

论著·基础研究

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2023.24.003

慢性宫内缺氧对新生仔鼠胰腺 NDUF6 基因
启动子区域甲基化的影响^{*}黄 煌,吕国荣,林迺苍[△],许相洋,曾世涌,程 晶
(泉州医学高等专科学校基础医学部,福建泉州 362011)

[摘要] **目的** 研究慢性宫内缺氧(CIH)新生仔鼠胰腺 NDUF6 基因表达及其表观遗传的改变,并探讨其机制。**方法** 12 只妊娠 SD 大鼠分为健康组和缺氧组,建立 CIH 模型,2 组分娩后 2 周仔鼠做空腹血糖(FBG)、空腹血糖胰岛素(FINS)检测;仔鼠麻醉处死,取胰腺,采用免疫组织化学、蛋白免疫印迹(Western blot)检测胰腺组织 NDUF6 蛋白的表达情况;实时荧光定量 PCR(qPCR)检测 2 组仔鼠胰腺组织上 NDUF6 mRNA 表达情况;亚硫酸氢盐修饰后测序(BSP)实验检测 2 组仔鼠胰腺组织 NDUF6 基因启动子区域位点甲基化修饰情况。**结果** 与健康组仔鼠比较,缺氧组仔鼠表现糖耐量异常与胰岛素抵抗现象,仔鼠胰腺组织 NDUF6 mRNA、NDUF6 蛋白表达水平降低($P<0.05$),仔鼠胰腺组织 NDUF6 基因启动子 CpG 岛甲基化水平增高($P<0.01$)。**结论** CIH 可致缺氧孕鼠仔鼠胰腺 NDUF6 基因发生表观遗传改变,参与 CIH 后仔鼠胰岛素抵抗的发生、发展过程。

[关键词] 慢性缺氧;大鼠;胰腺;NDUF6;胰岛素抵抗**[中图法分类号]** R714.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2023)24-3693-06Effect of chronic intrauterine hypoxia on methylation of NDUF6 gene
promoter region in neonatal rat pancreas^{*}HUANG Huang,LYU Guorong,LIN Jingcang[△],XU Xiangyang,ZENG Shiyong,CHENG Jing
(Department of Basic Medicine,Quanzhou Medical College,Quanzhou,Fujian 362011,China)

[Abstract] **Objective** To study the expression and epigenetic changes of NDUF6 gene in the pancreas of neonatal mice with chronic intrauterine hypoxia (CIH),and explore its mechanism. **Methods** A total of 12 pregnant SD rats were divided into the healthy group and the hypoxia group. The CIH model was established. Fasting blood glucose (FBG) and fasting insulin (FINS) were measured in the two groups two weeks after delivery. The rats were sacrificed by anesthesia,and the pancreas was taken. The expression of NDUF6 protein in pancreatic tissue was detected by immunohistochemistry and Western blot. Real-time fluorescent quantitative PCR (qPCR) was used to detect the expression of NDUF6 mRNA in pancreatic tissue of offspring rats in the two groups. Bisulfite sequencing after modification (BSP) was used to detect the methylation modification of NDUF6 gene promoter region in the pancreatic tissue of the two groups. **Results** Compared with the healthy group,the offspring rats in the hypoxia group showed abnormal glucose tolerance and insulin resistance,the expression levels of NDUF6 mRNA and NDUF6 protein in pancreatic tissue were decreased ($P<0.05$),and the methylation level of CpG island initiated by NDUF6 gene in the pancreas of the offspring rats was increased ($P<0.01$). **Conclusion** CIH can induce epigenetic changes of NDUF6 gene in the pancreas of offspring rats in hypoxia group,which is involved in the development of insulin resistance in offspring rats after CIH.

[Key words] chronic hypoxia;rat;pancreas;NDUF6;insulin resistance

流行病学调查和相关研究显示,慢性宫内缺氧 (chronic intermittent hypoxia,CIH) 和多种成年期慢

^{*} 基金项目:福建省泉州市科技计划项目(2021N141S,2021N33S)。 作者简介:黄煌(1983—),副教授,硕士,主要从事围生期发育研究。[△] 通信作者,E-mail:1990003@qzmc.edu.cn。

性疾病易感性密切相关,比如代谢性疾病、心血管疾病、早产儿死亡等^[1-2]。近年来课题组一系列研究成果表明,CIH 和仔鼠胰岛素抵抗发生具有相关性^[3-6]。2 型糖尿病(T2DM)是因环境因素和遗传因素相作用而发生的多基因遗传疾病,胰岛素分泌不足和胰岛素抵抗是导致 T2DM 的 2 个环节。近年来细胞线粒体的功能缺陷或形态改变在 T2DM 发病过程中的作用被逐渐重视^[7-9]。线粒体功能缺陷与胰岛素信号转导障碍可能有关,线粒体的基因缺陷可以导致脂质在骨骼肌积聚,影响骨骼肌的糖代谢;有报道称 NDUFB6 基因在线粒体呼吸链电子传递过程中起作用,NDUFB6 基因多态性可以通过运动改善胰岛素的敏感性及其与腺嘌呤核苷三磷酸(ATP)合成酶的关系^[10]。对此,本实验旨在探究在 CHI 条件下,仔鼠胰腺 NDUFB6 基因的改变及其与胰岛素抵抗的关系。

1 材料与方法

1.1 实验材料

孕龄 7 d SD 大鼠 24 只[上海斯莱克公司 SCXK(沪)2017-0005],体质量 165~185 g;免疫组织化学试剂、蛋白免疫印迹(Western blot)实验试剂盒、亚硫酸氢盐修饰后测序(BSP)实验试剂盒、实时荧光定量 PCR(qPCR)试剂等购自福州鼎鑫泰斯特科技有限公司;NDUFB6 一抗、荧光标记二抗 IgG 购自美国 Abcam 公司;戊巴比妥钠由泉州医药高等专科学校附属医院制剂室保存备用;空腹血糖胰岛素(FINS)酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒购自上海瑞番生物科技有限公司;血糖仪购自美国 Johnson 公司。DNA 提取试剂盒、PGH 载体购自上海捷瑞生物工程有限公司。

1.2 CIH 模型制备及分组

孕龄 7 d SD 大鼠分成健康组和缺氧组,每组 12 只,参照前期研究方法^[3-6,11-14]建立 CIH 模型。在泉州医学高等专科学校 SPF 动物实验室完成动物实验[SYXK(闽)2023-0012],缺氧组孕鼠放置在自制的缺氧箱内,每天 8 h,氧浓度为(10.0±0.5)%,以上过程重复至分娩前 1 d,停止缺氧后孕鼠分笼喂养。首次缺氧 1 h 后孕鼠行动脉血气分析,判断妊娠期 CIH 模型造模是否成功。成功分娩后的第 2 周,2 组仔鼠鼠尾采血,分别检测空腹血糖(FBG)、FINS;麻醉处死仔鼠,取胰腺组织,分别做免疫组织化学检查、Western blot、qPCR、BSP 等实验。所有操作均符合泉州医学高等专科学校动物实验伦理学要求(审批号 QZM-CAE 20220701)。

1.3 仔鼠 FBG、FINS 检测

采用 ELISA 法测定 FINS,血糖仪检测 FBG;稳态模式评估胰岛素抵抗能力:胰岛素抵抗(HOMA-

IR)=(FBG×FINS)/22.5。

1.4 免疫组织化学(二抗标记单荧光)检测 NDUFB6 蛋白的表达

仔鼠胰腺组织块固定和包埋、切片(厚度 5 μm)、脱蜡入水;3%甲醇-过氧化氢室温孵育 20 min,自来水清洗,微波加热修复抗原,磷酸盐缓冲液(PBS)清洗,划蜡;滴加正常山羊血清封闭液,室温孵育 20 min,滴加 NDUFB6 一抗,4℃孵育过夜,次日 PBS 清洗;滴加荧光标记二抗 IgG,37℃避光孵育 20 min,PBS 清洗,晾干,中性树脂封片;400×的荧光显微镜照相,分析图像。

1.5 Western blot 检测 NDUFB6 蛋白的表达

试剂配制、提取总蛋白(将标本组织块剪碎,加入裂解液,玻璃匀浆器匀浆,充分裂解,离心后取上清液)、BCA 测定蛋白浓度、制备十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)胶、蛋白样品变性、电泳,转膜,封闭,加入 NDUFB6 一抗,4℃孵育过夜。磷酸盐缓冲液-吐温(PBST)漂洗,5 min×3 次。加入二抗溶液,室温条件下孵育 1 h。再次 PBST 漂洗,5 min×3 次。用 Odyssey 凝胶成像仪检测蛋白显色,蛋白条带定量。

1.6 qPCR 检测 NDUFB6 mRNA 的表达

TRIzol 法提取 2 组仔鼠胰组织总 RNA,用 TIANScript RT 试剂盒逆转录为 cDNA,反应体系混匀,反应条件 25℃温浴 10 min,42℃温浴 50 min,95℃加热 5 min。用 RNase-free ddH₂O 将反应体系稀释至 50 μL,-20℃保存。依据 Genebank 数据库(Primer 5.0)设计以下引物序列:NDUFB6 基因正、反向引物序列分别为 5'-CTA GAC TGG CAA GAG GCC GA-3'和 5'-CAA TCC TTG ACA CAT CCT GG-3';内参 GAPDH 正、反向引物序列分别为 5'-CAG GGC TGC CTT CTC TTG TG-3'和 5'-TCT CGC TCC TGG AAG ATG GT-3'。qPCR 的反应依据说明书操作,反应程序:95℃,15 min;95℃ 10 s,58℃ 30 s,72℃ 30 s,循环 40 次。采用 2^{-ΔΔCT} 计算 NDUFB6 mRNA 的表达水平。

1.7 CpG 岛甲基化分析

1.7.1 CpG 岛预测

依据美国国家生物信息技术中心(NCBI)记录 NC_005104.4,NDUFB6 基因只有 1 个转录本,对第一外显子不在同一区域的转录本的启动子区预测,该转录本第一外显子及第一外显子上游附近形成 2 个 CpG 岛。

1.7.2 BSP 实验

使用 DNA 提取试剂盒提取胰腺组织基因组

DNA 并检测,取基因组 DNA 进行亚硫酸氢盐转化并回收。引物的设计:Ndufb6-岛 1 正向引物为 5'-ATG GAC CTA ACA GAA TGG AGT TGA-3',反向引物为 5'-TGC TTC TTT GAA GAA AAT TTC TCC ATA AG-3'。Ndufb6-岛 2 正向引物为 5'-CCA GAG GCT GGG CTG CTG TGA CGC CAT C-3',反向引物为 5'-GCC CCC GCG CAG GAT GTG GCC CCT GGA G-3'。对照样品是从构建的质粒中用酶切回收得到的目的片段,对照样品正向引物为 5'-AGG GAG GTG AAG TAG TGG TG-3',反向引物为 5'-GGA GGA GAA GAG TGG AGG AGT-3'。PCR 扩增、克隆与测序:将目标片段割胶(上海捷瑞生物工程有限公司,GK2043)纯化,连接 PGH 克隆载体,按照试剂盒中的产品说明书操作。采用 XL10-Gold 感受态转化、复苏和涂板。酶切法鉴定阳性菌落,挑取质粒送测序。

1.8 统计学处理

采用 SPSS17.0 软件进行数据分析,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 动脉血气分析结果

缺氧组孕鼠首次缺氧 1 h 后进行动脉血气分析,

结果发现,缺氧组孕鼠 SaO_2 、 PaO_2 较健康组明显下降($P<0.001$),缺氧组孕鼠母体受缺氧应激出现低氧血症,但无 CO_2 潴留、无明显酸中毒,表明妊娠期 CIH 模型造模成功,见表 1。

2.2 仔鼠血液指标检测结果

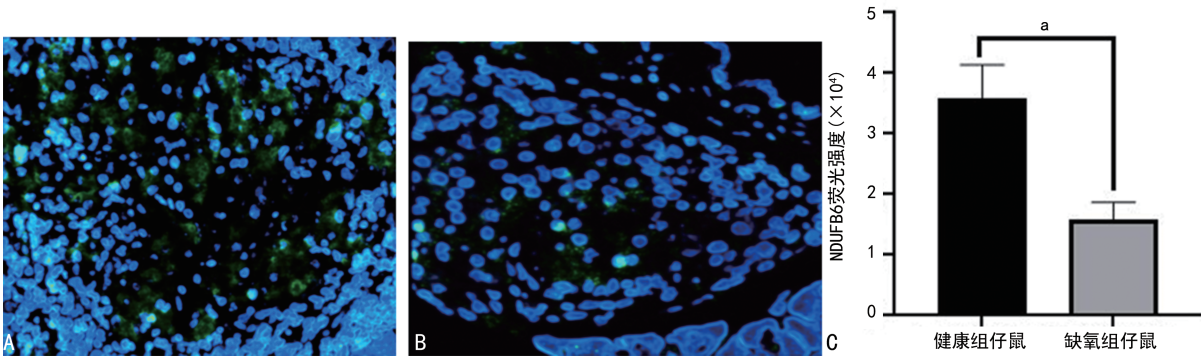
分娩后第 2 周,缺氧组仔鼠 FINS、FBG、HOMA-IR 均高于健康组仔鼠,差异有统计学意义($P<0.05$),缺氧组仔鼠出现胰岛素抵抗现象,见表 2。

表 1 2 组 SD 孕鼠的动脉血气比较($\bar{x}\pm s,n=12$)

组别	pH	SaO ₂ (%)	PaO ₂ (kPa)	PaCO ₂ (kPa)
健康组	7.4±1.5	90.6±2.6	11.17±2.48	6.18±1.25
缺氧组	7.3±1.7	75.3±3.8	7.51±2.95	5.92±2.27
t	0.138	11.472	3.738	0.215
P	0.866	<0.001	<0.001	0.831

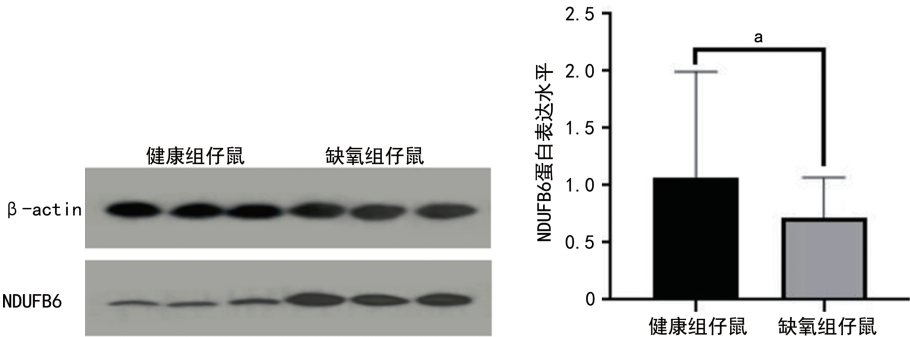
2.3 NDUFB6 蛋白表达水平

免疫组织化学结果显示,缺氧组仔鼠胰腺组织 NDUFB6 蛋白表达水平明显低于健康组仔鼠,差异有统计学意义($P<0.05$),见图 1。Western blot 检测结果显示,健康组仔鼠胰腺组织中的 NDUFB6 蛋白表达水平明显高于缺氧仔鼠组,差异有统计学意义($P<0.05$),见图 2。



A:健康组仔鼠;B:缺氧组仔鼠;C:统计分析图;^a: $P<0.05$ 。

图 1 2 组仔鼠胰腺组织 NDUFB6 蛋白表达比较(免疫组织化学,400×)



A:Western blot;B:统计分析图;^a: $P<0.05$ 。

图 2 Western blot 检测 2 组仔鼠胰腺组织 NDUFB6 蛋白的表达

表 2	2 组仔鼠分娩后第 2 周血液相关指标($\bar{x} \pm s, n=6$)		
组别	FBG(mmol/L)	FINS(mU/L)	HOMA-IR
健康组仔鼠	4.48±0.24	12.13±1.34	2.40±0.74
缺氧组仔鼠	5.72±0.27	12.98±1.88	3.30±0.38
<i>t</i>	-2.013	-2.044	-4.322
<i>P</i>	0.042	0.038	0.001

2.4 NDUFB6 mRNA 表达水平

qPCR 检测结果显示,健康组仔鼠胰腺组织中的 NDUFB6 mRNA 水平明显高于缺氧组仔鼠,差异有统计学意义($P<0.05$),见图 3。

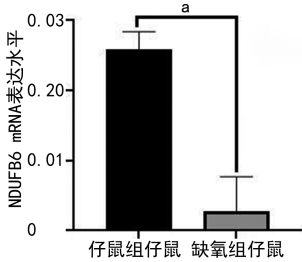


图 3 2 组仔鼠胰腺组织 NDUFB6 mRNA 表达水平

2.5 NDUFB6 基因启动子区域甲基化测序及结果

2.5.1 NDUFB6 基因启动子 CpG 岛 1 区域甲基化分析

用 Diagram 对比图来表示健康组仔鼠与缺氧组

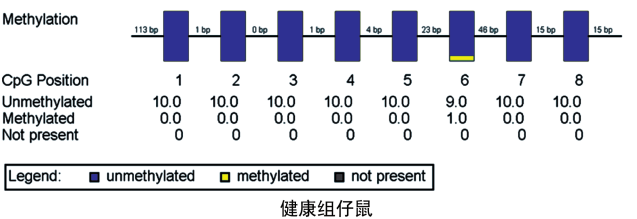


图 4 2 组仔鼠 NDUFB6 基因启动子 CpG 岛 1 区域甲基化 Diagram 对比图

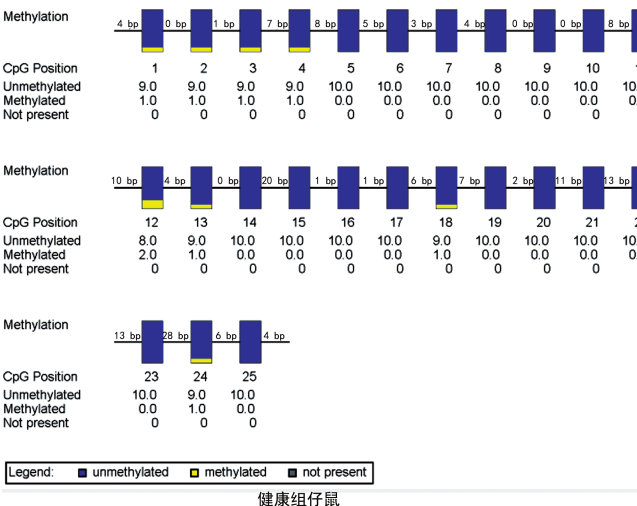


图 5 2 组仔鼠 NDUFB6 基因启动子 CpG 岛 2 区域甲基化 Diagram 对比图

仔鼠 NDUFB6 基因启动子 CpG 岛 1 区域甲基化率。缺氧组仔鼠 NDUFB6 基因 CpG 岛 1 的甲基化率和健康组仔鼠比较差异无统计学意义($\chi^2=0.042, P=0.967$),见表 3、图 4。

表 3	2 组仔鼠胰腺中 NDUFB6 基因启动子 CpG 岛 1 区域甲基化率($\bar{x} \pm s, \%, n=6$)	
组别	甲基化	未甲基化
健康组仔鼠	2.75±0.74	92.75±1.35
缺氧组仔鼠	4.35±2.88	93.85±2.85

2.5.2 NDUFB6 基因启动子 CpG 岛 2 区域甲基化分析

用 Diagram 对比图来表示健康组仔鼠与缺氧组仔鼠样本 NDUFB6 基因启动子 CpG 岛 2 区域甲基化率。缺氧组仔鼠 NDUFB6 基因 CpG 岛 2 的甲基化率高于健康组仔鼠,差异有统计学意义($\chi^2=7.349, P<0.001$),见表 4、图 5。

表 4	2 组仔鼠胰腺中 NDUFB6 基因启动子岛 2 区域甲基化率($\bar{x} \pm s, \%, n=6$)	
组别	甲基化	未甲基化
健康组仔鼠	2.65±0.64	92.85±1.151
缺氧组仔鼠	11.15±2.76	84.81±2.82

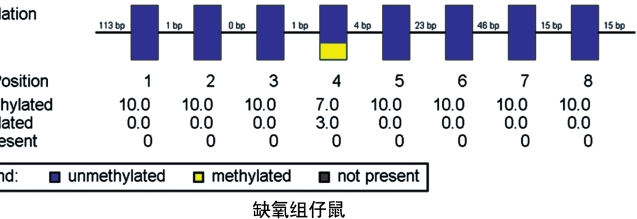


图 5 2 组仔鼠 NDUFB6 基因启动子 CpG 岛 2 区域甲基化 Diagram 对比图

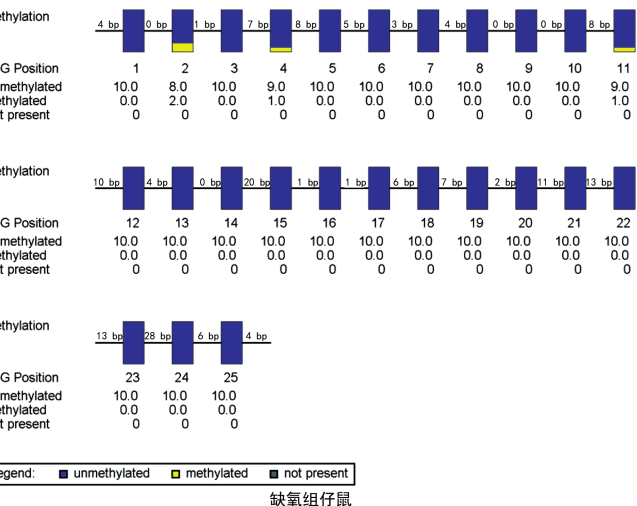


图 5 2 组仔鼠 NDUFB6 基因启动子 CpG 岛 2 区域甲基化 Diagram 对比图

3 讨 论

一些专家学者曾经提出在胚胎发育阶段,不良环境可能使该生物体在成年阶段更易患慢性代谢性疾病。多年来的流行病学的调查研究丰富了这个假说。人类个体的生命周期跨度大,因实验条件、医学伦理、经费等因素制约,临床研究相对比较困难。产前缺氧是临床实践中胚胎发育阶段最重要的、最常见的刺激,很多孕期不良症状及产后婴儿病理状况与宫内缺氧关系密切,如哮喘、吸烟、母体贫血、先兆子痫、胎盘功能不全等^[14-15]。目前一些专家使用 CIH 等模型^[16-17]进行相关的动物实验研究。

本研究提出母体 CIH 与生物体成年疾病相关的假说并进行相关研究,取得一些成果^[18-20]。根据课题组成熟的动物模型^[3-6,11-12],缺氧组采用的氧浓度为 $(10.0 \pm 0.5)\%$,模拟临床中的胎儿缺氧状况,孕鼠未出现 CO_2 潴留、酸中毒现象,仅有低氧血症,仅受缺氧因素影响,说明造模成功。本研究发现缺氧组仔鼠 FINS、FBG、HOMA-IR 均高于健康组仔鼠,差异有统计学意义($P < 0.05$),说明缺氧组仔鼠出现胰岛素抵抗现象。

糖尿病具有明显遗传倾向、以血糖升高为特征,但是占糖尿病人群 90% 的 T2DM 发病的分子机制仍未明确。许多人把 T2DM 易感基因定位在不同染色体区域,认为其是高度复杂异质性的多基因疾病^[21-22]。有研究表明中国华东地区的汉族人群患 T2DM 的易感基因定位于 9 号染色体短臂和 D9S171 连锁的 9p21 区域^[23],其选择的基因 NDUFB6 位于该基因的连锁区域,基因表达的蛋白为线粒体还原型辅酶 I (NADH) 脱氢酶家族中的一员,蛋白、糖和脂肪的生物氧化过程都与之有关。

有研究报道,随着年龄增长,NDUFB6 基因在人体骨骼肌中的表达呈下降趋势;NDUFB6 基因启动子区的单核苷酸多态(rs629566, A/G)可促使甲基化状态改变,该基因在骨骼肌中的表达下降^[24]。有研究提示,短期的运动刺激能显著改善个体胰岛素敏感性,NDUFB6 基因参与调节了这种适应^[25-27],这一发现表明 NDUFB6 基因参与了线粒体功能,有助于 ATP 合成,表明应重视 T2DM 中线粒体中 NDUFB6 基因的作用。

本研究免疫组织化学和 Western blot 检测结果均提示缺氧组仔鼠胰腺组织 NDUFB6 蛋白表达水平明显低于健康组仔鼠($P < 0.05$);qPCR 检测结果提示健康组仔鼠胰腺组织 NDUFB6 mRNA 水平明显高于缺氧组仔鼠($P < 0.05$)。依据 NCBI 记录,NDUFB6 基因只有 1 个转录本,对 NDUFB6 基因第一外显子不在同一区域的转录本的启动子区预测,该

转录本第一外显子及第一外显子上游附近形成 2 个 CpG 岛;用 BSP 检测胰腺 NDUFB6 基因启动子区域位点甲基化修饰情况,结果表明缺氧组仔鼠 NDUFB6 基因 CpG 岛 1 区域的甲基化率和健康组仔鼠无明显差异($P > 0.05$),但缺氧组仔鼠 NDUFB6 基因 CpG 岛 2 的甲基化率高于健康组仔鼠($P < 0.05$)。推测 CIH 时仔鼠胰腺线粒体基因 NDUFB6 甲基化率升高,导致 NDUFB6 mRNA 和蛋白表达水平下降,缺氧组仔鼠出现胰岛素抵抗现象。综上所述,CIH 可致缺氧组仔鼠胰腺 NDUFB6 基因表观遗传机制改变,可能参与 CHI 区域后仔鼠胰岛素抵抗的发生、发展过程。

参考文献

- [1] BANNOW L I, BONATERRA G A, BERTONE M, et al. Effect of chronic intermittent hypoxia (CIH) on neuromuscular junctions and mitochondria in slow-and fast-twitch skeletal muscles of mice-the role of iNOS[J]. *Skeletal Muscle*, 2022, 12(1):6.
- [2] COELHO-SANTOS V, CRUZ AN, SHIH A Y. Does perinatal intermittent hypoxia affect cerebrovascular network development? [J/OL]. *Dev Neurosci*, 2023. [2023-04-01]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37231864/>.
- [3] CHEN Y, WANG Z, LV G, et al. Intermittent maternal hypoxia has an influence on regional expression of endothelial nitric oxide synthase in fetal arteries of rabbits[J]. *Pediatric Res, Arch*, 2013, 73: H706-712.
- [4] 王振华, 黄子扬, 吕国荣, 等. 宫内慢性缺氧对子代大鼠血压的影响[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2010, 18(8): 617-620.
- [5] 黄煌, 林迺苍, 吕国荣, 等. 慢性间断性缺氧对雄仔鼠肝胰岛素样生长因子-1 基因组蛋白修饰的作用[J]. *解剖学杂志*, 2021, 44(1): 7-12.
- [6] 黄煌, 林迺苍, 吕国荣, 等. 子宫内慢性缺氧对子代大鼠胰腺 Pdx-1 基因表观遗传机制改变的研究[J/CD]. *中华妇幼临床医学杂志(电子版)*, 2016, 12(6): 672-679.
- [7] PINTI M V, FINK G K, HATHAWAY Q A, et al. Mitochondrial dysfunction in type 2 diabetes mellitus: an organ-based analysis [J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2019, 316(2): E268-285.

- [8] SHAN Z, FA W H, TIAN C R, et al. Mitophagy and mitochondrial dynamics in type 2 diabetes mellitus treatment [J]. *Aging (Albany NY)*, 2022, 14(6): 2902-2919.
- [9] YARIBEYGI H, FARROKHI F R, BUTLER A E, et al. Insulin resistance: review of the underlying molecular mechanisms [J]. *J Cell Physiol*, 234(6): 8152-8161.
- [10] KACEROVQKY-BIELESZ G, KACEROVSKY M, CHMELIK M, et al. A single nucleotide polymorphism associates with the response of muscle ATP synthesis to long-term exercise training in relatives of type 2 diabetic humans [J]. *Diabetes Care*, 2012, 35(2): 350-357.
- [11] SU Y M, LV G R, XIE J X, et al. Maternal hypoxia increases the susceptibility of adult rat male offspring to high-fat diet-induced nonalcoholic fatty liver disease [J]. *Endocrinology*, 2013, 154(11): 4377-4387.
- [12] 黄煌, 许险艳, 许相洋, 等. CIH 对仔鼠胰腺基因芯片测序及相关生物信息学的影响研究 [J]. *重庆医学*, 2021, 6: 1033-1038.
- [13] WANG Y, HAI B, NIU X, et al. Chronic intermittent hypoxia disturbs insulin secretion and causes pancreatic injury via the MAPK signaling pathway. [J]. *Biochem Cell Biol*, 2017, 95(3): 415-420.
- [14] LAWRENCE K M, MCGOVERN P E, MEJ-ADDAM A, et al. Chronic intrauterine hypoxia alters neurodevelopment in fetal sheep [J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2019, 157(5): 1982-1991.
- [15] 陈幼芳, 吕国荣, 王振华, 等. 产前缺氧对兔成年期颈动脉转化生长因子表达及血管形态学的影响 [J]. *中华高血压杂志*, 2013, 21(5): 459-463.
- [16] 唐清. 新生儿缺氧缺血性脑病发病的相关因素研究 [J]. *黑龙江医学*, 2018, 42(1): 19-20, 23.
- [17] ROMANOWICZ J, GUERRELLI D, DHARI Z, et al. Chronic perinatal hypoxia delays cardiac maturation in a mouse model for cyanotic congenital heart disease [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2021, 320(5): H1873-1886.
- [18] 林迺苍, 黄煌, 吕国荣, 等. 宫内慢性缺氧对子代大鼠 Cx26 表达及内耳发育改变的究 [J/CD]. *中华妇幼临床医学杂志(电子版)*, 2015, 6(3): 34-36.
- [19] 林迺苍, 黄煌, 吕国荣, 等. 宫内慢性缺氧对子代大鼠 Cx26 表达及内耳发育改变的研究 [J/CD]. *中华妇幼临床医学杂志(电子版)*, 2015, 11(5): 634-639.
- [20] SU Y M, LV G R, XIE J X, et al. Maternal hypoxia increases the susceptibility of adult rat male offspring to high-fat diet-induced nonalcoholic fatty liver disease [J]. *Endocrinology*, 2013, 154(11): 4377-4387.
- [21] CHEN Y, WANG Z, LV G, et al. Intermittent maternal hypoxia has an influence on regional expression of endothelial nitric oxide synthase in fetal arteries of rabbits [J]. *Pediatric Res Arch*, 2013, 73(6): H706-712.
- [22] JESSICA SHE A, VINNEETA A, ANTHONY A P, et al. Comparing strategies to fine-map the association of common SNPs at chromosome 9p21 with type 2 diabetes and myocardial infarction [J]. *Nat Genet*, 2011, 43(8): 801-805.
- [23] HASSTEDL S J, CHU W S, DAS S K, et al. Type 2 diabetes susceptibility genes on chromosome 1q21-24 [J]. *Ann Hum Genet*, 2008, 72(2): 163-169.
- [24] MERDLERI, ARBEL Y. Type II diabetes mellitus and endothelial dysfunction: what can we do? [J]. *Isr Med Assoc J*, 2021, 23(2): 121-122.
- [25] LING C, POULSEN P, SIMONSSON S. et al. Genetic and epigenetic factors are associated with expression of respiratory chain component NDUF6 in human skeletal muscle [J]. *J Clin Invest*, 2007, 117(11): 3427-3435.
- [26] ZHAO X, BIE L Y, PANG D R, et al. The role of autophagy in the treatment of type II diabetes and its complications: a review [J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2023, 14: 1228045.
- [27] DOMINIK P, TOMAS J, OANA-PATRICIAZ, et al. NDUF6 polymorphism is associated with physical activity-mediated metabolic changes in type 2 diabetes [J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2021, 12: 693683.

(收稿日期: 2023-04-18 修回日期: 2023-09-22)

(编辑: 姚雪)