

# 基于秀丽隐杆线虫的酒精生物效应研究进展

李宗军, 吴中琴, 李珂

(湖南农业大学食品科学技术学院重点实验室, 湖南长沙 410128)

**摘要:** 酒在现代生活中日趋重要, 适量饮酒有促进活血、预防心血管疾病的功能, 但长期过量饮酒, 会损害肝、胃和脾等器官甚至导致神经性疾病, 这已成为人们十分关注的问题。秀丽隐杆线虫 (*Caenorhabditis elegans*, *C.elegans*) 作为一种特殊的模式生物, 具有相对简单且已明晰的生理结构 (特别是其神经结构), 以及大量被证实的与人类疾病相关的同源基因, 因而被用作生物模型来研究疾病发生的分子靶点和相关神经通路。本文介绍了以秀丽隐杆线虫作为模式生物来研究酒精干预下的寿命调控机制、神经退行性疾病、酒精引发成瘾及 II 型糖尿病等相关研究进展, 展示了线虫作为模式生物在酒精生物功能研究领域发挥的独特优势, 为了解酒精性疾病的发生、发展及其相关生理机制, 预防酒精引起的相关疾病研究提供了新的方法与思路。

**关键词:** 酒精; 秀丽隐杆线虫; 模式生物; 酒精生物功能; 酒精性疾病

文章编号: 1673-9078(2018)02-271-279

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2018.2.041

## Research Progress of Alcohol Biological Effect Based on *Caenorhabditis elegans*

LI Zong-jun, WU Zhong-qin, LI Ke

(Hunan Province Key Laboratory of Food Science and Biotechnology, College of Food Science and Technology, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China)

**Abstract:** Alcohol is becoming ever more important in modern life, moderate alcohol consumption can promote blood circulation and prevent cardiovascular disease. However, long-term excessive drinking will damage organs, such as liver, stomach and, and even lead to neurological diseases. This phenomenon has become a concerned issue for people. As a special model organism, *Caenorhabditis elegans* (*C.elegans*) has relatively simple and clear physiological structures (especially the neural structure), as well as a large number of homologous genes that are confirmed to be related to human disease. Therefore, *C.elegans* was used as a biological model to study the molecular targets of diseases and related neural pathways. This paper introduces the research progress of life regulation mechanism, neurodegenerative diseases, alcohol-induced addiction and type II diabetes under the condition of alcohol intervention by using *Caenorhabditis elegans* as a model organism, which shows that *C. elegans*, as a model organism, has unique advantages in the field of alcohol biological function. The research provides a new method and idea for the prevention and treatment of alcohol related diseases to understand the occurrence and development of alcoholic diseases and the related physiological mechanisms.

**Key words:** alcohol; *Caenorhabditis elegans*; model organism; alcohol biological function; alcoholic diseases

经常大量饮酒易引发各种代谢疾病及神经性疾病, 如何防治酒精泛滥引起的相关疾病是人类面临的一大难题, 人们一直在寻找合适的生物模型来探索其发病机制与治疗方法。目前应用于酒精疾病研究较多的模型有大鼠、小鼠模型, 线虫模型主要应用于酒精疾病的发病机制研究。

秀丽隐杆线虫 (*Caenorhabditis elegans*, 以下简称线虫或 *C.elegans*) 作为研究遗传学的模式生物始于 20 世纪 60 年代的英国科学家 Sydney Brenner (Brenner S)<sup>[1]</sup>。70 年代中期, John Edward Sulston (Sulston J E)

构建了完整的线虫细胞谱系图, 使线虫成为唯一一个身体中所有细胞能被逐个盘点并归类的生物<sup>[2]</sup>, 并与 Brenner S 合作完成了线虫神经元的完整结构图<sup>[3]</sup>, 90 年代末他们完成了线虫的全基因组测序, 使线虫成为基因组被完整测序的第一个动物<sup>[4]</sup>。Howard Robert Horvitz<sup>[5]</sup>揭示了线虫细胞程序性死亡的遗传调控机制, 并证明相应的调控基因在高等动物和人体中也存在。将线虫作为模式生物应用于生物科学、环境科学等领域的研究是一个逐步而漫长的过程, 直到 20 世纪 80 年代后才逐渐得到国际同行的认可, 而在国内, 将线虫应用于生物学功能及其作用机理研究和生物活性组分筛选及功能评价是最近 10 年才逐渐发展起来的。

收稿日期: 2017-09-02

作者简介: 李宗军 (1968-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 食品生物技术

本文以酒精影响线虫生理功能及机理的研究进展为主, 结合比较酒精影响其他生物的生理功能及机理的研究进展, 探讨了线虫作为模式生物在酒精生物功能研究的独特优势, 也为线虫作为模式生物进行食品营养与健康、特殊功能食品的研究提供借鉴。

## 1 秀丽隐杆线虫生物学特征及应用概述

线虫个体小, 是一种真核多细胞生物, 生活史 3~5 d, 平均寿命约 20 d, 产卵期 2~5 d, 可产卵 300~350 个。线虫通身透明, 各器官与神经系统容易观察, 身体中的所有细胞能被逐个盘点并归类, 这为研究不同功能成分对生理特别是神经系统的影响带来了诸多其它生物所不具备的优势。线虫基因组长约 1 亿个碱基对, 由 6 个染色体和线粒体基因组组成。其基因密度为每 5 千碱基对约一个基因, 其基因组包含了 20470 个蛋白编码基因<sup>[6]</sup>存在很多与高等生物相似的信号通路及细胞结构, 它的一个完整的基因组序列, 约含有 19700 编码序列和 1300 非编码RNAs。线虫可用于研究MAPK信号传导、细胞程序性死亡、TGF- $\beta$ 信号传递途径、RNAi干扰、small RNA及衰老寿命。线虫的神经系统有 6393 个化学突触, 890 个电连接, 1410 个神经肌肉连接, 302 个神经元<sup>[7]</sup>。主要的神经递质系统和遗传传递网络在系统发生上都高度保守。因此, 线虫在神经系统的研究发现可以外推到脊椎动物, 可通过激光束破坏某个神经元或突触, 设计使用药物或其他外部刺激来明确特定神经元功能<sup>[8]</sup>。因线虫生命过程处于不断咽食与运动中, 培养时会不断摄入添加在培养基中的药物, 保持其体内的药物浓度<sup>[9,10]</sup>, 因而常用于药理学及毒理学研究。早年研究人员就已将线虫作为生物探测器应用于检测土壤毒性和水源毒性<sup>[11,12]</sup>。

模式生物是指由生物学家选定的, 用于揭示某种具有普遍生命现象规律的物种<sup>[13]</sup>。即使是在古典真核生物模型黑腹果蝇和小白鼠中, 也无法明晰整个基因组的功能信息<sup>[14]</sup>。但秀丽隐杆线虫基因组已经测序并且与人类基因组有很大程度的同源性, 同时线虫有着极为丰富的遗传学和发育生物学研究背景, 是研究毒理学或人类疾病的良好生物模型, 甚至在某些方面可以作为高等哺乳动物模型的替代生物。

现在越来越多的生物研究需要借以模式生物完成更多更深入的研究, 而合适的生物模型则需要考虑更多生物条件。不管是黑腹果蝇还是小白鼠都存在生命周期、种族密度和生存条件等制约, 而秀丽隐杆线虫有着如下几个独特的优势, 在某些方面比其它生物模型更适用于实验室研究。

## 2 秀丽隐杆线虫作为模式生物的优势

### 2.1 具有丰富的易于获得的突变体资源

研究者通常在研究更深入层次中, 会对模式生物采用基因敲除手段, 猜想或验证可能的分子机制。而秀丽隐杆线虫有多种突变模式, 线虫突变株可直接从线虫遗传中心 (Caenorhabditis Genetics Center, CGC) 获取<sup>[15]</sup>(<https://cbs.umn.edu/cgc/home>), 无需进行基因敲除, 可根据试验目的选择相应的基因突变体进行验证及探索性试验, 极大的提高了试验效率, 节省了试验资源。在探索在秀丽隐杆线虫 14-3-3 蛋白par-5 在神经系统过量表达延长对寿命调控机制的研究中, 姚艳玲<sup>[16]</sup>采用点突变技术, 将PAR-5 第 185 位Thr突变为Ala, 制备EXPunc-119:: par-5<sup>(T185A)</sup>:: gfp转基因虫种, 进行寿命试验, 验证猜想。制备线虫突变体既耗费了大量的时间、物力和人力, 且工作较为繁琐, 制备的突变体还需进一步测序方能确定, 继续下一步试验。线虫已有丰富的基因库, 若能直接从CGC购买突变株能使试验更便捷。例如, 寻找延长寿命途径, 可直接以野生型N2 或线虫突变体(如daf-16 (TJ356) 等)为模式生物, 探索自然或人工合成的药物延长寿命的途径<sup>[17-19]</sup>。也有研究者直接采用LD1171 突变体线虫(gcs-1 基因标记荧光蛋白突变体), 通过检测绿色荧光蛋白(GFP)的荧光强度来判断 $\gamma$ -谷氨酰胺半胱氨酸合成酶(GCS(h),  $\gamma$ -glutamine cysteine synthetase heavy chain)含量, 以检验线虫抗氧化信号通道特征蛋白GCS1 活性及表达情况<sup>[20]</sup>。线虫突变体还用于耐酒精和抑郁症相关研究<sup>[21,22]</sup>。

### 2.2 结合多种高新技术开展深层次的更具前

瞻性的生物学功能研究

研究人员通常结合传统的生物技术去了解线虫的生物功能。如对线虫的高通量测序技术<sup>[23]</sup>从基因损伤角度评价微波辐射的生物效应及防护机理<sup>[24]</sup>, 还有运用实时荧光定量核酸扩增检测技术 (Real-time Quantitative PCR Detecting System, QPCR)、荧光成像技术研究线虫衰老机制, 运用动物转基因技术<sup>[25]</sup>、单细胞激光光解技术、化学诱变和RNA干扰技术<sup>[26]</sup>对线虫进行正向和反向的遗传基因筛选。但更先进的技术能使我们的研究更方便, 准确, 弥补了传统技术不能满足我们需求的缺点。如iTRAQ (isobaric tags for relative and absolute quantitation) 技术<sup>[27,28]</sup>, 利用多种同位素试剂标记蛋白多肽N末端或赖氨酸侧链基团,

经高精度质谱仪串联分析,可同时比较多达8种样品之间的蛋白表达量,是近年来定量蛋白质组学中应用最广泛的高通量筛选技术。SWATH (Sequential Windowed Acquisition of all Theoretical fragmentions)<sup>[29]</sup>,一种高通量质谱技术,解决了shot-gun鉴定较低重复的缺点,能获得完整的肽段信息。还有ChIP-Seq (ChIP结合第二代测序技术)、TMT<sup>TM</sup>技术、靶向基因修饰技术<sup>[30]</sup>等等。

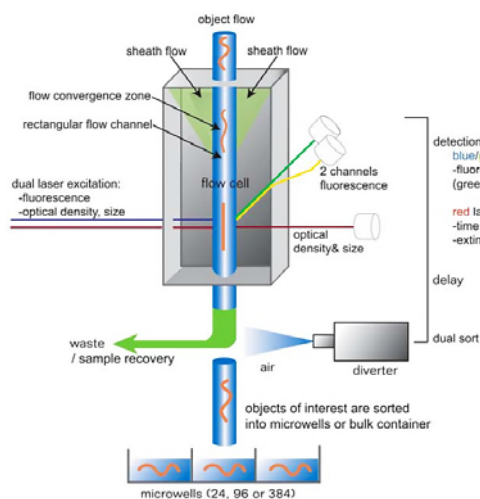


图1 COPAS<sup>TM</sup> Biosorter微模式生物分析与分选系统工作原理<sup>[31]</sup>

Fig.1 Micro model analysis of COPAS<sup>TM</sup> Biosorter and working principle of separation system<sup>[31]</sup>

传统线虫培养、分离、筛选技术主要以人工操作为主,工作强度较大,且在操作过程中容易由于人为原因产生误差,对实验结果产生影响。鉴于此,近年来国外的生物技术公司开发了可基于生理参数、光密度、荧光强度对线虫进行自动分析与高通量分选的设备(COPAS<sup>TM</sup> Biosorter微模式生物分析与分选系统)。该设备不同于传统流式细胞仪,可分析较大对象,通过对线虫个体大小、数量和荧光进行分析,并可结合单细胞多态性图谱(SNP mapping)表型特征对线虫进行高通量筛选,极大的提高了对线虫分析的效率与精确度,以满足进行小分子化合物库筛选过程中对线虫进行大量培养与分析时的需求,已成功应用于药物与活性功能成分的筛选领域<sup>[31]</sup>。其基本原理如图1。

### 3 秀丽隐杆线虫应用于酒精生物功能的研究进展

#### 3.1 线虫应用于酒精对寿命的影响及机理研究

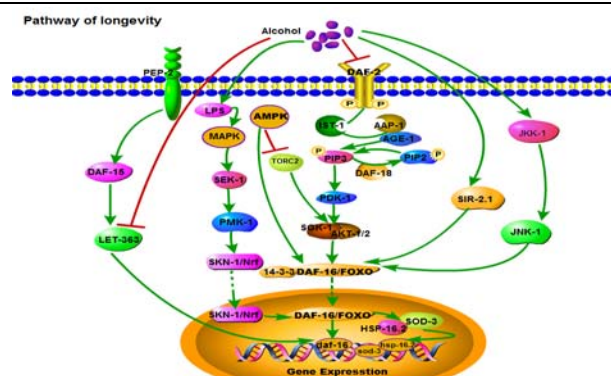


图2 酒精对线虫寿命影响的可能机理

Fig.2 Possible mechanism of alcohol effects on the lifetime of C.elegans

长生不老是人们的宏愿,寻找长生秘方也为人们津津乐道。自上世纪90年代,国际权威期刊《自然》相继报道了多个基于线虫研究生物体寿命调控机理的研究成果之后,利用线虫研究寿命调控机理的成果层出不穷,发现了多个预测寿命的保守信号通路及其关键因子,如胰岛素/胰岛素样生长因子(insulin/insulin growth factor-1 signalling pathway, IIS),雷帕霉素靶蛋白(TOR)、线粒体呼吸链/ATP合成体系、核受体通路和沉默信息调节因子2.1(silent information regulator 2.1, SIR2.1),线虫还能通过自噬、进食限制(DR)途径在体内起到调节寿命的作用,其中胰岛素/胰岛素样生长因子通路、沉默信息调节因子2.1与雷帕霉素靶蛋白(TOR)是与酒精影响寿命密切相关的<sup>[32,33]</sup>。通过总结目前酒精在线虫体内调节寿命的机制的相关研究报道<sup>[34-38]</sup>,我们梳理了部分调节机制,如图2。

图中所示,低剂量酒精在进入体内后,增强了脂多糖(LPS)与其受体结合,并对丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)发出信号,引发抗氧化应激,进而延长寿命。低剂量的酒精不仅抑制了胰岛素与DAF-2受体结合,而且激发了JNK通路,促进JNK-1磷酸化,加快DAF-16/FOXO从细胞质进入细胞核,daf-16转录表达长寿。同时,酒精可以作为能量信号分子激活TOR通道或经进食限制加强SIR-2.1蛋白去乙酰化,间接增强IIS下游信号,实现延长线虫寿命。

大量研究证明,低浓度酒精(2%)能延长寿命<sup>[39]</sup>,而其作用机制是较复杂的。根据上图所示机制,可能是由Ins/IGF、TOR和Sir-2.1作用下,发挥协同作用,共同促进长寿机制。还有研究者利用饥饿的L1期线虫通过摄食低水平的乙醇并将其转化为脂肪酸作为生长的能量而达到延长寿命<sup>[40,41]</sup>,这是乙醇给予L1幼虫增加寿命的能量以及脂肪利用的信号,激活了TOR通道

并提高了SIR2同源蛋白SIR2.1的水平进而延长了线虫的寿命<sup>[32,40]</sup>。Di Chen<sup>[42]</sup>认为胰岛素样信号通路控制线虫衰老、代谢、发育,而且TOR通道也能调控线虫寿命,两个主要的寿命通路之间是否存在联合效应,因此对胰岛素/IGF-1信号转导(IIS)中的关键分子DAF-2(IGF-1受体)和雷帕霉素(TOR)途径的靶标RSKS-1(S6K)进行突变处理,最后发现组合基因突变使寿命增加了近5倍,效果远大于单个基因的突变。这为研究更复杂的生物体中两个主要保守的寿命通路之间的相互作用提供了前期基础。乙醇的增寿作用主要是由IIS和mTOR两个信号传导通路共同调控实现的<sup>[43]</sup>,线虫摄入低剂量的酒精后刺激IIS信号通路开放,激活受体DAF-2,开启磷酸化级联反应,促使DAF-16进入细胞核进行转录,通过线粒体途径调节基因表达,进而促进寿命延长。同时,诱发氧化应激反应,激活JNK通路,增强DAF-16活性,而AMPK途径不仅直接调控DAF-16活性而且通过抑制TOR信号通路,实现间接调控DAF-16活性,减少对细胞的损伤,最终实现寿命的延长。大量研究证明,基因间相互作用的方法同样适用于高等生物,通过遗传相互作用进行抗衰老治疗将成为可能。

### 3.2 线虫应用于酒精成瘾性研究

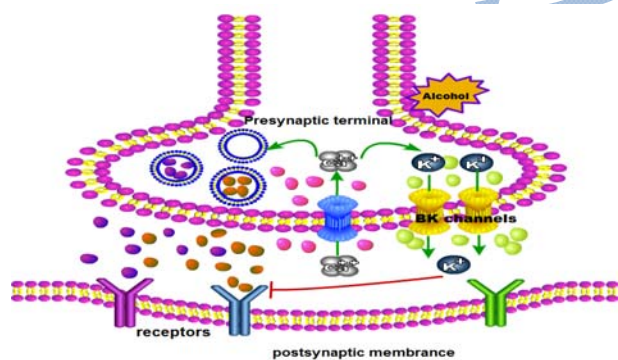


图3 酒精在BK通道上的作用<sup>[50]</sup>

Fig.3 Role of alcohol in BK pathway<sup>[50]</sup>

酒精饮料是现代生活中消费量极大的一类饮料,然而,长期饮用后会产生酒精依赖性甚至上瘾。这是因为酒精通过影响电压依赖通道、神经递质和激素受体等靶器官,影响遗传基因的转录、表达水平和细胞代谢,造成细胞对酒精的适应性耐受,表现为对酒精成瘾<sup>[44]</sup>。酒精尤其与多巴胺神经系统具有十分密切关系。多巴胺(DA)神经系统是中枢主要的“奖赏-强化”环路,是酒精作用的靶部位。在酒精的作用下促DA在伏隔区(NAC)释放,多巴胺释放到中脑边缘系统中会产生鼓励性学习的作用,随着该区的双胺水平升高产生正性强化作用引导继续饮酒,最终导致酒精

成瘾。这种作用机制在诱导性神经肽(如甘丙肽,内源性阿片样物质脑啡肽等)中同样适用,并且通过食物摄入的机制,使酒精摄入量上调,从而对酒精产生渴望<sup>[45]</sup>。成瘾很大程度上受多种遗传因素影响。JR Johnson<sup>[46]</sup>利用热休克转录因子(即HSF-1及其下游效应器中常见的基因灵敏度调节器)研究对成瘾物质的敏感性,采用转基因结合靶向RNAi筛选下游因子的方法研究外源性成瘾物质在神经系统内的作用,发现这些作用取决于hsp-16.48在神经元的表达,并确定了一条外源性成瘾物质在神经系统内起到剂量依赖效应的作用通路。基因的表现遗传修饰可由基因与环境变化而引发,表观遗传学<sup>[47]</sup>也被应用到酒精成瘾的研究当中。研究显示在乙醇急性作用下的分化细胞中,SWI/SNF(switching defective/sucrosenonfermenting)复合物是一种进化保守的多亚单位的染色质重构复合物<sup>[48]</sup>,对于基因表观修饰起到了重要作用,在乙醇导致成瘾的过程中,SWI/SNF复合物是一种具有多种调节基因表达功能的生物因子,能调节反映急性乙醇作用的两个不同方面的基因表达,并进行了多方位的验证试验,证实缺乏SWI/SNF功能的线虫初步敏感性发生了改变,无法展示出在乙醇持续刺激下,机体对乙醇的依赖行为,因此SWI/SNF靶标的调节变化可能影响对酒精的依赖<sup>[49]</sup>。

酗酒还与多种靶标蛋白质高度相关,但蛋白质调控酒精行为的机制目前并不完全清楚。线虫是鉴定基因介导神经活性药物反应最有代表的生物体。朱耿等人<sup>[50]</sup>基于秀丽隐杆线虫对酒精刺激的保守行为,将线虫作为模型以研究相关的分子靶标和介导这些反应的途径。通过BK通道(大电导、钙离子激活的钾离子通道)的作用,研究了脂质微环境、受体、突触机制和神经递质对急性和慢性酒精干预的影响,对秀丽隐杆线虫涉及酗酒行为的机制进行了相关研究,在神经系统中,BK通道功能是神经传输和神经活动的重要调节器。乙醇通过激活BK通道并进而抑制神经元的兴奋性,有可能是因为限制神经肽和生长激素释放,损伤了感受中枢,导致神经系统对酒精的敏感性降低,在此基础上,如长期摄入酒精,则会促使机体对酒精产生依赖性发展为成瘾。

尽管秀丽隐杆线虫的神经系统相对简单,但神经递质具有高度保守性,除了暂未发现酒精对内源性阿片系统的作用外,其他酒精成瘾机制基本与哺乳动物吻合。酒精可作用于线虫多巴胺(DA)神经系统、谷氨酸神经系统、5-羟色胺(5-HT)神经系统及Ca<sup>2+</sup>、K<sup>+</sup>离子通道等,启动相关生物分子调控系统,使机体对酒精的耐受性及依赖性受到影响<sup>[51-53]</sup>。如图3,酒

精作用于Ca<sup>2+</sup>、K<sup>+</sup>离子通道, 机体受到外源的酒精刺激后, 激活了BK通道, 导致大量K<sup>+</sup>流出突触前末梢, 抑制神经递质的释放。但随着Ca<sup>2+</sup>的流入, 不仅促进BK通道开放而且调控神经递质的释放。利用线虫研究酒精作用的分子靶点在很大程度上有助于我们了解对酒精不合适的摄入诱导的酒精成瘾可能机制。而且我们更应关注到那些能间接调控酒精作用靶点的相关激素或受体, 使我们能够对酒精作用区域有一个更完整的认识, 方便今后更多的研究者为研制抗酒精成瘾的相关药物提供基础知识。

### 3.3 线虫应用于酒精引起的神经退行性疾病研究

人口老龄化疾病中的神经退行性疾病是各国面临的巨大挑战, 作为老年人患病率较高的疾病因而备受关注。选择合适的生物模型, 研究致病机制及控制措施, 将会给全球老年人带来福音。当长期摄入大量酒精, 而酒精代谢不完全时, 乙醛会残留体内, 对轴突传递产生干扰, 导致了酒精性周围神经疾病的发展, 进而引起酒精中毒并引发其他疾病危及生命。众多病患都是由于长期饮酒而导致身体发生病变, 如酒精中毒引起的韦尼克脑病(Wernicke's encephalopathy, WE)、小脑变性及桥脑中央髓鞘溶解、脊髓病和酒精中毒性肌病等。慢性酒精中毒可直接导致大脑形态异常、显著的脑容量损失, 引发神经退行性疾病。LM Gomez<sup>[54]</sup>利用线虫来确定可遗传的酒精毒性, 探索长期接触酒精对神经系统的影响。在帕金森氏病、阿尔茨海默症等神经性疾病的研究中, 线虫作为模式生物表现出独特的优势。Chen Yao和Rabih El Khoury等<sup>[55]</sup>在研究帕金森氏病时, 找出并构建了多巴胺神经元表达人野生型LRRK2 基因和两个多巴胺相关的突变基因R1441C和G2019S, 并用相关基因突变线虫品种, 用以揭示帕金森的发病机制。阿尔茨海默症(Alzheimer's disease, AD)是发病率最高的神经退行性病变, 因此, 如何减缓这种神经退行性疾病的影响显得十分关键。基于适度饮酒对机体健康有益, 可降低心血管疾病的风险和死亡率这一研究结果, 来研究适度饮酒能否用于阿尔茨海默症早期患者, 相关试验发现适度饮酒与降低阿尔茨海默症死亡率是有密切联系的<sup>[56]</sup>。秀丽隐杆线虫具有高度保守的神经系统, 尤其是AD相关基因, 因此在线虫中建立A $\beta$ 模型和tau模型来研究AD的作用机制比用小鼠模型更高效精确<sup>[57,58]</sup>。

### 3.4 线虫应用于酒精代谢紊乱引发的糖尿病研究

糖尿病是一种典型的代谢紊乱疾病, 在70年代有人发现酒精与糖尿病之间存在一定联系, 但直到最近几年, 随着糖尿病的患病率日益增高, 人们为了探究糖尿病的病因, 逐渐关注酒精与糖尿病的关系。孙秀发<sup>[59]</sup>认为酒精可以通过影响糖酵解过程、引起氧化应激损伤、诱导细胞因子生成增多、启动凋亡途径以及干扰胰岛素受体及受体后信号转导途径而造成糖代谢、胰岛功能障碍, 从而与糖尿病的发生具有相关性。其中胰岛素样信号途径异常是发生II型糖尿病的重要原因。酒精会造成机体对胰岛素产生抵抗, 长期过量酒精摄入会使胰岛素信号传导发生障碍, 降低葡萄糖运载载体运输葡萄糖的能力, 葡萄糖作为关键代谢调节剂诱导 $\beta$ 细胞分泌胰岛素, 胰岛素分泌异常或不能有效发挥作用, 则会影响到胰岛素样信号途径, 造成高血糖, 致使II型糖尿病的发生<sup>[60,61]</sup>。另一方面, 酒精抑制糖异生和糖原分解, 在没有食物的摄入可引起急性低血糖, 在食用含有碳水化合物的食物后, 作为能量来源, 最初会导致血糖水平升高, 从而出现II型糖尿病患者的胰岛素反应<sup>[62]</sup>。从对线虫的葡萄糖代谢特性方面的研究有助于我们对高等生物糖尿病发病机制理解。因线虫全基因组已完成测序, 又与人类基因具有高度保守性。线虫模型在糖尿病治疗药物的筛选中也是一个极具研究价值的高效模型。线虫daf-2 基因突变株发育受限, 只能停留在dauer幼虫期, 但当胰岛素样信号途径被刺激后, 可以二次生长, 发育成成虫。目前根据能使daf-2 基因突变线虫转变成成虫的化合物可能对人类胰岛素信号传递存在调节作用这一特性, 已建立了抗II型糖尿病的药物筛选模型<sup>[63]</sup>。

线虫应用于酒精引发的II型糖尿病研究大部分处于细胞水平, 建立在对胰岛素样信号途径的变化影响上, 而由于代谢性疾病涉及多种基因表达, 因此, 具体的基因影响机制目前还不清楚。

### 3.5 线虫应用于酒精对生殖功能的影响研究

国内外研究发现酒精还对生殖有影响。李乃鹏等人<sup>[64]</sup>将L4 期秀丽隐杆线虫暴露在不同浓度酒精(1%、2%、3%、4%和 5%)中, 统计后代数目、子宫内受精卵数目、卵母细胞数目, 计算排卵速率并观察子代线虫的运动行为。研究发现随酒精浓度的增大, 以上涉及的各项研究指标均显著降低, 说明酒精对线虫的

生殖具有损伤作用。Davis JR<sup>[65]</sup>将线虫整个生命周期都暴露在不同酒精浓度下(0 mM、100 mM、200 mM、400 mM),因在 600 mM浓度下,发现线虫致死率高,而暴露在 400 mM乙醇溶液下,线虫体内乙醇浓度为 $22\pm 0.8$  mM,相当于人类血液中 0.1%的乙醇含量,这也是明文规定的最高驾驶量,所以 400 mM乙醇浓度是研究慢性乙醇暴露最高浓度。还有人发现在幼虫发育过程中,慢性酒精暴露会暂时延缓身体生长,发育缓慢,延缓性成熟,并降低生殖能力。当线虫完成发育并达到生殖期时,将线虫暴露于高浓度酒精中,急性酒精作用将导致该线虫所产卵的孵化率大大降低<sup>[66]</sup>。这些研究表明,酒精的毒性不仅对母体有损伤而且能遗传给受精卵,导致受精卵发育不完全,甚至致死。

#### 4 小结

秀丽隐杆线虫由于其特殊的生理结构,且有大约三分之二的基因被证实与人类疾病相关的基因属于同源基因,使其成为了研究人类疾病的重要生物模型。人们利用线虫相对简单且研究透彻的身体结构与神经系统,结合现代基因技术,开展了大量酒精生物学功能方面的研究,取得了大量突破性研究成果,对人们了解酒精性疾病的发生与机制,预防酒精引起的相关疾病起到了启示性作用。例如,在对于酒精对线虫寿命影响的研究中,寿命的调控通路被清晰揭示,为人类研究长寿机制提供了新的思路。在酒精成瘾的研究中,人们取得了很多的基础性研究成果,获取了大量基因调控通路相关信息,也为探明此类行为的根源发挥了重要作用,但关于利用模式生物线虫研究酒精对某一具体神经系统的影响机制相关文献较少,且线虫是揭示其作用机制最佳生物模型,明晰成瘾过程中重要影响因子,今后可利用线虫打开治疗酒精成瘾这个领域。酒精介导神经性疾病、糖尿病的发生及对生殖功能的影响,虽然还不够明晰其基因调控方式,但在前期已做了相关基础摸索。比如酒精对 II 型糖尿病的研究,大部分的研究开展都基于胰岛素这一重要因素。但在胰岛素样受体这方面的研究还较少,我们可以从受体这条线索继续挖掘,打开另一条可能调控机制,利用野生型线虫或突变株线虫去探索目的基因的功能,了解这条途径中所涉及的重要因子、受体及调控机理。而对于一些酒精引发的其它疾病,是否可构建相关线虫模型来开展研究也值得我们期待。例如在利用小鼠模型对酒精肝的研究中发现,肉毒碱棕榈酰转移酶的基因(Cpt1a)和脂肪酸合成酶基因(Fasn)是信号通路中的关键基因,随酒精肝病程的进展分别持

续减弱和增强<sup>[67,68]</sup>,而线虫体内也有这两种基因<sup>[69]</sup>,或许可以为我们深入研究酒精肝的发病机制提供帮助,还可建立线虫模型来高通量筛选预防和治疗酒精肝的药物。

#### 参考文献

- [1] Goldstein B, Sydney Brenner on the Genetics of *Caenorhabditis elegans* [J]. Genetics, 2016, 204(1): 1-2
- [2] Sulston J E, Horvitz H R. Post-embryonic cell lineages of the nematode, *Caenorhabditis elegans* [J]. Developmental Biology, 1977, 56(56): 110-156
- [3] Badhwar R, Bagler G. A distance constrained synaptic plasticity model of *C. elegans*, neuronal network [J]. Physica A Statistical Mechanics & Its Applications, 2016, 469
- [4] "Caenorhabditis elegans genome sequencing". Wellcome Trust Sanger Institute. Retrieved 22 April 2014
- [5] Ellis R E, Yuan J-Y, Horvitz H R. Mechanisms and functions of cell death [J]. Annual Review of Cell Biology, 1991, 7(1): 663-698
- [6] "WS227 Release Letter". WormBase. 10 August 2011. Retrieved 2013-11-19
- [7] Kunert J, Shlizerman E, Kutz J N. Identifying proxies for behavior in full-network *C. elegans* neural simulations [C]// COSYNE. 2015
- [8] 李煜,敬海明,李国君.秀丽隐杆线虫神经毒理学研究进展[J].中国公共卫生,2013,29(4):622-624  
LI Yu, JING Hai-ming, LI Guo-jun. Advances in studies on the toxicology of *Caenorhabditis elegans* [J]. Chinese Public Health, 2013, 29 (4): 622-624
- [9] Kornfeld Kerry, Evason Kimberley. Effects of anticonvulsant drugs on life span [J]. Archives of Neurology, 2006, 63(4): 491-496
- [10] 王欣佩,余焯,雷帆,等.模式生物线虫在药物复杂体系活性评价中的应用[J].中国比较医学杂志,2015,3:67-72  
WANG Xin-pei, YU Xuan, LEI Fan, et al. Model organism *C.elegans* applications in the complex-system drug activity evaluation [J]. Chinese Journal of Comparative Medicine, 2015, 3: 67-72
- [11] X Xing, Q Rui, D. Wang. Lethality toxicities induced by metal exposure during development in nematode *Caenorhabditis Elegans* [J]. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 2009, 83(4): 530-536
- [12] Margulies M, Egholm M, Altman W E, et al. Corrigendum: Genome sequencing in microfabricated high-density picolitre reactors [J]. Nature, 2005, 437(7057): 376-380

- [13] Zhao Xin-Yu, Liang Shu-Fang, Yao Shao-Hua, et al. Identification and preliminary function study of *Xenopus laevis* DRR1 gene [J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2007, 361(1): 74-78
- [14] Petersen C. Why we need more ecology for genetic models such as *C. elegans* [J]. Trends in Genetics, 2015, 31(3): 120-127
- [15] Alqadah A. SLO BK potassium channels couple gap junctions to inhibition of calcium signaling in olfactory neuron diversification [J]. Plos Genetics, 2016, 12(1): e1005654
- [16] 姚艳玲.秀丽隐杆线虫 14-3-3 蛋白 PAR-5、AMPK 蛋白 AAK-2 对寿命及应激调控的研究[D].厦门:厦门大学,2014  
YAO Yan-lin. The 14-3-3 protein PAR-5 and AMPK homologous protein AAK-2 regulate lifespan and stress response signaling in *Caenorhabditis elegans* [D]. Xiamen: Xiamen University, 2014
- [17] 史爱武,陆勤,侯莉莉,等.补肾抗衰汤影响秀丽隐杆线虫衰老的机制研究[J].辽宁中医杂志,2013,1:52-54  
SHI Ai-wu, LU Qin, HOU Li-li, et al. Study of mechanism of kidney tonifying and anti-aging Decoction influencing the senescence of *Caenorhabditis elegans* [J]. Chinese Journal of Traditional Chinese Medicine, 2013, 1: 52-54
- [18] 罗卿心,刘晓娟,曹庸,等.虾青素对秀丽隐杆线虫衰老的影响及其机制的初步研究[J].现代食品科技,2015,9:56-60  
LUO Qing-xin, LIU Xiao-juan, CAO Yong, et al. Effects of astaxanthin on *Caenorhabditis elegans* aging and its underlying mechanisms [J]. Modern Food Science and Technology, 2015, 9: 56-60
- [19] 王爽,张高帆,陈欣悦,等.小球藻蛋白的制备及其水解肽的抗氧化研究[J].中国食品学报,2017,17(2):92-100  
WANG Shuang, ZHANG Gao-fan, CHEN Xin-yue, et al. Preparation of *Chlorella* protein and antioxidation of its hydrolytic peptides [J]. Chinese Journal of Food Science, 2017, 17(2): 92-100
- [20] 黄润庭.湘西原香醋发酵过程微生物群落分析及其抗氧化作用探究[D].长沙:湖南农业大学,2016  
HUANG Run-ting. Study on the microorganism ecology during fermentation and antioxidant property of Xiangxi flavor vinegar [D]. Changsha: Hunan Agricultural University, 2016
- [21] Amy E Adkins. Genomewide association study of alcohol dependence identifies risk loci altering ethanol-response behaviors in model organisms [J]. Alcoholism Clinical & Experimental Research, 2017, 41(5): 911
- [22] Alaimo Joseph T. Ethanol metabolism and osmolarity modify behavioral responses to ethanol in *C. elegans* [J]. Alcoholism Clinical & Experimental Research, 2012, 36(11): 1840-50
- [23] 邓杰,卫春会,罗惠波,等.基于高通量测序的浓香型白酒窖池古菌群落结构分析[J].现代食品科技,2015,7:205-210  
DENG Jie, WEI Chun-hui, LUO Hui-bo, et al. Analysis of archaeal community structure of Luzhou flavor liquor cellar based on high throughput sequencing [J]. Modern Food Science and Technology, 2015, 31(8): 205-210
- [24] Bojjawar Tripura, Jalari Madan, Aamodt Eric, et al. Effect of electromagnetic nanopulses on *C. elegans* fertility [J]. Bioelectromagnetics, 2006, 27(7): 515-520
- [25] Fasseas M K. Response of *Caenorhabditis elegans* to wireless devices radiation exposure [J]. International Journal of Radiation Biology, 2015, 91(3): 1-34
- [26] Wei Chen. iRNA-PseU: Identifying RNA pseudouridine sites [J]. Molecular Therapy Nucleic Acids, 2016, 5(7): e332
- [27] Vanessa Liang, Milena Ullrich, Hong Lam, et al. Altered proteostasis in aging and heat shock response in *C. elegans* revealed by analysis of the global and de novo synthesized proteome [J]. Cellular and Molecular Life Sciences: CMLS, 2014, 71(17): 3339-3361
- [28] Xiaomeng An. Comparative proteome analysis between *C. briggsae* embryos and larvae reveals a role of chromatin modification proteins in embryonic cell division [J]. Scientific Reports, 2017, 7(1)
- [29] Jeevan K Prasain, L Wilson, H D Hoang, et al. Comparative lipidomics of *Caenorhabditis elegans* metabolic disease models by SWATH non-targeted tandem mass spectrometry [J]. Metabolites, 2015, 5(4): 677-696
- [30] 信吉阁,曾养志.靶向基因修饰技术在免疫缺陷动物模型研究中的应用进展[J].中国实验动物学报,2016,24(5):535-540  
XIN Ji-ge, ZENG Yang-zhi. Targeted gene modification technique in the study of immunodeficiency in animal models of application of [J]. Chinese Journal of Laboratory Animal Science, 2016, 24(5): 535-540
- [31] Rock Pulak. Techniques for Analysis, Sorting, and Dispensing of *C. elegans* on the COPAS™ Flow-Sorting System [M]. Methods in Molecular Biology, 2006, 351(3-4): 275
- [32] 孙秀秀,孙海燕,黄晓星,等.秀丽隐杆线虫在衰老分子机制研究中的应用[J].世界临床药物,2013,34(2):106-110  
SUN Xiu-xiu, SUN Hai-yan, HUANG Xiao-xing, et al. Application of *Caenorhabditis elegans* for aging molecular mechanisms research [J]. World Clinical Drugs, 2013, 34(2):

- 106-110
- [33] Louis R. Lapierre. Lessons from *C. elegans*: signaling pathways for longevity [J]. Trends in Endocrinology & Metabolism, 2012, 23(12): 637-44
- [34] Heintz C. Splicing factor 1 modulates dietary restriction and TORC1 pathway longevity in *C. elegans* [J]. Nature, 2017, 541(7635): 102-106
- [35] Chen M M, O'Halloran L R E, Kovacs E J. Alcohol intoxication increases post burn Kupffer Cell p38 MAPK signaling [J]. Alcohol, 2014, 48(7): 729-729
- [36] Kumsta C. Integrin- linked kinase modulates longevity and thermotolerance in *C. elegans* through neuronal control of HSF- 1 [J]. Aging Cell, 2014, 13(3): 419-430
- [37] Roberson R, Kuddo T, Abebe D, et al. 449: Alcohol exposure in pregnancy affects phosphorylation of the JNK and p38 cell signaling pathways [J]. American Journal of Obstetrics & Gynecology, 2013, 208(1): S196-S196
- [38] Jma T, Green J W, Au C, et al. The SKN-1/Nrf2 transcription factor can protect against oxidative stress and increase lifespan in *C. elegans* by distinct mechanisms [J]. Aging Cell, 2017, 1-4
- [39] Yu Xiaokun, Zhao Wanming, Ma Junfeng, et al. Beneficial and harmful effects of alcohol exposure on *Caenorhabditis elegans* worms [J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2011, 412(4): 757-762
- [40] Patananan A N, Budenholzer L M, Eskin A, et al. Ethanol-induced differential gene expression and acetyl-CoA metabolism in a longevity model of the nematode *Caenorhabditis elegans* [J]. Experimental Gerontology, 2015, 61: 20-30
- [41] Castro P V, Khare S, Young B D, et al. *Caenorhabditis elegans* battling starvation stress: low levels of ethanol prolong lifespan in L1 larvae [J]. Plos One, 2012, 7(1): 264-264
- [42] Di Chen. Germline signaling mediates the synergistically prolonged longevity produced by double mutations in daf- 2 and rsk- 1 in *C. elegans* [J]. Cell Reports, 2013, 5(6): 1600-1610
- [43] 王晋,王虹元,张治洲,等.乙醇对秀丽隐杆线虫寿命的影响及其分子机理[J].食品科学,2017,38(21)  
WANG Jin, WANG Hong-yuan, ZHANG Zhi-zhou, et al. Effect of ethanol on *C. elegans* lifespan and its potential molecular mechanisms [J]. Food Science, 2017, 38(21)
- [44] Vengeliene V, Bilbao A, Molander A, et al. Neuropharmacology of alcohol addiction [J]. British Journal of Pharmacology, 2008, 154(2): 299-315
- [45] Barson J R, Leibowitz S F. Hypothalamic neuropeptide signaling in alcohol addiction [J]. Progress in Neuropsychopharmacology & Biological Psychiatry, 2016, 65: 321-329
- [46] James R Johnson, Dayani Rajamanoharan, Hannah V McCue, et al. Small heat shock proteins are novel common determinants of alcohol and nicotine sensitivity in *Caenorhabditis elegans* [J]. Genetics, 2016, 202(3): 1013-1027
- [47] 姚志刚,秦川.表观遗传修饰在学习和记忆中的调节作用[J].中国实验动物学报,2011,19(5):441-445  
YAO Zhi-gang, QIN Chuan. Epigenetic regulation in learning and memory: a review [J]. Chinese Journal of Laboratory Animal Science, 2011, 19(5): 441-445
- [48] Bevilacqua A, Willis M S, Bultman S J. SWI/SNF chromatin-remodeling complexes in cardiovascular development and disease [J]. Cardiovascular Pathology, 2014, 23(2): 85-91
- [49] Mathies L D, Blackwell G G, Austin M K, et al. SWI/SNF chromatin remodeling regulates alcohol response behaviors in *Caenorhabditis elegans* and is associated with alcohol dependence in humans [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2015, 112(10): 3032-7
- [50] Geng Zhu, Fen Zhang, Wei Li. Nematodes feel a craving-Using *Caenorhabditis elegans* as a model to study alcohol addiction [J]. Neurosci Bull., 2014, 30(4): 595-600
- [51] 杨琪,陶睿.酒精成瘾中CREB相关基因蛋白的生物学进展[J].精神医学杂志,2015,2:150-152  
YANG Qi, TAO Rui. Biological progress of CREB related gene proteins in alcohol addiction [J]. Journal of Psychiatry, 2015, 2: 150-152
- [52] 陈锋,Andrew, Lawrence, 等.酒精滥用与成瘾中枢神经递质的研究进展[J].中国药物依赖性杂志,2007,16(1):5-12  
CHEN Feng, Andrew, Lawrence, et al. Progress in the study of central neurotransmitters in alcohol abuse and addiction [J]. Chinese Journal of Drug Dependence, 2007, 16(1): 5-12
- [53] 蒋曦,田福荣,赵应征.小鼠慢性酒精中毒及戒断过程中抑郁样行为的改变及其共病机制[J].中国病理生理杂志,2016,32(2):296-301  
JIANG Xi, TIAN Fu-rong, ZHAO Ying-zheng. Changes of depressive like behavior and its mechanism in mice during chronic alcoholism and withdrawal [J]. Chinese Journal of Pathophysiology, 2016, 32(2): 296-301



- [54] Gomez L M. Ethanol-induced toxicity and neurodegeneration in *C. elegans* [J]. Eexas Scholar Works, 2013: 27-34. <http://hdl.handle.net/2152/22500>
- [55] Yao C, Khoury R E, Wang W, et al. LRRK2-mediated neurodegeneration and dysfunction of dopaminergic neurons in a *Caenorhabditis elegans* model of Parkinson's disease [J]. *Neurobiology of Disease*, 2010, 40(1): 73-81
- [56] 毕作宾.阿尔茨海默病患病相关危险因素研究[J].养生保健指南,2015,9:204-204  
BI Zuo-bin. Study on the related risk factors of Alzheimer's disease [J]. *Health Care Guide*, 2015, 9: 204-204
- [57] Berntsen S, Kragstrup J, Siersma V, et al. Alcohol consumption and mortality in patients with mild Alzheimer's disease: a prospective cohort study [J]. *Bmj Open*, 2015, 5(12): e007851
- [58] 顾彬,张文生.阿尔采默氏病动物模型的研究进展[J].中国实验动物学报,2008,16(2):153-156  
GU Bin, ZHANG Wen-sheng. Advances in animal models of Alzheimer's disease [J]. *Chinese Journal of Laboratory Animal Science*, 2008, 16(2): 153-156
- [59] 孙秀发.酒精与糖尿病的关系[J].世界华人消化杂志,2005, 13(3):290-293  
SUN Xiu-fa. The relationship between alcohol and diabetes [J]. *World Journal of Chinese Digestion*, 2005, 13(3): 290-293
- [60] 贾冬梅.长期过量饮酒易引发糖尿病[J].家庭科学·新健康,2014,2:11-11  
JIA Dong-mei. Long term excessive drinking causes diabetes mellitus [J]. *Family Science, New Health*, 2014, 2: 11-11
- [61] Munukutla S, Pan G, Deshpande M, et al. Alcohol toxicity in diabetes and its complications: a double trouble? [J]. *Alcoholism Clinical & Experimental Research*, 2016, 40(4): 686
- [62] Van d W A. Diabetes mellitus and alcohol [J]. *Diabetes/metabolism Research & Reviews*, 2004, 20(4): 263
- [63] 周雨朦,陈代杰.秀丽隐杆线虫在药物筛选中的应用[J].上海医药,2011,32(11):566-571  
ZHOU Yu-meng, CHEN Dai-jie. Applications of *Caenorhabditis elegans* in drug screening [J]. *Shanghai Medicine*, 2011, 32(11): 566-571
- [64] 李乃鹏,梁琼麟,罗国安,等.长期酒精暴露对秀丽隐杆线虫生殖能力的损伤作用研究[J].中国当代医药,2013, 20(9): 13-15  
LI Nai-peng, LIANG Qiong-lin, LUO Guo-an, et al. Study of the reproductive injury of *Caenorhabditis elegans* induced by alcohol with a long-term exposure [J]. *Chinese Contemporary Medicine*, 2013, 20(9): 13-15
- [65] Davies A G, Pierceshimomura J T, Kim H, et al. A central role of the BK potassium channel in behavioral responses to ethanol in *C. elegans* [J]. *Cell*, 2003, 115(6): 655
- [66] Davis J R, Li Y, Rankin C H. Effects of developmental exposure to ethanol on *Caenorhabditis elegans* [J]. *Alcoholism Clinical & Experimental Research*, 2008, 32(5): 853-867
- [67] 周宁.酒精性肝病发生发展的基因组学和蛋白质组学研究[D].杭州:浙江大学,2013  
ZHOU Ning. Genomics and proteomics of the development and progression of alcoholic liver disease [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2013
- [68] Lee K Z, Kniazeva M, Han M, et al. The fatty acid synthase fasn-1 acts upstream of WNK and Ste20/GCK-VI kinases to modulate antimicrobial peptide expression in *C. elegans* epidermis [J]. *Virulence*, 2010, 1(3): 113-120
- [69] 贾熙华,曹诚.秀丽隐杆线虫在医药学领域的应用和进展[J].药学学报,2009,7:687-694  
JIA Xi-hua, CAO Cheng. *Caenorhabditis elegans*: a powerful tool for drug discovery [J]. *Acta Pharmaceutica Sinica*, 2009, 7: 687-694