression levels of hepatic *IGF-1* and *IGFBP-3* mRNA, and downregulate that of *IGFBP-1* mRNA. *In vitro* and *in vivo* experiments both indicated that Gly could effectively activate the JAK2/STAT5 signaling pathway in HepG2 cells and mouse liver, and enhance the phosphorylation level of the IGF-I receptor signaling pathway in gastrocnemius. These results suggest that glycine may directly improve the sensitivity of hepatic growth hormone receptor signaling pathways, thus promoting the expression and secretion of IGF-1. These results provide the experimental basis for revealing the molecular nutrition function and action mechanism of Gly.

**Key words:** glycine; IGF-1; liver; HepG2 cells; signaling pathway

收稿日期: 2016-04-11

基金项目: 国家“973”课题(2013CB127304)

作者简介: 徐敬仁 (1992-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 动物营养与饲料科学; 刘时忠 (1990-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 动物营养与饲料科学 (共同第一作者)

通讯作者: 束刚 (1979-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 动物营养与饲料科学; 王松波 (1980-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 动物营养与饲料科学

胰岛素样生长因子 1 (Insulin-like growth factor 1, IGF-1) 是机体内重要的生长因子之一, 在动物出生后的生长发育过程中具有重要的生理作用。大量研究表明, IGF-1 作用于 IGF-1 受体后, 一方面通过 MAPK/ERK 和 Akt/mTOR 信号通路促进蛋白质的合成<sup>[1,2]</sup>, 另一方面通过 FoxOs 抑制骨骼肌蛋白质的分解<sup>[3]</sup>, 从而促进骨骼肌的肥大和体重的增加<sup>[4]</sup>。

循环血液中的 IGF-1 主要由肝脏合成并分泌。生

长激素 (Growth Hormone, GH) 是调控肝脏 IGF-1 表达与分泌的主要内分泌激素<sup>[5]</sup>。GH 与生长激素受体 (GH receptor, GHR) 结合后形成二聚体并将信号由胞外传入到胞内, 首先激活并募集胞质中的酪氨酸激酶 2 (Janus tyrosine kinase, JAK2), 进而引起一系列转录因子如信号转导与转录激活子 5 (Signal transducers and activators of transcription, STAT5) 磷酸化, 磷酸化的 STAT5 形成二聚体并转位进入细胞核与 IGF-1 mRNA 转录调控元件结合, 从而促进 IGF-1 的转录和翻译<sup>[6]</sup>。

除 GH 外, 机体充足的营养也是维持 IGF 水平的另一重要因素。研究表明, 在低营养状态下, 肝细胞 GHR 和 IGF-1 基因的表达均受到抑制, 循环血液中的 IGF-1 水平也相应降低。其中, 已发现某些氨基酸, 如精氨酸、脯氨酸、苏氨酸和色氨酸等, 是调控肝细胞 GHR 和 IGF-1 mRNA 表达的重要营养性因素<sup>[7]</sup>。

甘氨酸是自然界中结构最简单的氨基酸。哺乳动物体内可以合成甘氨酸, 但其合成水平远远不能满足机体的需要, 需要外源添加一定量的甘氨酸才能达到动物的最优生长状况。因此, 甘氨酸也被归类为营养性必需氨基酸<sup>[8]</sup>。有大量研究表明, 甘氨酸在抑制氧化应激、抗炎和免疫调节及对抗肌肉萎缩和酒精性肝炎等方面发挥着重要作用<sup>[9,10]</sup>。但目前尚不清楚甘氨酸是否在肝脏 IGF-1 的表达和分泌调控中发挥作用。

因此, 本文分别以 HepG2 细胞系和昆明小鼠为研究模型, 探讨甘氨酸对肝脏 IGF-1 表达和分泌的细胞和活体效应, 并分析肝脏 JAK2/STAT5 信号通路和肌肉蛋白质周转相关信号通路的变化。研究结果为进一步拓展甘氨酸的应用范围, 解析其发挥作用的分子营养学机制提供实验基础。

## 1 材料和方法

### 1.1 试验材料

#### 1.1.1 试验动物和细胞系

普通无特定病原体 (Specific Pathogen Free, SPF) 级昆明小鼠和基础饲料均购自广东省医学实验中心; HepG2 肝细胞系为华南农业大学动物科学学院生理生化实验室保存 (购于美国 ATCC 公司)。

#### 1.1.2 主要试剂

甘氨酸和丙氨酸 (美国 Sigma 公司); IGF-1 放射免疫检测试剂盒 (天津九鼎生物有限公司); Trizol (北京赛百胜基因技术有限公司); DNase I、Recombinant Ribonuclease Inhibitor (日本 Takara 公司); M-MLV Reverse Transcriptase (美国 Promega 公司); Realtime

PCR Master Mix (日本 Toyobo 公司); 磷酸化和非磷酸化 JAK2、STAT5、mTOR、Akt、ERK、FoxO3a 一抗 (美国 Cell Signaling 公司); IGF-1 一抗 (北京 Bioss 公司);  $\beta$ -actin 一抗和辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔二抗 (北京康为世纪生物科技有限公司); 超敏发光液 (江苏碧云天生物技术研究所); HG-DMEM 培养基、双抗、胰酶和胎牛血清等 (美国 Gibco 公司)。

### 1.2 试验方法

#### 1.2.1 小鼠分组与处理

选取 24 只 8 周龄雄性昆明小鼠 (体重  $46 \pm 2$  g), 单笼饲养一周, 自由饮水与采食。动物饲养环境温度控制在  $24\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 12 h/12 h 光暗周期节律。小鼠据体重相等原则随机分为甘氨酸组 (Gly) 和丙氨酸组 (Ala) 两组, 每组 12 只。小鼠试验前一周预注射 2~3 次生理盐水以适应注射应激。Gly 组按照  $1.2\text{ g/kg}$  剂量腹腔注射甘氨酸, Ala 组注射等摩尔丙氨酸。注射后 0.5 h 和 1.0 h 时每组各随机取 6 只, 采集全血制血清, 同时迅速分离腓肠肌和肝脏组织, 液氮速冻后  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  保存备用。

#### 1.2.2 细胞培养

将 HepG2 细胞以  $4 \times 10^4$  个/ $\text{cm}^2$  的密度均匀接种于 6 孔板, 含 10% FBS、双抗 (100 U/mL 青霉素、100 U/mL 链霉素) 溶液的 HG-DMEM 培养基中, 置于  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$ 、95% 饱和湿度条件下的细胞培养箱中培养 24 h 左右。待细胞密度达到 80% 左右后将 0、100、200、300 和 500  $\mu\text{M}$  的甘氨酸溶液添加到新鲜培养基中处理细胞 24 h 并收板, 用 PBS 溶液漂洗细胞板 2 次后  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  保存备用。

#### 1.2.3 Western Blotting 检测蛋白表达

加入含 1% PMSF 的 RIPA 溶液裂解细胞或组织样 (匀浆) 30 min。收集裂解液, 12000 r/min 离心 10 min, 取上清液用 BCA 法测定总蛋白浓度。采用 SDS-PAGE 凝胶电泳分离蛋白, 转膜后用含 0.05% Tween-20 的 TBST 溶液漂洗 3 次后, 5% 的脱脂牛奶室温封闭 2 h; TBST 洗膜, 将膜置于 TBST 稀释后的一抗杂交液中 (JAK2, 1:2000; STAT5, 1:2000; IGF-1, 1:1000; p-mTOR, 1:2000; mTOR, 1:2000; p-ERK, 1:3000; ERK, 1:2000; p-FoxO3a, 1:2000; FoxO3a, 1:2000; p-4EBP1, 1:2000; 4EBP1, 1:2000),  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  孵育过夜, 次日室温孵育二抗 (山羊抗兔 IgG-HRP, 1:5000) 1 h; 洗膜后用多色成相仪 (美国 ProteinSimple 公司产品) 曝光, 图片用 Image J 软件进行条带灰度值分析, 以  $\beta$ -actin 作为内参蛋白校正并做相对表达量分析, 数值以两者的灰度值比值表示。平行试验重复 3 次。

#### 1.2.4 实时定量 PCR

各目的基因的引物采用Premier 5.0软件设计(表1),由上海生工有限公司合成。总RNA的提取按试剂盒说明书进行。RNA用NanoDrop 2000核酸浓度测定仪测浓度,于-80℃保存备用。反转录步骤:以2 μg提取的总RNA为模板,用3 μL OligodT-18作为引物并用DEPC水将总体积补至8 μL,将上述反应液混合后在PCR仪中以70℃运行5 min,取出后迅速置于冰上冷却5 min;随后加入1 μL MMLV逆转录酶、4 μL MMLV 5×

Buffer、1.5 μL dNTP Mixture、0.5 μL RNA酶抑制剂和5 μL DEPC水,混合后按照37℃、5 min,72℃、7 min,12℃的程序催化合成cDNA,合成的cDNA置于-20℃备用。采用Mx3005P实时荧光定量PCR(美国Stratagene产品)检测基因的表达量,以β-actin作为内参基因,荧光的采集与溶解曲线的制作按照荧光定量PCR仪操作说明进行。每个样品做2个平行,试验重复3次,目的基因的相对表达量用2<sup>-ΔΔCt</sup>法计算。

表1 PCR引物序列

Table 1 PCR primer sequences

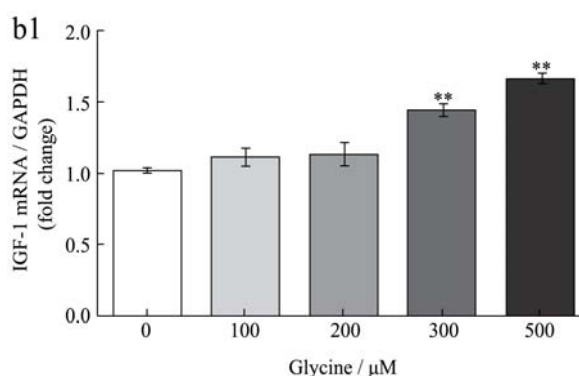
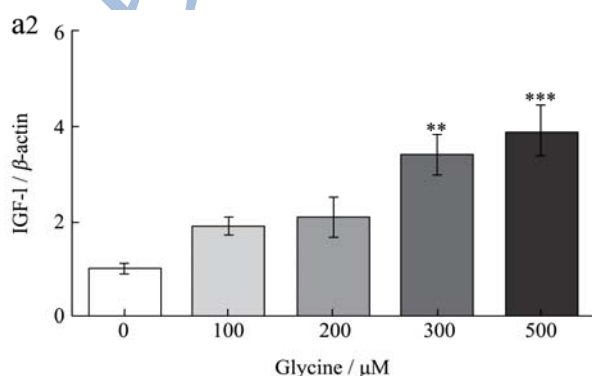
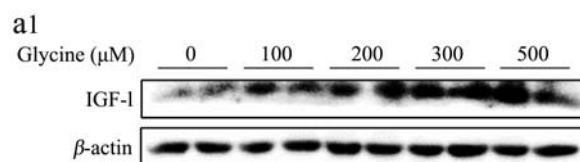
种属	基因名称	引物缩写	引物序列(5'-3')	产物长度/bp
人	胰岛素样生长因子1 (insulin-like growth factor 1)	IGF-1-F	CATGTCCTCCTCGCATCTCT	212
		IGF-1-R	AGCAGCACTCATCCACGATA	
	胰岛素样生长因子结合蛋白1 (insulin like growth factor binding protein 1)	IGFBP-1-F	TTGGGACGCCATCAGTACCTA	144
		IGFBP-1-R	TTGGCTAAACTCTCTACGACTCT	
	胰岛素样生长因子结合蛋白3 (insulin like growth factor binding protein 3)	IGFBP-3-F	TCTGATCCCAAGTTCACC	173
		IGFBP-3-R	TCCATTTCTCTACGGCAGGG	
甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase)	GAPDH-F	ACGCATTGGTCGTATTGGG	231	
	GAPDH-R	TGATTTTGGAGGGATCTCGC		
鼠	胰岛素样生长因子1 (insulin-like growth factor 1)	IGF-1-F	CTGACCAGAGACCCTTTGC	269
		IGF-1-R	GGACGGGGACTTCTGAGTCTT	
	胰岛素样生长因子结合蛋白1 (insulin like growth factor binding protein 1)	IGFBP-1-F	GCCGACCTCAAGAAATGGAA	247
		IGFBP-1-R	GGTCCCCTCTAGTCTCCAGA	
	胰岛素样生长因子结合蛋白3 (insulin like growth factor binding protein 3)	IGFBP-3-F	CGTCCACATCCCAAAGTGTG	158
		IGFBP-3-R	TGAGGCAATGTACGTCGTCT	
β-肌动蛋白 (actin, beta)	β-actin-F	GGTCATCACTATTGGCAACGAG	142	
	β-actin-R	GAGGTCTTTACGGATGTCAACG		

### 1.3 数据分析

使用Graphpad Prism 6.0软件制作数据图,采用SPSS 17.0软件进行统计分析,组间差异采用单因素方差分析(one-way ANOVA)处理并进行多重比较。试验结果以平均值±标准误(means±SEM)表示。p<0.05为差异显著,p<0.01为差异极显著。

## 2 结果与分析

### 2.1 甘氨酸对肝细胞IGF-1及其结合蛋白表达的影响



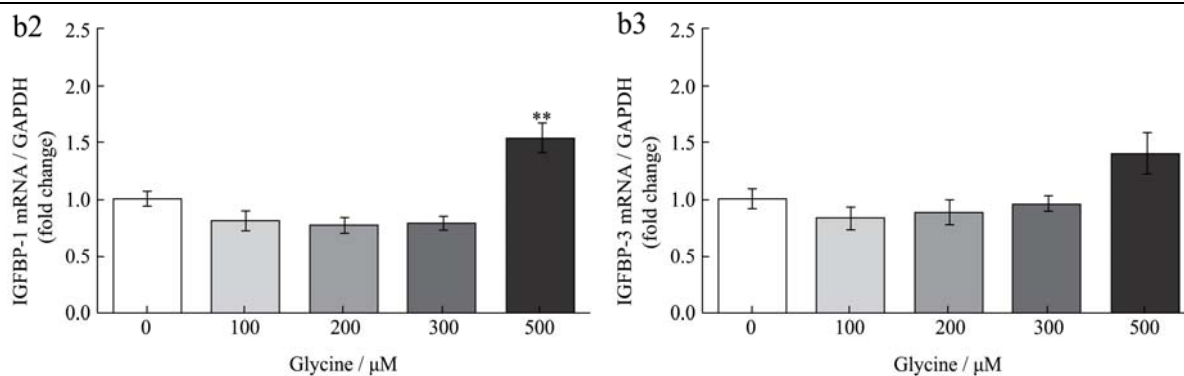


图1 甘氨酸对 HepG2 细胞 IGF-1 及其结合蛋白表达的影响

Fig.1 Effect of glycine on the expression of IGF-1 and its binding proteins in HepG2 cells

为研究甘氨酸对肝脏 IGF-1 表达的影响, 本试验首先采用不同浓度的甘氨酸处理人肝癌细胞系 HepG2 细胞 24 h 并检测相关蛋白和基因的表达水平。

离体研究结果如图 1 所示, 不同浓度甘氨酸能剂量依赖性促进 HepG2 细胞 IGF-1 的蛋白和 mRNA 表

达水平。甘氨酸浓度为 300  $\mu\text{M}$  和 500  $\mu\text{M}$  时 IGF-1 蛋白和 mRNA 水平均达到极显著水平( $p < 0.01$ )。此外, 500  $\mu\text{M}$  甘氨酸能极显著促进肝细胞 *IGFBP-1* mRNA 表达( $p < 0.01$ ), 但各浓度甘氨酸对 *IGFBP-3* mRNA 表达无显著影响( $p > 0.05$ )。说明甘氨酸促进 IGF-1 表达。

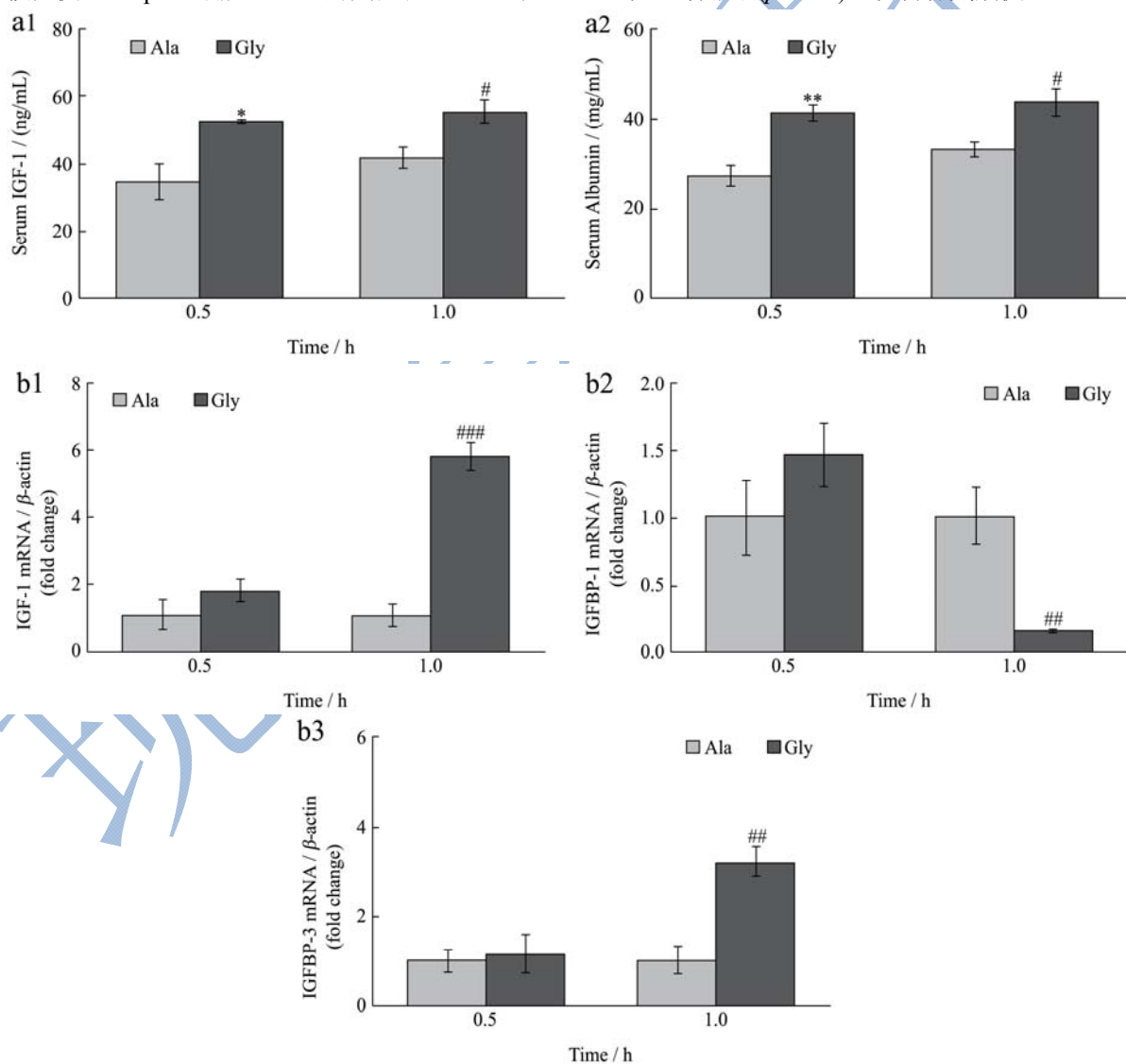


图2 甘氨酸对小鼠肝脏 IGF-1 分泌及 IGFs 基因表达的影响

Fig.2 Effect of glycine on the secretion of IGF-1 and expression of IGFs gene in mice liver

## 2.2 甘氨酸对肝脏 IGF-1 分泌及 IGFs 基因表达的影响

IGF-1 和白蛋白都是主要由肝脏合成并分泌到血液的功能性蛋白质。为了进一步研究甘氨酸是否能在活体水平上促进肝脏 IGF-1 的表达和分泌,本试验采用 1.0 g/kg 甘氨酸尾静脉注射小鼠并分析血液和肝脏中 IGF-1 的含量和 mRNA 水平。

在体研究结果如图 2 所示,小鼠尾静脉注射甘氨酸

酸后 0.5 h 和 1 h 时血清中的 IGF-1 和白蛋白含量均显著高于丙氨酸对照组 ( $p < 0.05$ )。同时,注射甘氨酸后 1 h 时能够极显著提高肝脏 *IGF-1* 和 *IGFBP-3* mRNA 水平 ( $p < 0.01$ ),极显著下调 *IGFBP-1* mRNA 的表达 ( $p < 0.01$ );但在 0.5 h 时均无显著影响( $p > 0.05$ )。该结果提示甘氨酸能够促进肝脏 IGF-1 的分泌和基因表达。

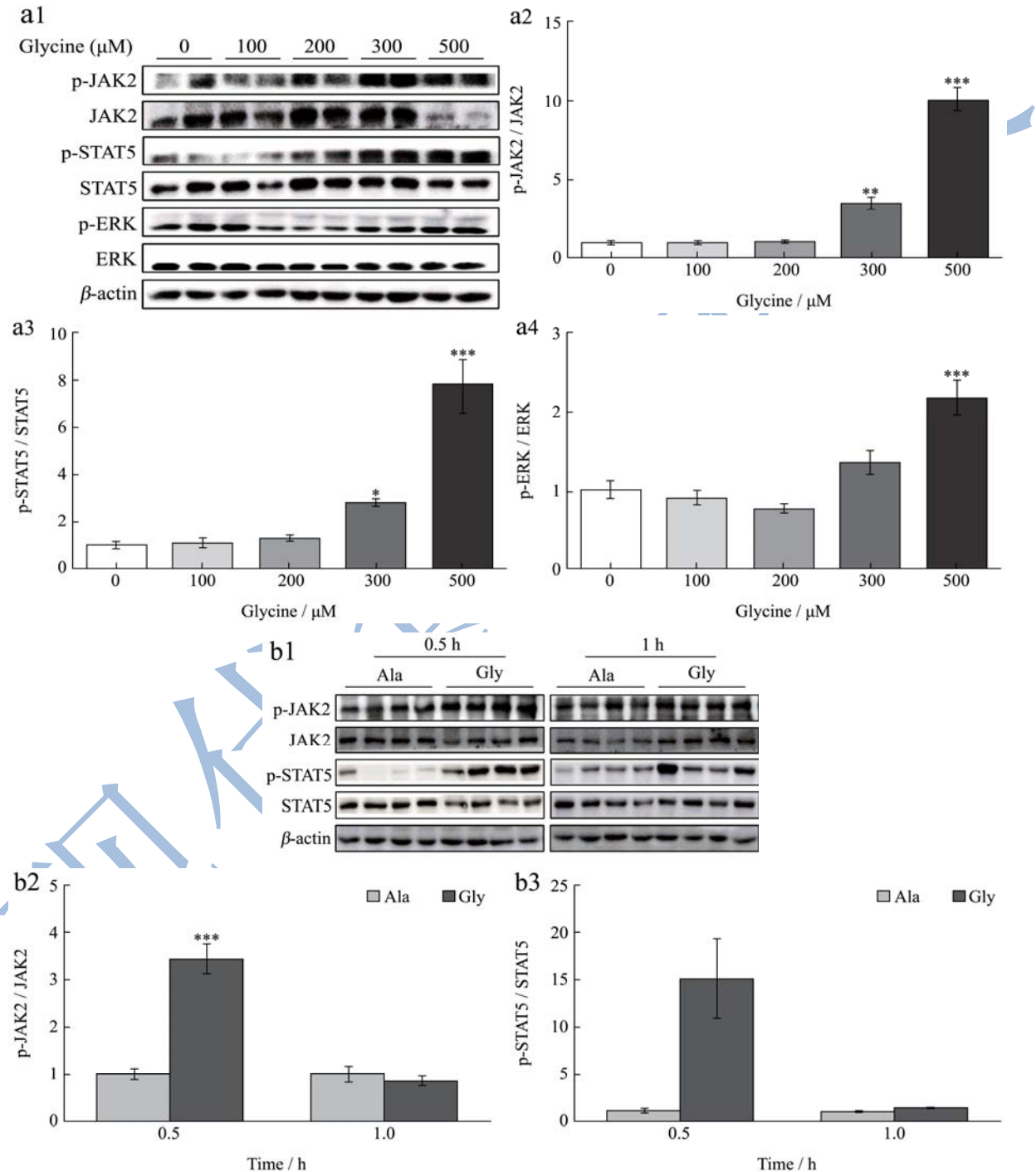


图 3 甘氨酸对肝脏 JAK2/STAT5 和 ERK 信号通路的影响

Fig.3 Effect of glycine on the hepatic JAK2/STAT5 and ERK signalling pathways

### 2.3 甘氨酸对肝脏 JAK2/STAT5 和 ERK 信号通路的影响

由图 1 和图 2 可知, 甘氨酸可以促进肝细胞和小鼠肝脏 IGF-1 的表达和分泌, 但其具体调控机制仍未见报道, 因此本试验分别利用离体和在体试验探讨 JAK2/STAT5 信号通路是否参与介导甘氨酸促进 IGF-1 表达的作用。

如图 3 所示, 甘氨酸能够剂量依赖性促进 HepG2 细胞 JAK2/STAT5 和 ERK 的磷酸化, 其中 500  $\mu$ M 甘氨酸处理组与对照组相比差异极显著 ( $p < 0.001$ )。随后的活体试验结果同样显示, 与丙氨酸相比, 小鼠尾静脉注射 1.0 g/kg 甘氨酸后 0.5 h 时能够极显著促进小鼠肝脏组织 JAK2 和 STAT5 的磷酸化 ( $p < 0.01$ ), 但随着时间延长至 1 h, JAK2/STAT5 通路的磷酸化水平恢复至正常水平。该结果提示甘氨酸可能通过促进肝脏 JAK2/STAT 信号通路的磷酸化, 从而促进 IGF-1 的表达和分泌。

### 2.4 甘氨酸对肌肉蛋白质周转相关信号通路的影响

肝脏分泌的 IGF-1 经血液循环后可以作用于器官和组织发挥其生理功能, 当 IGF-1 作用于肌肉组织时可以促进肌肉的蛋白质合成并抑制肌肉蛋白质的降解, 因此本试验将进一步探讨甘氨酸在肌肉组织蛋白质周转中发挥的作用。

如图 4 所示, 小鼠尾静脉注射甘氨酸 0.5 h 后, 随着血液 IGF-1 水平的升高, 肌肉组织蛋白质合成相关信号蛋白 ERK、Akt 和 mTOR 的磷酸化水平也显著上升 ( $p < 0.05$ ), 但甘氨酸对肌肉蛋白质降解相关信号蛋白 FoxO3a 的磷酸化水平没有显著的影响 ( $p > 0.05$ )。上述结果说明甘氨酸能促进肝脏 IGF-1 的分泌, 进而上调骨骼肌蛋白质合成相关信号通路的磷酸化水平。

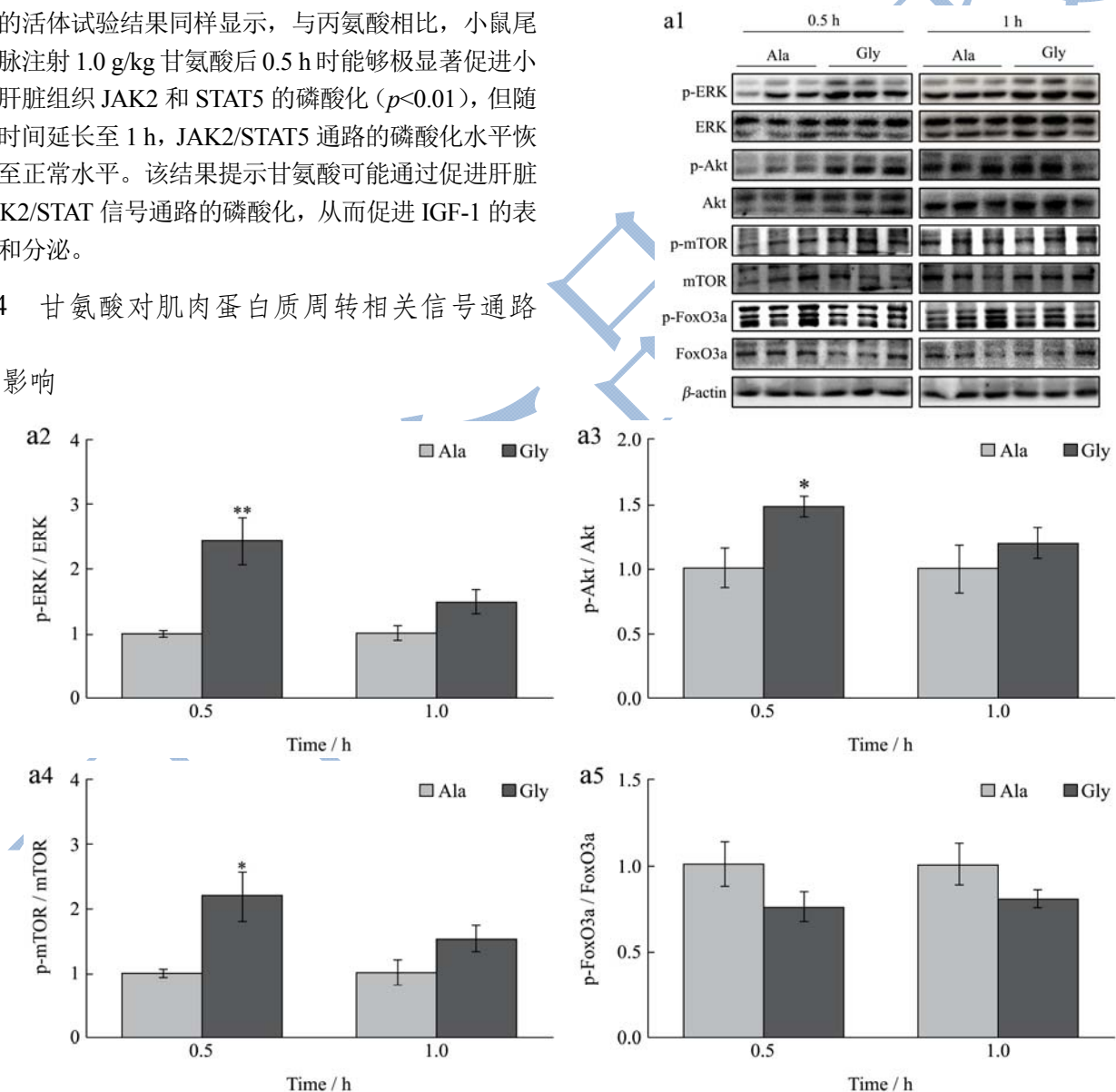


图 4 甘氨酸对小鼠腓肠肌蛋白质周转相关信号通路的影响

Fig.4 Effect of glycine on protein turnover related signalling pathways in mice gastrocnemius

## 3 讨论

### 3.1 甘氨酸促进肝脏 IGF-1 的表达和分泌

本研究分别利用体外细胞试验和小鼠活体试验,证明了甘氨酸能够激活肝脏 JAK2/STAT5 信号通路,促进 HepG2 细胞和小鼠肝脏 IGF-1 的表达与分泌。IGF-1 结合蛋白家族 (Insulin-like growth factor binding protein, IGFBPs) 作为胰岛素样生长因子 (包括 IGF-1 和 IGF-2) 的载体蛋白,可通过结合的方式调节 IGFs 的活性和循环水平并延长其半衰期<sup>[11]</sup>。IGFBP-1 和 IGFBP-3 是主要由肝脏合成与分泌的结合蛋白,其表达受多种营养条件调控,与动物所处生理状态也密切相关,在循环血液中,IGFBP-1 主要功能是抑制 IGF-1 的活性,而 IGFBP-3 则是主要对 IGF-1 起运输作用<sup>[12]</sup>。本研究检测了小鼠尾静脉注射甘氨酸后肝脏 IGFBP 的表达,其中 *IGFBP-1* mRNA 水平显著降低,而 *IGFBP-3* mRNA 水平显著升高,说明甘氨酸不仅可以直接促进 IGF-1 的表达,而且可以间接通过调节其结合蛋白的表达,进一步提高 IGF-1 的生物学活性。但本研究细胞离体试验中未能发现甘氨酸具有类似作用,推测甘氨酸对 IGFBP 表达的调控可能并非是对肝脏的直接作用。

### 3.2 甘氨酸激活肝脏 JAK2/STAT5 信号通路

众所周知,肝脏 IGF-1 的表达受 GH 诱导的 JAK2/STAT5 信号通路调控,其中 STAT5b 为调节 *IGF-1* 启动子转录活性的主要转录因子,STAT5a 也有类似作用<sup>[13,14]</sup>。而且有临床研究表明,正常人静脉注射甘氨酸后能剂量依赖性刺激垂体 GH 的释放<sup>[15]</sup>。本研究首先给予小鼠尾静脉注射甘氨酸,探索了甘氨酸对 JAK2/STAT5 磷酸化水平的影响。结果发现甘氨酸与丙氨酸相比能显著提高肝脏 JAK2 和 STAT5 的磷酸化水平。随后在细胞试验中也发现,在无 GH 处理下,甘氨酸同样能剂量依赖性激活细胞 JAK2/STAT5 通路。由此可以推测,甘氨酸促进 HepG2 细胞 JAK2/STAT5 信号通路的磷酸化可能以 GH 非依赖性机制来实现,但其具体调控机制仍有待进一步探索。

### 3.3 甘氨酸对肌肉 IGF-1 受体信号通路的影响

IGF-1 与其受体 IGF-1R 结合后可以通过 PI3K/AKT/mTOR 信号通路促进骨骼肌蛋白质的合成,并可以通过 Ras/Raf/MEK/ERK 信号通路促进肌细胞的增殖。本研究中对小鼠尾静脉注射甘氨酸后发现,甘氨酸组显著促进了 IGF-1 下游蛋白 Akt、mTOR 和 ERK 的磷酸化水平。该结果说明甘氨酸不仅能促进肝脏 IGF-1 的表达和分泌,而且还可以进一步调节肌肉靶组织的 IGF-1 受体信号通路。骨骼肌蛋白质的沉积是合成与降解的动态平衡。降解主要由泛素/蛋白酶体途

径和自噬/溶酶体两种途径介导,其中 FoxO 转录因子家族作为蛋白质降解和细胞自噬的关键联络分子在这两种途径中发挥了至关重要的作用<sup>[16]</sup>。有文献报道长期注射甘氨酸能有效抵抗肌肉萎缩和骨骼肌蛋白质降解<sup>[17,18]</sup>,但本研究发现急性甘氨酸处理对肌肉 FoxO3a 的磷酸化水平无明显影响,推测可能是由于急性实验中甘氨酸作用时间与 FoxO3a 信号的表达不同步所致。

## 4 结论

甘氨酸能激活肝脏和肝细胞 JAK2-STAT5 信号通路,促进 IGF-1 的表达和分泌,同时诱导骨骼肌蛋白质合成相关信号通路。研究结果为深入揭示甘氨酸的分子营养学功能和作用机制提供重要的试验依据。

## 参考文献

- [1] E N Fuentes, B T Björnsson, J A Valdés, et al. IGF-I/PI3K/Akt and IGF-I/MAPK/ERK pathways *in vivo* in skeletal muscle are regulated by nutrition and contribute to somatic growth in the fine flounder [J]. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 2011, 300(6): 532-42
- [2] C Rommel, S C Bodine, B A Clarke, et al. Mediation of IGF-1-induced skeletal myotube hypertrophy by PI(3)K/Akt/mTOR and PI(3)K/Akt/GSK3 pathways [J]. *Nat. Cell Biol.*, 2001, 3(11): 1009-1013
- [3] T N Stitt, D Drujan, B A Clarke, et al. The IGF-1/PI3K/Akt pathway prevents expression of muscle atrophy-induced ubiquitin ligases by inhibiting FOXO transcription factors [J]. *Mol. Cell*, 2004, 14(3): 395-403
- [4] T Shavlakadze, J Chai, K Maley, et al. A growth stimulus is needed for IGF-1 to induce skeletal muscle hypertrophy *in vivo* [J]. *J. Cell. Sci.*, 2010, 123(6): 960-71
- [5] K M Reindl, J D Kittilson, H E Bergan, et al. Growth hormone-stimulated insulin-like growth factor-1 expression in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) hepatocytes is mediated by ERK, PI3K-AKT, and JAK-STAT [J]. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 2011, 301(1): 236-43
- [6] M Yamamoto, G Iguchi, H Fukuoka, et al. SIRT1 regulates adaptive response of the growth hormone-insulin-like growth factor-I axis under fasting conditions in liver [J]. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, 2013, 110(37): 14948-14953
- [7] Brameld J M, R S Gilmour, J Buttery. Glucose and amino acids interact with hormones to control expression of insulin-like growth factor-I and growth hormone receptor mRNA in cultured pig hepatocytes [J]. *J. Nutr.*, 1999, 129(7): 1298-1306

- [8] W Wang, Z Dai, Z Wu, et al. Glycine is a nutritionally essential amino acid for maximal growth of milk-fed young pigs [J]. *Amino Acids*, 2014, 46(8): 2037-2045
- [9] W Wang, Z Wu, G Lin, et al. Glycine stimulates protein synthesis and inhibits oxidative stress in pig small intestinal epithelial cells [J]. *J. Nutr.*, 2014, 144(10): 1540-1548
- [10] 杜瑞平,张兴夫,高明,等. 甘氨酸的免疫调节作用及其分子机制[J]. *动物营养学报*, 2015, 27(3): 663-670
- [11] DU Rui-ping, ZHANG Xing-fu, GAO Ming, et al. Immunomodulatory effects of glycine and its molecular mechanism [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2015, 27(3): 663-670
- [12] D R Clemmons, W H Busby, T Arai, et al. Role of insulin-like growth factor binding proteins in the control of IGF actions [J]. *Prog. Growth Factor Res.*, 1995, 6(2-4): 357-366
- [12] Underwood L E. Nutritional regulation of IGF-I and IGF-BPs [J]. *J. Pediatr. Endocrinol. Metab.*, 1996, 1(9): 303-312
- [13] Y Chen, D Sun, V M Krishnamurthy, et al. Endotoxin attenuates growth hormone-induced hepatic insulin-like growth factor I expression by inhibiting JAK2/STAT5 signal transduction and STAT5b DNA binding [J]. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 2007, 292(6): 1856-1862
- [14] Varco-Merth B, P Rotwein. Differential effects of STAT proteins on growth hormone-mediated IGF-I gene expression [J]. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 2014, 307(9): 847-855
- [15] K Kasai, H Suzuki, T Nakamura, et al. Glycine stimulated growth hormone release in man [J]. *Acta Endocrinol (Copenh)*, 1980, 93(3): 283-286
- [16] Bonaldo P, M Sandri. Cellular and molecular mechanisms of muscle atrophy [J]. *Dis. Model. Mech.*, 2013, 6(1): 25-39
- [17] D J Ham, K T Murphy, A Chee, et al. Glycine administration attenuates skeletal muscle wasting in a mouse model of cancer cachexia [J]. *Clinical Nutrition*, 2014, 33(3): 448-458
- [8] M K Caldow, D J Ham, D P Godeassi, et al. Glycine supplementation during calorie restriction accelerates fat loss and protects against further muscle loss in obese mice [J]. *Clinical Nutrition*, 2015, 34(S1): 1-9