



## 全身过表达人*METRNL*基因小鼠模型的构建与验证

王雪莲, 郑斯莉, 李志勇, 罗亨宇, 缪朝玉

### Construction and validation of a mouse model with systemic overexpression of human *METRNL* gene

WANG Xuelian, ZHENG Sili, LI Zhiyong, LUO Hengyu, MIAO Chaoyu

在线阅读 View online: <http://yxsj.smmu.edu.cn/cn/article/doi/10.12206/j.issn.2097-2024.202311014>

## 您可能感兴趣的其他文章

### Articles you may be interested in

#### 小鼠心梗模型的建立与早期心电图评价

Establishment of mouse myocardial infarction model and early electrocardiogram assessment

药学实践与服务. 2020, 38(2): 115-119 DOI: 10.3969/j.issn.1006-0111.202001011

#### 小鼠Metrl单克隆抗体的制备及鉴定

Preparation and characterization of monoclonal antibodies against mouse Metrl

药学实践与服务. 2017, 35(2): 126-129,192 DOI: 10.3969/j.issn.1006-0111.2017.02.007

#### 系统性红斑狼疮动物模型及其发病机制研究进展

Study on animal models and mechanisms of systemic lupus erythematosus

药学实践与服务. 2018, 36(6): 481-483,492 DOI: 10.3969/j.issn.1006-0111.2018.06.001

#### 滚轮微针对人增生性瘢痕裸鼠中醋酸曲安奈德疗效的影响

The effect of triamcinolone acetonide delivered by microneedle roller on nude mouse model xenografted with human hypertrophic scar

药学实践与服务. 2019, 37(4): 342-347 DOI: 10.3969/j.issn.1006-0111.2019.04.011

#### HPLC法测定荷瘤小鼠血浆中华卟啉钠含量及药动学研究

Determination of sinoporphyrin sodium in tumor-bearing mouse plasma by HPLC method

药学实践与服务. 2017, 35(6): 508-511,558 DOI: 10.3969/j.issn.1006-0111.2017.06.007

#### 慢性不可预见性温和应激致抑郁对大鼠肝脏转运多肽mRNA和蛋白表达的影响

Effects of chronic unpredicted mild stress induced depression on mRNA and protein expression of liver organic anion transporting polypeptides in rats

药学实践与服务. 2019, 37(2): 121-125 DOI: 10.3969/j.issn.1006-0111.2019.02.005



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

## · 论著 ·

全身过表达人 *METRNL* 基因小鼠模型的构建与验证

王雪莲<sup>1</sup>, 郑斯莉<sup>2</sup>, 李志勇<sup>2</sup>, 罗亨宇<sup>2</sup>, 缪朝玉<sup>1,2</sup> (1. 上海大学医学院, 上海 200444; 2. 海军军医大学药理学教研室, 上海 200433)

**[摘要]** 目的 构建全身过表达人 *METRNL* 基因的小鼠模型(R26-L-*METRNL*<sup>+/+</sup>小鼠)。方法 基于 Cre-*loxP* 系统利用 *Dppa3-Cre* 小鼠和实验室前期构建的人 *METRNL* 基因条件性过表达(R26-*LSL-METRNL*<sup>+/+</sup>)小鼠进行交配繁殖, 得到目标 R26-L-*METRNL*<sup>+/+</sup>小鼠。将该目标小鼠进行基因型鉴定, 收集其血液及心、肝、脾、肺、肾、脑、白色脂肪和肌肉组织, 利用实时荧光定量 PCR 技术、蛋白免疫印迹实验和血清酶联免疫吸附实验, 考察人 *METRNL* 基因在小鼠的表达情况。结果 R26-L-*METRNL*<sup>+/+</sup>小鼠的人 *METRNL* 在组织 mRNA 水平、组织蛋白水平和血液蛋白浓度方面都有显著表达, 远高于野生对照组小鼠。结论 R26-L-*METRNL*<sup>+/+</sup>小鼠模型构建成功。

**[关键词]** 分泌蛋白; 全身过表达; 小鼠

**[文章编号]** 2097-2024(2024)05-0198-05

**[DOI]** 10.12206/j.issn.2097-2024.202311014

## Construction and validation of a mouse model with systemic overexpression of human *METRNL* gene

WANG Xuelian<sup>1</sup>, ZHENG Sili<sup>2</sup>, LI Zhiyong<sup>2</sup>, LUO Hengyu<sup>2</sup>, MIAO Chaoyu<sup>1,2</sup> (1. School of Medicine, Shanghai University, Shanghai 200444, China; 2. Department of Pharmacology, Naval Medical University, Shanghai 200433, China)

**[Abstract]** **Objective** To generate mice with whole-body overexpression of human *METRNL* gene. **Methods** Based on Cre-*loxP* system, *Dppa3-Cre* mice were mated with *Rosa26-LSL-METRNL* knock-in mice(R26-*LSL-METRNL*<sup>+/+</sup>) to generate R26-L-*METRNL*<sup>+/+</sup> mice. The genotypes of the offsprings were identified, and tissues of the blood, heart, liver, spleen, lung, kidney, brain, white adipose and muscle were collected. The expression of human *METRNL* gene in mice was investigated by quantitative real-time PCR, western blot and enzyme linked immunosorbent assay. **Results** Compared with wild type control mice, human *METRNL* in R26-L-*METRNL*<sup>+/+</sup> mice significantly expressed at both mRNA and protein levels in tissues, with abundant *METRNL* protein in blood. **Conclusion** The mouse model overexpressing human *METRNL* gene(R26-L-*METRNL*<sup>+/+</sup> mouse) was successfully constructed.

**[Key words]** *METRNL*; systemic overexpression; mouse

*METRNL*(Meteorin-like)是一个新发现的分泌蛋白, 为神经营养调节因子 Meteorin 的同源蛋白。2014年, 本实验室首次报道 *METRNL* 是一个新的脂肪因子, 由于其在皮下白色脂肪组织中表达很丰富, 故也称为 Subfatin<sup>[1]</sup>。10年来, 我们对 *METRNL* 的功能进行了多方面的探索, 并不断扩展 *METRNL* 的研究工具与平台。我们的研究已发现, 该蛋白参与调节机体多种病理生理过程, 比如: 脂肪细胞

*METRNL* 可促进白色脂肪分化、脂质代谢并抑制脂肪炎症, 从而抵抗高脂饮食诱导的胰岛素抵抗<sup>[2]</sup>; 肠上皮细胞 *METRNL* 参与调节肠道抗菌肽的平衡<sup>[3]</sup>, 且肠道 *METRNL* 缺乏会加重溃疡性结肠炎<sup>[4]</sup>; 此外, *METRNL* 促进小鼠皮肤创伤愈合<sup>[5]</sup>, 并能对抗 D-半乳糖诱导的衰老小鼠的认知功能障碍<sup>[6]</sup>。最近, 我们新报道了血液 *METRNL* 的主要分泌来源是血管内皮细胞, 并发现内皮细胞 *METRNL* 对维持血管内皮正常功能和对抗动脉粥样硬化具有重要作用<sup>[7]</sup>。在这些研究中, 我们构建 *METRNL* 基因的全身性和各种组织特异性的敲除小鼠, 以及多种双基因敲除小鼠, 并在体外细胞实验中充分利用 *METRNL* 重组蛋白探索相关治疗学意义。除了本实验室, 全球其他多个实验室也展开了对 *METRNL* 的功能探索, 并发现 *METRNL* 在能量代谢<sup>[8-9]</sup>、炎

**[基金项目]** 国家自然科学基金重点项目(82030110, 82330117); 国家自然科学基金青年科学基金项目(82104165); 上海市青年科技英才扬帆计划(21YF1457600)

**[作者简介]** 王雪莲, 硕士研究生, 研究方向: 心脑血管药理学, Tel: 19822717670, Email: 649459125@qq.com

**[通信作者]** 缪朝玉, 教授, 博士生导师, 研究方向: 心脑血管药理学, Email: cymiao@smmu.edu.cn

症<sup>[10-11]</sup>、心脏疾病<sup>[12-13]</sup>等多种病理生理过程中发挥积极作用。

尽管目前有很多关于 METRNL 的研究结果提示,该蛋白具有非常好的临床治疗潜力,但有关整体 METRNL 治疗学探索不多,尤其是长期治疗研究几乎没有。主要原因之一是市场 METRNL 重组蛋白价格昂贵,而且我们前期研究结果发现:对 C57BL/6J 小鼠单次静脉注射 1.75 μg METRNL 重组蛋白后,血清 METRNL 在 15 min 后急剧升高(226 ng/ml),接着在 4 h 内迅速下降约 90%。虽然在注射后 24 h 仍明显高于基础水平,但此时血中 METRNL 浓度已下降约 97%<sup>[2]</sup>。因此,以重组蛋白给药方式在动物整体水平研究 METRNL 的治疗学作用,尤其是长期治疗学作用将产生巨大经济成本。另一方面,对于一些已经体现 METRNL 治疗潜力的疾病(如动脉粥样硬化),疾病发展缓慢,短期给予 METRNL 重组蛋白很难起到治疗作用。

因此,本研究旨在构建一株长期稳定高表达 METRNL 的小鼠作为 METRNL 的治疗学研究工具,并对该小鼠高表达 METRNL 的情况进行验证。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验试剂和仪器

鼠尾 DNA 提取试剂盒(CW2094S)购自北京康伟试剂生物科技有限公司;5 × PrimeScript RT Master Mix(Takara 公司);小鼠 Tubulin 抗体(AT819,

碧云天公司);通用型 RNA 提取试剂盒 II (AG21022, 艾瑞克生物科技); Human Meteorin-like/METRNL DuoSet ELISA 试剂盒(DY7867-05, R&D system 公司);山羊抗兔 IgG(ab175471)、山羊抗小鼠 IgG(ab216772)、抗 METRNL 抗体(ab235775)购自 Abcam 公司。

LightCycler96 实时荧光定量 PCR 仪(Roche 公司);TP600PCR 仪(Takara 公司);5200S 化学发光分析系统(Tanon 公司)。

### 1.2 实验动物

人 METRNL 基因条件性过表达(R26-LSL-METRNL<sup>+/+</sup>)小鼠为实验室前期构建所得。SPF 级 8 周龄 C57BL/6J 小鼠和 Dppa-Cre 小鼠购自上海南方模式生物技术有限公司。

所有实验小鼠均饲养在独立通气笼盒(IVC)系统中,温度(24±2)℃,相对湿度为 40%~60%,饲养期间笼盒内保持清洁,小鼠在笼内自由活动、进食及饮水,动物房内照明系统为自动控制(12 h 照明、12 h 黑暗)。动物实验标准均依照国家《实验动物护理使用卫生指南》,并经过海军军医大学医学研究伦理委员会批准指导。

### 1.3 实验方法

#### 1.3.1 动物基因型鉴定

将剪刀消毒后剪取小鼠尾尖约 3 mm,剪碎,按照 DNA 提取试剂盒的说明书方法提取 DNA 之后,对目的基因进行 PCR 扩增,各引物序列见表 1。

表 1 PCR 扩增实验中的引物序列

| 基因名称         | 上游引物(5'→3')             | 下游引物(5'→3')              |
|--------------|-------------------------|--------------------------|
| R26-WT       | TCAGATTCTTTATAGGGGACACA | TAAAGGCCACTCAATGCTCACTAA |
| R26-L-METRNL | AAAGTCCCGGAAAGGAGCTG    | GAGGCTCCATCCAGCAAGTT     |
| R26-Stop     | GGGCAACGTGCTGTTATTG     | ACTTGCCCTTGCTCCATAC      |
| 内参基因         | TGGGTTGGGTGCTGTTCATTGT  | GATCCACTGTCTCTGCCTTCC    |
| Dppa-Cre     | TGGGTTGGGTGCTGTTCATTGT  | GACCTTGATTCTTTGGCGAGAG   |

将 PCR 产物进行 1.2% 琼脂糖凝胶电泳,上样量为每孔 6 μl,电泳条件为 100 V,30 min,结束后进行拍照、分析。

### 1.3.2 小鼠取材

将小鼠称重后,腹腔注射 1% 戊巴比妥钠溶液(100 mg/kg),待小鼠处于深度麻醉后,打开其胸腔,自上下腔静脉汇合处缓慢抽取血液,并转移至 1.5 ml EP 管静置于室温。迅速剪取小鼠心、肝、脾、肺、肾、脑、白色脂肪和肌肉组织,放入组织冻存管扔进液氮速冻,待取材结束后及时转入-80℃超低温冰箱储存。血液于室温静置 2 h 后离心:

4℃,3000×g,15 min,分离血清,储存至-80℃超低温冰箱。

### 1.3.3 实时荧光定量 PCR 实验

使用 RNA 提取试剂盒提取组织 RNA,将得到的 RNA 进行浓度测定与吸光度测定后进行逆转录,得到 cDNA 用于实时荧光定量 PCR 实验,各引物序列见表 2。

### 1.3.4 蛋白免疫印迹实验

取适量组织至 2 ml 高速离心管,加入蛋白裂解液后,使用高通量匀浆仪匀浆 240 s。取出高速离心管,离心:12000×g,20 min。将上清液转移至

表2 实时荧光定量PCR实验中的引物序列

| 基因名称            | 上游引物(5'→3')            | 下游引物(5'→3')          |
|-----------------|------------------------|----------------------|
| 人 <i>METRNL</i> | ACCAGCGACTTCGTAATTAC   | CAGCTCCACGTCATGGGTG  |
| 小鼠 <i>Gapdh</i> | GTATGACTCCACTCACGGCAAA | GGTCTCGCTCCTGGAAGATG |

另一干净 1.5 ml EP 管中,进行蛋白浓度测定,剩余样品加入 5 × 蛋白上样缓冲液,97 °C 变性 10 min 得到蛋白样品。

使用 10% SDS-PAGE 凝胶进行电泳,电泳条件为:150 V,60 min。使用 PVDF 膜进行转膜,转膜条件为 100 V,60 min。

转膜结束后,使用快速封闭液封闭 15 min,之后使用 1×TBST 缓冲液洗膜,5 min × 3 次。加入一抗(1:1000 稀释)4 °C 孵育过夜。次日去除一抗孵育液,使用 1 × TBST 缓冲液洗膜,5 min × 3 次。加入二抗孵育液(1:2000 稀释)常温孵育 1 h,用 1 × TBST 缓冲液洗去二抗,5 min × 4 次,结束后即可进行扫膜。

### 1.3.5 血清酶联免疫吸附实验

使用酶联免疫吸附实验试剂盒(DY7867-05)

测定小鼠血清中的 *METRNL* 水平,具体操作按照试剂盒说明书进行。

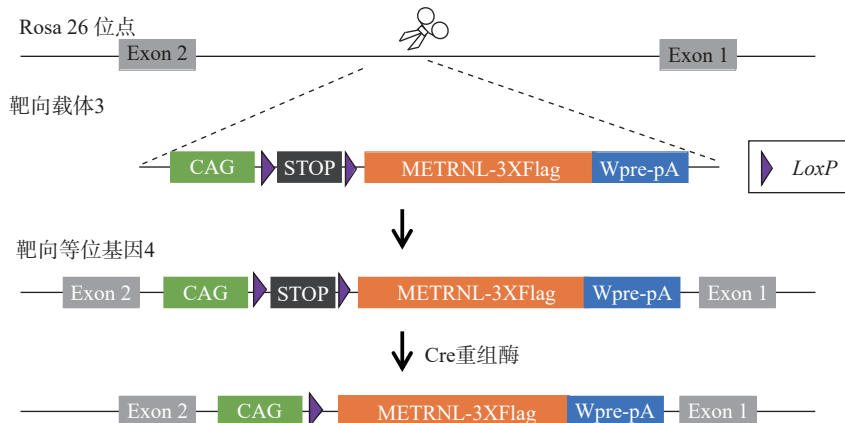
### 1.3.6 统计学分析

实验数据使用 GraphPad Prism 8.0 进行统计分析。两组间的比较使用双尾 *t* 检验, $P < 0.05$  视为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 全身过表达人 *METRNL* 基因小鼠的构建和基因型鉴定

本研究基于前期构建好的人 *METRNL* 基因条件性过表达小鼠(简称为 *R26-LSL-METRNL*<sup>+/+</sup>小鼠)和 *Cre-LoxP* 技术,最终获得全身过表达人 *METRNL* 基因小鼠(简称为 *R26-L-METRNL*<sup>+/+</sup>小鼠),具体构建策略如图 1 所示。

图1 全身过表达人 *METRNL* 基因小鼠的构建策略

*R26-LSL-METRNL*<sup>+/+</sup>小鼠是前期通过 CRISPR/Cas9 基因编辑技术构建而成,即在其中一个 *Rosa26* 基因位点定点插入了 *CAG-LoxP-Stop-LoxP-METRNL-3XFlag-Wpre-pA* 表达框,且该表达框的终止密码子 *Stop* 两侧插有同向 *LoxP* 位点,可基于 *Cre-loxP* 系统在 *Cre* 酶的作用下,将 *LoxP* 位点之间的序列切除,只留下一个 *LoxP* 位点,最终达到人 *METRNL* 基因过表达的目的。在该小鼠的名称“*R26-LSL-METRNL*<sup>+/+</sup>”中,“+”表示有外源基因表达框的插入,“-”表示无外源基因表达框插入。

*Dppa3-Cre* 小鼠是由 *Dppa3* 基因启动子介导 *Cre* 重组酶在全身表达的工具鼠,将 *R26-LSL-METRNL*<sup>+/+</sup>小鼠和 *Dppa3-Cre* 小鼠杂交,可获得

*R26-L-METRNL*<sup>+/+</sup>小鼠,具体繁殖方法如图 2 所示。其中,野生对照小鼠简称为 *R26-WT*,表示在 *Rosa26* 位点没有外源人 *METRNL* 基因表达框的插入。

在繁殖过程中进行基因型鉴定时,需确认外源人 *METRNL* 基因表达框、终止密码子 *Stop* 和 *Dppa3-Cre* 基因的存在情况。采用相应基因上下游引物分别进行鼠尾基因型鉴定,外源性表达框阳性条带为 699 bp,对应野生型序列条带为 996 bp,终止密码子 *Stop* 阳性条带为 408 bp, *Cre* 基因阳性条带为 100 bp。如图 3 所示,泳道 1 为 *R26-LSL-METRNL*<sup>+/+</sup>小鼠,泳道 2 为 *R26-L-METRNL*<sup>+/+</sup>小鼠,泳道 3 为 *R26-WT* 小鼠,泳道 4 为 *R26-L-METRNL*<sup>+/+</sup>*Cre* 小鼠,泳道 5 为 *R26-WT;Cre* 小鼠。

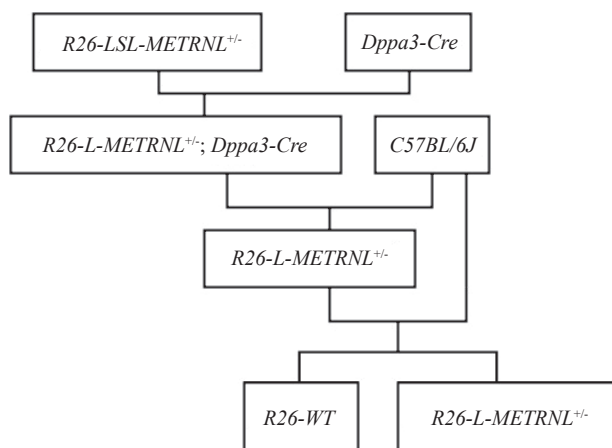


图2 全身过表达人 *METRNL* 基因小鼠的培育流程

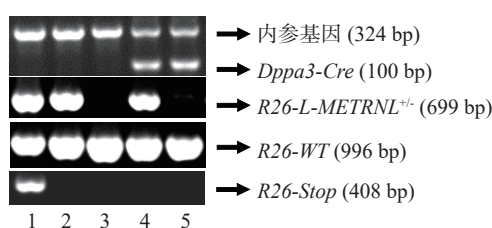


图3 DNA 电泳条带图

## 2.2 *R26-L-METRNL*<sup>+/-</sup>小鼠各组织人 *METRNL* mRNA 表达

为验证 *R26-L-METRNL*<sup>+/-</sup>小鼠是否存在人 *METRNL* 基因过表达,本研究首先利用实时荧光定量 PCR 技术检测了该小鼠各组织中人 *METRNL* mRNA 的表达情况。如图4所示,以 *R26-WT* 小鼠白色脂肪的人 *METRNL* mRNA 表达量为 1,肝、脾、肺、肾、白色脂肪和脑组织的相对表达量分别为 94 008.6、618.1、88 537.3、68 897.9、32 386.3 和 24 816.5。该结果说明,*R26-L-METRNL*<sup>+/-</sup>小鼠在组织 mRNA 水平上实现了人 *METRNL* 基因过表达。

## 2.3 *R26-L-METRNL*<sup>+/-</sup>小鼠各组织人 *METRNL* 蛋白表达

接着,本研究提取各组织的蛋白,使用蛋白免

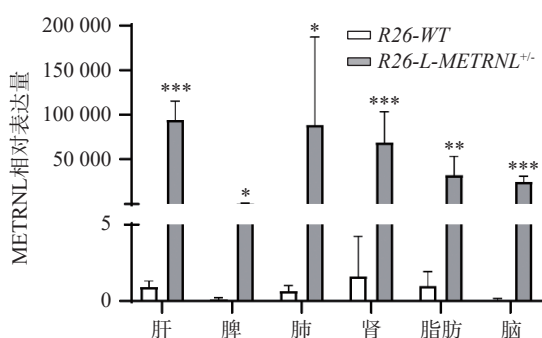


图4 *R26-L-METRNL*<sup>+/-</sup>小鼠各组织的 *METRNL* mRNA 相对表达量 ( $n=5\sim 6, \bar{x}\pm s$ )

\* $P<0.05$ , \*\* $P<0.01$ , \*\*\* $P<0.001$ ,与 *R26-WT* 组比较。

疫印迹实验方法验证 *R26-L-METRNL*<sup>+/-</sup>小鼠各组织中人 *METRNL* 蛋白表达情况。在该实验中,所用 *METRNL* 抗体可同时抗人和小鼠的 *METRNL* 蛋白。如图5所示,*METRNL* 蛋白在 *R26-L-METRNL*<sup>+/-</sup>小鼠的心、肝、脾、肺和肌肉组织中的含量明显高于 *R26-WT* 小鼠,而在肾组织中 *METRNL* 抗体的结合效果不佳,且并未发现两组小鼠肾 *METRNL* 蛋白存在明显差异。该结果提示,*R26-L-METRNL*<sup>+/-</sup>小鼠在组织蛋白水平上实现了人 *METRNL* 基因过表达。

## 2.4 *R26-L-METRNL*<sup>+/-</sup>小鼠血清中人 *METRNL* 蛋白水平

由于 *METRNL* 为分泌性蛋白,本研究最后使用 ELISA 方法测定 *R26-L-METRNL*<sup>+/-</sup>小鼠及其对照小鼠血清中人 *METRNL* 蛋白水平。如图6所示,可成功检测到 *R26-L-METRNL*<sup>+/-</sup>小鼠血液中的 人 *METRNL*,浓度在 1 100.3 ~ 1 579.3 pg/ml,而在 *R26-WT* 小鼠血液中检测不到人 *METRNL*。该结果说明,*R26-L-METRNL*<sup>+/-</sup>小鼠的血液中存在大量人 *METRNL* 蛋白,提示 *R26-L-METRNL*<sup>+/-</sup>小鼠实现了人 *METRNL* 基因过表达。

## 3 讨论和总结

本研究利用 *Dppa-Cre* 小鼠和实验室前期构建的 *R26-LSL-METRNL*<sup>+/-</sup>小鼠进行杂交繁殖,最终获得 *R26-L-METRNL*<sup>+/-</sup>小鼠。该小鼠与 *R26-LSL-METRNL*<sup>+/-</sup>小鼠都在 *Rosa26* 基因位点含有外源性基因表达框,不同的是在 *R26-L-METRNL*<sup>+/-</sup>小鼠外源表达框中的终止密码子 *Stop* 被 *Cre* 酶成功切除,因此 *R26-L-METRNL*<sup>+/-</sup>小鼠可实现全身细胞过表达人 *METRNL*。

本研究从 mRNA 水平、组织蛋白水平和血清蛋白水平考察了 *R26-L-METRNL*<sup>+/-</sup>小鼠过表达 *METRNL* 的情况。由于该小鼠插入的外源 *METRNL* 基因是人 *METRNL* 基因,因此在进行实时荧光定量 PCR 实验时,使用的是人 *METRNL* 引物和小鼠 *Gapdh* 引物。类似地,在 ELISA 实验中,使用的是检测人 *METRNL* 的试剂盒。由于没有特异性抗人的 *METRNL* 抗体,因此在蛋白免疫印迹实验中使用的是可同时抗人和小鼠的 *METRNL* 抗体,而内参使用的是抗鼠的 *Tubulin* 抗体。本研究结果显示,*R26-L-METRNL*<sup>+/-</sup>小鼠的各组织存在人 *METRNL* mRNA 高表达,虽然各组织的表达量有所波动,但都比 *R26-L-WT* 小鼠的表达量高几千倍甚至是数十万倍。蛋白免疫印迹实验结果显示,在 *R26-L-*

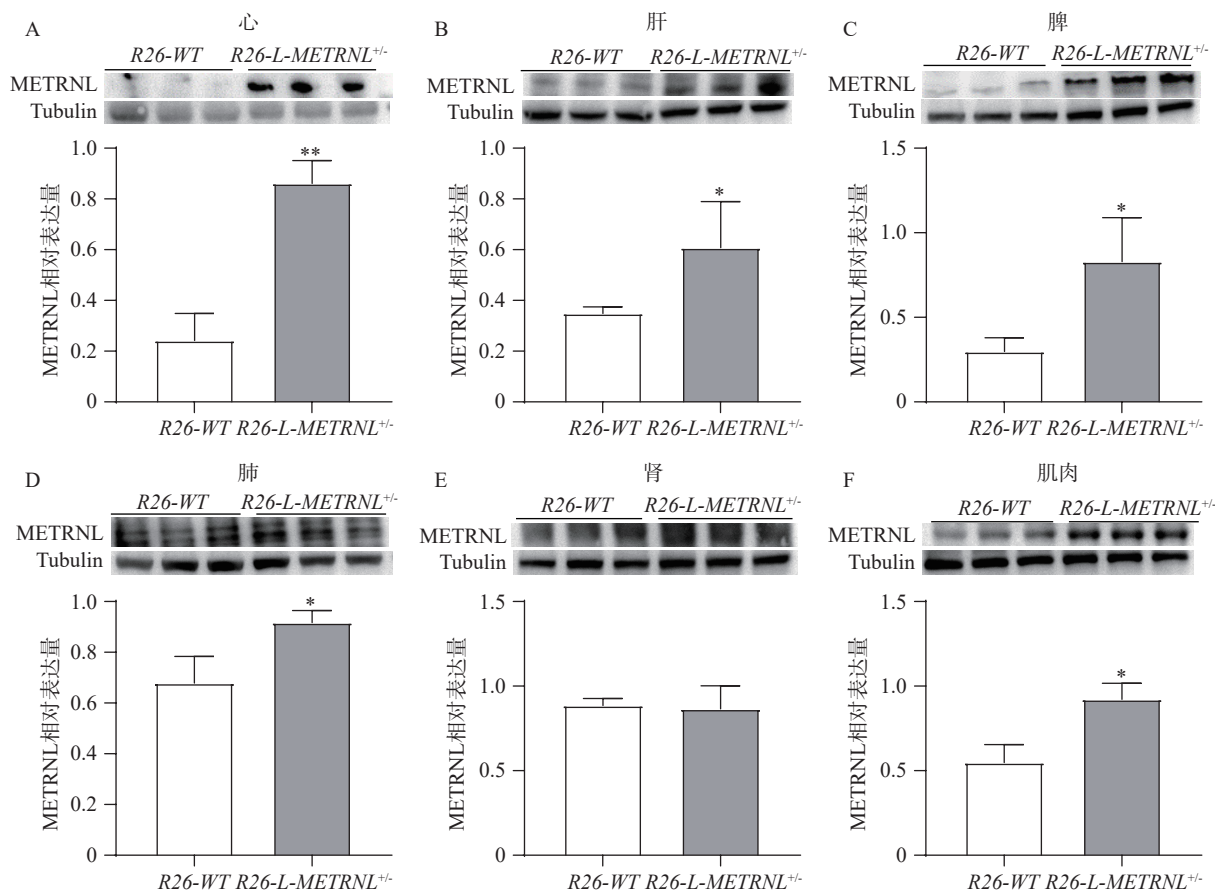


图5 R26-L-METRNL<sup>+/-</sup>小鼠各组织的METRNL蛋白表达情况

A.心脏组织; B.肝组织; C.脾组织; D.肺组织; E.肾组织; F.肌肉组织 (n=3,  $\bar{x} \pm s$ )

\*P<0.05, \*\*P<0.01, 与R26-WT组比较。

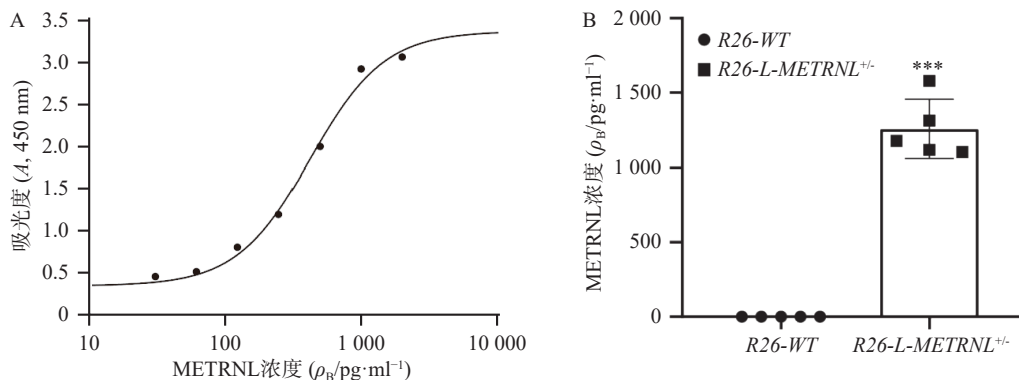


图6 R26-L-METRNL<sup>+/-</sup>小鼠及其对照小鼠的血清METRNL蛋白水平 (n=5,  $\bar{x} \pm s$ )

A. “METRNL 浓度-吸光度”标准曲线 ( $R^2=0.9929$ ); B. R26-L-METRNL<sup>+/-</sup>小鼠血清METRNL浓度

\*\*\* P<0.001, 与R26-WT组比较。

METRNL<sup>+/-</sup>小鼠的心、肝、脾、肺、肌肉组织存在明显升高的METRNL蛋白水平,但该实验中检测的METRNL蛋白量升高倍数不多,可能与使用的METRNL抗体可以同时抗人和小鼠的METRNL有关。另外,我们也注意到两组小鼠肾组织的METRNL蛋白水平并没有明显差异,并且两组条带都非常微弱,为确证实验结果,我们进行了重复实验,得出相同结果。经过分析可能是因为该

METRNL抗体对肾组织蛋白的亲合力不是很高,导致检测出的蛋白绝对量都太低而使两组之间很难出现差异。在血清水平,本研究结果提示R26-L-METRNL<sup>+/-</sup>小鼠的血液中存在大量人METRNL蛋白,而R26-L-WT小鼠血中检测不到该蛋白,说明R26-L-METRNL<sup>+/-</sup>小鼠成功过表达人METRNL,并可以成功分泌至血液中。同时,该实验提示,本研  
(下转第222页)

ade and expert insights on their management[J]. *Cancer Treat Rev*, 2017, 58: 70-76.

- [14] 唐淑慧, 李丽, 侯黎莉. PD-1 抑制剂免疫相关不良反应的研究进展 [J]. *临床与病理杂志*, 2021, 41(3): 720-725.
- [15] CHIEN P L, LIU C F, HUANG H T, et al. Application of artificial intelligence in the establishment of an association model between metabolic syndrome, TCM constitution, and the gui-

dance of medicated diet care[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2021, 2021: 5530717.

- [16] 罗辉, 李玲孺, 王琦. 气虚质与疾病的相关性: 基于 332 项临床研究的文献计量分析 [J]. *天津中医药*, 2019, 36(7): 625-630.

[收稿日期] 2023-11-14 [修回日期] 2024-03-01

[本文编辑] 李睿旻

(上接第 202 页)

究所使用的人 METRNL ELISA 试剂盒特异性比较好, 可以清晰区别人和鼠来源的 METRNL 蛋白。

在小鼠培育过程当中, 尚未发现 *R26-L-METRNL*<sup>+/-</sup> 小鼠和同窝对照 WT 小鼠在体重、形态等方面有何差异。根据图 2 中 *R26-L-METRNL*<sup>+/-</sup> 小鼠的培育方式, 采用 *R26-L-METRNL*<sup>+/-</sup> 小鼠与 C57BL/6J 小鼠杂交进行扩大繁殖和保种, 基于孟德尔遗传定律, 后代鼠中 *R26-L-METRNL*<sup>+/-</sup> 小鼠理论得率为 50%, 但实际中, 我们发现该小鼠的得率仅为 15% 左右, 远低于理论值。这一现象非常有趣, 因为此前本实验室构建过多种基因工程动物模型, 均没有发现类似偏离孟德尔遗传定律的现象, 而这一现象是否与 METRNL 蛋白的全身性过表达有关, 值得我们进一步研究。

#### 【参考文献】

- [1] LI Z Y, ZHENG S L, WANG P, et al. Subfatin is a novel adipokine and unlike Meteorin in adipose and brain expression[J]. *CNS Neurosci Ther*, 2014, 20(4): 344-354.
- [2] LI Z Y, SONG J, ZHENG S L, et al. Adipocyte metrn1 antagonizes insulin resistance through PPAR $\gamma$  signaling[J]. *Diabetes*, 2015, 64(12): 4011-4022.
- [3] LI Z Y, FAN M B, ZHANG S L, et al. Intestinal Metrn1 released into the gut lumen acts as a local regulator for gut antimicrobial peptides[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2016, 37(11): 1458-1466.
- [4] ZHANG S L, LI Z Y, WANG D S, et al. Aggravated ulcerative colitis caused by intestinal Metrn1 deficiency is associated with reduced autophagy in epithelial cells[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2020, 41(6): 763-770.
- [5] XU T Y, QING S L, ZHAO J X, et al. Metrn1 deficiency retards

skin wound healing in mice by inhibiting AKT/eNOS signaling and angiogenesis[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2023, 44(9): 1790-1800.

- [6] HONG C, WANG Z, ZHENG S L, et al. Metrn1 regulates cognitive dysfunction and hippocampal BDNF levels in D-galactose-induced aging mice[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2023, 44(4): 741-751.
- [7] ZHENG S L, LI Z Y, SONG J, et al. Endothelial METRNL determines circulating METRNL level and maintains endothelial function against atherosclerosis[J]. *Acta Pharm Sin B*, 2023, 13(4): 1568-1587.
- [8] AMANO Y, NONAKA Y, TAKEDA R, et al. Effects of electrical stimulation-induced resistance exercise training on white and brown adipose tissues and plasma meteorin-like concentration in rats[J]. *Physiol Rep*, 2020, 8(16): e14540.
- [9] RAO R R, LONG J Z, WHITE J P, et al. Meteorin-like is a hormone that regulates immune-adipose interactions to increase beige fat thermogenesis[J]. *Cell*, 2014, 157(6): 1279-1291.
- [10] USHACH I, ARREVILLAGA-BONI G, HELLER G N, et al. Meteorin-like/meteorin- $\beta$  is a novel immunoregulatory cytokine associated with inflammation[J]. *J Immunol*, 2018, 201(12): 3669-3676.
- [11] JUNG T W, LEE S H, KIM H C, et al. METRNL attenuates lipid-induced inflammation and insulin resistance via AMPK or PPAR $\delta$ -dependent pathways in skeletal muscle of mice[J]. *Exp Mol Med*, 2018, 50(9): 1-11.
- [12] REBOLL M R, KLEDE S, TAFT M H, et al. Meteorin-like promotes heart repair through endothelial KIT receptor tyrosine kinase[J]. *Science*, 2022, 376(6599): 1343-1347.
- [13] LU Q B, DING Y, LIU Y, et al. Metrn1 ameliorates diabetic cardiomyopathy via inactivation of cGAS/STING signaling dependent on LKB1/AMPK/ULK1-mediated autophagy[J]. *J Adv Res*, 2023, 51: 161-179.

[收稿日期] 2023-11-08 [修回日期] 2024-02-17

[本文编辑] 陈盛新