

## 营养基因组学在临床营养中的应用

何桂珍<sup>#</sup>, 崔晓雨, 董良广

(中国医学科学院 中国协和医科大学 北京协和医院肠外肠内营养科, 北京 100730)

**摘要:** 过去的 10 余年, 营养学的研究经历了从流行病学和生理学向分子生物学的转变。随着研究技术的进步, 基因组学、转录组学、蛋白质组学、代谢组学及系统生物学研究技术和策略在临床营养领域逐渐得到应用。本文主要综述营养物对基因表达的影响, 现代分子生物学技术在临床营养研究中的应用、进展及面临的挑战。

**关键词:** 营养基因组学; 分子生物学技术; 临床营养

**中图分类号:** R151.4 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-503X(2006)06-0853-05

## Application of Nutrigenomics in Clinical Nutrition

HE Gui-zhen<sup>#</sup>, CUI Xiao-yu, DONG Liang-guang

(Department of Parenteral and Enteral Nutrition, PUMC Hospital, CAMS and PUMC, Beijing 100730, China)

**ABSTRACT:** In the past decade, the focus of nutritional study shifted from epidemiology and physiology to molecular biology. Advanced research strategies and technologies including genomics, transcriptomics, proteomics, metabolomics, and system biology have been gradually applied in clinical nutrition. This article reviews the effects of nutrients on gene expressions, application of modern molecular biology in clinical nutrition, as well as the advances and challenges in recent years.

**Key words:** nutrigenomics; molecular biological technology; clinical nutrition

*Acta Acad Med Sin*, 2006, 28(6): 853-857

临床营养是一门营养学和临床相结合的学科, 包括与营养摄入、消化吸收功能和营养物质代谢紊乱相关的疾病, 通过改变营养物质的含量和成分、采用一定的药物/营养物干预, 以及给予一些新型的营养物质治疗这些营养相关疾病<sup>[1]</sup>。

过去的 10 余年中, 营养的研究经历了从流行病学和生理学的研究向分子生物学和基因组学的转变。营养基因组学 (nutrigenomics) 是在营养研究中采用高通量的组学技术, 对进一步认识营养物如何调节代谢途径及内环境的稳态、饮食相关疾病早期的内环境紊乱的发生机制、个体基因型的易感性在多大程度上决定疾病的发生等, 最终营养基因组学将制定有效的饮食营养干预恢复内环境的稳态并预防饮食相关疾病的发生<sup>[2]</sup>。

### 营养物对基因表达的调节作用

同一种基因在不同的营养条件下可有不同程度的表达, 使个体出现不同的表现型。在基因表达中, 这种可塑性的优点使机体或器官适应一些极端的外界条件。但是当这些极端的外界条件持续作用时, 会导致特定基因病理性表达。近几年, 营养学家关注的焦点不再是通过单纯补充营养物观察疾病的发生与转归, 而是应用分子生物学技术从微观角度探索营养物作用机制。

**氨基酸对基因表达的调节** 氨基酸作为一种调节基因表达的营养信号最近才得以研究报道, 细胞可以根据氨基酸浓度的变化, 做出相应的反应: 如

<sup>#</sup> Corresponding author Tel: 010-65296007, E-mail: hgzpumc@163.com

调节基因的转录、mRNA 的稳定性,或是上调/下调 mRNA 的翻译等。对氨基酸影响启动子 CAAT/增强子结合蛋白 (CAAT/enhancer binding proteins, C/EBP) 的同源蛋白 (C/EBP-homologous protein, CHOP) 表达的调节过程研究显示, CHOP 是一种分布广泛的基因所编码的小分子核蛋白,与 C/EBP 家族相关。在人类细胞中,限制亮氨酸会导致 CHOP mRNA 和蛋白质呈剂量依赖性的增加<sup>[3]</sup>。

Varga 等<sup>[4]</sup>证明在细胞中给予高于一般治疗剂量的色氨酸,具有很强的诱导胶原酶基因转录的能力。这种胶原酶 mRNA 的增加是可逆性的,并呈时间及剂量依赖性。Montoya 等<sup>[5]</sup>给予大鼠不含蛋白质的饮食显示可以改变小肠绒毛隐窝的结构和降低碱性磷酸酶及 N-末端氨基转肽酶的活性。Leong 等<sup>[6]</sup>应用 DNA 微阵列技术研究在不同的氨基酸环境下细胞基因表达是否敏感时发现,在缺乏精氨酸的情况下,正常的肝脏及肿瘤细胞分别有 56 和 162 个基因的表达发生改变。Lenaerts 等<sup>[7]</sup>应用营养基因组学技术了解谷氨酰胺对肠上皮细胞有益作用的分子机制,结果显示 14 种蛋白质的表达改变明显与谷氨酰胺的浓度相关,而这些蛋白质的表达在缺乏精氨酸的情况下却没有改变,该项研究表明谷氨酰胺对肠上皮细胞基因表达作用具有特异性。Curi 等<sup>[8]</sup>总结了谷氨酰胺在调节还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸氧化酶催化亚基、骨骼肌肌动蛋白、纤维连接蛋白等基因的表达研究进展,谷氨酰胺通过这种影响基因表达的机制发挥其多种生物学功能的作用。

**碳水化合物对基因表达的调节** 大多数碳水化合物调节基因表达机制的研究采用了葡萄糖。Burdell 等<sup>[9]</sup>分析了实验鼠生理状况时多种糖代谢途径中胰高血糖素受体 (glucagon receptor, GR) 的 mRNA 浓度,证实糖酵解底物葡萄糖、甘露糖、果糖以及糖异生底物甘油和二丙酮醇可增加小鼠肝细胞原代培养基中的 GR mRNA 浓度;而 L-葡萄糖、葡萄糖胺 (一种不能代谢的糖) 或禁食时无这种改变。在体外人工培养的多种细胞中,通过运用各种酶,研究碳水化合物对基因表达的调节作用,如 L-丙酮酸激酶在肝实质细胞及  $\beta$  胰岛细胞中,脂肪合成酶 (乙酰辅酶 A 羧化酶) 在  $\beta$  胰岛细胞及脂肪细胞中,脂肪合成酶在肝实质细胞及脂肪细胞中的作用,在这些实验中,所有的结果均显示较高的葡萄糖浓度使靶酶的基因表达增强,并抑制糖异生途径中的限速酶 (如磷酸烯醇式丙酮酸羧基酶) 的基因表

达<sup>[10]</sup>。

**脂肪酸参与基因表达的调节** 脂肪酸在细胞和人类健康与疾病中的作用与它们调节基因转录的能力密切相关<sup>[11]</sup>。Deckelbaum 等<sup>[12]</sup>系统回顾了  $\omega$ -3 多不饱和脂肪酸在调节基因转录中的作用,包括胆固醇调节结合蛋白依赖性的基因表达,脂质过氧化物增殖体受体及其他的转录因子。脂质过氧化物酶体增殖体激活受体 (peroxisome proliferator-activated receptor, PPAR) 是配体依赖性的转录因子,它与特定的过氧化物酶体增殖体的对应受体结合,作用于被调节基因的增强位点。PPARs 被脂肪酸及脂肪酸复合物活化后产生两种作用,一是由 PPAR  $\alpha$  型和 PPAR $\delta$  型介导的转录调节途径,调节脂肪酸的氧化代谢;一是由 PPAR  $\gamma$  介导的,调节脂肪储存<sup>[13]</sup>。富含  $\omega$ -3 多不饱和脂肪酸的饮食可以减少脂肪组织中 PPAR  $\alpha$  的表达,却不影响 PPAR  $\gamma$  的表达。相反,在胰岛素抵抗大鼠模型主动脉壁中  $\omega$ -3 多不饱和脂肪酸诱导两种受体表达<sup>[14]</sup>。通过给予肥胖妇女低脂高碳水化合物或中等脂肪、碳水化合物的低能量饮食研究显示,在 8 500 种人类基因中,52 个基因的表达明显上调,44 个基因表达下调,其中最显著的改变是多不饱和脂肪酸合成的相关基因的表达下调<sup>[15]</sup>。

**维生素维持 DNA 稳定性和基因表达** 由于多种维生素参与保护 DNA 和维持基因组稳定性,缺乏维生素可能会导致 DNA 损伤和细胞功能障碍,如细胞老化乃至恶性肿瘤发生<sup>[16]</sup>。一项利用 cDNA 探针在人的肿瘤细胞的研究显示,细胞外叶酸浓度对 8 种基因的表达改变<sup>[17]</sup>。

维生素 C 在体内外实验中皆已被证明具有很强的抗氧化作用,可以减少 DNA 的氧化损伤。有报道通过 cDNA 探针方法证明了维生素 C 参与调控基因表达<sup>[18]</sup>。维生素 D 除了具有抗氧化及维护染色体稳定的作用外,因为它可以调节一些在肿瘤发生过程中有重要作用基因的表达 (如 bcl-2, 原癌基因 c-fos 和 c-myc), 所以被认为是一种抑癌物质。给予心脏移植的大鼠动物模型维生素 E, 对 39 种编码应激标志物、促炎因子、细胞因子、凋亡途径及结构蛋白等相关基因表达改变研究显示,编码清除活性氧酶类 (如超氧化物歧化酶)、粘附分子、应激标志物 (如心钠素) 的基因表达明显下调,而编码心肌和骨骼肌肌动蛋白的基因表达增加<sup>[19]</sup>。除了抗氧化作用,维生素 E 还通过调控特定基因的表达参与调节

细胞功能。如在人乳腺肿瘤细胞中，它们对于原癌基因 c-jun 的表达具有调节作用。在人类外周血 T 细胞中，可在 mRNA 和蛋白质两种水平下调调节白细胞介素 4 的表达。

## 组学技术在营养基因组学研究中的应用

**基因组学 (genomics)** 基因组学研究分析 DNA 和染色体组，新的定量研究技术包括比较基因组杂交阵列和定量单核苷酸多态性技术，这些技术可以揭示人类染色体组大量的变异拷贝。

cDNA 和重组 DNA 技术，以 mRNA 为模板在逆转录酶作用下生成与 RNA 互补的 cDNA 链，将其插入质粒，在宿主中扩增后便获得数百万个复制的 cDNA，通过 cDNA 翻译即可产生大量营养相关蛋白。已用于营养研究的有重组人胰岛素、重组生长激素、胰岛素样生长因子、集落刺激因子、重组人促红细胞生长素等。

靶基因灭活或基因敲除是另一种测定候选基因在体内生物学活性的方法，它们还用于研究破坏选定的基因后机体代谢途径以及对营养物质反应的变化。通过敲除胰胆固醇酯酶基因，发现这种酶介导了肠道对胆固醇的吸收，但是在未酯化的胆固醇吸收过程中它不起决定性的作用。研究者还应用敲除脂酰 CoA 胆固醇酯酰转移酶帮助明确胆固醇的吸收途径。

**转录组学 (transcriptomics)** 营养基因组学利用转录组学技术进行了很多的研究，如瘦素对小鼠脂肪组织的影响；饮食控制对禁食和老年大鼠下丘脑的作用；富含多不饱和脂肪酸的饮食对鼠肝脏基因表达的影响等。Lee 等<sup>[20]</sup>利用高密度寡核苷酸微阵列 (high-density oligonucleotide arrays) 分析骨骼肌衰老过程基因表达谱，描述了 6 374 个基因，发现其中只有不到 1% 有明显改变。这种表达改变可以全部或部分被限制能量摄入所阻止，这也是已知的唯一在哺乳类动物中能够延缓衰老的营养干预方法。动物在低能饮食情况下，通过增加蛋白的周转率、增加糖异生、激活磷酸戊糖途径、抑制热休克蛋白、诱导 DNA 修复等转录水平改变调节代谢，延缓衰老过程。

RNA 干扰技术主要通过转录后水平阻断基因的表达。研究者有序地改变蠕虫的基因表达，确定灭活哪种基因可以减少或增加脂肪的储存，这种方

法可以鉴定一系列脂肪调节基因和特殊的脂肪代谢调节途径<sup>[21]</sup>。随着转录组学的信息积累，鉴定治疗肥胖或其他非健康状态的基因靶子将成为可能<sup>[22]</sup>。

**蛋白质组学 (proteomics)** 蛋白质组学技术在营养学研究中应用十分广泛，通过蛋白质组学技术能够测定单一营养素对细胞或组织基因表达的影响<sup>[23]</sup>。通过对与营养有关的酶、运输蛋白、激素、血浆蛋白质和其他物质的研究，可发现新的分子调节机制<sup>[23]</sup>。如 Evardsson 等<sup>[24]</sup>以高甘油三酯、高血糖和高胰岛素血症的小鼠作为临床肥胖症和胰岛素抵抗模型，给予抗 PPAR- $\alpha$  特异性拮抗剂 (WY14643) 治疗 1 周后血浆甘油三酯、高血糖和高胰岛素水平显著降低，肝蛋白质组显示至少 16 个蛋白质位点表达上调，经质谱技术鉴定其中 14 种为过氧化物酶体脂肪酸代谢蛋白质。

国际实验生物学 2003 年关于“营养学研究新技术”研讨会着重讨论了纳米技术和蛋白质组学技术，建议将它们结合起来应用于营养学研究<sup>[25]</sup>。这些新技术在获得精确的空间信息方面具有极大的优势，对必需的和非必需的生物活性营养要素的检测及它们的代谢研究具有不可替代的作用，并提高人们对营养要素与机体代谢产物及生物分子之间相互作用的理解。

**代谢组学 (metabolomics) 和营养系统生物学 (nutritional systems biology)** 代谢组学的研究目的是对器官及生物样品中特定状态下所有低分子量代谢产物的定性和定量分析及外源性复合物对人体所有代谢产物的影响。在饮食或营养干预下机体的代谢变化可以应用代谢组学的技术进行全面分析<sup>[26]</sup>。基因组学、转录组学和蛋白质组学均是分析提供特定时间点饮食对某些产物的影响，而代谢组学研究方法是评价在饮食干预后所有代谢产物的改变。系统生物学侧重宏观研究基因表型差异和建立细胞结构与功能的综合模型。在营养领域运用系统生物学的方法有赖于代谢组学技术的应用。

氨基酸和脂类代谢物已经用定量代谢组学的方法进行了测定。Hemmati 和他的同事<sup>[27]</sup>建立了用荧光标记的高效液相色谱方法测定伏隔核各亚区 (外壳、核心等) 14 种氨基酸的浓度，还利用这种方法测定在多巴胺 D3/D2 受体激动剂喹洛雷 (quinelolane) 作用下对这些代谢产物浓度的影响。Nogochi<sup>[28]</sup>和 Renwick<sup>[29]</sup>等回顾了代谢组学技术在评价氨基酸摄入的适量与安全范围中的应用，应用基

于相关性的分析方法分析哪些代谢产物与摄入过量的蛋白质、氨基酸相关, 以此确定适量安全的氨基酸摄入量。脂质是应用定量方法测定的另一类代谢产物, 定量的脂质代谢资料可以用来分析摄食油脂对心脏和肝脏的磷脂代谢的不同影响, 这种方法记录在生物化学途径中脂类代谢产物浓度的变化以及不同治疗或表现型对它的影响。

综上, 今后的研究方向应该侧重于阐述机体对这些信号的感受机制, 描述信号作用的目的基因, 寻找基因或蛋白质表达谱的生物学标志物以区分健康和非健康个体, 并进行饮食方面的干预。因此, 营养基因组学的长期目标是如何用营养干预预防某些疾病, 如肿瘤和代谢性疾病。通过特定营养素调节对机体有益或有害的基因或蛋白质表达, 进行营养药物治疗或饮食治疗已成为营养学重要的研究方向之一。

## 参 考 文 献

- Furst P. New strategies in clinical nutrition. *Perit Dial Int*, 1996, 16 (Suppl 1):S28-S35.
- Muller M, Kersten S. Nutrigenomics: goals and strategies. *Nat Rev Genet*, 2003, 4 (4):315-322.
- Wang XZ, Lawson B, Brewer JW, *et al.* Signals from the stressed endoplasmic reticulum induces C/EBP-homologous protein (CHOP/GADD153). *Mol Cell Biol*, 1996, 16 (8):4273-4280.
- Varga J, Li L, Mauviel A, *et al.* L-Tryptophan in supraphysiologic concentrations stimulates collagenase gene expression in human skin fibroblasts. *Lab Invest*, 1994, 70(2):183-191.
- Montoya CA, Leterme P, Lalles JP. A protein-free diet alters small intestinal architecture and digestive enzyme activities in rats. *Reprod Nutr Dev*, 2006, 46(1):49-56.
- Leong HX, Simkevich C, Lesieur-Brooks A, *et al.* Short-term arginine deprivation results in large-scale modulation of hepatic gene expression in both normal and tumor cells: bioinformatic analysis. *Nutr Metab (Lond)*, 2006, 3(1):37.
- Lenaerts K, Mariman E, Bouwman F, *et al.* Glutamine regulates the expression of proteins with a potential health-promoting effect in human intestinal Caco-2 cells. *Proteomics*, 2006, 6 (8):2454-2464.
- Curi R, Lagranha CJ, Doi SQ, *et al.* Glutamine-dependent changes in gene expression and protein activity. *Cell Biochem Funct*, 2005, 23(2):77-84.
- Burcelin R, Mrejen C, Decaux JF, *et al.* *In vivo* and *in vitro* regulation of hepatic glucagon receptor mRNA concentration by glucose metabolism. *J Biol Chem*, 1998, 273 (14):8088-8093.
- Foufelle F, Ferre P. New perspectives in the regulation of hepatic glycolytic and lipogenic genes by insulin and glucose: a role for the transcription factor sterol regulatory element binding protein-1c. *Biochem J*, 2002, 366(Pt 2):377-391.
- Prescott SL, Calder PC. N-3 polyunsaturated fatty acids and allergic disease. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 2004, 7 (2):123-129.
- Deckelbaum RJ, Worgall TS, Seo T. n-3 fatty acids and gene expression. *Am J Clin Nutr*, 2006, 83 (6 Suppl):1520S-1525S.
- Paoloni-Giacobino A, Grimble R, Pichard C. Genetics and nutrition. *Clin Nutr*, 2003, 22(5):429-435.
- Seo T, Qi K, Chang C, *et al.* Saturated fat-rich diet enhances selective uptake of LDL cholesteryl esters in the arterial wall. *J Clin Invest*, 2005, 115(8):2214-2222.
- Dahlman I, Linder K, Arvidsson Nordstrom E, *et al.* Changes in adipose tissue gene expression with energy-restricted diets in obese women. *Am J Clin Nutr*, 2005, 81(6):1275-1285.
- 崔晓雨, 何桂珍. 基因的单核苷酸多态性、炎性反应与营养. *中国医学科学院学报*, 2005, 27(6):790-792.
- Jhaveri MS, Wagner C, Trepel JB. Impact of extracellular folate levels on global gene expression. *Mol Pharmacol*, 2001, 60(6):1288-1295.
- Catani MV, Rossi A, Costanzo A, *et al.* Induction of gene expression via activator protein-1 in the ascorbate protection against UV-induced damage. *Biochem J*, 2001, 356(Pt 1):77-85.
- Schulte I, Bektas H, Klempnauer J, *et al.* Vitamin E in heart transplantation: effects on cardiac gene expression. *Transplantation*, 2006, 81(5):736-745.
- Lee CK, Klopp RG, Weindruch R, *et al.* Gene expression profile of aging and its retardation by caloric restriction. *Science*, 1999, 285(5432):1390-1393.
- Kamath RS, Fraser AG, Dong Y, *et al.* Systematic functional analysis of the *Caenorhabditis elegans* genome using RNAi. *Nature*, 2003, 421(6920):231-237.
- Trujillo E, Davis C, Milner J. Nutrigenomics, proteomics, metabolomics, and the practice of dietetics. *J Am Diet Assoc*, 2006, 106(3):403-413.
- Fuchs D, Winkelmann I, Johnson I, *et al.* Proteomics in nutrition research: principles, technologies and applications. *Br J Nutr*, 2005, 94(3):302-314.
- Edvardsson U, von Lowenhielm HB, Panfilov O, *et al.* Hepatic protein expression of lean mice and obese diabetic mice treated with peroxisome proliferator-activated receptor activators. *Proteomics*, 2003, 3(4):468-478.

- 25 Van Ommen B. Nutrigenomics: exploiting systems biology in the nutrition and health arenas. *Nutrition*, 2004, 20(1):4-8.
- 26 董良广, 何桂珍. 代谢组学在临床营养研究中的应用. *中国临床营养杂志*, 2006, 14(4):238-242.
- 27 Hemmati P, Shilliam CS, Hughes ZA, *et al.* *In vivo* characterization of basal amino acid levels in subregions of the rat nucleus accumbens: effect of a dopamine D (3)/D (2) agonist. *Neurochem Int*, 2001, 39(3):199-208.
- 28 Noguchi Y, Sakai R, Kimura T. Metabolomics and its potential for assessment of adequacy and safety of amino acid intake. *J Nutr*, 2003, 133(6 Suppl 1):2097S-2100S.
- 29 Renwick AG. The safety testing of amino acids. *J Nutr*, 2003, 133(6 Suppl 1):2031S-2033S.

(2006-07-11 收稿)