

生物素对2型糖尿病大鼠血糖的影响

向雪松 刘岩¹ 张雪松 张文众² 王竹³

中国疾病预防控制中心营养与健康所 北京 100050

达能营养中心
DANONE INSTITUTE CHINA
青年科学工作者论坛
Young Scientists' Forum

摘要:目的 探讨生物素对2型糖尿病大鼠血糖以及糖代谢关键限速酶葡萄糖激酶(GCK)和磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶1(PCK1)基因表达的影响。方法 90只健康Wistar大鼠根据血糖随机分为5组(正常对照组,模型组,生物素低、中、高剂量组)。正常对照组给予普通维持饲料,蒸馏水灌胃;模型组给予高脂高糖饲料,蒸馏水灌胃;生物素各剂量组给予高脂高糖饲料同时分别给予生物素0.6、3.0和6.0 mg/kg BW灌胃。在高脂高糖饲料喂养2月后,应用小剂量链脲佐菌素腹腔注射的方法建立2型糖尿病大鼠模型。于造模第10周进行OGTT实验后,处死大鼠。检测血糖、血清胰岛素、肝糖原、肌糖原等指标,用RT-PCR方法检测糖代谢关键限速酶GCK、PCK1基因的表达。结果 与模型组相比,生物素各剂量组对空腹血糖、血清胰岛素没有影响,但生物素高剂量组血糖曲线下面积明显下降($P < 0.05$),餐后30 min血糖值也显著降低($P < 0.05$)。生物素中剂量组和高剂量组肌糖原含量明显下降($P < 0.05$)。生物素对糖代谢关键限速酶GCK、PCK1的表达有影响,分别出现了明显的基因表达上调和下调($P < 0.05$)。结论 生物素可能通过影响糖代谢关键酶GCK和PCK1的活性,促进糖酵解和糖原合成而抑制糖异生,从而影响餐后血糖应答。

关键词: 生物素 血糖 2型糖尿病 葡萄糖激酶 磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶1
中图分类号: R155 R587.1 Q563.7 **文献标志码:** A

Effects of biotin on blood glucose regulation in type 2 diabetes rat model

XIANG Xuesong, LIU Yan, ZHANG Xuesong, ZHANG Wenzong, WANG Zhu

National Institute for Nutrition and Health, Chinese Center for Disease Control and Prevention, Beijing 100050, China

Abstract: Objective To explore the effect of biotin on blood glucose regulation in rats and its possible mechanism. **Methods** According to initial body weight and blood glucose, we randomly divided the 90 Wistar rats into 5 groups: the normal control group, model group, biotin low-dose group (0.6 mg/kg BW), biotin medium-dose group (3.0 mg/kg BW) and biotin high-dose group (6.0 mg/kg BW). After 2 months, the rats with HFS feed were injected with STZ (25 mg/kg BW) to manufacture diabetic rat model. After the OGTT experiment at 10th week, the blood glucose, insulin, liver/muscle glycogen and other biochemical indexes were detected. The GCK, PCK1 mRNA expression were measured with RT-PCR method. **Results** Biotin has a certain improvement on postprandial glucose in diabetic rats. Compared with the model group, the AUC and the

基金项目: 国家自然科学基金青年基金(No. 81302428)

作者简介: 向雪松,男,博士,助理研究员,研究方向: 食物营养, E-mail: sterling25@163.com

1 北京市东城区卫生服务管理中心

2 国家食品安全风险评估中心

3 通信作者: 王竹,女,博士,研究员,研究方向: 食物营养, E-mail: wzhblue@163.com

30min postprandial blood glucose of biotin high-dose group were significantly decreased ($P < 0.05$). Biotin can affect some key enzyme gene in glucose metabolism, such as GCK, PCK1. **Conclusion** The possible mechanism of the decreasing biotin blood sugar in diabetic rats may be by promoting the synthesis of glycogen and reducing gluconeogenesis.

Key words: biotin, blood glucose, type 2 diabetes, glucokinase, phosphoenolpyruvate carboxylase 1

生物素作为人体必需的维生素是体内 4 种羧化酶的辅酶,与糖脂代谢密切相关^[1]。以往认为人体可以通过肠内细菌合成产生生物素,除非存在先天性基因缺陷,生物素缺乏在人群中非常少见,因此有关生物素的研究相对较少。直到近 20 年,随着分子生物学技术的提高,人们才逐渐发现生物素可以通过组蛋白酶生物素化参与 2000 余个基因表达及其下游调节,在细胞水平和组织水平证明补充生物素可以影响胰岛素应答。近年研究表明在以往生理需要量的基础上,给予几倍或几十倍的高剂量生物素时,发现对糖脂代谢有较好的调节作用,甚至能够改善胰岛素应答^[2-3]。目前关于这方面的研究证据尚不充分,机制尚不明确,存在不同的结果^[4]。本研究通过 2 型糖尿病大鼠模型,探讨大剂量生物素对糖尿病大鼠血糖及其在糖代谢关键限速酶 GCK、PCK1 基因表达的影响。

1 材料与方法

1.1 实验动物

清洁级健康雄性 Wistar 大鼠 90 只,体重(150 ± 10) g,由中国医学科学院动物繁殖中心提供[合格证号: SCXK(京) 2009 - 0007]。饲养场所为中国疾病预防控制中心职业卫生与中毒控制所二级动物房[合格证号: SYXK(京) 2014 - 0043],室温(25 ± 2) °C、相对湿度(55 ± 5)%,12 h/12 h 光照,自由摄食和饮水。经中国疾病预防控制中心

表 1 实验大鼠分组及每日喂养情况

Table 1 Rat grouping and feeding conditions

组别	n	饲料	灌胃	剂量/(mg/kg BW)
正常对照组	10	普通维持饲料	饮用水	
模型组	20	高脂高糖饲料	饮用水	
生物素低剂量组	20	高脂高糖饲料	生物素	0.6
生物素中剂量组	20	高脂高糖饲料	生物素	3.0
生物素高剂量组	20	高脂高糖饲料	生物素	6.0

1.3.2 2 型糖尿病大鼠模型的建立及干预 参照本实验组以往方法,采用高糖高脂饲养联合小剂量链脲佐菌素(STZ)腹腔注射的方法建立 2 型糖尿病大鼠模型^[5]。在高脂高糖饲料喂养 2 月后,除正常对照组外,各组大鼠空腹注射 STZ(按

心实验动物福利伦理委员会通过。

1.2 试剂与仪器

生物素(协和药物研究所提供),血糖、甘油三酯、总胆固醇等检测试剂盒(北京中生北控生物技术有限公司),胰岛素检测试剂盒(北方生物技术有限公司),动物组织总 RNA 纯化试剂盒(北京博乐通生物技术有限公司),DNA 扩增试剂盒、SYBR Green I 荧光定量 PCR 试剂盒(美国 Biorad 公司)。

Synerg 4 多功能酶标仪(美国 Biotek 公司),ATC401 PCR 仪(美国 Nyx 公司),DYY-6C 型电泳仪(北京市六一仪器厂),BIO-PROFIL 型凝胶成像系统(法国 VilberLourmat 公司),ABI 7500 RT-PCR(美国 Applied Biosystems 公司)。全自动血生化仪(日立 Hitachi 公司 7080 型)。组合式 γ 计数仪(BH6020)型。

1.3 实验方法

1.3.1 动物分组 适应性喂养 5 天后,根据体重和血糖值将 90 只大鼠随机分为 5 组:正常对照组、模型组、生物素低剂量组、生物素中剂量组和生物素高剂量组。具体分组及喂养情况见表 1。饲料由中国医学科学院实验动物中心配制,高脂高糖饲料在普通维持饲料基础上添加 20% 脂肪和 10% 蔗糖,等质量替代部分玉米淀粉,其他成分与普通饲料相同。饲料经干燥后采用 Co^{60} 消毒。实验期间大鼠自由进食、饮水。

25 mg/kg BW^[7] 剂量给予),同时暂停灌胃,密切观察大鼠进食、体重变化,待大鼠稳定 1 周后恢复灌胃处理。生物素低、中和高剂量组,给予高脂高糖饲料同时继续分别按照 0.6、3.0 和 6.0 mg/kg BW 剂量的生物素灌胃。于造模第 10 周取空腹

血后进行 OGTT 实验,测定 FBG、PGB 水平,计算血糖 AUC。

1.3.3 样本采集 最后一次 OGTT 实验后,大鼠空腹过夜 称重后麻醉,经腹主动脉收集血样。分离取血清,测量血生化指标。解剖取心脏、肝脏和肾脏称重,计算脏体比;取肝脏和肌肉于 -20℃ 保存,用于测量肝糖原和肌糖原;另取肌肉和肝脏放入液氮速冻,并于 -80℃ 保存,用于 GCK、PCK1 基因的 PCR 实验。

1.4 生化分析

常规生化指标采用全自动血生化仪,参照试剂盒说明书进行测定:血糖采用葡萄糖氧化酶(GOD)法进行测定;TC、TG(酶比色法)、LDL-C(聚乙烯硫酸沉淀法)、HDL-C(磷钨酸-镁沉淀法)。血清胰岛素测定采用放免法。肝/肌糖原测定采用硫酸苯酚法。

1.5 GCK、PCK1 基因水平表达的检测

表 2 各种基因的详细信息

Table 2 Details of various genes

引物	基因登录号	序列(5'-3')	退火温度/℃
PCK1	NM_198780.3	上游: GACAAATCCGAACGCCATTA	55.5
		下游: TTCCTCATCCTGTGGTCTCC	
GCK	J04218.1	上游: TCACCTTCTCCTTCCCTGTG	56.3
		下游: ACTGTGTCGTTACCATTCG	

1.6 统计分析

采用 SPSS 16.0 软件进行数据分析,实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 one-way ANOVA 方差分析,任意两组间比较如方差齐性采用 LSD 法;方差不齐,同时参考 Tamhane's T2 和 Dunnett's T3 法判断结果。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 生物素对糖尿病大鼠存活情况和体重的影响

造模后各组大鼠的存活情况:模型组、生物素低、中剂量组各死亡 2 只大鼠,生物素高剂量组死亡 1 只大鼠。正常对照组无死亡。

与正常对照组相比,大鼠腹腔注射 STZ 造模

采用实时荧光定量 PCR 方法检测糖代谢关键限速酶 GCK、PCK1 的表达。取肌肉组织 50 mg,用动物组织总 RNA 纯化试剂盒提取总 RNA,以蛋白核酸分析仪测定 RNA 浓度;用 cDNA 合成试剂盒将上述提取出来的总 RNA 逆转录为 cDNA。最后用 RT-PCR Master Mix 进行非特异性的 PCR 扩增,每个样品均设 3 个重复孔。PCR 反应体系如下:SYBR Green I Mixture 7.5 μ l,上游引物(1 μ mol/L) 1 μ l,下游引物(1 μ mol/L) 1 μ l(引物序列见表 2),cDNA 1 μ l,加双蒸水补足至 15 μ l。使用 Real-time PCR 仪,第一阶段 50℃ 温浴 2 min,第二阶段 95℃ 预变性 5 min,第三阶段 94℃ 变性 30 s,退火(温度见表 2) 30 s,72℃ 延伸 40 s,共 40 个循环,在延伸步骤收集荧光信号。反应结束后,得到基因扩增曲线,并自动计算出各管 DNA 的 Ct 值。

后即出现多饮、多尿、体重下降等典型的糖尿病症状,各组大鼠体重有明显的下降趋势($P < 0.05$)。由表 3 可见,模型组大鼠体重在造模后前 3 周持续下降,从造模第 4 周开始稳定,在之后的几周内几乎维持在一个水平。和模型组相比,生物素高剂量组大鼠的体重在造模后第 2 周开始有小幅的回升,在第 4 周即开始有显著性差异($P < 0.05$)。

2.2 生物素对糖尿病大鼠糖耐量的影响

由表 4 可见,与正常对照组比较,模型组无论空腹血糖还是各时间点血糖均明显升高($P < 0.05$)。随着生物素灌胃剂量的增加,大鼠各个时间点的血糖值都随之下落,且存在剂量反应关系。与模型组相比,生物素高剂量组大鼠血糖曲线下面积明显下降($P < 0.05$),餐后 30 min 血糖值也显著降低($P < 0.05$)。

表 3 各组大鼠造模后体重变化情况

Table 3 Weekly body weight of rats after modeling ($\bar{x} \pm s$)

组别	0 周	1 周	2 周	3 周	4 周	6 周	8 周	10 周	12 周
正常对照组	487 \pm 41	498 \pm 45	516 \pm 48	522 \pm 47	529 \pm 48	543 \pm 57	546 \pm 57	564 \pm 62	577 \pm 65
模型组	548 \pm 60	513 \pm 55	511 \pm 58	496 \pm 61	488 \pm 67	490 \pm 82	497 \pm 94	496 \pm 98	499 \pm 107
生物素低剂量组	555 \pm 58	508 \pm 47	496 \pm 46	480 \pm 46	468 \pm 47	443 \pm 57 ⁽¹⁾	432 \pm 75 ⁽¹⁾	426 \pm 88 ⁽¹⁾	428 \pm 93
生物素中剂量组	566 \pm 68	525 \pm 63	526 \pm 67	516 \pm 71	512 \pm 76	509 \pm 84	506 \pm 95	506 \pm 103	507 \pm 92
生物素高剂量组	562 \pm 52	527 \pm 41	531 \pm 40	528 \pm 40	527 \pm 46 ⁽¹⁾	534 \pm 63 ⁽¹⁾	539 \pm 88 ⁽¹⁾	541 \pm 91 ⁽¹⁾	542 \pm 95 ⁽¹⁾

注: (1) 与模型组比较 $P < 0.05$

表 4 造模 10 周后的 OGTT 实验

Table 4 Glucose levels in each group after modeling 10 weeks ($\bar{x} \pm s$) mmol/L

组别	n	0 min	30 min	60 min	120 min	AUC
正常对照组	10	5.9 ± 0.9	11.4 ± 1.8	10.4 ± 1.1	9.8 ± 1.1	19.9 ± 2.2
模型组	18	17.0 ± 8.6 ⁽¹⁾	34.2 ± 11.2 ⁽¹⁾	35.9 ± 9.6 ⁽¹⁾	28.1 ± 7.2 ⁽¹⁾	62.3 ± 17.6 ⁽¹⁾
生物素低剂量组	18	21.1 ± 11.1 ⁽¹⁾	33.1 ± 12.7 ⁽¹⁾	34.6 ± 10.6 ⁽¹⁾	28.2 ± 11.0 ⁽¹⁾	61.8 ± 21.7 ⁽¹⁾
生物素中剂量组	18	13.8 ± 8.6 ⁽¹⁾	28.9 ± 9.3 ⁽¹⁾	32.2 ± 8.6 ⁽¹⁾	25.5 ± 8.5 ⁽¹⁾	54.8 ± 16.7 ⁽¹⁾
生物素高剂量组	19	13.4 ± 8.1 ⁽¹⁾	27.2 ± 12.4 ^(1,2)	30.2 ± 11.9 ⁽¹⁾	23.3 ± 10.6 ⁽¹⁾	51.2 ± 21.8 ^(1,2)

注: (1) 与正常对照组比较 $P < 0.05$; (2) 与模型组比较 $P < 0.05$

2.3 生物素对糖尿病大鼠空腹血糖、胰岛素、肝/肌糖原的影响

由表 5 可见,与正常对照组相比,模型组大鼠空腹血糖、肝糖原、肌糖原都明显升高 ($P < 0.05$),出现糖代谢紊乱。与模型组大鼠相比,

三个生物素剂量组空腹血糖值均无统计学差异。生物素对血清胰岛素没有影响,但是随着生物素剂量增加相应组别胰岛素含量也升高。生物素中剂量组和高剂量组大鼠肌糖原含量明显下降 ($P < 0.05$)。

表 5 糖尿病大鼠各组血糖、胰岛素、肝/肌糖原含量

Table 5 The level of GLU, serum insulin, liver glycogen and muscle glycogen in different groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	血糖/(mmol/L)	胰岛素/(mIU/L)	肌糖原/(mg/g)	肝糖原/(mg/g)
正常对照组	10	10.36 ± 4.14	65.54 ± 25.21	0.29 ± 0.13	0.49 ± 0.23
模型组	18	21.74 ± 7.56 ⁽¹⁾	26.42 ± 13.54 ⁽¹⁾	0.50 ± 0.22 ⁽¹⁾	4.92 ± 1.58 ⁽¹⁾
生物素低剂量组	18	19.90 ± 6.49 ⁽¹⁾	26.75 ± 7.19 ⁽¹⁾	0.46 ± 0.12	4.80 ± 1.56 ⁽¹⁾
生物素中剂量组	18	18.57 ± 5.10 ⁽¹⁾	32.57 ± 18.14 ⁽¹⁾	0.31 ± 0.09 ⁽²⁾	4.31 ± 1.48 ⁽¹⁾
生物素高剂量组	19	20.67 ± 4.71 ⁽¹⁾	31.97 ± 20.76 ⁽¹⁾	0.35 ± 0.14 ⁽²⁾	4.58 ± 1.33 ⁽¹⁾

注: (1) 与正常对照组比较 $P < 0.05$; (2) 与模型组比较 $P < 0.05$

2.4 生物素对大鼠肝组织 GCK mRNA 的影响

由表 6 可见,与模型组比较,各生物素剂量组大鼠 GCK 基因表达的结果都大于 1,基因表达上升。其中生物素高剂量组肝 GCK mRNA 的表达为模型组的 $2^{-\Delta\Delta Ct} = 3.36$ 倍,即表达量上调 236%,有统计学意义 ($P < 0.05$)。

表 6 各剂量组大鼠肝脏中 GCK 基因的相对表达水平 ($2^{-\Delta\Delta Ct}$)

Table 2 The relative level of GCK in liver

	ΔCt	$\Delta\Delta Ct$	$2^{-\Delta\Delta Ct}$
模型组	8.29		
生物素低剂量组	10.04	1.75	2.62 ± 2.17
生物素中剂量组	9.7	1.41	2.65 ± 2.10
生物素高剂量组	9.37	1.08	3.36 ± 2.45 ⁽¹⁾

注: (1) 与模型组比较 $P < 0.05$

2.5 生物素对大鼠肌肉组织 PCK1 mRNA 的影响

由表 7 可见,与模型组比较,各生物素剂量组大鼠 PCK1 基因表达的结果都小于 1,表明 PCK1

基因表达下调。其中生物素中剂量组和生物素高剂量组均有统计学意义 ($P < 0.05$)。

表 7 各剂量组大鼠肌肉中 PCK1 基因的相对表达水平 ($2^{-\Delta\Delta Ct}$)

Table 7 The relative level of PCK1 in muscle

Ct 值	模型组	生物素低剂量组	生物素中剂量组	生物素高剂量组
ΔCt	1.2	0.77	0.62	0.51
$\Delta\Delta Ct$		-0.43	-0.58	-0.69
$2^{-\Delta\Delta Ct}$		0.74 ± 0.35	0.67 ± 0.56 ⁽¹⁾	0.62 ± 0.47 ⁽¹⁾

注: (1) 与模型组比较 $P < 0.05$

3 讨论

生理浓度的生物素是糖代谢关键基因正常表达和维持葡萄糖和血脂稳态所必须的。生物素代谢的缺陷可以导致高血脂,促进糖尿病的发生^[6-7]。有报道显示,补充生物素,能降低高血脂,逆转葡萄糖不耐受,改善糖尿病状态。在 OLETF 小鼠^[8]、KK 小鼠^[9]、链脲霉素诱导的 1 型

糖尿病小鼠以及 1 型糖尿病患者或 2 型糖尿病患者^[4]中得到了证实。但是也有许多研究者认为目前的研究证据还不够充分,在不同研究、不同实验动物或者不同人群中得出的结论存在不一致^[10]。2010 年欧洲食品安全局 (EFSA) 对有关生物素健康声称的审批中,通过了生物素有利于维持皮肤黏膜正常;生物素有利于维持毛发正常

的声称,但认为生物素防治高血糖和高血脂症的证据还不充足。

出现以上争论的原因,可能有两个:一是缺乏生物素单独效应的研究,上述大多数研究都联合铬或其他处理因素。二是缺乏生物素的有效剂量的探讨,例如同样是人群实验,生物素补充剂量从 0.5~16 mg/d 都有使用,在动物实验中生物素使用剂量的变化就更大了。

本研究通过 2 型糖尿病大鼠模型,探讨了生物素不同剂量(0.6~6 mg/kg BW)的单独作用。发现单独应用生物素,在高剂量生物素(6.0 mg/kg BW)水平时,虽然对空腹血糖无显著影响,但较明显地延缓了餐后血糖水平的升高,降低血糖峰值和 AUC 值,改善糖尿病大鼠的糖耐量。这与 FERNANDEZ-MEJIA 等^[11]对糖尿病大鼠的研究结果相近。本研究还探讨了不同剂量的生物素对血糖的调节作用,证明 3.0 mg/kg BW 是可观察到的最低有效剂量,按照成人体重 60 kg,大鼠与人体转换系数 20 进行计算,推算人体可能有效剂量为 9 mg/d。

糖脂代谢是一个复杂的调节网络,需要多个通路共同完成,如:胰岛素通路、JAK/STAT 通路、TOR 通路、脂肪细胞因子通路等。但目前对生物素在分子调节机制方面的认识还较少,仅有少量研究探讨了生物素对某些基因如 AMPK、SREBP-1c、GLUT-4、PPAR γ 等的调节作用^[11-12]。本研究发现生物素对糖代谢关键限速酶 GCK、PCK1 的表达有影响,分别出现了明显的基因表达上调和下调。其中 GCK 是糖酵解和糖原合成的关键酶,它的表达上调有利于促进糖尿病大鼠的糖酵解和糖原合成,从而降低血糖^[13]。PCK1 是糖异生的关键酶,它的表达下调有利于抑制糖异生而降低血糖。该结果与之前所述的生化指标和组织形态学等指标存在一致性。

本实验中未发现生物素对血脂的改善作用,这与其他人的研究有出入^[14]。可能与大鼠模型有关,本实验大鼠未出现血脂异常,影响到生物素功能的观察;也可能由于实验时间较短,生物素的作用尚未显现;还可能是它本身并没有这一功能。在后续的研究中,可尝试对这一问题进行更为全面深入的研究。

参考文献

- [1] ZEMPLENI J, KUROISHI T. Biotin [J]. *Adv Nutr*, 2012, 3(2): 213-214.
[2] SAHIN K, TUZCU M, ORHAN C, et al. Anti-

diabetic activity of chromium picolinate and biotin in rats with type 2 diabetes induced by high-fat diet and streptozotocin [J]. *Br J Nutr*, 2013, 110(2): 197-205.

- [3] LAZO D L V M, LARRIETA E, GERMAN M S, et al. Effects of biotin supplementation in the diet on insulin secretion, islet gene expression, glucose homeostasis and beta-cell proportion [J]. *J Nutr Biochem*, 2013, 24(1): 169-177.
[4] REVILLA-MONSALVE C, ZENDEJAS-RUIZ I, ISLAS-ANDRADE S, et al. Biotin supplementation reduces plasma triacylglycerol and VLDL in type 2 diabetic patients and in nondiabetic subjects with hypertriglyceridemia [J]. *Biomed Pharmacother*, 2006, 60(4): 182-185.
[5] 向雪松,王竹,祝宇铭,等. 链脲佐菌素注射剂量对建立 2 型糖尿病大鼠模型的影响 [J]. *卫生研究* 2010, 39(2): 138-142.
[6] VELAZQUEZ-ARELLANO A, ORTEGA-CUELLAR D, HERNANDEZ-MENDOZA A, et al. A heuristic model for paradoxical effects of biotin starvation on carbon metabolism genes in the presence of abundant glucose [J]. *Mol Genet Metab*, 2011, 102(1): 69-77.
[7] MOCK D M. Marginal biotin deficiency is teratogenic in mice and perhaps humans: a review of biotin deficiency during human pregnancy and effects of biotin deficiency on gene expression and enzyme activities in mouse dam and fetus [J]. *J Nutr Biochem*, 2005, 16(7): 435-437.
[8] SASAKI Y, SONE H, KAMIYAMA S, et al. Administration of biotin prevents the development of insulin resistance in the skeletal muscles of Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty rats [J]. *Food Funct*, 2012, 3(4): 414-419.
[9] REDDI A, DEANGELIS B, FRANK O, et al. Biotin supplementation improves glucose and insulin tolerances in genetically diabetic KK mice [J]. *Life Sci*, 1988, 42(13): 1323-1330.
[10] BAEZ-SALDANA A, ZENDEJAS-RUIZ I, REVILLA-MONSALVE C, et al. Effects of biotin on pyruvate carboxylase, acetyl-CoA carboxylase, propionyl-CoA carboxylase, and markers for glucose and lipid homeostasis in type 2 diabetic patients and nondiabetic subjects [J]. *Am J Clin Nutr*, 2004, 79(2): 238-243.
[11] FERNANDEZ-MEJIA C. Pharmacological effects of biotin [J]. *J Nutr Biochem*, 2005, 16(7): 424-427.

(下转第 195 页)

- Metabolism of 1,3-butadiene to toxicologically relevant metabolites in single-exposed mice and rats [J]. *Chem Biol Interact* 2007, 166 (1-3): 93-103.
- [3] LOEBER R, RAJESH M, FANG Q, et al. Cross-Linking of the Human DNA Repair Protein O6-Alkylguanine DNA Alkyltransferase to DNA in the Presence of 1,2,3,4-Diepoxybutane [J]. *Chem Res Toxicol* 2006, 19(5): 645-654.
- [4] 刘楠,李斌,关维俊,等. DNA 修复基因多态性对 1,3-丁二烯作业工人染色体损伤的影响[J]. *毒理学杂志* 2014, 28(4): 278-281.
- [5] 刘楠,关维俊,孟会林,等. 1,3-丁二烯作业工人 XRCC4 基因多态性与染色体损伤的关系[J]. *卫生研究*, 2010, 39(4): 407-411.
- [6] 刘楠,王学生,孟会林,等. 1,3-丁二烯作业工人外周血淋巴细胞遗传物质损伤水平的研究[J]. *卫生研究*, 2013, 42(5): 754-757.
- [7] GAJSKI G, GERIĆ M, OREŠĆANIN V, et al. Cytogenetic status of healthy children assessed with the alkaline comet assay and the cytokinesis-block micronucleus cytome assay [J]. *Mutat Res*, 2013, 750(1-2): 55-62.
- [8] 何艳嫦,凌步致,钟俊东. 淋巴细胞的转化实验[J]. *医学信息:下旬刊* 2011, 24(7): 314-315.
- [9] 朱志良,庄志雄,黄钰,等. 单细胞凝胶电泳图象分析系统的研制与应用[J]. *中华劳动卫生职业病杂志*, 2001, 19(4): 298-300.
- [10] WOJEWODZKA M, KRUSZEWSKI M, BURACZEWSKA I, et al. Sirtuin inhibition increases the rate of non-homologous end-joining of DNA double strand breaks [J]. *Acta Biochim Pol*, 2007, 54(1): 63-69.
- [11] SOETEMAN-HERNÁNDEZ L G, BOS P M, TALHOUT R. Tobacco smoke-related health effects induced by 1,3-butadiene and strategies for risk reduction [J]. *Toxicol Sci*, 2013, 136(2): 566-580.
- [12] LIU Shengxue, AO Lin, DU Bing, et al. HPRT mutations in lymphocytes from 1,3-butadiene-exposed workers in China [J]. *Environ Health Perspect*, 2008, 116(2): 203-208.
- [13] GROSSE Y, BAAN R, STRAIF K, et al. Carcinogenicity of 1,3-butadiene, ethylene oxide, vinyl chloride, vinyl fluoride, and vinyl bromide [J]. *Lancet Oncol*, 2007, 8(8): 679-680.
- [14] ZEYBEK U, YAYLIM I, OZKAN N E, et al. Cyclin D1 gene G870A variants and primary brain tumors [J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2013, 14(7): 4101-4106.
- [15] CATARINO R, MATOS A, PINTO D, et al. Increased risk of cervical cancer associated with cyclin D1 gene A870G polymorphism [J]. *Cancer Genet Cytogenet*, 2005, 160(1): 49-54.
- [16] AYTEKIN T, AYTEKIN A, MARALCAN G, et al. A cyclin D1 (CCND1) gene polymorphism contributes to susceptibility to papillary thyroid cancer in the Turkish population [J]. *Asian Pac J Cancer*, 2014, 15(17): 7181-7185.

收稿日期: 2014-05-28

(上接第 189 页)

- [12] SASAKI Y, SONE H, KAMIYAMA S, et al. Administration of biotin prevents the development of insulin resistance in the skeletal muscles of Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty rats [J]. *Food Funct*, 2012, 3(4): 414-419.
- [13] SUGITA Y, SHIRAKAWA H, SUGIMOTO R, et al. Effect of biotin treatment on hepatic gene expression in streptozotocin-induced diabetic rats [J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2008, 72(5): 1290-1298.
- [14] MOCK D M, JOHNSON S B, HOLMAN R T. Effects of biotin deficiency on serum fatty acid composition: evidence for abnormalities in humans [J]. *J Nutr*, 1988, 118(3): 342-348.

收稿日期: 2014-12-18