

母猪妊娠后期日粮中添加亮氨酸对新生仔猪能量代谢的影响

刘 涛¹, 唐燕妮², 李 浪³, 周雪梅³, 管武太³, 陈 芳^{3*}, 邵 丹^{1,4*}

(1. 华南理工大学医学院, 广东广州 510006; 2. 咸宁市农业科学院, 湖北咸宁 437000;

3. 华南农业大学动物科学学院, 广东广州 510642; 4. 广东省人民医院, 广东广州 510080)

摘 要: 本试验旨在研究妊娠后期日粮中添加亮氨酸 (Leu) 对新生仔猪能量代谢的调控机制。选取 200 头妊娠 70 的健康长×大母猪 (胎次为 4~5 胎), 随机分为对照组、0.40% Leu 组、0.80% Leu 组和 1.20% Leu 组。试验期从母猪妊娠第 70 天开始, 至母猪分娩结束。结果显示: 妊娠 84 d, 0.40% Leu 组和 0.80% Leu 组母猪血浆高密度脂蛋白 (HDL) 降低 ($P<0.01$); 妊娠 98 d, 0.40% Leu 组甘油三酯 (TG) 下降 ($P<0.01$); 妊娠 110 d, 各 Leu 组 TG 均降低 ($P<0.01$), 0.40% Leu 组母猪血浆葡萄糖 (GLU) 升高 ($P<0.05$); 3 个处理组新生仔猪脐带血总胆固醇 (TC)、HDL 升高 ($P<0.05$), 背最长肌 TG 降低 ($P<0.05$); 0.80% Leu 组新生仔猪背最长肌中 *SIRT-1* 和 *PGC-1 α* mRNA 表达升高 ($P<0.05$), 各 Leu 组 p-AMPK 蛋白表达下降 ($P<0.05$); 0.40% Leu 组和 0.80% Leu 组新生仔猪 *ACACA*、*GPAM* 的 mRNA 和 *FASN* 蛋白表达上调 ($P<0.05$); 0.40% Leu 组新生仔猪 *ACSL1*、*CPT-1* 和 *FABP3* mRNA 表达上调 ($P<0.05$), 而 0.80% Leu 组 *CD36* 和 *FATP4* 表达下降 ($P<0.05$); 0.40% Leu 组 *SREBP1*、*PPAR α* 和 *PPAR γ* 表达下降 ($P<0.05$); 0.40% Leu 组 *PEPCK* 的 mRNA 和 0.80% Leu 组 *GLUT1* 蛋白和 *ACL* mRNA 表达增加 ($P<0.05$)。本试验条件下, 妊娠后期日粮中添加 0.4%、0.8% Leu 可提高新生仔猪背最长肌中脂肪酸和 GLU 的氧化代谢, 降低 TG 合成提高能量代谢水平, 为其促进蛋白质沉积提供能量。

关键词: 妊娠后期; 亮氨酸; 能量代谢; 母猪; 仔猪

中图分类号: S828.5

文献标识码: A

DOI 编号: 10.19556/j.0258-7033.20250606-11

目前, 我国平均断奶仔猪数 (PSY) 与发达国家仍

有较大差距, 如何通过优化母猪-仔猪饲料配方来提高仔猪存活率和发育水平, 是当前养猪业的重点问题之一。胎猪在宫内的发育与仔猪生长性能密切相关, 提高胎猪 (尤其是妊娠后期胎猪) 蛋白质沉积水平, 是促进胎猪宫内发育、提高猪生产效率的关键^[1-6]。本课题组前期研究表明, 妊娠期补充适量亮氨酸 (Leu) 可提高新生仔猪初生重^[7], 并促进背最长肌蛋白合成^[8]。Leu 是动物饲料中含量最高的必需氨基酸^[9], Leu 可调节葡萄

收稿日期: 2025-06-06; 修回日期: 2025-12-15

资助项目: 国家重点研发计划 (2021YFD1300401)

作者简介: 刘涛 (1989-), 男, 江西上饶人, 硕士研究生, 研究方向为动物医学健康, E-mail: 535008765@qq.com

* 通信作者: 邵丹 (1984-), 女, 副教授, 硕士研究生导师, 研究方向为动物医学健康, E-mail: shaodan@gdph.org.cn; 陈芳 (1982-), 女, 教授, 博士研究生导师, 母猪仔猪营养健康, E-mail: chenfang1111@scau.edu.cn

pathway[J]. Biomater Adv, 2024, 165: 213997.

[40] Xu B C, Zhang L F, Li J, et al. Selenium Broussonetia papyrifera polysaccharide alleviated cyclophosphamide-induced immune suppression, growth inhibition, intestinal damage, and gut microbiota disorder in yellow-feather broilers[J]. Poult Sci, 2025, 104(4): 104907.

[41] Alipour M R, Karimi-Sales E. Molecular mechanisms of protective roles of isoflavones against chemicals-induced liver injuries[J]. Chem Biol Interact, 2020, 329: 109213.

[42] Yin F, Lin P, Yu W Q, et al. The Cordyceps militaris-Derived polysaccharide CM1 alleviates atherosclerosis in LDLR(-/-)

mice by improving hyperlipidemia[J]. Front Mol Biosci, 2021, 8: 783807.

[43] Li J H, Bi D, Nie Y, et al. Loperamide-induced constipation is associated with excessive accumulation of bile acids and cholesterol in the liver of mice; attenuation by hesperidin[J]. Food Chem Toxicol, 2025, 203: 115561.

[44] Yang J Y, Chen S Y, Wu Y H, et al. Ameliorative effect of buckwheat polysaccharides on colitis via regulation of the gut microbiota[J]. Int J Biol Macromol, 2023, 227: 872-883.

(责任编辑: 郑本艳)

糖代谢、改善胰岛素敏感性并促进体重调控^[10]，激活 mTOR 通路直接刺激仔猪肌肉蛋白合成与生长^[11-12]。蛋白质合成需要充足能量，而葡萄糖和脂肪酸是主要能量底物。Leu 一方面通过胰岛素非依赖性机制刺激葡萄糖转运，另一方面增强肌肉对脂肪酸的利用并促进线粒体生物发生与脂肪酸氧化^[13-14]，从而为蛋白质合成提供能量支持。然而，Leu 在刺激蛋白质合成过程中如何精确调控能量代谢以满足蛋白质合成需求，目前尚不清楚。本试验旨在探究妊娠后期母猪日粮中添加 Leu 对仔猪背最长肌能量代谢底物、脂肪酸与糖代谢通路及能量水平的影响，以期阐明 Leu 促进蛋白质合成的能量供给机制。

1 材料与方法

1.1 试验设计 200 头妊娠 70 d 的健康长×大母猪（胎次为 4~5 胎），根据胎次和体况均衡分配的原则，随机分为 4 组，单栏饲养。对照组饲喂基础饲料，其余 3 组（0.40% Leu 组、0.80% Leu 组和 1.20% Leu 组）分别在基础饲料中添加相应浓度的 Leu（纯度≥98.5%）。基础饲料参考 NRC（2012）母猪营养需要配制，试验饲料组成及营养成分见表 1。试验在母猪妊娠第 70 天开始，持续至母猪分娩结束。

1.2 试验管理 试验母猪采用单栏饲养，妊娠舍（2.05 m×1.08 m）和分娩舍（2.05 m×1.05 m）均统一消毒。妊娠后期饲喂 3.0 kg/d（07:00、14:00 分 2 次投喂），自由饮水，按常规程序进行饲养管理和免疫。

1.3 试验材料 甘油三酯（TG，A110-1-1）、葡萄糖（GLU，F006-1-1）、高密度脂蛋白（HDL-C，A112-1-1）、低密度脂蛋白（LDL-C，A113-1-1）、总胆固醇（TC，A111-1-1）试剂盒均为南京建成科技有限公司产品；Western blot 相关试剂（细胞裂解液、PMSF、ECL 发光液、BCA 试剂盒）及 qRT-PCR 试剂均为碧云天公司产品；一抗为美国 Santa Cruz 公司产品，二抗为广州齐云生物科技有限公司产品。

1.4 引物设计与合成 以 β -actin 为内参，基于 NCBI 数据库获取能量代谢相关基因序列，用 Primer Premier 5.0 设计特异性引物并经 BLAST 验证，引物合成由上海生工完成，具体序列参见前期研究^[8,15]。

1.5 测定指标及方法

1.5.1 血液指标 每个处理组随机选取 6 头母猪，分别于妊娠第 84、98、110 天采集耳缘静脉血，并于分娩时

表 1 试验饲料组成及营养成分（风干基础）

项目	对照组	0.40% Leu 组	0.80% Leu 组	1.20% Leu 组
原料组成,%				
玉米	66.00	66.00	66.00	66.00
豆粕	18.50	18.50	18.50	18.50
豆油	1.00	1.00	1.00	1.00
小麦麸	9.50	9.50	9.50	9.50
石粉	1.20	1.20	1.20	1.20
磷酸氢二钙	0.50	0.50	0.50	0.50
氯化钠	0.30	0.30	0.30	0.30
L- 赖氨酸盐酸盐（78%）	0.12	0.12	0.12	0.12
DL- 蛋氨酸（100%）	0.02	0.02	0.02	0.02
L- 苏氨酸（98.5%）	0.06	0.06	0.06	0.06
L- 色氨酸（98.5%）	0.02	0.02	0.02	0.02
L- 缬氨酸（98.5%）	0.07	0.07	0.07	0.07
L- 亮氨酸（98.5%）	0.00	0.40	0.80	1.20
维生素 - 矿物质预混料 ^①	0.20	0.20	0.20	0.20
氯化胆碱（50%）	0.30	0.30	0.30	0.30
植酸酶	0.02	0.02	0.02	0.02
脱霉剂	0.10	0.10	0.10	0.10
防霉剂	0.05	0.05	0.05	0.05
抗氧化剂	0.04	0.04	0.04	0.04
稻壳粉（载体）	2.00	1.60	1.20	0.80
合计	100.00	100.00	100.00	100.00
营养成分 ^②				
消化能,MJ/kg	13.35	13.31	13.27	13.22
代谢能,MJ/kg	12.82	12.78	12.74	12.69
净能,MJ/kg	9.48	9.45	9.42	9.39
粗蛋白质,%	14.92	15.13	15.39	15.42
钙,%	0.86	0.86	0.86	0.86
总磷,%	0.64	0.64	0.64	0.64
非植酸磷,%	0.39	0.39	0.39	0.39
氯化钠,%	0.36	0.36	0.36	0.36
精氨酸,%	0.96	0.95	0.95	0.95
赖氨酸,%	0.79	0.79	0.79	0.79
蛋氨酸,%	0.24	0.24	0.24	0.24
蛋氨酸+胱氨酸,%	0.46	0.46	0.46	0.46
苏氨酸,%	0.60	0.60	0.60	0.60
色氨酸,%	0.18	0.18	0.18	0.18
缬氨酸,%	0.74	0.74	0.74	0.74
异亮氨酸,%	0.56	0.56	0.56	0.56
亮氨酸,%	1.30	1.70	2.10	2.50
苯丙氨酸,%	0.71	0.71	0.71	0.71
苯丙氨酸+酪氨酸,%	1.21	1.21	1.21	1.21

注：①维生素 - 矿物质预混料为每千克全价料提供：维生素 A 13 000 IU，维生素 D₃ 4 000 IU，维生素 E 44 IU，维生素 K₃ 4 mg，维生素 B₁ 4 mg，维生素 B₂ 10 mg，维生素 B₆ 4.8 mg，维生素 B₁₂ 0.034 mg，烟酸 40 mg，D- 泛酸 20 mg，叶酸 2 mg，D- 生物素 0.16 mg，铁 80 mg，铜 5 mg，锌 51 mg，锰 20.5 mg，碘 0.14 mg，硒 0.15 mg；②粗蛋白质为实测值（凯氏定氮法），其他均为计算值（根据美国 NRC（2012）《猪营养需要》及原料供应商提供的内控质量标准计算）。

采集其脐动脉血。血液样本经 $3\,500\times g$, 离心 15 min, 分离血浆后, 保存于 -80°C 待测。血浆中 GLU 含量采用酶标仪法检测。血清 TC、HDL-C、LDL-C 及 TG 含量的测定严格遵循试剂盒说明书。

1.5.2 新生仔猪背最长肌组织中 TG、GLU 含量 选取各处理组用于采集血液的母猪, 并在其分娩后从每窝仔猪中选择 1 头体重接近平均体重的新生仔猪。于左侧第 8~11 肋间采集背最长肌样品 50 g, 分装后液氮速冻, -80°C 保存备用。在测定过程中加入裂解液、磷酸酶抑制剂和 PMSF。使用匀浆机匀浆后, 将其 $12\,000\times g$ 转速离心 5 min 并取上清液, 将其分成 2 份。取一定量上清液在离心管内 70°C 加热 10 min, 室温 $2\,000\text{ r/min}$ 离心 5 min 后取上清液, 将其分成 2 份, 分别参照试剂盒说明书测定 TG、GLU 含量。

1.5.3 新生仔猪背最长肌组织中能量底物代谢相关基因的 mRNA 表达 从备好的新生仔猪背最长肌组织中取 80 mg 样品剪碎, 用 Trizol 法进行总 RNA 提取, 采用核酸/蛋白定量仪测定样品浓度后, 依次进行以下操作: 首先使用 DNase I (RNase Free, 1 000 U) 和 TaKaRa 反转录试剂盒合成 cDNA; 随后建立 20 μL qPCR 反应体系, 包含 1 μL cDNA 模板、0.5 μL (10 $\mu\text{mol/L}$) 上下游引物、10 μL SYBR Green Master Mix (TOYOBO) 和 8 μL DEPC 水 (Sigma)。采用 ABI7500 型 PCR 仪进行扩增: 95°C 预变性 60 s; 40 个循环 (95°C 15 s; 60°C 15 s; 72°C 40 s); 熔解曲线分析 (95°C 60 s; 60°C 30 s; 95°C 30 s; 60°C 15 s)。基因表达量采用 $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$ 法计算。

1.5.4 新生仔猪背最长肌能量代谢相关蛋白表达 Western Blot 方法检测目的蛋白 [磷酸化腺苷酸活化蛋白激酶 (p-AMPK)、脂肪酸合成酶 (FASN)、乙酰 CoA 羧化酶 α (ACACA)、葡萄糖易化转运载体 1 (GLUT1)] 以及 β -actin 的表达和磷酸化情况。首先, 按照 SDS-PAGE 凝胶配制说明书配制分离胶和浓缩胶。电泳结束后, 将蛋白转膜至准备好的 PVDF 膜上 (110 V, 60~90 min)。然后, 将膜浸于 TBST 中, 使用含 5% 脱脂奶粉的 TBST 封闭液进行封闭。二抗孵育 (1:5 000, TBST 稀释) 室温 1 h 后, TBST 洗涤 5 次 (4 min/次)。最后, 进行化学发光反应, 使用 Image Pro Plus 6.0 软件进行数据分析。

1.6 统计分析 试验数据采用 SPSS 22.0 分析, 结果表

示为平均值 $\pm$ 标准误 ($n=6$)。单因素 ANOVA 分析 Leu 浓度效应, LSD 和 Duncan's 法进行多重比较。显著性水平设定为 $P<0.05$ (显著) 和 $P<0.01$ (极显著)。

2 结果

2.1 Leu 对母猪 - 胎儿血糖血脂代谢的影响 如表 2 所示, 与对照组相比, 0.80% Leu 组母猪在妊娠第 84 天的血液 TG 含量无显著变化, 而 0.40% Leu 组和 0.80% Leu 组 HDL 含量降低 ($P<0.01$)。至妊娠第 98 天, 与对照组相比, 0.40% Leu 组 TG 水平降低 ($P<0.01$), 1.20% Leu 组 TC 含量提高 ($P<0.05$)。妊娠第 110 天, 各处理组 TG 含量均降低 ($P<0.01$), 其中 0.40% Leu 组的 GLU 升高 ($P<0.05$), 但 HDL 含量无显著变化。0.80% Leu 组和 1.20% Leu 组的新生仔猪脐带血 TG 含量低于对照组 ($P<0.05$), 各处理组 TC 和 HDL 含量均升高 ($P<0.05$)。

2.2 Leu 调控新生仔猪背最长肌能量底物及线粒体功能的影响 如表 3 所示, 各 Leu 组 TG 含量均低于对照组 ($P<0.01$), 但 0.40% Leu 组高于 0.80% Leu 组和 1.20% Leu 组 ($P<0.05$)。

由图 1A 可见, 0.80% Leu 组过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 共激活因子 1α (PGC- 1α) 的 mRNA 表达水平高于对照组、0.40% Leu 组和 1.20% Leu 组 ($P<0.05$); 与对照组相比, 各处理组沉默调节蛋白 1 (SIRT-1) 的 mRNA 表达水平平均增加 ($P<0.05$)。由图 1B 可见, 0.40% Leu 组、0.80% Leu 组、1.20% Leu 组 p-AMPK 水平低于对照组 ($P<0.05$), 且 0.80% Leu 组和 1.20% Leu 组 p-AMPK 表达低于 0.40% Leu 组 ($P<0.05$)。由图 1C 可见, AMPK 蛋白表达在各组间无显著差异。

2.3 Leu 对新生仔猪背最长肌脂质代谢相关基因表达的影响 如图 2A、B 显示, 与对照组相比, 各处理组脂肪酸转位酶 (CD36) 的 mRNA 表达量均下降 ($P<0.05$), 0.80% Leu 组极低密度脂蛋白受体 (VLDLR)、肉碱棕榈酰转移酶 1 (CPT1) 的 mRNA 表达水平增加 ($P<0.05$)。如图 2B、C 所示, 0.40% Leu 组长链脂酰辅酶 A 合成酶 (ACSL) 1、(CPT-1) 和脂肪酸结合蛋白 (FABP) 3 的 mRNA 表达水平平均增加 ($P<0.05$), 长链脂酰辅酶 A 合成酶 6 (ACSL6)、固醇调节元件结合蛋白 1 (SREBP1)、过氧化物酶体增殖物激活受体 α (PPAR α) 和 PPAR γ 的 mRNA 表达水平平均降低 ($P<0.05$)。如

图 2D 所示，0.40% Leu 组和 0.80% Leu 组 ACACA 和 GPAM 的 mRNA 表达量均增加 ($P<0.05$)。如图 2E、F 所示，FASN 的蛋白表达量提高 ($P<0.05$)，各组 ACACA 的蛋白表达量无显著性差异。

2.4 Leu 对新生仔猪背最长肌糖代谢相关基因表达的影响 如图 3A 所示，0.40% Leu 组磷酸烯醇丙酮酸羧激酶 (PEPCK) mRNA 表达量高于对照组 ($P<0.05$)。如图 3B 所示，0.40% Leu 组 GYS-1 的 mRNA 表达水平高于 0.80% Leu 组和 1.20% Leu 组 ($P<0.05$)。如图 3C 所示，0.40% Leu 组、0.80% Leu 组、1.20% Leu 组 PFKM 的 mRNA 表达水平无显著差异，0.80% Leu 组 ACL 的 mRNA 表达水平提高 ($P<0.05$)。如图 3D 所示，0.80% Leu 组 GLUT1 蛋白表达量高于其他组 ($P<0.05$)。

3 讨论

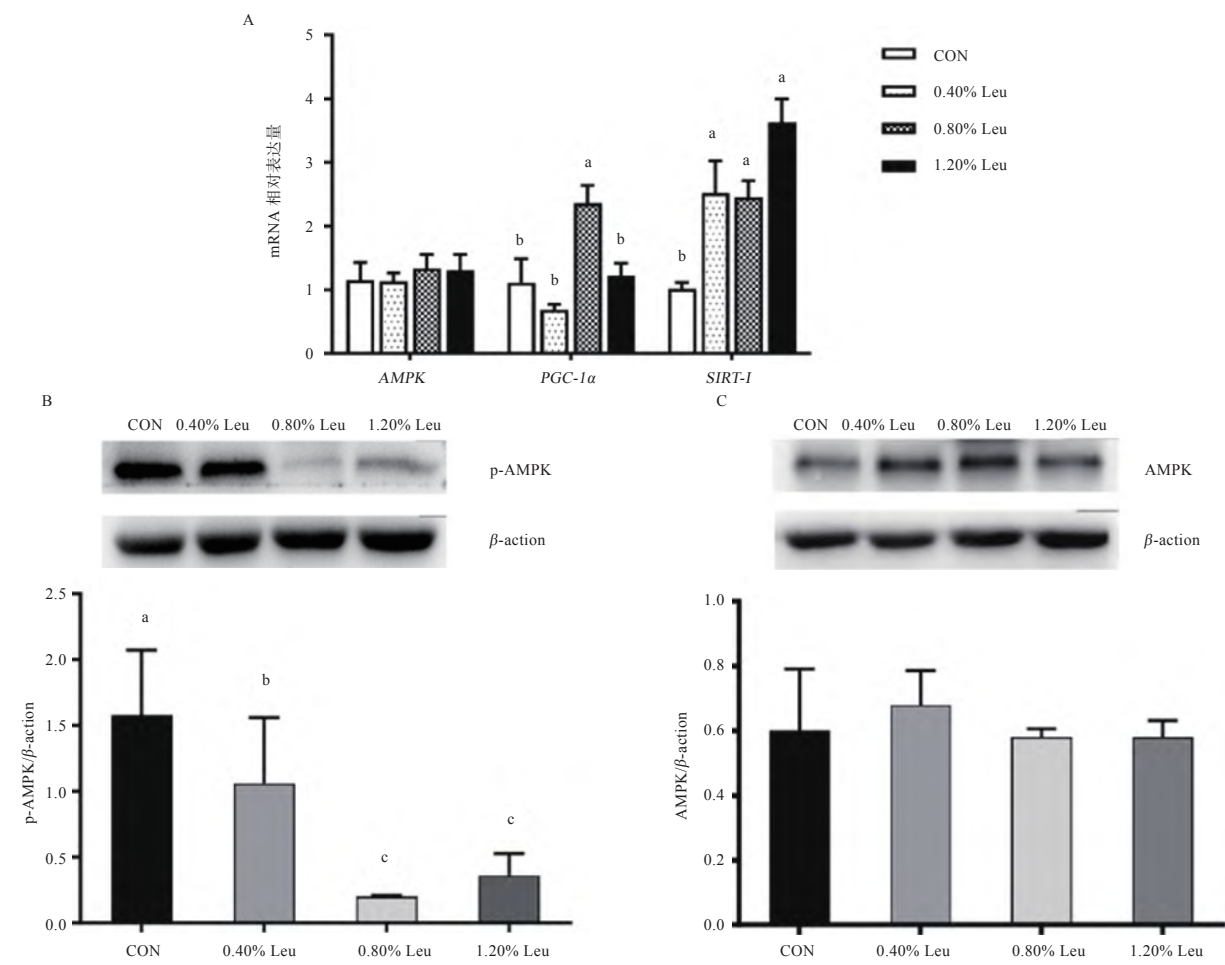
3.1 妊娠后期添加 Leu 对母猪 - 仔猪能量代谢的影响 GLU 是哺乳动物细胞中重要的能量底物^[16]，经过糖酵解和三羧酸循环产生能量^[17]。母猪妊娠后期的能量需求呈指数型增加，提高能量底物水平有助于提高仔猪初生重和存活率^[18]。本研究发现，妊娠母猪饲料中添加 0.40% Leu 可提高各妊娠阶段母猪血清和新生仔猪背最长肌中 GLU 含量；给妊娠母猪饲喂添加 0.40%、0.80% 和 1.20% Leu 显著降低了妊娠母猪第 110 天血浆和新生仔猪背最长肌中 TG 含量。由此表明，Leu 可能是通过提高糖代谢水平，减少母猪 - 仔猪脂肪合成，提高能量代谢水平为蛋白沉积提供充足能量。

线粒体是细胞内主要的能量生产中心，细胞呼吸将

表 2 日粮 Leu 对妊娠母猪及新生仔猪血液指标的影响 (n=6)					mmol/L
项目	对照组	0.40% Leu 组	0.80% Leu 组	1.20% Leu 组	P 值
母猪妊娠第 84 天					
TG	0.381±0.048	0.372±0.033	0.262±0.008	0.315±0.028	0.061
GLU	4.003±0.179	4.150±0.250	3.599±0.332	3.804±0.138	0.378
TC	7.072±0.857 ^{ab}	5.594±0.276 ^b	6.680±0.328 ^{ab}	7.904±0.258 ^a	0.047
LDL	0.176±0.031	0.168±0.025	0.166±0.019	0.166±0.024	0.992
HDL	0.646±0.008 ^a	0.429±0.049 ^b	0.484±0.013 ^b	0.610±0.023 ^a	<0.001
母猪妊娠第 98 天					
TG	0.527±0.086 ^a	0.249±0.004 ^b	0.385±0.038 ^{ab}	0.472±0.018 ^a	<0.001
GLU	3.437±0.147	4.252±0.413	3.200±0.260	3.906±0.315	0.126
TC	6.980±0.299 ^b	6.576±0.157 ^b	6.587±0.656 ^b	8.135±0.261 ^a	0.030
LDL	0.130±0.019	0.129±0.027	0.103±0.012	0.121±0.027	0.848
HDL	0.642±0.015	0.664±0.044	0.603±0.017	0.677±0.046	0.491
母猪妊娠第 110 天					
TG	2.034±0.066 ^a	1.000±0.056 ^b	1.120±0.050 ^b	0.988±0.033 ^b	<0.001
GLU	3.966±0.145 ^b	4.905±0.297 ^a	4.816±0.092 ^a	4.748±0.337 ^a	0.044
TC	1.933±0.027	1.714±0.196	1.906±0.241	2.278±0.115	0.174
LDL	0.306±0.024 ^c	0.622±0.020 ^a	0.340±0.013 ^{bc}	0.423±0.033 ^{ab}	0.012
HDL	0.665±0.010	0.822±0.023	0.728±0.027	0.745±0.064	0.149
新生仔猪脐带血					
TG	1.196±0.069 ^a	0.952±0.192 ^a	0.459±0.057 ^b	0.354±0.055 ^b	<0.001
GLU	5.582±0.268	6.242±0.173	4.853±0.474	4.889±0.594	0.270
TC	1.081±0.049 ^c	2.662±0.193 ^a	1.361±0.093 ^b	1.589±0.102 ^b	<0.001
LDL	0.219±0.004 ^b	0.333±0.023 ^a	0.321±0.038 ^a	0.366±0.038 ^a	0.009
HDL	0.265±0.027 ^b	0.649±0.092 ^a	0.728±0.052 ^a	0.642±0.066 ^a	0.001

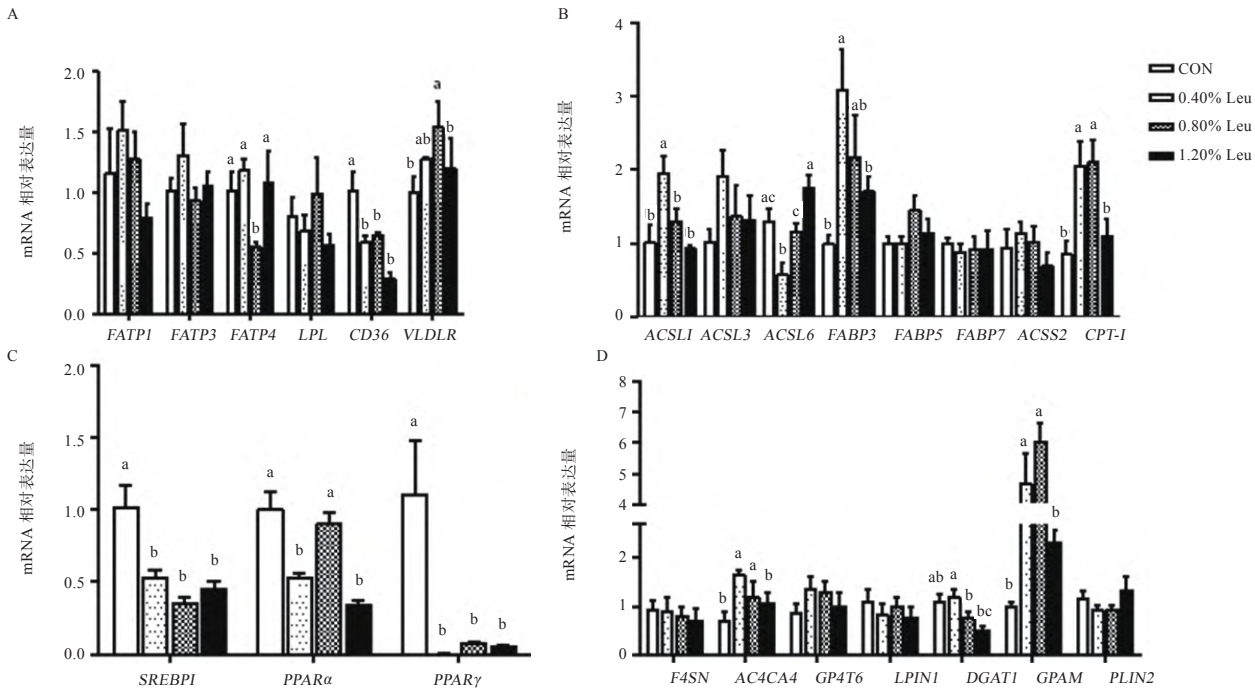
注：同行数据肩标不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$)，含相同或无字母表示差异不显著 ($P>0.05$)。下表同。

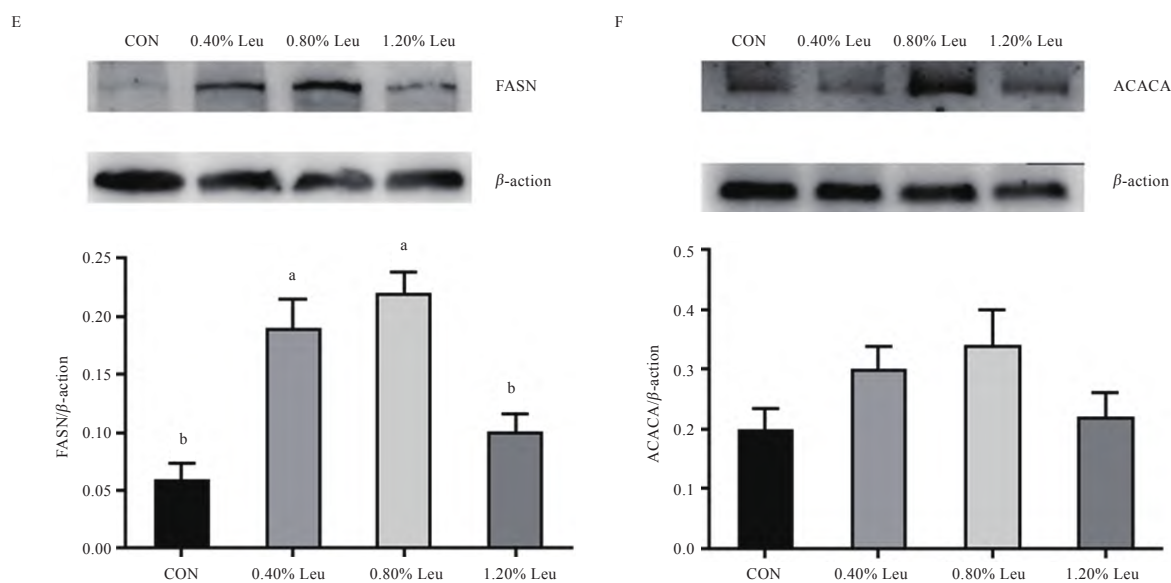
表 3 饲料中添加 Leu 对新生仔猪背最长肌能量底物的影响 (n=6)					mmol/L
项目	对照组	0.40% Leu 组	0.80% Leu 组	1.20% Leu 组	P 值
TG	0.571±0.038 ^a	0.454±0.029 ^b	0.309±0.025 ^c	0.315±0.028 ^c	<0.001
GLU	0.093±0.005	0.104±0.008	0.072±0.009	0.080±0.010	0.063



A 为相关基因的 mRNA 表达量, B、C 为 p-AMPK 和 AMPK 相对蛋白表达。图中 CON 为对照组; 不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$), 下同。

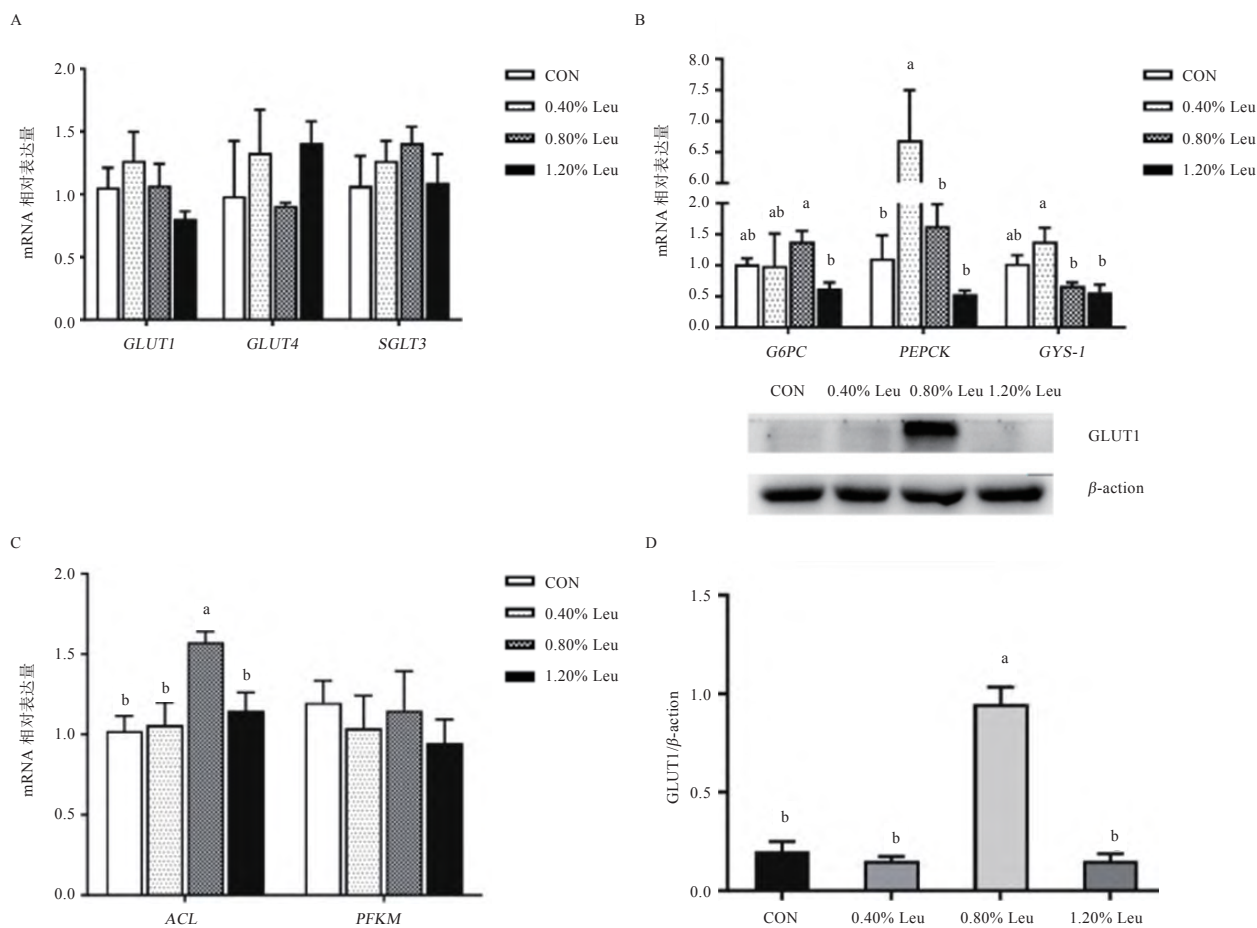
图 1 Leu 对新生仔猪背最长肌线粒体功能相关基因表达的影响





A 为脂肪酸的转运相关基因 mRNA, B、C 分别为脂肪酸的转运、合成和分解相关基因 mRNA, D 脂肪酸合成相关基因 mRNA, E、F 为 FASN 和 ACACA 的相对蛋白表达。

图 2 Leu 对新生仔猪背最长肌脂肪酸代谢相关基因表达的影响



A~C 为葡萄糖的转运、合成和分解相关基因 mRNA 表达, D 为 GLUT1 蛋白表达。

图 3 Leu 对新生仔猪背最长肌中葡萄糖相关基因 mRNA 和蛋白表达量的影响

有机物质转化为 ATP, 参与脂肪酸的氧化代谢。*SIRT-1* 是一种脱乙酰基酶^[19], *PGC-1 α* 是 *SIRT-1* 的主要下游靶基因, 参与调节线粒体功能^[20]。与对照组相比, 各处理组仔猪背最长肌 *SIRT-1* 的 mRNA 表达量显著增加, p-AMPK 蛋白表达量显著降低, 其中 0.80% Leu 组 *PGC-1 α* 的 mRNA 表达显著增加。Leu 可能通过提高 *SIRT-1* 和 *PGC-1 α* 的表达水平和抑制 AMPK 的磷酸化水平, 促进糖异生和脂肪酸氧化, 进一步增强 Leu 对蛋白质合成的作用。

3.2 Leu 对新生仔猪背最长肌脂肪代谢及相关调控通路的影响 脂肪代谢包括脂肪酸的转运、合成和分解 3 个过程。在转运方面, *CD36* 可与 *FATP*、*ACSL* 和 *FABP* 共同协作促进脂肪酸摄取。*CD36* 负责脂肪酸细胞内的转运, 促进其参与下一步分解或合成代谢; *FATP* 基因家族参与外源性长链脂肪酸的跨膜转运, 从而促进脂肪酸的摄取^[21]。在合成方面, *ACSLs* 通过 ATP 依赖反应将脂肪酸转化为酯酰-CoA, 而 *FABP* 则与 *ACSL1* 和 *FATP* 协同参与脂肪酸酯化反应^[22]。在分解方面, 肉碱棕榈酰转移酶-1 (CPT1) 催化脂肪酸的 β -氧化限速步骤^[23-24]。本试验结果表明, 在妊娠母猪饲料中添加 0.80% Leu 可降低仔猪背最长肌 *CD36* 和 *FATP4* 的 mRNA 表达水平, 而添加 0.40% Leu 可显著提高新生仔猪背最长肌 *ACSL1*、*FABP3* 和 *CPT-1* 的 mRNA 表达水平, 提示妊娠后期补充 Leu 可能通过促进脂肪酸运输和氧化代谢来增强能量供应。

PPAR α 是一种重要的调控脂肪代谢核受体^[25], 其靶基因包括 *CD36*、*ACSL3* 和 *FABP3* 等, 这些基因与脂肪酸转运密切相关^[26]。研究表明, Leu 可以提高骨骼肌 *PPAR γ* 基因的表达水平, 进而促进脂肪组织中的脂肪生成, 调控肌肉细胞脂肪代谢和能量代谢水平^[14]。*SREBP-1* 调控脂肪酸从头合成、脂肪酸脱饱和、*LCFA* 摄取和 TG 酯化等相关酶^[27] 和 *FASN*、*ACACA* 的转录调节^[28-29]。*FASN* 过表达会导致肝脏脂肪堆积, 损伤正常的脂质代谢, 而 *ACACA* 过表达可以显著促进脂肪酸合成^[30-31]。本试验结果表明, 在饲料中添加 0.40% 和 1.20% Leu 后, *SREBP1*、*PPAR α* 和 *PPAR γ* 的 mRNA 表达水平显著降低, 但各处理组 *ACACA* 和 *GPAM* 的 mRNA 表达水平显著高于对照组。此外, 0.4% Leu 组和 0.8% Leu 组 *FASN* 的蛋白表达量显著增加, *ACACA* 的蛋白表达量和 *DGAT1*、*AGPAT6* 的 mRNA 表达水平

也呈现增加的趋势。因此, 妊娠母猪饲料中添加 0.40% Leu 可以提高仔猪脂肪酸合成相关基因的表达水平, 从而为机体合成提供更多的能量底物。这可能是通过抑制脂肪细胞合成和储存脂肪来实现的。

3.3 妊娠母猪饲料中添加 Leu 对新生仔猪背最长肌 GLU 代谢的调控作用 GLU 是机体供能的重要底物, 其代谢过程包括转运、合成和分解。在转运方面, *SGLTs* 和 *GLUTs* 是关键转运载体。*SGLTs* 主要参与 GLU 的主动吸收, 而 *GLUTs* 则负责 GLU 的被动运输。在合成方面, *PEPCK* 是糖异生的关键酶, 参与调节 GLU 稳态^[32]。*GYS-1* 主要促进糖原的合成和积累。在分解方面, *ACL* 是连接糖酵解和脂肪酸合成的重要介质^[33-34]。本试验结果表明, 与对照组相比, 0.40% Leu 组中 *PEPCK* 的 mRNA 表达量显著增加, *GLUT1*、*GLUT4*、*SGLT3* 和 *GYS-1* 的 mRNA 表达量有增加的趋势; 0.80% Leu 组新生仔猪背最长肌中 *GLUT1* 蛋白表达量和 *ACL* 的 mRNA 表达水平显著增加。由此推测, 添加 Leu 可能促进仔猪骨骼肌中 GLU 转运蛋白基因的表达, 提高了 GLU 在新生仔猪背最长肌中的转运水平, 并促进了糖异生、糖原合成和糖酵解, 为机体蛋白质合成提供更多能量底物。

综合分析表明, 妊娠母猪日粮中添加不同水平 Leu 对新生仔猪背最长肌能量代谢呈现剂量依赖性和通路特异性的双重特点, 即 0.40% Leu 主要促进 GLU 利用、脂肪酸活化与氧化, 以及糖异生和糖原合成; 0.80%~1.20% Leu 则在一定程度上增强脂肪酸合成相关酶的表达。与此同时, 部分基因的 mRNA 与蛋白表达变化并不完全一致, 提示 Leu 的调控作用涉及转录、翻译及蛋白降解等多层次网络。这也说明, 仅从单一分子或单一层面解释 Leu 的营养调控效应仍不充分, 未来需要结合代谢组学、线粒体功能测定及时间梯度采样进一步验证。

4 结论

在母猪妊娠后期饲料中添加 0.4%、0.8% Leu 可提高新生仔猪背最长肌中脂肪酸分解和氧化, 并可促进糖异生、糖原合成以及糖酵解过程, 降低 TG 合成及提高能量代谢水平, 这一调控可能为 Leu 促进蛋白质沉积提供充足能量。

参考文献:

[1] Wu G, Bazer F W, Wallace J M, et al. Board-invited review:

- intrauterine growth retardation: implications for the animal sciences[J]. *J Anim Sci*, 2006, 84(9): 2316-2337.
- [2] 李文刚. 母猪年产断奶仔猪数 (PSY) 达到最大是猪场效益提升的关键 [J]. *畜牧与兽医*, 2015, 47(8): 127-129.
 - [3] 王超先, 王旭贞, 管武太, 等. 母猪妊娠后期日粮添加亮氨酸对断奶仔猪生长性能及乳成分的影响 [J]. *中国畜牧杂志*, 2016, 52(9): 48-52.
 - [4] Wang C X, Chen F C, Zhang W F, *et al*. Leucine promotes the growth of fetal pigs by increasing protein synthesis through the mTOR signaling pathway in longissimus dorsi muscle at late gestation[J]. *J Agric Food Chem*, 2018, 66(15):3840-3849.
 - [5] 付域泽, 王强, 焦帅, 等. 低蛋白代乳粉调控断奶仔猪肠道微生物区系及缓解腹泻的作用 [J]. *中国畜牧杂志*, 2023, 59(11): 270-279.
 - [6] 刘杰, 李永明, 徐子伟, 等. 大豆黄酮对母猪生产性能和免疫功能的影响 [J]. *浙江农业科学*, 2012(3): 400-402.
 - [7] 王超先. 亮氨酸对妊娠后期胎猪蛋白质沉积的影响及机理研究 [D]. 广州: 华南农业大学, 2018.
 - [8] 唐燕妮. 妊娠后期日粮中添加亮氨酸对新生仔猪蛋白质沉积能量来源的影响 [D]. 广州: 华南农业大学, 2020.
 - [9] 郑溜丰. 低蛋白日粮添加支链氨基酸对仔猪采食量和骨骼肌生长的影响及调控机制研究 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2017.
 - [10] 焦俊. 亮氨酸通过脂肪组织控制肥胖的机制研究 [D]. 苏州: 苏州大学, 2016.
 - [11] Suryawan A, Nguyen H V, Almonaci R D, *et al*. Differential regulation of protein synthesis in skeletal muscle and liver of neonatal pigs by leucine through an mTORC1-dependent pathway[J]. *J Anim Sci Biotechnol*, 2012, 3(3):3.
 - [12] 施魁. 亮氨酸对猪胎盘和乳腺上皮细胞营养转运的影响及调控机制 [D]. 广州: 华南农业大学, 2020.
 - [13] Nishitani S, Matsumura T, Fujitani S, *et al*. Leucine promotes glucose uptake in skeletal muscles of rats[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2002, 299(5): 693-696.
 - [14] Sun X, Zemel M B. Leucine and calcium regulate fat metabolism and energy partitioning in murine adipocytes and muscle cells[J]. *Lipids*, 2007, 42(4): 297-305.
 - [15] Cui C, Wu C C, Wang J, *et al*. Leucine supplementation during late gestation globally alters placental metabolism and nutrient transport via modulation of the PI3K/AKT/mTOR signaling pathway in sows[J]. *Food Funct*, 2022, 13(4): 2083-2097.
 - [16] Chen L Q, Cheung L S, Feng L, *et al*. Transport of sugars[J]. *Annu Rev Biochem*, 2015, 84: 865-894.
 - [17] 赵惠奇, 张青海, 郑昭芬. 从心肌能量代谢角度探讨射血分数保留的心力衰竭的治疗进展 [J]. *实用心脑血管病杂志*, 2023, 31(2): 1-7.
 - [18] 江赵宁, 王文惠, 吴飞, 等. 妊娠后期能量饲喂水平对母猪繁殖性能和血脂代谢相关指标的影响 [J]. *动物营养学报*, 2018, 30(8): 2960-2968.
 - [19] Nevoral J, Landsmann L, Stiannicka M, *et al*. Epigenetic and non-epigenetic mode of SIRT1 action during oocyte meiosis progression[J]. *J Anim Sci Biotechnol*, 2019, 10: 67.
 - [20] Elesawy W H, El-Sahar A E, Sayed R H, *et al*. Repurposing ezetimibe as a neuroprotective agent in a rotenone-induced Parkinson's disease model in rats: Role of AMPK/SIRT-1/PGC-1 α signaling and autophagy[J]. *Int Immunopharmacol*, 2024, 138: 112640.
 - [21] Foretz M, Ancellin N, Andreelli F, *et al*. Short-term overexpression of a constitutively active form of AMP-activated protein kinase in the liver leads to mild hypoglycemia and fatty liver[J]. *Diabetes*, 2005, 54(5): 1331-1339.
 - [22] Xu S, Jay A, Brunaldi K, *et al*. CD36 enhances fatty acid uptake by increasing the rate of intracellular esterification but not transport across the plasma membrane[J]. *Biochemistry*, 2013, 52(41): 7254-7261.
 - [23] Nickerson J G, Alkhateeb H, Benton C R, *et al*. Greater transport efficiencies of the membrane fatty acid transporters FAT/CD36 and FATP4 compared with FABPpm and FATP1 and differential effects on fatty acid esterification and oxidation in rat skeletal muscle[J]. *J Biol Chem*, 2009, 284(24): 16522-16530.
 - [24] Ngo J, Choi DW, Stanley IA, *et al*. Mitochondrial morphology controls fatty acid utilization by changing CPT1 sensitivity to malonyl-CoA[J]. *EMBO J*, 2023, 42(11): 111901.
 - [25] 高芳芳. 两种非常规饲料原料对猪, 鸡氧化还原状态和脂代谢的影响 [D]. 南京: 南京农业大学, 2020.
 - [26] Huang L Z, Xu R, Chen S Y, *et al*. Modulating lipid metabolism by nanoparticles (NPs)-mediated ACSL3 silencing to inhibit hepatocellular carcinoma growth and metastasis[J]. *Mol Cancer*, 2025, 24(1): 73.
 - [27] Geng F, Guo D L. SREBF1/SREBP-1 concurrently regulates lipid synthesis and lipophagy to maintain lipid homeostasis and tumor growth[J]. *Autophagy*, 2024, 20(5): 1183-1185.
 - [28] 姜志浩. 脱氢表雄酮对高脂日粮诱导的大鼠脂代谢紊乱和胰岛素抵抗的影响及其机制研究 [D]. 南京: 南京农业大学, 2020.
 - [29] Ioannou M S, Jackson J, Sheu S H, *et al*. Neuron-Astrocyte metabolic coupling protects against activity-induced fatty acid toxicity[J]. *Cell*, 2019, 177(6): 1522-1535.
 - [30] 杨青. 过表达乙酰辅酶 A 羧化酶以提高谷氨酸棒杆菌重组菌株中脂肪酸合成的研究 [D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2021.
 - [31] 慈文佳, 陈欣, 蒋梦琪, 等. 四逆散加葛根混合物对产蛋后期蛋鸡肝脏脂代谢和氧化还原状态的影响 [J]. *动物营养学报*, 2023, 35(3): 1540-1551.
 - [32] Yoon J C, Puigserver P, Chen G, *et al*. Control of hepatic gluconeogenesis through the transcriptional coactivator PGC-1[J]. *Nature*, 2001, 413(6852): 131-138.
 - [33] Granchi C. ATP citrate lyase (ACLY) inhibitors: An anti-cancer strategy at the crossroads of glucose and lipid metabolism[J]. *Eur J Med Chem*, 2018, 157:1276-1291.
 - [34] Xu Q T, Yue Y P, Liu B, *et al*. ACL and HAT1 form a nuclear module to acetylate histone H4K5 and promote cell proliferation[J]. *Nat Commun*, 2023, 14(1): 3265.

(责任编辑: 郑本艳)