

甲硫氨酸对小鼠毛发生长和脏器指数的影响

Effects of methionine in dietary on hair growth and organ indexes in mice

李晓凤¹ 王 昕² 杨 兵¹ 张华琦¹

LI Xiao-feng¹ WANG Xin² YANG Bing¹ ZHANG Hua-qi¹

(1. 铜仁职业技术学院, 贵州 铜仁 554300; 2. 西北农林科技大学动物科技学院, 陕西 杨凌 712100)

(1. Tongren Polytechnic College, Tongren, Guizhou 554300, China;

2. College of Animal Science and Technology, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

摘要:选择血缘和体重相近的昆明小白鼠 80 只,随机分成 4 组,分别以 0.12%(对照组),0.80%,1.60%,2.40% 的甲硫氨酸(Met)处理,每个处理 5 个重复、每个重复雌雄鼠各 2 只。在毛发退行期和休止期分别采集毛发纤维、心脏、肝脏、脾脏、肺脏、肾脏和胸腺等,用于测定毛发直径和长度及各脏器指数。结果表明:0.80%,1.60%,2.40% 3 种处理能显著降低退行期毛发直径($P<0.05$),但对休止期毛发直径无显著影响($P>0.05$);0.80%,1.60% 2 种处理能显著降低退行期和休止期毛发长度($P<0.05$),显著提高退行期脾指数、肺指数和肾指数($P<0.05$),但对心指数、胸腺指数均无显著影响($P>0.05$);1.60% Met 处理能显著提高休止期肝指数和肾指数($P<0.05$),但对心指数、脾指数无显著影响($P>0.05$)。综上,0.80%,1.60% 2 种处理能显著降低小鼠毛发直径、长度,并能显著提高小鼠退行期脾指数、肺指数和肾指数。

关键词:甲硫氨酸;毛发生长;脏器指数;小鼠

Abstract: The effects of methionine (Met) in dietary on hair growth and organs indexes were investigated. A total of 80 Kunming mice with a similar genetic background and weight were randomly divided into 0.12% (the control), 0.80%, 1.60%, and 2.40% Met treatments with five replicates per treatment, including two female and two male mice per treatment. The hair fibers, heart, liver, spleen, lungs, kidneys and thymus were collected in catagen and telogen, respectively. The results showed that hair diameters of mice were significantly decreased by adding 0.80%, 1.60% and 2.40% Met to diet ($P<0.05$) in catagen and telogen. The length of hair in catagen and telogen were significantly reduced by 0.80% and 1.60% Met supplement ($P<0.05$), but no changes were observed in hair diameters of

the mice among four groups ($P>0.05$). Compared with 0.12% Met group, spleen, lung, and renal indexes of mice from 0.80% and 1.60% Met groups were significantly improved ($P<0.05$), but no significant effects of methionine were found on heart and thymus indexes ($P>0.05$). Mice liver and renal indexes were significantly increased by 1.60% Met ($P<0.05$), but no changes were observed in cardiac and spleen indexes ($P<0.05$). In conclusion, the length and diameter of hair was significantly reduced, and spleen, lung and renal indexes were improved the by 0.80% and 1.60% Met in dietary.

Keywords: methionine; hair growth; organs index; mice

甲硫氨酸(Met)是人和动物必需氨基酸之一,腺苷甲硫氨酸(SAM)是它的重要代谢产物之一^[1]。SAM 是 Met 通过腺苷三磷酸腺苷转移酶(MAT)催化产生的,MAT 有 3 种主要亚型:MAT I、MAT II 和 MAT III^[2]。SAM 是基因调控至关重要的甲基供体之一^[2]。DNA 甲基化和蛋白质甲基化(包括组蛋白甲基化),是在甲基转移酶催化、SAM 作为甲基供体条件下完成的^[3]。s-腺苷高半胱氨酸(SAH)为 Met 另一重要代谢产物,是通过甲基转移酶(DNMTs)催化生成的,然后由 SAH 水解酶(AHCY)转化为同型半胱氨酸(Hcy)^[3]。因此,Met 可通过以上 2 种代谢过程调控生物基因的甲基化状态,从而改变基因表达和生物性状。最新研究表明,Met 参与骨骼微结构^[4]、胶原蛋白特性^[4]、胚胎干细胞维持^[5]、胚胎发育^[5]、葡萄糖耐受^[6]和泌乳^[7-8]等诸多生命过程。毛发生长周期分为生长期、退行期和休止期,该过程受到很多因素的影响,例如日照、遗传和营养等^[9-11]。然而,迄今为止,关于 Met 对模型动物(小鼠)的毛发生长、脏器指数的影响尚未见报道。基于此,本研究通过测量、计算不同 Met 浓度下小鼠的毛发直径、长度以及部分脏器指数,为 Met 调控毛发生长及器官毒理作用提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

小白鼠:25 日龄昆明体重 18~22 g,西安交通大学实验

基金项目:铜仁市科技计划项目(编号:铜市科研[2016]17-4,[2017]47-91,[2017]-19);铜仁职业技术学院科研项目(编号:铜职科研[2015]-1)

作者简介:李晓凤,女,铜仁职业技术学院讲师,硕士。

通信作者:杨兵(1986—),男,铜仁职业技术学院讲师,博士研究生。

E-mail:bingyang19860919@163.com

收稿日期:2018-01-09

动物中心；
Met:纯度 99.99%，江苏盐城品王贸易有限公司；
分析天平:BSM-220.3 型,上海卓精仪器设备有限公司；
数显游标卡尺:118 型,台州艾测五金专营店；
显微测微尺:0.01 mm,泰州市诚倍教学设备有限公司；
手提式中药粉碎机:BZFS-02 型,西安宝正实业有限公司；
电热鼓风干燥箱:DHG9000 型,上海高致精密仪器有限公司；
真空干燥器:VA250-1 型,上海君翼仪器设备有限公司；
凯氏定氮仪:K1160 型,济南海能仪器股份有限公司；
氨基酸自动分析仪:835-50 型,日本日立公司。

1.2 试验动物与分组

80 只昆明小白鼠随机分成 4 组,分别用 0.12%(基础日粮),0.80%,1.60%,2.40%的 Met 处理,每组 5 个重复,每个重复雌、雄鼠各 2 只。试验小鼠自由采食、饮水,笼养,每 2 d 更换小鼠垫料。饲养室定时通风、采光,温度控制在 24 ℃ 左右,相对湿度 60%左右。每天观察记录小白鼠采食、饮水、生长发育以及健康状况。

1.3 基础日粮原料组成及养分测定

- (1) 基础日粮水分:按 GB/T 5009.3—2010 执行。
- (2) 干物质:按式(1)计算干物质。

$$D=\frac{m_2}{m_1}\times 100\%,$$
(1)

式中:
D——干物质含量,%;
m₁——烘干前样品重量,g;
m₂——105 ℃ 5 h 烘干后样品重量,g。
(3) 蛋白质:按 GB 5009.5—2016 执行。
(4) 脂肪:按 GB/T 5009.6—2003 执行。
(5) 灰分:按 GB/T 5009.4—2010 高温灰化法执行。
(6) 能量:按 GB 28050—2011 和 GB/Z 21922—2008

执行。
(7) 氨基酸含量:采用日立 835-50 型氨基酸自动分析仪测定。

1.4 毛发直径、长度的测量

在毛发退行期、休止期,每组采集 10 只小鼠左肩胛部毛发,分别采用显微测微法测定毛发纤维直径,采用数显游标卡尺测定毛发自然长度。每只小鼠个体分别测定、记录 30 根毛发的直径、长度。

1.5 脏器指数的测定

在毛发退行期、休止期,每组断髓处死雄鼠、雌鼠各 5 只,剥离心脏、脾脏、肺脏、肝脏、胸腺和肾脏等,准确称量并记录,计算各脏器的脏器指数。脏器指数按式(2)计算:

$$R=\frac{w_1}{w_2}\times 100,$$
(2)

式中:
R——脏器指数;
w₁——某一脏器重量,g;
w₂——动物活体重量,g。

1.6 数据分析与统计

采用 Excel 2016 对数据进行整理,SPSS 20 进行单因素方差分析。试验结果以平均数±标准差($\bar{X}\pm SD$)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 基础日粮组成、营养水平及氨基酸含量

基础日粮的原料组成、营养水平以及氨基酸含量分别见表 1、2、3。

2.2 日粮 Met 对毛发生长的影响

毛发生长周期包括生长期、退行期和休止期,该过程受到诸多因素的影响,例如日照、遗传及营养等^[9-11]。由图 1 可知,0.80%,1.60%,2.40% 3 种处理显著降低退行期毛发直径,显著降低退行期、休止期毛发长度(P<0.05)。退行期,0.80%,1.60%,2.40% 3 种处理的毛发直径显著低于 0.12% 处理的(P<0.05),0.80%,1.60% 2 种处理的显著低于 2.40%处理的(P<0.05),但 0.80%与 1.60% Met 组差异不显著(P>0.05);休止期,各处理组毛发直径差异不显著(P>0.05);退行期,0.80%,1.60% 2 种处理的毛发长度显著低于0.12%和2.40%处理的(P<0.05),但0.80%处理与

表 1 基础日粮的原料组成

Table 1 Composition levels of the basal experimental diets (as-fed basis)								%
玉米	豆粕	大豆	玉米须	鱼粉	麦麸	酵母	面粉	骨粉
17.50	30.00	10.00	15.00	5.00	5.00	2.50	12.50	2.50

表 2 基础日粮的营养价值(风干物质)

Table 2 Nutritional levels of the basal experimental diets (as-fed basis)							
干物质/%	消化能/(MJ·kg ⁻¹)	粗蛋白质/%	粗纤维/%	粗脂肪/%	粗灰分/%	钙/%	磷/%
90.00	3.40	24.10	4.50	4.00	7.90	1.62	0.80

表 3 基础日粮的氨基酸含量(风干基础)

Table 3 Content of amino acids in the basal experimental diets (as-fed basis)															%
丙氨酸	缬氨酸	亮氨酸	异亮氨酸	苯丙氨酸	甲硫氨酸	脯氨酸	甘氨酸	苏氨酸	酪氨酸	天冬氨酸	谷氨酸	组氨酸	精氨酸	丝氨酸	
1.39	1.10	1.78	0.83	1.06	0.12	2.85	1.16	0.87	0.59	1.96	3.87	0.49	1.42	1.13	

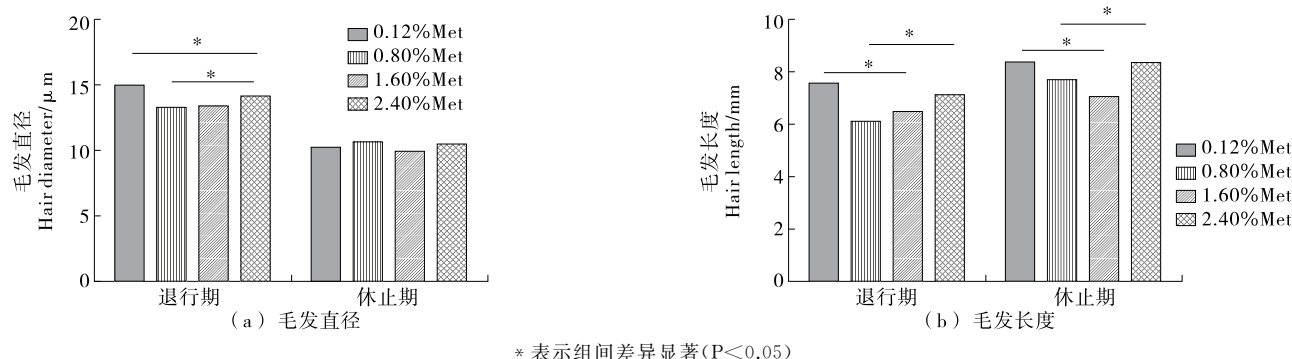


图 1 Met 浓度对小鼠退行期及休止期毛发生长的影响

Figure 1 Effects of methionine concentrations on hair growth in mice

1.60%处理、0.12%处理与2.40%处理的毛发长度差异不显著 ($P > 0.05$);休止期,0.80%,1.60%2种处理的毛发长度显著低于0.12%和2.40%处理的 ($P < 0.05$),且1.60%处理的显著低于0.80%处理的 ($P < 0.05$),但0.12%处理与2.40%处理的毛发长度差异不显著 ($P > 0.05$)。Zhang等^[12]在蛋白质含量为24%日粮中添加0.74%Met,显著提高貂的毛发长度与直径 ($P < 0.05$),与本研究结果恰好相反,此种现象差异可能是日粮中蛋白质水平、各种氨基酸含量、平衡状态的差异或者三者共同作用的结果。另外,高浓度日粮Met可能增加机体整体甲基化程度,从而改变毛发生长密切相关的基因表达模式,最终抑制毛发生长^[12]。

2.3 日粮 Met 浓度对小鼠脏器指数的影响

研究表明,Met浓度对机体肝脏代谢和健康具有重要影响^[13]。由图2(a)可知,日粮Met浓度对小鼠毛发退行期心指数、肝指数和胸腺指数无显著影响 ($P > 0.05$),但对其他脏器指数有不同程度的影响。0.12%,0.80%,2.40%3种处理的肝指数差异不显著 ($P > 0.05$),但1.60%处理的肝指数有增加趋势 ($P = 0.052$);0.80%,1.60%,2.40%3种处理的脾指数显著高于0.12%处理的 ($P < 0.05$),但前三者差异不显著 ($P > 0.05$);0.80%,1.60%2种处理的肺指数显著高于0.12%和2.40%处理的 ($P < 0.05$),但0.80%处理与1.60%处理、0.12%处理与2.40%处理的差异均不显著 ($P > 0.05$);0.80%,1.60%,2.40%3种处理的肾指数显著高于0.12%处理的 ($P < 0.05$),但前三者差异亦不显著 ($P > 0.05$);各处理

组心指数、胸腺指数差异不显著 ($P > 0.05$)。

由图2(b)可知,日粮Met浓度对小鼠毛发休止期心指数、脾指数无显著影响 ($P > 0.05$),但对其他脏器指数有不同程度影响。0.80%,1.60%,2.40%3种处理的肝指数显著低于0.12%处理的 ($P < 0.05$),但前三者之间差异不显著 ($P > 0.05$); Sanchez-Roman等^[14]对老年大鼠进行日粮Met限制,发现肝脏线粒体活性氧的产生减少,逆转了机体衰老状况。Eriksson等^[15]发现日粮Met对维持小鼠肝脏细胞质还原状态是必须的。本研究发现,休止期高浓度(0.80%和1.60%)Met显著降低肝指数,即肝脏发生萎缩现象,可能是高浓度Met对肝细胞的毒性作用,影响到肝细胞的增殖和凋亡。

由图2(b)可知,1.60%处理的肺指数、肾指数显著高于0.12%,0.80%,2.40%3种处理的 ($P < 0.05$),但后三者之间差异不显著 ($P > 0.05$);1.60%,2.40%2种处理的胸腺指数显著高于0.80%处理的,2.40%处理的胸腺指数显著高于0.12%处理的 ($P < 0.05$),但0.12%处理和1.60%处理的胸腺指数差异不显著 ($P > 0.05$);各处理组心指数、脾指数差异不显著 ($P > 0.05$)。研究^[16-17]表明,过量Met显著降低肾脏的抗氧化能力,增加肾脏活性氧(ROS)的积累。Cooke等^[16]研究显示,Met小鼠肾脏涉及离子转运的基因(*Aqp2*、*Scnn1a*、和*Slc6a19*等)发生上调受到限制,而这些基因参与维持渗透压平衡,另外小鼠肾脏渗透压的改变是肾脏发生萎缩或水肿的重要原因之一。本研究结果显示:高浓度(0.80%

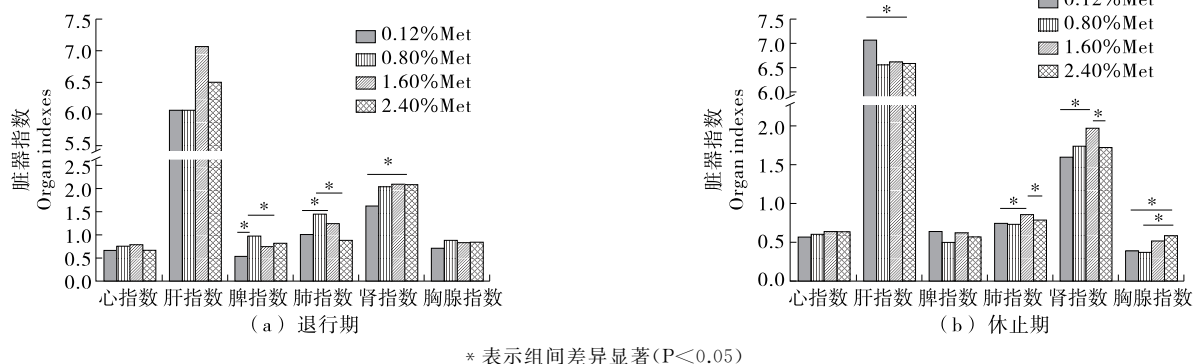


图 2 Met 浓度对小鼠脏器指数的影响

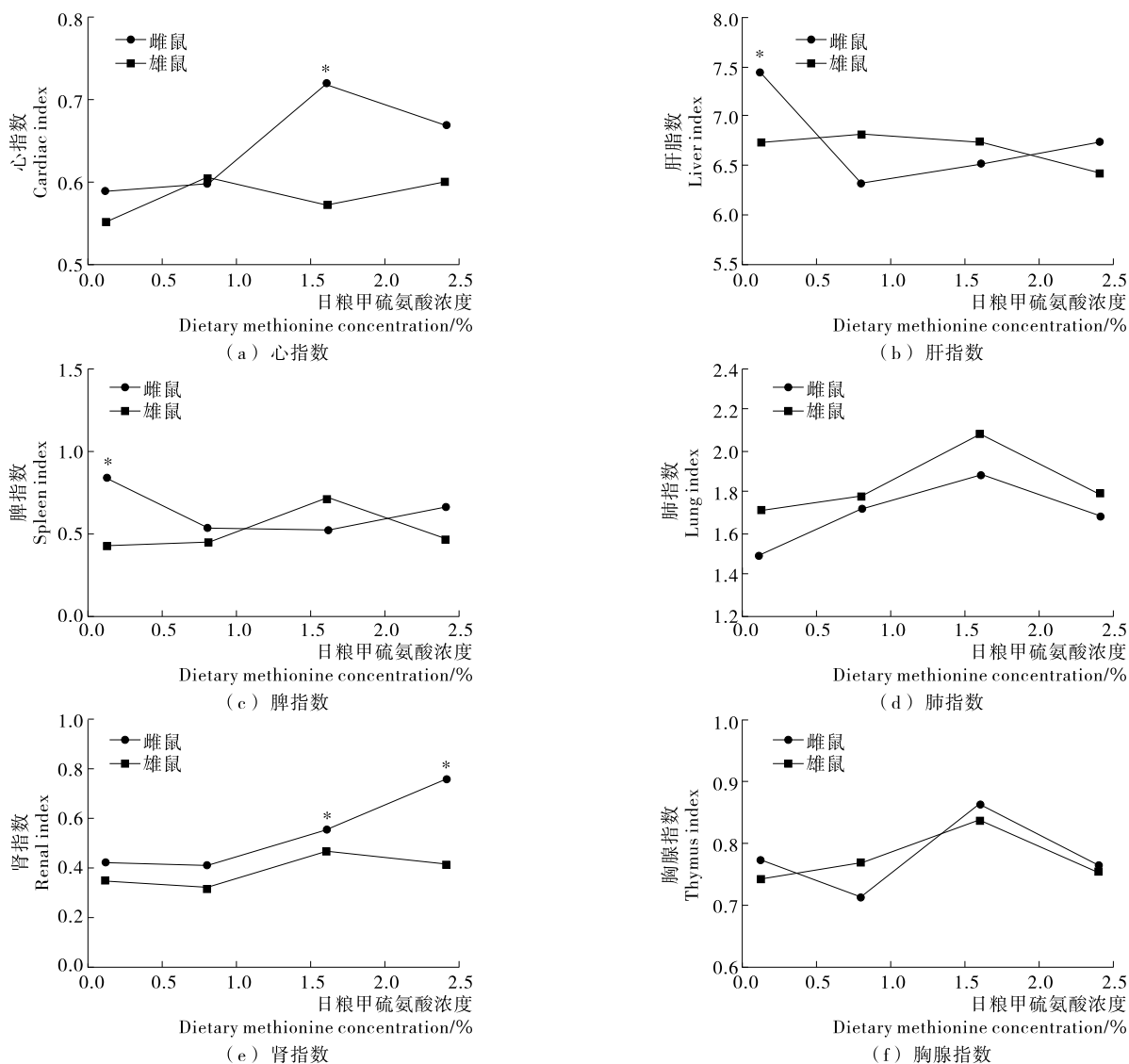
Figure 2 Effects of methionine concentrations on organ indexes of mice

和 1.60%)Met 显著提高肾脏指数,即肾脏发生水肿现象,与 Cooke 等^[16]研究基本相符,可能的机制是高浓度 Met 使维持肝脏渗透压的基因(*Aqp2*,*Scnn1a* 和 *Slc6a19* 等)表达发生变化,从而发生水肿。

2.4 性别对不同日粮 Met 浓度条件下休止期小鼠脏器指数的影响

由图 3 可知,日粮 Met 浓度为 1.60%时,雌鼠心指数显

著高于雄鼠($P<0.05$),其他 Met 浓度条件下差异不显著($P>0.05$);日粮 Met 浓度为 0.12%时,雌鼠肝指数显著高于雄鼠($P<0.05$),其他 Met 浓度条件下差异不显著($P>0.05$);日粮 Met 浓度为 0.12%,2.40%时,雄鼠脾脏指数显著高于雌鼠($P<0.05$),但日粮 Met 浓度为 1.60%时,雌鼠脾脏指数显著高于雄鼠($P<0.05$);雄鼠、雌鼠肺指数在不同硫酸浓度条件下无显著差异,且肺指数具有相同的变化规律,



* 表示组间差异显著($P<0.05$)

图 3 性别对不同浓度 Met 条件下对脏器指数的影响

Figure 3 Effects of sex on the organ index under different concentrations of methionine

即先升高后降低,当 Met 浓度为 1.60%时,达到峰值($P>0.05$);当 Met 浓度为 1.60%,2.40%时,雌鼠肾指数显著高于雄鼠,其他 Met 浓度条件下差异不显著($P>0.05$);在 Met 为 0.12%,0.80%,1.60%,2.40%时,雄、雌鼠胸腺指数无显著差异($P>0.05$)。陈华等^[18]研究表明,性别对 Wistar 大鼠、SD 大鼠的心指数、肾指数和肝指数均无显著性影响,但雄鼠的肺指数显著低于雌鼠($P<0.05$),另外 SD 雄鼠的脾指数显著低于雌鼠($P<0.05$)。与本研究结果不一致,由此推测,Met

浓度与性别可能存在互作关系,从而改变机体脏器指数。

3 结论

本研究通过不同 Met 浓度日粮处理小鼠,发现 0.80% 和 1.60% Met 均显著降低退行期、休止期毛发直径和长度,且显著提高退行期脾指数、肺指数和肾指数,原因可能是 Met 浓度改变了机体整体甲基化状态以及脏器渗透压调节相关的基因表达状态。然而,具体的分子调控机制尚不清楚,有待进一步研究。

参考文献

- [1] FINKELSTEIN J D. Methionine metabolism in mammals[J]. Journal of Nutritional Biochemistry, 1990, 1(5): 228-237.
- [2] ALIM A B, LEGROS L, GELLER A, et al. Expression and functional interaction of the catalytic and regulatory subunits of human methionine adenosyltransferase in mammalian cells[J]. Journal of Biological Chemistry, 1999, 274(42): 29 720-29 725.
- [3] GOLL M G, BESTOR T H. Eukaryotic cytosine methyltransferases[J]. Annual Review of Biochemistry, 2005, 74(74): 481-514.
- [4] MILOVANOVIC P, HRNCIC D, RADOTIC K, et al. Moderate hyperhomocysteinemia induced by short-term dietary methionine overload alters bone microarchitecture and collagen features during growth[J]. Life Sciences, 2017, 191(10): 9-16.
- [5] TANG Shuang, FANG Yi, HUANG Gang, et al. Methionine metabolism is essential for SIRT1-regulated mouse embryonic stem cell maintenance and embryonic development[J]. EMBO Journal, 2017, 36(21): 3 175-3 193.
- [6] LATIMER M N, CLEVELAND B M, BIGA P R. Dietary methionine restriction: Effects on glucose tolerance, lipid content and micro-RNA composition in the muscle of rainbow trout[J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part C, 2017, 36(10): 2 323-2 335.
- [7] DUAN Xiao-yu, LIN Ye, LV He, et al. Methionine induces LAT1 expression in dairy cow mammary gland by activating the mTORC1 signaling pathway[J]. DNA and Cell Biology, 2017, 36(12): 1-8.
- [8] ZHANG Ya-lin, WANG Peng, LIN Seng, et al. mTORC1 signaling-associated protein synthesis in porcine mammary glands was regulated by the local available methionine depending on methionine sources[J]. Amino Acids, 2017(10): 1-11.
- [9] BRUNNER M A T, JAGANNATHAN V, WALUK D P, et al. Novel insights into the pathways regulating the canine hair cycle and their deregulation in alopecia X[J]. Plos One, 2017, 12(10): e0186 469.
- [10] PURBA T S, BRUNKEN L, PEAKE M, et al. Characterisation of cell cycle arrest and terminal differentiation in a maximally proliferative human epithelial tissue: Lessons from the human hair follicle matrix [J]. European Journal of Cell Biology, 2017, 96(6): 632-641.
- [11] PI Long-qun, LEE Woo-soo, MIN Sung-hee. Hot water extract of oriental melon leaf promotes hair growth and prolongs anagen hair cycle: in vivo and in vitro evaluation[J]. Food Science & Biotechnology, 2016, 25(2): 575-580.
- [12] ZHANG Hai-hua, JIANG Qing-kui, SUN Wei-li, et al. Effects of different dietary protein levels and DL-methionine supplementation on hair growth and pelt quality in mink (*Neovision vision*) [J]. Journal of Animal Physiology & Animal Nutrition, 2013, 97(6): 1 036-1 042.
- [13] MIOUSSE I R, PATHAK R, GARG S, et al. Short-term dietary methionine supplementation affects one-carbon metabolism and DNA methylation in the mouse gut and leads to altered microbiome profiles, barrier function, gene expression and histomorphology[J]. Genes & Nutrition, 2017, 12(1): 22.
- [14] SANCHEZ-ROMAN I, GÓMEZ A, PÉREZ I, et al. Effects of aging and methionine restriction applied at old age on ROS generation and oxidative damage in rat liver mitochondria [J]. Biogerontology, 2012, 13(4): 399-411.
- [15] ERIKSSON S, PRIGGE J R, TALAGO E A, et al. Dietary methionine can sustain cytosolic redox homeostasis in the mouse liver[J]. Nature Communications, 2015(6): 6 479.
- [16] COOKE D, OUATTARA A, ABLES G P. Dietary methionine restriction modulates renal response and attenuates kidney injury in mice [J]. FASEB Journal, 2017, DOI: 10.1096/fj.201700419R.
- [17] SOARES M S P, OLIVEIRA P S, DEBOM G N, et al. Chronic administration of methionine and/or methionine sulfoxide alters oxidative stress parameters and ALA-D activity in liver and kidney of young rats[J]. Amino Acids, 2017, 49(1): 129-138.
- [18] 陈华, 李春海, 贺苏兰, 等. 性别因素对大鼠部分血液学、血液生化指标和脏器系数的影响[J]. 实验动物科学, 1996(1): 21-23.
- [14] 屠康, 马龙, 潘秀娟. 敲击振动无损检测 3 种梨果实品质参数的研究[J]. 安徽农业大学学报, 2005(1): 50-53.
- [15] 王书茂, 焦群英, 籍俊杰. 西瓜成熟度无损检验的冲击振动方法[J]. 农业工程学报, 1999, 15(3): 241-245.
- [16] 危艳君, 饶秀勤, 漆兵. 基于声学特性的西瓜糖度检测系统[J]. 农业工程报, 2012, 28(3): 283-287.
- [17] 汪迪松, 浦宏杰, 李臻峰, 等. 基于声振法的西瓜内部糖度检测研究[J]. 上海农业报, 2017, 33(2): 125-130.
- [18] 赵洪卫, 韩东海, 宋曙辉, 等. 小型西瓜果实成熟度表征因子筛选[J]. 农业工程学报, 2012, 28(17): 281-286.
- [19] 任毅. 西瓜果实含糖量 QTL 定位及糖转运蛋白基因功能初析[D]. 北京: 中国农业科学院, 2016: 6.
- [20] 孙菊华, 陈春雷, 陈建才. 甜瓜品比试验简报[J]. 上海农业科技, 2011(1): 50-51.
- [21] 朱迎春, 刘君璞, 邓云, 等. 河南地区中、小果型西瓜品种比较试验[J]. 中国瓜菜, 2016, 29(12): 51-54.

(上接第 145 页)

- [8] TANIWAKI M, TAKAHASHI M, SAKURAI N. Determination of optimum ripeness for edibility of postharvest melons using nondestructive vibration[J]. Food Research International, 2009, 42(1): 137-141.
- [9] 方汉良, 任志英, 郑志强, 等. 西瓜成熟度测试仪设计研究[J]. 赤峰学院学报: 自然科学版, 2015, 31(12): 53-54.
- [10] 浦宏杰, 汪迪松, 李臻峰. 基于振动频谱子带质心的西瓜内部品质检测[J]. 农业机械学报, 2017, 48(1): 281-288.
- [11] 陆勇, 李臻峰, 浦宏杰, 等. 基于声振法的西瓜贮藏时间检测[J]. 浙江农业学报, 2016, 28(4): 682-687.
- [12] 高宗梅, 张文, 任梦佳, 等. 西瓜品质 LDV 测振响应影响因素分析[J]. 农业机械学报, 2015, 46(S1): 134-140.
- [13] 魏巍. 西瓜振动特性及振动对其品质影响研究[D]. 呼和浩特市: 内蒙古农业大学, 2015: 24-32.