

SCFAs 对奶牛瘤胃上皮细胞 Ca^{2+} 信号通路相关基因表达的影响

宁丽丽¹ 成健⁴ 詹康¹ 杨天宇¹ 姜茂成¹ 赵国琦^{1,2,3*}

(1. 扬州大学 动物科学与技术学院, 江苏 扬州 225009;

2. 扬州大学 农业科技发展研究院, 江苏 扬州 225009;

3. 扬州大学 教育部农业与农产品安全国际合作联合实验室, 江苏 扬州 225009;

4. 常熟市海虞动物防疫站, 江苏 常熟 215500)

摘要 为探究短链脂肪酸(SCFAs)对奶牛瘤胃上皮细胞(BRECs) Ca^{2+} 信号通路相关基因表达的影响,试验分为3个处理组,分别为野生型 BRECs 组,含 20 mmol/L SCFAs BRECs 组,含 20 mmol/L SCFAs 且通过 CRISPR/Cas 9 系统敲除 *GPR41* 基因的 BRECs 组,每个处理组 3 个重复,每组细胞均培养 24 h 后,收集细胞提取总 RNA,通过 qRT-PCR 对 Ca^{2+} 信号通路相关基因的 mRNA 表达量和细胞内 Ca^{2+} 浓度进行测定。结果表明,与野生型 BRECs 相比,添加 20 mmol/L SCFAs 可极显著增加 *PLCB2* 的 mRNA 表达量($P < 0.01$),显著增加 *IP3R1* 的 mRNA 表达量($P < 0.05$),对 *PLCE1*、*PLCL1*、*PKCB* 和 *PKCG* 的 mRNA 表达量无显著差异($P > 0.05$),可增加细胞内 Ca^{2+} 浓度但无显著差异($P > 0.05$);敲除 SCFAs 的受体 *GPR41* 后,添加 20 mmol/L SCFAs 可显著降低 *IP3R1* 的 mRNA 表达量($P < 0.05$),极显著上调 *PLCE1* 和 *PLCB2* 的 mRNA 表达量($P < 0.01$),但对 *PLCL1*、*PKCB* 和 *PKCG* 的 mRNA 表达量无显著影响($P > 0.05$),细胞内 Ca^{2+} 浓度有降低趋势但无显著差异($P > 0.05$)。综上,SCFAs 可以通过激活其受体 *GPR41* 来调控 BRECs 内 Ca^{2+} 信号通路中相关基因的表达和细胞内 Ca^{2+} 的释放。

关键词 瘤胃上皮细胞; 短链脂肪酸; G 蛋白偶联受体; 钙离子

中图分类号 S513

文章编号 1007-4333(2020)08-0054-07

文献标志码 A

Effects of SCFAs on the mRNA expressions of related genes in Ca^{2+} signaling pathways in the rumen epithelial cells of dairy cow

NING Lili¹, CHENG Jian⁴, ZHAN Kang¹, YANG Tianyu¹, JIANG Maocheng¹, ZHAO Guoqi^{1,2,3*}

(1. College of Animal Science and Technology, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China;

2. Institutes of Agricultural Science and Technology Development, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China;

3. China Joint International Research Laboratory of Agriculture and Agri-Product Safety of Ministry of Education, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China;

4. Changshu Haiyu Animal Epidemie Prevention Station, Changshu 215500, China)

Abstract To investigate the effects of SCFAs on the mRNA expressions of related genes in Ca^{2+} signaling pathways in the rumen epithelial cells of dairy cow, three groups were divided, which were wild BRECs group, wild BRECs with 20 mM SCFAs group and *GPR41* KO BRECs with 20 mM SCFAs group, respectively. After culture of 24 h, the total RNA was extracted from the collected cells. qRT-PCR was employed for analysis of mRNA expression and intracellular Ca^{2+} concentration of the Ca^{2+} signaling pathway-related genes. The results showed that *PLCB2* ($P < 0.01$) and *IP3R1* ($P < 0.05$) were significantly up-regulated after the addition of 20 mM SCFAs in the wild-type BRECs. SCFAs also increased the concentration of intracellular Ca^{2+} but had no significant difference ($P > 0.05$). There was no significant difference in the mRNA expression levels of *PLCE1*, *PLCL1*, *PKCB* and *PKCG* ($P > 0.05$). Additionally,

收稿日期: 2019-12-04

基金项目: 现代农业产业技术体系专项资金项目(CARS-36);国家自然科学基金项目(31972589)

第一作者: 宁丽丽, 硕士研究生, E-mail: ninglili6688@163.com

通讯作者: 赵国琦, 教授, 主要从事动物营养与饲料研究, E-mail: gqzhao@yzu.edu.cn

after the *GPR41* was knocked out, the mRNA expression of *IP3R1* was significantly down-regulated ($P < 0.05$). The mRNA expression levels of *PLCE1* and *PLCB2* were significantly upregulated ($P < 0.01$). Intracellular Ca^{2+} concentration showed a decreasing trend but showed no significant difference ($P > 0.05$). There was no significant effect on *PLCL1*, *PKCB* and *PKCG* ($P > 0.05$). In conclusion, SCFAs could regulate the expressions of related genes and the release of Ca^{2+} in the BRECs by activating its receptor GPR41.

Keywords rumen epithelial cells; short chain fatty acids; G protein-coupled receptor; calcium ion

短链脂肪酸(Short chain fatty acid, SCFAs)是瘤胃内通过厌氧细菌发酵日粮产生的碳原子数为 1~6 的有机脂肪酸,主要包括乙酸、丙酸和丁酸,约占总挥发性脂肪酸 95%^[1]。SCFAs 可部分代谢为酮体和乳酸,也可作为瘤胃上皮细胞的能量来源,反刍动物对 SCFAs 的依赖可以达到能量需求的 70%^[2]。G-蛋白偶联受体 41 (G-protein-coupled receptor 41, GPR41) 和 GPR43 已经被证明是 SCFAs 的受体^[3]。GPR41 和 GPR43 在各个组织中均有表达, GPR41 在脂肪细胞中表达最高, GPR43 在免疫细胞中表达最高^[4]。并且 GPR41 和 GPR43 已经在奶牛不同的组织中被鉴定,在奶牛瘤胃上皮细胞 (BRECs) 中 GPR41 的表达量高于 GPR43^[5]。GPR41 和 GPR43 都可以与 G 蛋白家族的 Gi/o 蛋白和 Gq 蛋白偶联,从而增加细胞内钙离子浓度和降低 cAMP 浓度^[7]。GPR41 主要与 Gi/o 蛋白偶联激活信号传导系统,而 GPR43 主要与 Gq 蛋白偶联激活信号传导系统^[8-9]。

钙离子参与机体的各项生理活动,不仅可以维持细胞膜两侧的生物电位,正常的神经传导功能,正常的肌肉伸缩与舒张功能以及神经-肌肉传导功能等,还可以发挥某些激素的作用机制。细胞内的 Ca^{2+} 浓度可以通过“G 蛋白偶联-PIP2-1, 4, 5-三磷酸肌醇(IP3)”信号途径来调节^[10]。磷脂酶 C(PLC)和蛋白激酶 C(PKC)是 Ca^{2+} 信号通路中引起级联反应的关键分子^[11]。PLCL1、PLCE1 和 PLCB2 是 PLC 的 3 个家族,PKCB 和 PKCG 是 PKC 的 2 种亚类。

在重组表达的 GPR41 或 GPR43 CHO 细胞中,SCFAs 可以促进 IP3 水平的上升以及 cAMP 含量的下降,并且还会导致 MAPK 的活化和 Ca^{2+} 的释放^[4]。SCFAs 刺激奶牛乳腺上皮细胞(BMECs)后,在 2~4 s 内诱导细胞内 Ca^{2+} 浓度增加,60 s 内可以达到最大值。研究表明 SCFAs 是通过与 GPR41、GPR43 结合和活化而参与 BMECs 中的信号传导^[12]。此外,SCFAs 可能通过 GPR41 和

GPR43 调节动物的神经系统。如丙酸可通过 GPR41 加强交感神经外流,但是在抑制 GPR41 的情况下丙酸并没有加强交感神经的活性。经过 siRNA 试验证明,交感神经的激活是通过 GPR41 介导的^[13]。有研究表明,奶牛瘤胃上皮细胞 (BRECs) 在缺乏 SCFAs 的条件下,GPR41 不能被表达^[14],SCFAs 对 BRECs 的 Ca^{2+} 信号通路调控研究尚未有相关报道。因此,本研究旨在探讨 SCFAs 对瘤胃上皮细胞的 Ca^{2+} 信号通路相关分子的表达以及细胞内 Ca^{2+} 浓度的影响,为进一步探究 SCFAs 对各种细胞 Ca^{2+} 信号通路的影响提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

DMEM 高糖培养基、澳洲胎牛血清、非必需氨基酸 (NEAA)、磷酸盐缓冲液 (PBS) 和胰蛋白酶 (Gibco, 美国); 乙酸、丙酸、丁酸、青霉素、链霉素、L-谷氨酰胺溶液和乙二胺四乙酸 (EDTA) (Sigma, 美国); PrimeScript™ RT Master Mix 和 SYBR® Premix Ex Taq™ II (TaKaRa, 中国); 荧光定量 96 孔板和 8 连管 (Bio-rad, 美国); 总 RNA 提取试剂盒 (Tiangen, 中国); Fluo-4/AM (Beyotime, 中国); FACS LSRFortessa 流式细胞分析仪 (BD, 美国); 试验所用野生型 BRECs 和通过 CRISPR/Cas 9 系统敲除 GPR41 的 BRECs 均由扬州大学动物培养物保藏与应用研究所 (IACCA) 提供^[15]。

1.2 试验方法

1.2.1 试验设计

试验分为 3 个处理组,每个处理有 3 个重复,第 1 组为正常野生型瘤胃上皮细胞;第 2 组为培养基中含 20 mmol/L SCFAs 野生型瘤胃上皮细胞;第 3 组为培养基中含 20 mmol/L SCFAs 且通过 CRISPR/Cas 9 系统敲除 GPR41 基因的瘤胃上皮细胞。放置 37 °C、5% CO₂ 的培养箱中。24 h 之后,消化并收集细胞进行 RNA 提取。20 mmol/L SCFAs 组成: 12 mmol/L 乙酸、5 mmol/L 丙酸和 3 mmol/L 丁酸。

1.2.2 总 RNA 提取

按照总 RNA 提取试剂盒(Tiagen, 中国)提取总 RNA。最后,取 1 μL 提取的样品进行总 RNA 浓度和纯度的测定。

1.2.3 反转录成 cDNA

按照 Takara 反转录试剂盒进行,整个过程在冰上操作。反转录体系为 10 μL , 反应条件: 37 $^{\circ}\text{C}$ 15 min 和 85 $^{\circ}\text{C}$ 5 s; PCR 反应体系为 20 μL , 反应条件: 95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 30 s; 95 $^{\circ}\text{C}$ 5 s, 60 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 40 个

循环,每个样品都有 3 个重复。

1.2.4 Real-time PCR

荧光定量 PCR 反应配置总体系为 20.0 μL , 其中 SYBR[®] Premix Ex Taq[™] II Kit 10.0 μL ; 10 $\mu\text{mol/L}$ 的 PCR Forward primer 和 PCR Reverse Primer 各 0.8 μL ; Water PCR grade 6.4 μL ; cDNA 2.0 μL 。引物详情见表 1。反应条件: 95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 30 s; 95 $^{\circ}\text{C}$ 5 s, 60 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 40 个循环,每个样品都有 3 个重复。计算方法按照 $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$ 。

表 1 荧光定量 PCR 引物

Table 1 Reverse-transcription PCR primers

基因 Gene	引物序列(5'-3') Primer sequence (5'-3')	GenBank 序列号 GenBank accession No.	产物大小/bp Length of product
<i>PLCB2</i>	F: TAGAAGAGGAAGAGGAGGAG R: CGTGAAGGAGGAGATAACAT	NM_001191401	200
<i>PLCE1</i>	F: ATGATTGAATGTGGCTGTGA R: TGTGGCTGTTGAACTAAGAA	NM_001205852	148
<i>PLCL1</i>	F: GCAGCATTGAACTTGATGTA R: CTGTTGGACCATTACCTTCT	NM_001191279	200
<i>PKCB</i>	F: GTCCTCATTGTTGTCGTAAG R: CTTGATGGTCTTGGTCTTCT	NM_174587	135
<i>PKCG</i>	F: TAGAGTCTTACCGTGTGCTA R: CCAGGAAGAAGAAGAAGGAA	NM_001166502	158
<i>IP3R1</i>	F: TTCAGAAGGAGAGCAGAATG R: ATTGATGTGAGGAGGATGTC	NM_174841.2	169
<i>GAPDH</i>	F: GGGTCATCATCTCTGCACCT R: GGTCATAAGTCCCTCCACGA	NM_001034034.2	176

1.2.5 细胞内游离钙离子浓度的测定

待接种细胞培养 24 h 后,第 2 和第 3 处理组分别加 20 mmol/L SCFAs 作用 2 min。收集 3 组细胞,加 Fluo-4/AM(终浓度 2.5 $\mu\text{mol/L}$) 37 $^{\circ}\text{C}$ 避光孵育 30 min 进行荧光探针装载,随后 PBS 漂洗 2 次,流式细胞仪检测。激发波长为 494 nm,发射波长为 516 nm,检测的平均荧光强度来表示细胞内 Ca^{2+} 浓度。

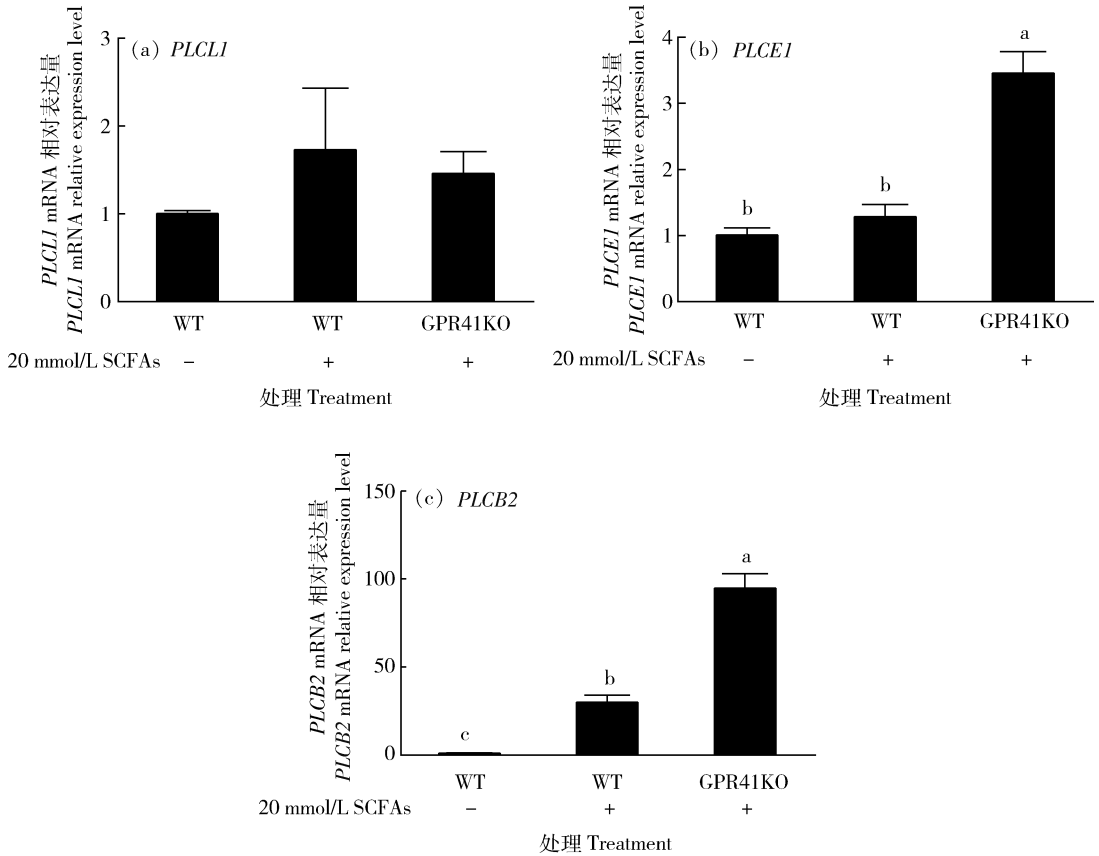
1.3 数据统计分析

结果采用“平均数±标准差”表示。运用 SPSS 16.0 统计软件中的 One-Way ANOVA 模块进行单因素方差分析,显著性检验应用 LSD 法。 $P < 0.05$ 表示差异显著, $P < 0.01$ 表示极显著差异。

2 结果与分析

2.1 SCFAs 对 BRECs 中 PLC 表达的影响

采用 qRT-PCR 分别检测 *PLCL1*、*PLCE1* 和 *PLCB2* 在不同处理的 BRECs 中的表达变化,结果见图 1。在缺乏 SCFAs 的条件下,*PLCB2* 几乎不被表达;添加 20 mmol/L SCFAs 之后,*PLCB2* 被极显著激活($P < 0.01$),*PLCL1* 和 *PLCE1* 表达量上调,差异不显著($P > 0.05$)。与添加 SCFAs 的野生型 BRECs 相比,敲除 *GPR41* 基因之后,*PLCL1* 的表达量有下调的趋势($P > 0.05$),而 *PLCE1* 和 *PLCB2* 的表达量极显著增加($P < 0.01$)。



WT 代表野生型 BRECs;GPR41KO 代表通过 CRISPR/Cas 9 系统敲除 *GPR41*;数据标注不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。下同。
 WT stands for wild-type BRECs. GPR41KO stands for knocking out *GPR41* through the CRISPR/Cas 9 system. Data annotations with different lowercase letters mean significant difference ($P<0.05$). The same below.

图 1 SCFAs 对 BRECs 中 PLC 的 mRNA 表达影响

Fig. 1 Effects of SCFAs on the abundance of PLC mRNA in the BRECs

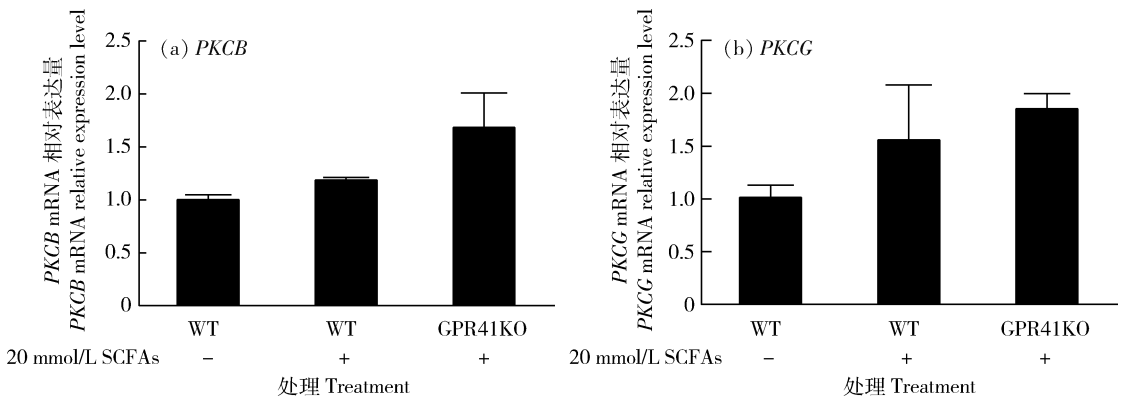
2.2 SCFAs 对 BRECs 中 PKC 表达的影响

PKCB 和 *PKCG* 在不同处理的 BRECs 中的表达见图 2。与野生型相比,敲除 *GPR41* 之后,添加 SCFAs 可以上调 *PKCB* 和 *PKCG* 的表达量,但是

差异不显著($P>0.05$)。

2.3 SCFAs 对 BRECs 中 *IP3R1* 表达的影响

由图 3 可知,促进内质网钙库释放的分子 *IP3R1* 在 SCFAs 诱导下,其 mRNA 表达量被显著



(a) SCFAs 对 *PKCB* 的 mRNA 表达影响;(b) SCFAs 对 *PKCG* 的 mRNA 表达影响。

(a) Effects of SCFAs on the abundance of *PKCB* mRNA; (b) Effects of SCFAs on the abundance of *PKCG* mRNA.

图 2 SCFAs 对 BRECs 中 PKC 的 mRNA 表达影响

Fig. 2 Effects of SCFAs on the abundance of PKC mRNA in the BRECs

上调($P < 0.05$);与野生型 BREC 相比,敲除 GPR41 之后,添加 SCFAs, *IP3R1* 的 mRNA 表达量显著下调($P < 0.05$)。

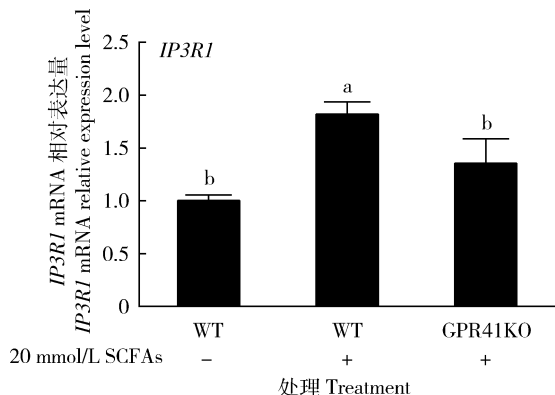


图3 SCFAs对 *IP3R1* 的 mRNA 表达影响

Fig. 3 Effects of SCFAs on the abundance of *IP3R1* mRNA

2.4 SCFAs对 BREC 中 Ca^{2+} 浓度的影响

从图4可知,在野生型 BREC 内 Ca^{2+} 浓度在 SCFAs 刺激后提高了 21%,但差异不显著($P > 0.05$);与野生型 BREC 相比,敲除 GPR41 之后,添加 20 mM SCFAs 细胞内 Ca^{2+} 浓度降低了 15%,但差异不显著($P > 0.05$)。

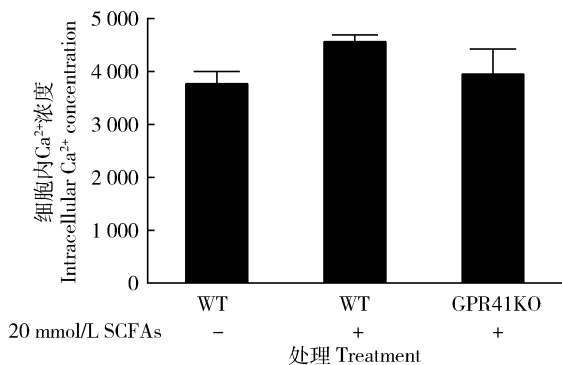


图4 SCFAs对细胞内 Ca^{2+} 浓度的影响

Fig. 4 Effects of SCFAs on intracellular Ca^{2+} concentration

3 讨论

细胞内钙离子浓度的变化对细胞代谢和细胞增殖中的信息传递有非常重要的意义。细胞内钙信号是免疫细胞激活的关键因素,当抗原受体被触发时,钙从细胞外流入细胞内^[16]。Kimura 等^[17]研究发现,围产期奶牛单核细胞内钙储量较低,导致免疫细胞激活信号下钙离子的释放变弱。SCFAs 是反刍动物体内主要的能量来源,并且可以调节瘤胃上皮

细胞生长、瘦素水平、胰岛素分泌和免疫应答过程^[18-19]。SCFAs 还可以刺激交感神经系统的激活,促进机体能量消耗^[13]。GPR41 和 GPR43 已经被证明是 SCFAs 的受体,奶牛瘤胃上皮细胞中 GPR41 的表达量高于 GPR43^[5]。有研究表明,添加 20 mmol/L SCFAs 和 40 mmol/L SCFAs 可以显著增加 BREC 中 GPR41 的表达量^[6],而缺乏 SCFAs 的条件下,GPR41 并不能够被表达^[14]。因此,本试验通过在野生型瘤胃上皮细胞和敲除 GPR41 之后的瘤胃上皮细胞中添加 SCFAs 来检测 Ca^{2+} 信号通路中关键分子的表达量以及细胞内 Ca^{2+} 浓度的变化。

PLC 和 PKC 是 Ca^{2+} 信号通路中引起级联反应的关键分子。IP3R 是促进内质网钙库释放的受体^[11]。qRT-PCR 结果表明,在缺乏 SCFAs 时,PLCB2 几乎不表达,但是添加 20 mmol/L SCFAs 后显著被激活,并且 *PLCE1* 和 *PLCL1* 表达量也有所提高,暗示 PLC 进一步将 IPI2 分解为二酰甘油(DAG)和三磷酸肌醇(IP3)。IP3R 是 IP3 受体,与 IP3 结合之后诱导其表达。因此,添加 20 mmol/L SCFAs 之后,IP3R1 能极显著激活。IP3R 的表达介导内质网释放 Ca^{2+} ,添加 SCFAs 之后,细胞内 Ca^{2+} 浓度提高了 21%。SCFAs 刺激 BMECs 之后诱导细胞内 Ca^{2+} 浓度增加^[12]。Yonezawa 等^[20]研究表明,GPR41 和 GPR43 被 SCFAs 激活后,诱导细胞内钙离子浓度上升并且不受百日咳毒素的阻断作用。丁酸与大鼠的脑垂体细胞在一起孵育后可以增加细胞内 Ca^{2+} 的浓度,这主要是通过 GPR41 和 GPR43 信号通路实现的^[21]。SCFAs 促进 Ca^{2+} 浓度的升高与本研究结果一致。细胞内游离的 Ca^{2+} 进一步增加了 PKC 活化,添加 SCFAs 之后,*PKCB* 和 *PKCG* 的表达量有所提高,和 Ca^{2+} 浓度的变化趋势相同。PKC 进一步激活 MAPK 信号通路,引起级联反应,进行细胞信号转导。由此可以看出 SCFAs 激活细胞内 Ca^{2+} 信号通路与细胞内 MAPK 信号通路是相辅相成的。丁酸不仅诱导细胞内 Ca^{2+} 浓度增加,而且也诱导 GPR41 和 GPR43 增加。在生长释放素激素的作用下,GPR43 基因沉默后,细胞内的 Ca^{2+} 浓度并没有改变^[12]。

为探究 SCFAs 对 BREC 中 Ca^{2+} 信号通路的调控机制,本文通过由扬州大学动物培养物保藏与应用研究所提供的 CRISPR/Cas 9 系统敲除 *GPR41* 基因的 BREC 来进行深入研究。敲除 BREC 中的

GPR41 基因, 添加 SCFAs 之后, GPR41 的表达量显著下降, 表明 GPR41 的一个等位基因被成功地敲除^[11]。本试验结果显示, 添加 20 mmol/L SCFAs 之后, 与野生型 BRECs 比, 敲除 GPR41 显著上调了 *PLCB2* 和 *PLCE1* 的表达量; *PLCL1* 的表达量降低, *PKCB* 和 *PKCG* 的表达量升高, 但是均无显著差异。由此可以看出 SCFAs 不是通过 GPR41 加强 *PLCB2*、*PLCE1*、*PLCL1*、*PKCB* 和 *PKCG* 的表达。相反, *IP3R1* 的表达量被显著下调, 该结果表明 SCFAs 对 *IP3R1* 的调控是通过 GPR41 实现的。而且本试验细胞内 Ca^{2+} 浓度降低了 15%, 是由于内质网上 *IP3R1* 的低表达抑制了内质网上钙库中 Ca^{2+} 的释放。

4 结 论

SCFAs 可以通过激活其受体 GPR41 来调控 BRECs 上皮细胞 *IP3R1*、*PLCE1* 和 *PLCB2* 的表达, 及细胞内 Ca^{2+} 释放, 以进一步激活 Ca^{2+} 信号通路。

参考文献 References

- [1] Thorp C L, Arg W, Rwj S, Shaw C, Mcevoy J D. Effect of dietary forage: Concentrate ratio on the behavior, rumen fermentation and circulating concentrations of IGF-1, insulin, glucagon and metabolites of beef steers and their potential effects on carcass composition[J]. *Animal Science*, 2016, 68 (3): 533-546
- [2] Bergman E N. Energy contributions of volatile fatty acids from the gastrointestinal tract in various species[J]. *Physiological Reviews*, 1990, 70(2): 567-590
- [3] Nilsson N E, Kotarsky K, Owman C, Olde B. Identification of a free fatty acid receptor, FFA2R, expressed on leukocytes and activated by short-chain fatty acids [J]. *Biochemical Biophysical Research Communications*, 2003, 303(4): 1047-1052
- [4] 王永安, 张春雷, 王艳红, 陈宏, 房兴堂. 短链脂肪酸受体 GPR41、GPR43 的信号通路及生理功能[J]. *中国牛业科学*, 2013, 39(6): 49-53
Wang Y A, Zhang C L, Wang Y H, Chen H, Fang X T. Signaling pathways and physiological functions of short-chain fatty acid receptors GPR41 and GPR43 [J]. *China Cattle Science*, 2013, 39(6): 49-53 (in Chinese)
- [5] Wang A, Gu Z, Heid B, Akers R M, Jiang H. Identification and characterization of the bovine G protein-coupled receptor GPR41 and GPR43 genes [J]. *Journal of Dairy Science*, 2009, 92(6): 2696-2705
- [6] 严康, 冯宝宝, 詹康, 姜茂成, 贡笑笑, 赵国琦, 於廉沁, 刘丽. 短链脂肪酸对奶牛瘤胃上皮细胞的炎性细胞因子和 G-蛋白偶联受体 41 表达的影响[J]. *动物营养学报*, 2019, 31(3): 1259-1265
Yan K, Feng B B, Zhan K, Jiang M C, Gong X X, Zhao G Q, Yu L Q, Liu L. Effects of short chain fatty acids on expression of inflammatory factors and G-Protein coupled receptor 41 in bovine rumen epithelial cells[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2019, 31(3): 1259-1265 (in Chinese)
- [7] 苏浩. 兔短链脂肪酸受体 GPR41 和 GPR43 基因的鉴定[D]. 南京: 南京农业大学, 2013
Su H. Identification of the short-chain fatty acid receptor GPR41 and GPR43 genes of rabbit [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2013 (in Chinese)
- [8] Le P E, Loison C, Struyf S, Springael J Y, Lannoy V, Decobecq M E, Brezillon S, Dupriez V, Vassart G Van Damme J, Parmentier M, Detheux M. Functional characterization of human receptors for short chain fatty acids and their role in polymorphonuclear cell activation[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2003, 278(28): 25481-25489
- [9] Brown A J, Goldsworthy S M, Barnes A A, Eilert M M, Tcheang L, Daniels D, Muir A I, Wigglesworth M J, Kinghorn I, Holder J C, Marshall F H, Szekeres P G, Wilson S, Ignar D M, Foord S M, Wise A, Dowell S J. The orphan G protein-coupled receptors GPR41 and GPR43 are activated by propionate and other short chain carboxylic acids [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2002, 278 (13): 11312-11319
- [10] Chakrabarti P, Kolay S, Yadav S, Kumari K, Nair A, Trivedi D, Raghu P. A dPIP5K dependent pool of phosphatidylinositol 4, 5 bisphosphate (PIP2) is required for G-protein coupled signal transduction in Drosophila photoreceptors [J]. *PLOS Genetics*, 2015, 11(1): e1004948
- [11] 詹康. SCFAs 通过 GPR41 调控奶牛瘤胃上皮细胞炎症反应的研究[D]. 扬州: 扬州大学, 2018
Zhan K. SCFAs regulate the inflammatory response of bovine rumen epithelial cells by GPR41 [D]. Yangzhou: Yangzhou University, 2018 (in Chinese)
- [12] Yonezawa T, Haga S, Kobayashi Y, Katoh K, Obara Y. Short-chain fatty acid signaling pathways in bovine mammary epithelial cells[J]. *Regulatory Peptides*, 2009, 153(1-3): 30-36
- [13] Kimura I, Inoue D, Maeda T, Hara T, Ichimura A, Miyauchi

- S, Kobayashi M, Hirasawa A, Tsujimoto G. Short-chain fatty acids and ketones directly regulate sympathetic nervous system via G protein-coupled receptor 41 (GPR41) [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2011, 108(19): 8030-8035
- [14] 姜茂成, 詹康, 贡笑笑, 赵国琦. 不同 pH 和 SCFAs 对奶牛瘤胃上皮细胞 SCFAs 转运蛋白和 GPR41 表达的影响[J]. *中国农业大学学报*, 2018, 23(10): 63-70
- Jiang M C, Zhan K, Gong X X, Zhao G Q. Effects of different pH and SCFAs on the expressions of SCFAs transport proteins and GPR41 in the rumen epithelial cells of dairy cow [J]. *Journal of China Agricultural University*, 2018, 23(10): 63-70 (in Chinese)
- [15] 姜茂成, 詹康, 严康, 赵倩明, 赵国琦. 奶牛瘤胃上皮细胞分离培养与鉴定[J]. *中国农业大学学报*, 2018, 23(1): 80-86
- Jiang M C, Zhan K, Yan K, Zhao Q M, Zhao G Q. Culture and identification of the bovine rumen epithelial cell line [J]. *Journal of China Agricultural University*, 2018, 23(1): 80-86 (in Chinese)
- [16] Vig M, Kinet J P. Calcium signaling in immune cells [J]. *Nature Immunology*, 2009, 10(1): 21-27
- [17] Kimura K, Reinhardt T A, Goff J P. Parturition and hypocalcemia blunts calcium signals in immune cells of dairy cattle [J]. *Journal of Dairy Science*, 2006, 89(7): 2588-2595
- [18] Xiong Y, Miyamoto N, Shibata K, Valasek M A, Motoike T, Kedzierski R M, Yanagisawa M. Short-chain fatty acids stimulate leptin production in adipocytes through the G protein-coupled receptor GPR41 [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2004, 101(4): 1045-1050
- [19] Kim M H, Kang S G, Park J H, Yanagisawa M, Kim C H. Short-chain fatty acids activate GPR41 and GPR43 on intestinal epithelial cells to promote inflammatory responses in mice [J]. *Gastroenterology*, 2013, 145(2): 396-406
- [20] Yonezawa T, Kobayashi Y, Obara Y. Short-chain fatty acids induce acute phosphorylation of the p38 mitogen-activated protein kinase heat shock protein 27 pathway via GPR43 in the MCF-7 human breast cancer cell line [J]. *Cellular Signalling*, 2007, 19(1): 185-193
- [21] Miletta M C, Petkovic V, Eblé A, Ammann R A, Flück C E, Mullis P E. Butyrate increases intracellular calcium levels and enhances growth hormone release from rat anterior pituitary cells via the G-protein-coupled receptors GPR41 and 43 [J]. *Plos One*, 2014, 9(10): e107388

责任编辑: 秦梅