

• 基础研究 •

妊娠期糖尿病状态下小鼠棕色脂肪组织转录组学分析及产热活性变化

潘怡慧¹ 肖文² 朱玉婷¹ 殷亚东¹ 刘岚^{1*}

1.南京医科大学附属妇产医院,南京市妇幼保健院(210004);2.江苏第二师范学院

摘要 目的:探讨妊娠期糖尿病(GDM)小鼠棕色脂肪组织(BAT)转录组学变化以及产热活性变化。方法:通过高通量测序技术分析6例孕晚期小鼠(正常妊娠对照组和GDM组各3例)BAT的转录组表达谱,以筛选差异表达基因,并进行基因本体(GO)和京都基因及基因组百科全书(KEGG)分析。采用免疫组织化学、蛋白免疫印迹和实时荧光定量PCR方法检测产热功能标志蛋白解偶联蛋白(UCP1)表达,评估GDM状态下小鼠BAT产热活性变化。结果:高通量测序共识别出372个差异表达基因,其中255个差异基因在GDM中上调表达,117个差异基因下调表达。GO和KEGG分析表明,这些差异基因的主要靶点与脂代谢异常、胰岛素信号转导等密切相关。与对照组相比,GDM组BAT出现脂滴增大、质地疏松改变,UCP1蛋白及基因表达降低。结论:GDM组BAT与正常妊娠者转录组图谱存在显著差异,且GDM组BAT产热活性下降,可能引起糖脂代谢紊乱及胰岛素抵抗。

关键词 妊娠期糖尿病;小鼠;棕色脂肪组织;转录组测序分析;产热活性

Analysis of the transcriptomics and the thermogenic activity changes of brown adipose tissue of pregnant mice with gestational diabetes mellitusPAN Yihui¹, XIAO Wen², ZHU Yuting¹, YIN Yadong¹, LIU Lan¹

1. Women's Hospital affiliated to Nanjing Medical University (Nanjing Maternity and Child Health Care Hospital), Nanjing, Jiangsu Province, 210004; 2. Jiangsu Second Normal University, Nanjing

Abstract Objective: To investigate the transcriptomics change of brown adipose tissue (BAT) of pregnant mice with gestational diabetes mellitus (GDM), and to study its influence on the thermogenic activity changes. Methods: The transcriptome expression profiles of 6 pregnant mice were analyzed by high-throughput sequencing, which included 3 normal pregnant mice in group A and 3 pregnant mice with GDM in group B. The differentially expressed genes of the mice were screening. The gene ontology (GO) and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) analyses were performed. The expression of the uncoupling protein 1 (UCP1) of marker protein of the mice was detected by immunohistochemistry, Western blot, and real-time PCR in order to evaluate the thermogenic activity of BAT of the mice with GDM. Results: The high-throughput sequencing had identified 372 differentially expressed genes, of which, 255 genes of the mice with GDM were down-regulated and 117 genes were up-regulated. GO and KEGG analysis showed that the main targets of these differential genes of the mice were closely related to the abnormal lipid metabolism and the insulin signal transduction. Compared with those of the mice in group A, BAT of the mice in group B showed the increased lipid droplets, the loose texture, and the decreased UCP1 protein and gene expressions. Conclusion: The transcriptome profiles in BAT of the mice with GDM are significantly different from that of the mice with normal pregnancy. The thermogenic activity of the mice with GDM decreases, which may cause the glucolipid metabolism and insulin resistance disorders of these mice.

Key words Gestational diabetes mellitus; Brown adipose tissue; Transcriptome sequencing analysis; Thermogenic activity

DOI:10.3969/j.issn.1004-8189.2023.03.002

基金资助:国家自然科学基金面上项目(82070879)

收稿日期:2022-09-26 修回日期:2023-01-11

* 通信作者:liulanivy@qq.com

妊娠期糖尿病(GDM)不仅在早期增加巨大儿、剖宫产率、妊娠期高血压等不良妊娠结局风险,母儿双方在产后远期发生糖脂代谢异常及肥胖的可能性也显著提高^[1-2]。大量研究表明脂肪组织在全身能量代谢稳态维持方面起着关键作用,棕色脂肪组织(BAT)可以将机体多余的能量通过线粒体解偶联蛋白(UCP1)以热量形式释放,进而实现减重、降糖的功效益^[2-3]。已证实 BAT 扩张的 SM/J 小鼠在没有体重下降的情况下改善了葡萄糖耐量和胰岛素敏感性^[4],而 BAT 移植可有效逆转 1 型糖尿病小鼠多饮、多食、多尿症状^[5]。但 BAT 能量代谢水平在 GDM 疾病中的变化仍不清楚,其改变与 GDM 发生发展的相关性亟待探索。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物 清洁级 6 周龄雌性(C57BL/6J)小鼠 20 只、8 周龄雄性 C57BL/6J 小鼠 10 只,均购于南京医科大学医药实验动物中心,饲养于南京医科大学实验动物中心清洁级环境,保持 12h 光/暗周期,室温 24℃,湿度 50%,自由饮水、摄食。

1.1.2 主要试剂 链脲佐菌素(STZ)(美国 Sigma 公司),RIPA(中国碧云天生物技术公司),蛋白酶抑制剂、磷酸酶抑制剂(美国 Roche 公司),BCA 定量试剂盒(美国 Thermo Fisher 公司)、UCP1、HSP90 抗体(英国 Abcam 公司)、ECL 发光液(美国 Millipore 公司)、Trizol(美国 Life Technologies 公司),RNA 提取试剂盒(中国天根生化科技公司)、逆转录试剂盒(两步法,中国诺唯赞生物科技公司)、SYBR Green Master Mix(美国 Life Technologies 公司)、RNA 引物(上海捷瑞生物工程公司)。

1.2 方法

1.2.1 动物造模 经过团队前期研究,已探索出高脂饮食联合小剂量 STZ 构建稳定 GDM 小鼠模型方法^[6]。本研究中 6 周龄雌性 C57BL/6J 小鼠随机分为 GDM 疾病模型组及正常妊娠组(Ctrl),两组适应性喂养 1 周,给予高脂饮食 1 月后予雌:雄=2:1 合笼,次日晨检栓,有栓者视作妊娠并记为 G0。G3 当日 Ctrl 组注射 0.1mmol/L 柠檬酸/柠檬酸钠缓冲液,GDM 组腹腔注射 1% STZ 30mg/kg(溶于 0.1mmol/L 上述缓冲液,pH 4.2~4.5)以破坏胰岛 β 细胞,连续注射 3 日,距第 1 次注射后 72h 测随机血

糖(RBG) ≥ 11.1 mmol/L 为造模成功。两组均于孕晚期(G18d)处死,收集小鼠肩胛处 BAT。

1.2.2 动物血糖监测 采用血糖仪(美国 Roche 公司)检测小鼠尾静脉 RBG 水平。

1.2.3 转录组测序(RNA-Seq)分析 BAT 转录组基因 选取周龄匹配 GDM 疾病模型小鼠(3 例)与 Ctrl 组小鼠(3 例)的 BAT 提取的 RNA 构建测序文库,应用新一代高通量测序平台 HiSeq2000 系统进行测序分析,筛选并确定差异表达的候选基因,对差异表达基因进行聚类分析、GO 分析和 KEGG Pathway 分析。

1.2.4 染色、免疫组织化学检测 小鼠肩胛处 BAT 使用脂肪专用固定液固定,石蜡包埋、切片,苏木精-伊红(HE)染色、免疫组化 UCP1 抗体孵育,生物显微镜观察摄影。其中一抗 UCP1 的浓度是 1:500。

1.2.5 蛋白免疫印迹(Western blot) 剪取 BAT 加入到组织细胞裂解液中(含 1%蛋白酶抑制剂),匀浆后离心取上清,测定蛋白浓度。用 10%的 SDS 凝胶分离等量蛋白,经转膜、5%脱脂奶粉封闭、一抗及二抗孵育,最后用全自动化学发光图像分析系统(中国 Tanon 公司)曝光,Image J 软件分析结果。其中一抗 UCP1、HSP90 的浓度是 1:1000。

1.2.6 总 RNA 提取和实时荧光定量 PCR(RT-qPCR) 采用 Trizol 法提取小鼠 BAT 组织的总 RNA,将其反转录为 cDNA,检测产热标志基因 Ucp1(上游引物(5'-3'):AGGCTTCCAGTACCATT-AGGT,下游引物(5'-3'):CTGAGTGAG-GCAAAGCTGATTT)、Ppara(上游引物(5'-3'):ATGCCAGTACTGCCGTTTTC,下游引物(5'-3'):GGCCTTGACCTTGTTTCATGT)及线粒体功能标志基因 Cox7a(上游引物(5'-3'):CAGCGT-CATGGTCAGTCTGT,下游引物(5'-3'):AGAAAACCGTGTGGCAGAGA)、Cpt1 α (上游引物(5'-3'):CTCCGCCTGAGCCATGAAG,下游引物(5'-3'):CACCAGTGATGATGCCATTCT)的 mRNA 水平。基因的相对表达量采用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 方法分析,内参照基因选取 Ppia(上游引物(5'-3'):GAGCTGTTTGCAGACAAAGTTC,下游引物(5'-3'):CCCTGGCACATGAATCCTGG)。

1.3 统计学处理

采用 GraphPad Prism 8 统计分析。两组比较采用独立样本 t 检验,数据用($\bar{x} \pm s$)表示。以 $P <$

0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 GDM 疾病模型构建

小鼠随机分为两组,高脂饮食 1 月以产生胰岛素抵抗,此时两组小鼠 RBG $[(9.92\pm 0.59)\text{mmol/L}$ 比 $(10.58\pm 0.56)\text{mmol/L}$, $P>0.05$]无差异。对照组予柠檬酸/柠檬酸钠缓冲液、疾病造模组予 1% STZ 以降低胰岛 β 细胞能力,连续腹腔注射 3 日。第 1 次注射后 72h 处理组 RBG 升高 $[(10.52\pm 1.00)\text{mmol/L}$ 比 $(12.50\pm 0.82)\text{mmol/L}$, $P<0.01$],提示 GDM 疾病模型构建成功(图 1A,738 页)。

2.2 RNA-seq 检测差异基因的一般特征

本研究采用下一代测序平台 HiSeq 2500 对 GDM 疾病模型小鼠和正常妊娠孕晚期小鼠肩胛间 BAT 基因表达谱进行检测,主成分分析(PCA)显示两组小鼠 BAT 组内可相互聚集,提示样本间具有一定相似性(图 1B,738 页)。高通量测序共识别出 34745 个基因。根据差异倍数 ≥ 2 且 $P<0.05$ 的标准,共筛选出 372 个差异表达基因,其中 255 个在 GDM 中上调表达,而 117 个在 GDM 中下调表达(图 2A,738 页)。尽管样本间存在一定组内差异,但对差异基因的聚类分析仍可以明显将 GDM 组和 Ctrl 组分为两组(图 2B,738 页)。

2.3 差异基因 GO 和 KEGG 富集分析

对差异基因进行功能注释,GO 分析表明,分子功能方面,显著富集的术语前 10 项依次是电压门控 Na^+ 通道活性、 Na^+ 通道活性、蛋白质酪氨酸/丝氨酸/苏氨酸磷酸酶活性、 Ca^{2+} 跨膜转运蛋白活性、电压门控离子通道活性、 Na^+ 跨膜转运蛋白活性、电压门控阳离子通道活性、蛋白偶联受体结合、 Ca^{2+} 结合及脂质结合(图 3A,738 页)。生物过程方面,显著富集的术语前 10 项依次是脂肪酸氧化的调控、胰岛素受体信号通路的负调控、长链脂肪酸转运、磷脂酰胆碱代谢过程、促性腺激素反应、脂肪酸转运、胰岛素受体信号通路的调控、 Ca^{2+} 向胞浆的转运、胞浆 Ca^{2+} 转运及 Ca^{2+} 导入(图 3B,738 页)。细胞组分方面,显著富集的术语前 10 项依次是电压门控 Na^+ 通道复合体、 Na^+ 通道复合体、蛋白质脂质复合物、胞间接触区、阳离子通道复合体、核外膜内质网膜网络、内质网膜、细胞外间隙、内质网及蛋白质复合物(图 3C,738 页)。

KEGG 通路分析进一步表明这些差异表达基因的产物在内分泌系统、代谢途径尤其是脂质代谢途径富集,提示 BAT 可能通过调控体内内分泌及脂质代谢调节参与 GDM 的发生(图 4A,739 页)。在显著富集的前 30 项通路中,脂肪酸生物合成过程居首位,此外,卵巢类固醇激素生成、催产素信号通路等生殖激素相关通路也有较高程度的差异基因富集(图 4B,739 页)。

2.4 GDM 疾病模型小鼠 BAT 产热活性变化

考虑到 GDM 状态下 BAT 差异表达基因在能量代谢方面富集,而 BAT 产热功能与能量代谢息息相关,故进一步对 BAT 的产热活性进行评估。HE 切片结果显示,GDM 小鼠 BAT 细胞内脂滴明显增大,伴脂肪细胞密度减小、组织疏松。免疫组织化学检测显示,GDM 小鼠 BAT 产热功能标志蛋白 UCP1 染色变浅,说明其蛋白含量降低(图 5,739 页)。Western blot 检测结果可见,GDM 小鼠 BAT 产热标志蛋白 UCP1 表达显著降低 $(1.00\pm 0.22$ 比 0.61 ± 0.02 , $P<0.05$) (图 6,739 页)。RT-qPCR 结果显示,GDM 小鼠 BAT 产热功能标志基因 *Ucp1* $(1.00\pm 0.33$ 比 0.55 ± 0.27 , $P<0.01$)、*Ppara* $(1.00\pm 0.27$ 比 0.72 ± 0.21 , $P<0.05$) 及线粒体功能标志基因 *Cox7a* $(1.00\pm 0.29$ 比 0.72 ± 0.20 , $P<0.05$)、*Cpt1a* $(1.00\pm 0.23$ 比 0.75 ± 0.17 , $P<0.05$) 表达均下调(图 7,739 页)。

3 讨论

本研究通过高通量测序对 GDM 疾病模型小鼠及正常妊娠孕晚期小鼠肩胛间 BAT 进行转录组基因检测,筛选出大量差异表达的基因,进一步 GO 分析和 KEGG 通路分析提示差异基因主要在脂质代谢、胰岛素信号转导、内分泌途径富集。本研究中,促脂肪沉积重要基因骨骼肌细胞修复因子 (TRIM72)、血管紧张素转换酶 (ACE)、磷脂酶 A2G4F (PLA2G4F) 在 GDM 组 BAT 中上调表达。TRIM72 通过上调脂代谢关键调节因子过氧化物酶体增殖物激活受体 α (PPAR α) 及其靶基因的表达水平,促进脂质摄取,导致脂质蓄积和毒性^[7]。此外,TRIM72 还可通过靶向胰岛素受体 (INSR) 和胰岛素受体底物 1 (IRS-1) 的泛素依赖性降解损伤胰岛素信号通路,导致肌肉胰岛素抵抗^[7-8]。ACE 是肾素-血管紧张素系统 (RAS) 的关键基因,在脂代谢

中,激活 RAS 既能上调脂肪合成酶、脂肪酸合成酶和甘油-3-磷酸脱氢酶的转录活性,促进脂质合成,又能通过血管紧张素 1 型受体(AT1R)抑制脂质分解,最终导致脂肪囤积^[9]。相应的,脂肪细胞分化负调节剂视黄酸结合蛋白 1(Crabbp1)表达在 GDM 组显著下降。

以上转录组测序结果提示,GDM 疾病状态下 BAT 中脂质及葡萄糖分解代谢受到抑制,致使产热能量来源受限。同时结合多种 Ca^{2+} 通道如兰尼碱受体 1(RyR1)、分泌途径衍生 Ca^{2+} 转运 ATP 酶(SPCA2)、L 型 Ca^{2+} 通道(CaV1.1)等在 GDM 组 BAT 中上调,可通过引起细胞内过量 Ca^{2+} 积累,线粒体活性氧(ROS)异常增加,进而影响“产热工厂”线粒体的功能及数目^[10]。笔者作出假设,BAT 产热活性在 GDM 小鼠孕晚期可能发生损伤,这在进一步动物实验中得到证实。一致地,Xing 等^[11]通过高脂饮食诱导的 GDM 疾病小鼠中也发生类似改变。

既往研究表明,仅妊娠过程即可造成孕鼠核心体温、能量消耗及 BAT 组织中 UCP1 表达下降^[12]。这些改变在妊娠第 11~13 天即啮齿类动物的孕中期出现,在孕晚期达到顶峰,哺乳期结束后恢复,此变化与妊娠期性激素水平变化趋势一致^[13]。此前多项研究证实性激素可影响 BAT 活性^[14-15],其作用效果或许与性激素浓度或受体信号改变有关^[16]。高水平 E_2 下调脂肪组织 IRS-1 表达和磷酸化,导致脂肪组织功能障碍和胰岛素抵抗^[17]。Rodriguez 等^[18]发现孕酮对人棕色脂肪细胞 Ucp1 mRNA 上调作用仅在低浓度条件下进行。而相比正常妊娠孕妇,GDM 妇女在孕晚期存在更高水平的雌二醇^[19]、孕酮及合成前体孕烯醇酮^[19-20]。本研究中,卵巢类固醇生成的局部调节剂蛋白质核结合蛋白 2(NUCB2)、受发情周期影响的碘化钠同向转运体表达在 GDM 组 BAT 中均显著升高,这种较正常妊娠状态更为活跃的促性腺激素反应,或许能够解释 BAT 在 GDM 疾病背景下出现的产热活性过度受损,但这需要在体内外途径进行更严密的论证。

BAT 凭借能将脂质、葡萄糖等能量底物转化为热能的特点而被认为可能是未来改善肥胖及 2 型糖尿病(T2DM)的新策略。本研究首次借助 RNA-seq 发现 BAT 在 GDM 疾病背景下发生脂质代谢、胰岛素信号转导及内分泌调控分子改变,动物实验证实 BAT 产热功能发生显著损伤。正常妊娠过程中,

UCP1 介导的 BAT 产热作用减少不仅为妊娠期合成代谢提供能量,且能避免母体 UCP1 产热对胎盘营养物质运输和胎儿生长的抑制作用。BAT 在 GDM 疾病状态下发生的产热过度减少,可能为 GDM 发病机制及治疗提供新的研究思路和突破口。但本研究未给出 GDM 状态下 BAT 产热功能受性激素调控的直接证据,其次研究对象为 C57BL/6J 小鼠,且样本量有限,下一步拟通过临床评估 GDM 孕妇 BAT 产热活性变化以扩大数据量,并通过构建动物及细胞模型进行机制探索。

参考文献

- [1] Wu Y, Liu B, Sun Y, et al. Association of maternal prepregnancy diabetes and gestational diabetes mellitus with congenital anomalies of the newborn[J]. *Diabetes Care*, 2020, 43(12): 2983-2990.
- [2] Cohen P, Kajimura S. The cellular and functional complexity of thermogenic fat[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2021, 22(6): 393-409.
- [3] Maliszewska K, Kretowski A. Brown adipose tissue and its role in insulin and glucose homeostasis[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(4): 1530.
- [4] Carson C, Macias-velasco J F, Gunawardana S, et al. Brown adipose expansion and remission of glycemic dysfunction in obese SM/J mice[J]. *Cell Rep*, 2020, 33(1): 108237.
- [5] Gunawardana S C, Piston D W. Reversal of type 1 diabetes in mice by brown adipose tissue transplant[J]. *Diabetes*, 2012, 61(3): 674-682.
- [6] Yin Y, Pan Y, He J, et al. The mitochondrial-derived peptide MOTS-c relieves hyperglycemia and insulin resistance in gestational diabetes mellitus [J]. *Pharmacol Res*, 2022, 175: 105987.
- [7] Wu H K, Zhang Y, Cao C M, et al. Glucose-sensitive myokine/cardiokine MG53 regulates systemic insulin response and metabolic homeostasis[J]. *Circulation*, 2019, 139(7): 901-914.
- [8] Jiang P, Ren L, Zhi L, et al. Negative regulation of AMPK signaling by high glucose via E3 ubiquitin ligase MG53[J].

- Mol Cell, 2021, 81(3): 629-637.e5.
- [9] Pahlavani M, Kalupahana N S, Ramalingam L, et al. Regulation and functions of the renin-angiotensin system in white and brown adipose tissue[J]. Compr Physiol, 2017, 7(4): 1137-1150.
- [10] Arruda A P, Hotamisligil G S. Calcium homeostasis and organelle function in the pathogenesis of obesity and diabetes [J]. Cell Metab, 2015, 22(3): 381-397.
- [11] Xing B, Wang L, Li Q, et al. Hsp70 plays an important role in high-fat diet induced gestational hyperglycemia in mice[J]. J Physiol Biochem, 2015, 71(4): 649-658.
- [12] Qiao L, Lee S, Nguyen A, et al. Regulatory effects of brown adipose tissue thermogenesis on maternal metabolic adaptation, placental efficiency, and fetal growth in mice[J]. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2018, 315(6): E1224-E1231.
- [13] Frontera M, Pujol E, Rodríguez-Cuenca S, et al. Rat brown adipose tissue thermogenic features are altered during mid-pregnancy[J]. Cell Physiol Biochem, 2005, 15(5): 203-210.
- [14] Rodriguez A M, Monjo M, Roca P, et al. Opposite actions of testosterone and progesterone on UCP1 mRNA expression in cultured brown adipocytes[J]. Cell Mol Life Sci, 2002, 59(10): 1714-1723.
- [15] Gupte A A, Pownall H J, Hamilton D J. Estrogen: an emerging regulator of insulin action and mitochondrial function[J]. J Diabetes Res, 2015, 2015:916585.
- [16] Law J, Bloor I, Budge H, et al. The influence of sex steroids on adipose tissue growth and function[J]. Horm Mol Biol Clin Investig, 2014, 19(1): 13-24.
- [17] González C, Alonso A, Díaz F, et al. Dose-and time-dependent effects of 17beta-oestradiol on insulin sensitivity in insulin-dependent tissues of rat: implications of IRS-1[J]. J Endocrinol, 2003, 176(3): 367-379.
- [18] Ondrejiková L, Parízek A, Šimják P, et al. Altered steroidome in women with gestational diabetes mellitus: focus on neuroactive and immunomodulatory steroids from the 24th week of pregnancy to labor[J]. Biomolecules, 2021, 11(12): 1746.
- [19] Yuan T, Li Y. Steroid profiling and genetic variants in Chinese women with gestational diabetes mellitus[J]. J Steroid Biochem Mol Biol, 2021, 214:105999.
- [20] Zhang Z, Kang X, Guo Y, et al. Association of circulating galectin-3 with gestational diabetes mellitus, progesterone, and insulin resistance[J]. J Diabetes, 2021, 13(1): 54-62.

[责任编辑:张璐]

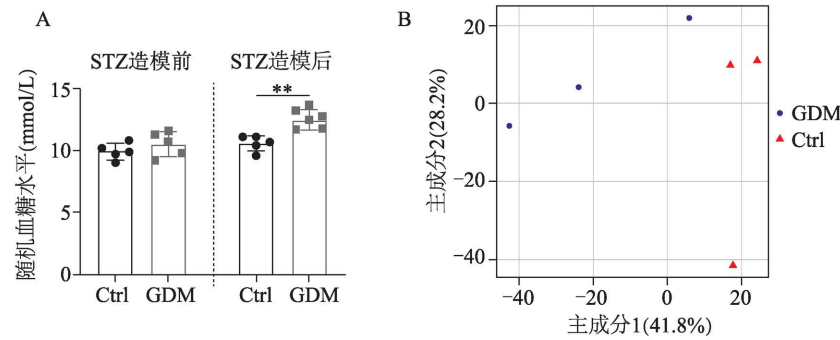
(上接 494 页)

- [13] Yuan LQ, Zhang T, Xu L, et al. miR-30c-5p inhibits glioma proliferation and invasion via targeting Bcl2[J]. Transl Cancer Res, 2021, 10(1): 337-348.
- [14] Song S, Long M, Yu G, et al. Urinary exosome miR-30c-5p as a biomarker of clear cell renal cell carcinoma that inhibits progression by targeting HSPA5[J]. J Cell Mol Med, 2019, 23(10): 6755-6765.
- [15] Zhao WX, Lin JH. Notch signaling pathway and human placenta[J]. Int J Med Sci, 2012, 9(6): 447-452.
- [16] Wang H, Cheng H, Shao Q, et al. Leptin-promoted human extravillous trophoblast invasion is MMP14 dependent and requires the cross talk between Notch1 and PI3K/Akt signaling [J]. Biol Reprod, 2014, 90(4): 78.
- [17] 余涵. 骨髓间充质干细胞旁分泌 miR-30c-5p 调节脑缺血再灌注中小胶质细胞极化的作用及机制研究[D]. 武汉:武汉大学, 2020.
- [18] 张营, 李敏, 姜龙环, 等. 子痫前期 miR-30c-5p 和 Notch1 的表达及相关性[J]. 中国药业, 2022, (S01): 116-120.

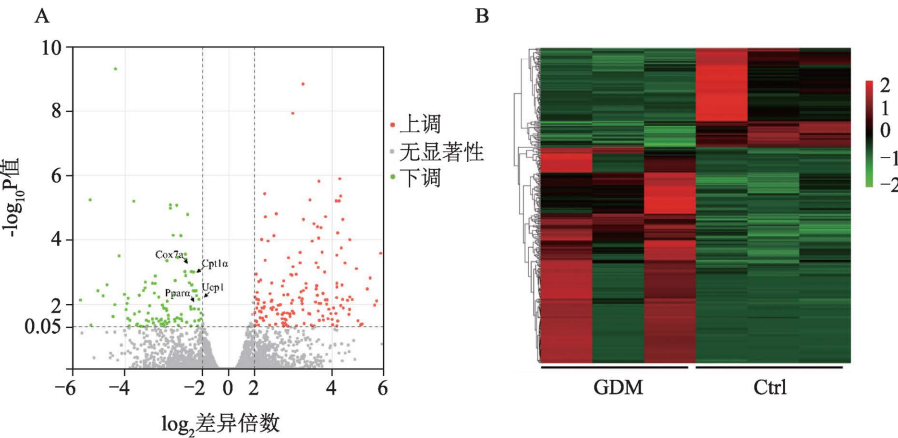
[责任编辑:张璐]

妊娠期糖尿病状态下小鼠棕色脂肪组织转录组学分析以及产热活性变化

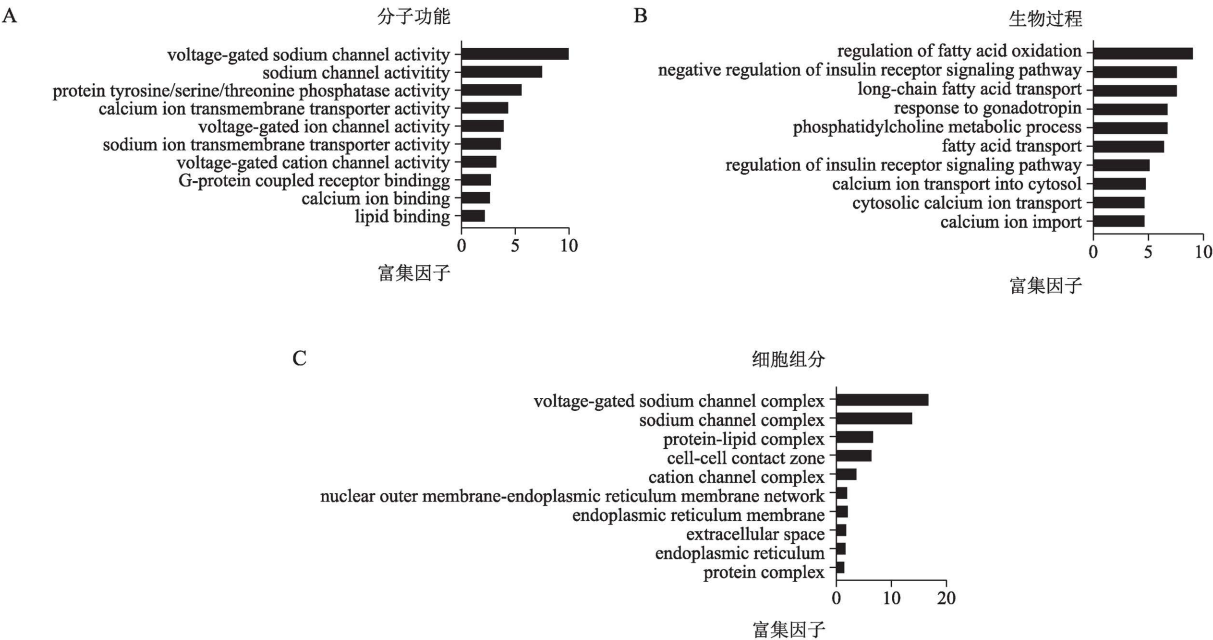
(正文 497 页)



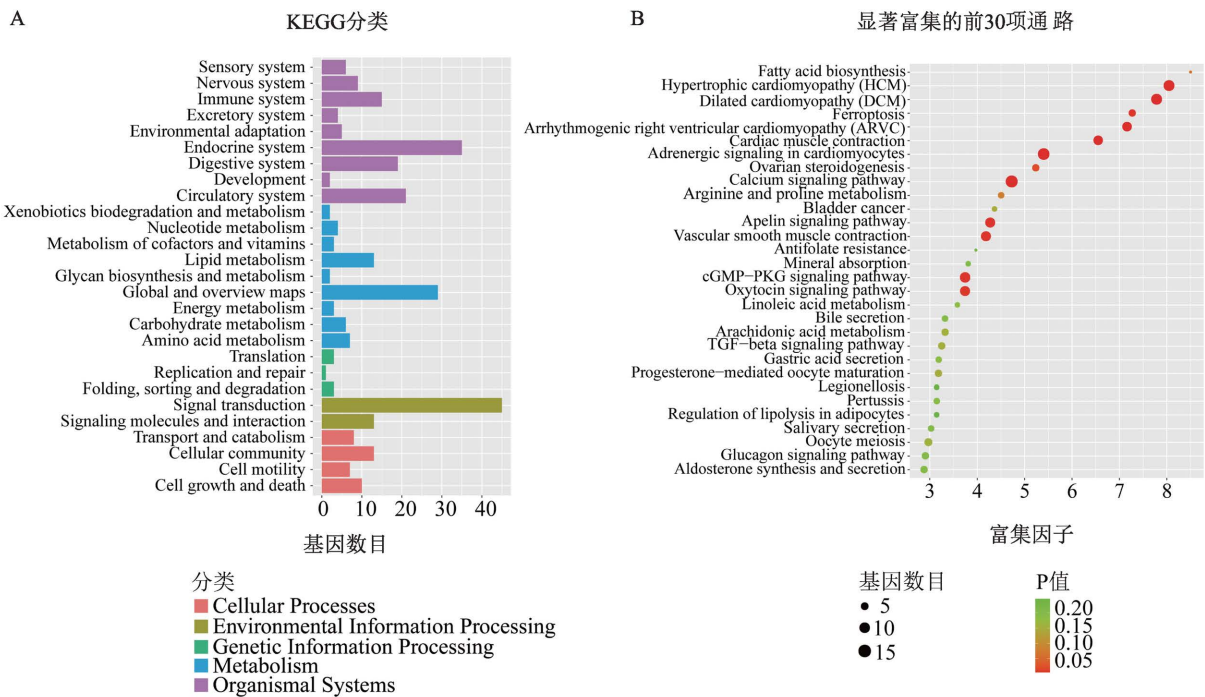
A: 造模前后两组随机血糖水平比较 ($n=5$, ** $P<0.01$) B: 两组小鼠棕色脂肪组织主成分分析
图1 妊娠期糖尿病 (GDM) 小鼠模型构建



A: 差异表达基因火山图 ($n=3$) B: 差异表达基因热图 ($n=3$)
图2 妊娠糖尿病 (GDM) 模型小鼠棕色脂肪组织转录组测序 (RNA-Seq) 检测差异基因

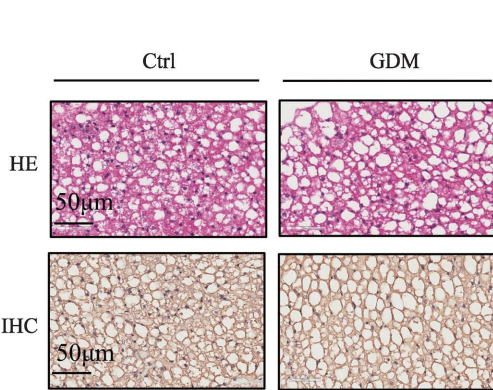


A: 分子功能方面最显著富集的前10项 B: 生物过程方面最显著富集的前10项 C: 细胞组分方面最显著富集的前10项
图3 妊娠糖尿病 (GDM) 模型小鼠棕色脂肪组织差异表达基因的GO功能注释和富集分析



A: 差异表达基因在各系统通路富集情况 B: 差异表达基因显著富集的前 30 项通路

图 4 妊娠糖尿病 (GDM) 模型小鼠棕色脂肪组织差异表达基因的 KEGG 信号通路和富集分析



上: 两组小鼠棕色脂肪组织染色情况 (HE, $\times 400$)

下: 两组小鼠棕色脂肪组织免疫组织化学 UCP1 染色情况 (IHC, $\times 400$)

图 5 妊娠糖尿病 (GDM) 模型小鼠棕色脂肪组织形态及免疫组化 UCP1 染色情况

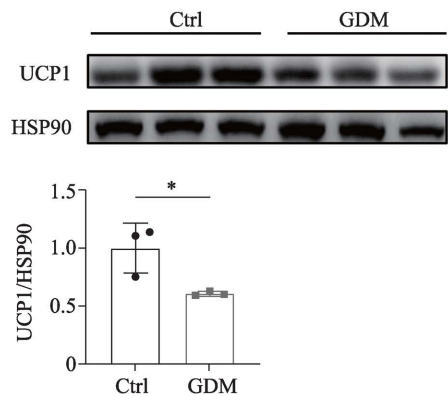


图 6 妊娠糖尿病 (GDM) 模型小鼠棕色脂肪组织中产热功能标志蛋白 UCP1 表达情况及灰度值统计结果 (* $P < 0.05$)

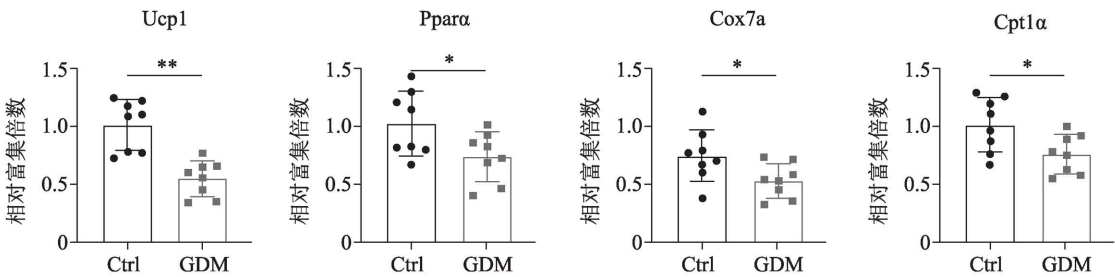


图 7 妊娠糖尿病 (GDM) 模型小鼠棕色脂肪组织中产热功能标志基因 Ucp1、Ppara、Cox7a、Cpt1a 相对表达情况 ($n = 4$, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$)