

肥胖大鼠血浆摄食相关肽和血脂水平变化^{*}

田德润^{1,2}, 李晓东^{1,2}, 石玉顺², 韩济生²

(1. 天津医科大学人体解剖学教研室, 天津 300070, 2. 北京大学神经科学研究所)

[摘要]目的:研究高能饲料对大鼠体重和摄食量的影响,探讨食源性肥胖的发生机制。方法:(1)通过高能饲料喂养,建立食源性肥胖大鼠模型,分为:食源性肥胖(DIO)组。肥胖抵抗(DR)组。对照组。(2)每日观察体重及摄食量,共4周。(3)ELISA方法检测血浆MCH和-MSH水平。结果:(1)高能饲料喂养下的大鼠体重高于普通饲料喂养大鼠,并有50%大鼠发育为DIO。(2)与对照组和DR组相比,DIO组体重和摄食量明显增加($P < 0.001$)。(3)与对照组相比,DIO组血浆MCH水平升高,-MSH水平降低,并伴有高脂血症。结论:高能食物可以导致具有肥胖倾向的大鼠体重增加,而DR鼠通过完善的代偿调节机制,维持正常体重;DIO鼠的血浆MCH水平升高以及-MSH水平降低可能是导致其肥胖的外周发病机制之一;提示肥胖的发生即受环境因素影响,又与遗传因素密切相关。

[关键词] 食源性肥胖;肥胖抵抗;MCH;-MSH;高脂血症

[中图分类号] R589.2

[文献标识码] A

[文章编号] 1006-8147(2004)03-0339-04

Plasma levels of feeding - related peptides and lipid in diet-induced obese rats

TIAN De - Run^{1,2}, LI Xiao - dong^{1,2}, SHI Yu - shun², HAN Ji - sheng²

1. Department of Anatomy, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China;

2. Neuroscience Research Institute, Peking University, Beijing 100083, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the effect of high-fat diet on body weight and food intake of rats and to explore the possible mechanisms of diet-induced obesity (DIO), using enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). **Methods:** 1. DIO rat model was established by feeding high-fat diet to rats for 14 weeks. 2. Rats were randomly divided into 3 groups: DIO group, diet resistant group and control group; 3. Food intake and body weight were measured daily for 4 weeks. 4. The level of MCH and -MSH in blood were measured by ELISA. **Results:** After high fat diet feeding for 14 weeks, about 50% rats developed diet-induced obesity. The food intake and body weight of DIO group were increased significantly compared with DR and control group ($P < 0.001$). The DIO rats were higher level of MCH ($P < 0.01$) and lower level -MSH ($P < 0.05$) than control group. **Conclusion:** A decrease of -MSH level and an increase of MCH in blood may associate with obesity.

KEY WORDS Diet-induced obesity; Diet resistant; MCH; -MSH; Hyperlipimia

肥胖 (obesity) 是一种典型的环境因素与遗传因素相互作用而导致能量摄入与消耗失衡所造成的

* 国家自然科学基金资助项目(项目批准号:30270624)

作者简介:田德润(1961-),男,副教授,硕士生导师,研究方向:神经内分泌;韩济生(1928-),男,教授,博士生导师,中国科学院院士,研究方向:神经化学。

慢性疾病^[1]。近几十年来,全球肥胖人口的比例呈逐年上升趋势,而且越是发达国家,肥胖人口的比例越高^[2]。肥胖不仅与心脑血管疾病、糖尿病、脂代谢紊乱、骨关节炎和胆石症等疾病密切相关,而且还带来许多社会问题和心理问题,影响人们的生活质量,降

低预期寿命。在同样的饮食条件下,有些人容易发展成为肥胖,而有些人则仍能维持正常体重,这种机制一直是肥胖研究的焦点。SD大鼠对食物营养成分敏感,属食源性肥胖(diet-induced obesity, DIO)易感动物。食源性肥胖动物模型与人类肥胖具有许多相似的特征,已广泛应用于肥胖发病机理的研究^[3]。

黑色素浓缩素(melanin concentrating hormone, MCH)为19个氨基酸组成的肽,最初从鲑鱼的垂体分离出来,随后发现在哺乳动物的中枢及外周均有存在。在中枢,MCH能神经元主要存在于下丘脑,尤以下丘脑外侧区(lateral hypothalamic area, LHA)最为丰富。脑室内注射MCH可刺激动物摄食,MCH基因敲除的小鼠摄食量降低,体重减轻^[4,5]。在周围组织,MCH的受体主要存在于消化道、胰腺、睾丸和脂肪组织。黑皮素(melanocortin, MC)是一组神经肽,来源于同一前体,即:前阿黑皮素(pro-opiomelanocortin, POMC)。其中以 α -黑色素细胞刺激素(α -melanocyte-stimulating hormone, α -MSH)对能量平衡的调节作用最强。 α -MSH是13个氨基酸残基组成的神经肽,具有抑制摄食、增加能量消耗的作用^[6,7]。

对于MCH和 α -MSH的调节摄食和体重的中枢作用研究较多,但对肥胖发展过程中其外周血浆水平变化的研究甚少。因此,本研究通过给予高能饲料喂养,观察大鼠体重和摄食量的变化,检测动物血浆MCH和 α -MSH的水平和血脂水平,探讨肥胖的发生机制。

1 材料和方法

1.1 实验动物 100只刚断乳健康雄性SD大鼠,体重40~50g。动物室温度为(22±2)℃,维持12h/12h昼夜节律(光照:7:00~19:00),饲料、自来水随意饮用。适应环境1周后,分为2组:(1)高能饲料组($n=80$)给予自制高能饲料,(2)对照组($n=20$)给予基础大鼠饲料。喂养14周后,高能饲料组动物体重超过对照组最高体重者,设为DIO组;体重未超过对照组平均体重的大鼠,设为肥胖抵抗(diet resistant, DR)组。各组动物单笼喂养4周,每日在相同时间内记录体重和摄食量。

1.2 动物饲料 标准动物饲料成份:5%脂肪,55%碳水化合物,22%蛋白质,7%灰分,5%纤维素。饲料热量为3.80 kcal/g。高能饲料配方:50%标准动物饲料,15%猪油,10%白糖,5%奶粉,10%鸡蛋,

5%芝麻油,5%花生仁。能量成份为:30%脂肪,40%碳水化合物,15.5%蛋白质,4%灰分,3%纤维素。饲料热量为4.76 kcal/g。

1.3 血液检测 实验结束,过量麻醉下,断头取血,分别装入两个预先加入20 μ l肝素抗凝的ependorf管。4℃、3000 r.p.m.离心20 min,取上清。常规方法测血糖、甘油三酯和胆固醇。酶联免疫吸附检测(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)方法,检测血浆MCH和 α -MSH浓度,具体操作步骤按照试剂盒说明书进行。

1.4 统计学处理 应用prism统计软件进行数据处理。实验数据均用平均值±标准差(Mean±SD)表示,体重和摄食量数据采用ANOVA,继以Newman-Keuls检验,ELISA结果数据采用t-test,以 $P<0.05$ 作为存在统计学差异的界限。

2 结果

2.1 体重及摄食量 对照组(52.2±5.85)g与高能饲料组(52.7±5.74)g的初始平均体重相当,无显著性差异($P>0.05$)。经过15周喂养之后,高能饲料组动物平均体重明显高于对照组动物平均体重,具有显著性差异($P<0.001$)。在DIO组中,有40只发展为DIO大鼠,其平均体重是对照组动物平均体重的128.3%,具有显著性差异($P<0.001$)。有13只低于对照组动物平均体重,设为DR组,与DIO组动物平均体重相比,具有显著性差异($P<0.001$)。在记录摄食量期间,DIO大鼠每日平均摄入的热量明显高于DR组和对照组($P<0.001$),而DR组动物与对照组动物摄入的热量无显著性差异(见表1)。

表1 各组大鼠体重和摄食量($\bar{x}\pm S$)

组别	例数	体重(g)	摄食量(kcal/g)
对照组	20	554.2±53.04	110.4±14.62
DR组	13	521.5±24.82	112.1±11.94
DIO组	40	711.1±35.66 ^{***}	138.6±14.13 ^{***}

与对照组和DR组相比,*** $P<0.001$

2.2 血脂水平 DIO大鼠的血浆胆固醇水平明显高于对照组和DR组,具有显著性差异($P<0.01$)。虽然DR大鼠进食高能饲料,但血浆胆固醇水平与对照组相比,无显著性差异。与血浆胆固醇水平相似,DIO大鼠血浆甘油三酯水平明显高于对照组,有统计学意义($P<0.05$)。DR大鼠血浆甘油三酯介于前两者之间,无显著性差别(见表2)。

2.3 血浆MCH和 α -MSH浓度 ELISA结果显

示, DIO 组血浆 MCH 水平高于对照组和 DR 组, 具有显著性差异 ($P < 0.01$), 而血浆 -MSH 水平明显低于对照组, 具有显著性差异 ($P < 0.05$, 见表 2)。

表 2 大鼠血脂及 MCH 和 -MSH 浓度 ($\bar{X} \pm S$)

组别	例数	甘油三酯 (mmol/L)	胆固醇 (mmol/L)	MCH (ng/ml)	-MSH (ng/ml)
对照组	10	0.62 ± 0.19	1.43 ± 0.23	2.24 ± 0.63	0.75 ± 0.14
DR 组	10	0.79 ± 0.48	1.38 ± 0.26	2.56 ± 0.59	0.67 ± 0.12
DIO 组	10	1.19 ± 0.44 ^{**}	2.12 ± 0.47 ^{**}	3.25 ± 1.05 [#]	0.63 ± 0.08 [#]

与对照组和 DR 组相比, ^{**} $P < 0.01$, ^{*} $P < 0.05$; 与对照组相比, [#] $P < 0.01$, [#] $P < 0.05$

3 讨论

对于大多数人来说, 受情绪、社会因素、时间、价格等环境因素的影响, 每日及每次进餐的质和量会有很大变化, 致使每日摄取和消耗的能量失去平衡。然而, 观测一段时期内能量的摄取和消耗, 则是处于能量平衡状态。这种现象说明机体有一套精确、有效的能量平衡调节系统, 以保证机体能量稳定。正常情况下, 当机体处于正能量平衡状态(即能量获得大于消耗时), 机体能量平衡调节系统通过调节摄食和产热, 最终维持正常体重。当这种反馈调节机制不完善或异常时, 则会出现体脂堆积, 体重进行性增加, 导致肥胖。作为一种复杂的基因表型, 肥胖呈现一种复杂的遗传现象, 且伴有基因-基因和基因环境的相互作用。由于维持机体能量平衡是由一个复杂调节系统完成的, 而且体重指数 (body mass index, BMI)、局部脂肪分布、热量的摄入和消耗、基础代谢率等均受遗传因素影响, 从基因水平看, 维持正常体重是由一个相对庞大的基因组决定的, 目前已发现 20 多个基因与肥胖相关。近年来, 随着瘦素 (leptin) 的发现及对肥胖的发病机制研究的进一步深入, 已从分子遗传学的水平上部分阐明了肥胖症的发病机制, 使人类对肥胖的研究达到了一个新的水平。在肥胖症研究领域, 肥胖动物模型多种, 如: 基因敲除模型、损毁下丘脑模型, DIO 模型等。

DIO 大鼠与人类肥胖有许多共同特征, 如高 leptin 血症、高胰岛素血症、高呼吸商、胰岛素抵抗和脂代谢紊乱等^[3,8], 非常适用于肥胖机制的研究。有文献报道, DIO 鼠在早期对中枢和外周给予 leptin 反应敏感, 摄食量减少, 体重增加缓慢; 中期对外周给予 leptin 发生抵抗, 但对中枢给予 leptin 仍敏感; 晚期对外周和中枢给予 leptin 均不敏感^[9]。另

外, DIO 大鼠脂肪氧化能力明显下降^[10]。在给予普通饲料时, DIO 倾向大鼠与普通大鼠的体重增长相似。一旦 DIO 倾向大鼠摄入高能饲料发展成为 DIO 后, 即使再给予普通饲料喂养, 它们的体重增长也不会改变。而有些 DR 大鼠, 经过额外补充可口的流质食物可以发展为肥胖, 但经过一段时间的普通饲料喂养后, 其体重可以恢复至正常水平^[11]。研究发现, DIO 大鼠的脂肪细胞数和细胞体积分别比正常大鼠高 48% 和 61%。限食后 DIO 大鼠体重减轻, 脂肪体积减少, 但是脂肪细胞数并不减少, 这表明饮食引起的脂肪细胞数增长过程是不可逆的^[12]。Levin 等人发现, DIO 大鼠的夜间活动明显减少^[13], 这也是导致其发展为肥胖的重要原因。

本研究中, 长期进食高能饲料的 SD 大鼠, 体重明显高于普通饲料喂养动物, 其中一半左右的大鼠发育为 DIO, 结果与文献报道基本一致^[3]。ELISA 结果显示, DIO 大鼠的血浆 MCH 水平高, -MSH 水平低。MCH 具有明显的刺激摄食作用, MCH 受体是 G 蛋白偶联受体, 广泛分布于脑内和外周组织^[5]。-MSH 具有抑制摄食、促进能量代谢作用。

-MSH 与黑皮素受体 (melanocortin - receptor, MC - R) 结合, 抑制摄食并增加交感神经兴奋性和脂肪组织产热而增加能量消耗^[14]。中枢的 -MSH 可以释放至外周, 通过作用于外周组织 (特别是脂肪细胞) 的 MC - R 促进分解代谢并影响脂代谢^[6]。结果提示, DIO 大鼠血循环中 MCH 水平升高和 -MSH 水平降低, 与其发展成为肥胖密切相关。

与普通大鼠和 DR 大鼠相比, DIO 大鼠摄食量明显增多, 体重持续增加, 并伴有明显的高脂血症。说明 DIO 大鼠能量平衡调节机制不尽完善, -MSH 的合成与释放不足, MCH 的释放增多, 机体摄入的热量大于能量消耗, 过多的热量以脂肪的方式存于体内, 最终导致肥胖。然而, 在同样条件下, 有些个体并未发展成 DIO, 甚至比进食普通饲料大鼠的平均体重还低, 具有肥胖抵抗 (DR) 的特性。可见 DR 大鼠的代偿机制完善, 通过减少 MCH 的释放, 增加 -MSH 的释放, 减少摄食, 促进能量代谢, 维持正常体重。另外, 在制作高能饲料时, 添加许多可口的食物, 如: 花生米、香油、奶粉等, 这些添加物不仅含有较高的能量, 而且刺激大鼠的食欲, 提高了动物的摄食动机。摄食量的结果表明, 可口的食物诱导具有肥胖倾向的大鼠摄入过多的热量, 而对 DR 鼠的影响较弱。说明 SD 大鼠的体重调控与人类很相似, 既受

环境因素(饮食)的影响,又与遗传因素(个体差异)相关。

(致谢:本工作受国家自然科学基金(30270624)资助,特致谢忱。)

参考文献:

- [1] Schwartz MW, Woods SC, Porte D, et al. Central nervous system control of food intake[J]. Nature, 2000, 404: 661
- [2] Kopelman PG. Obesity as a medical problem[J]. Nature, 2000, 404: 635
- [3] Levin BE, Dunn Meynell AA. Reduced central leptin sensitivity in rats with diet-induced obesity[J]. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, 2002, 283: R941
- [4] Mondal MS, Nakazato M, Matsukura S. Characterization of orexins (hypocretins) and melanin-concentrating hormone in genetically obese mice [J]. Regul Pept, 2002, 104: 2
- [5] Boutin JA, Suply T, Audinot V, et al. Melanin - concentrating hormone and its receptors: state of the art [J]. Can J Physiol Pharmacol, 2002, 80: 388
- [6] Pritchard LE, Turnbull AV, White A. Pro-opiomelanocortin processing in the hypothalamus: impact on melanocortin signalling and obesity [J]. J Endocrinol, 2002, 172: 411
- [7] Pritchard LE, Oliver RL, McLoughlin JD, et al. Proopiomelanocortin-derived peptides in rat cerebrospinal fluid and hypothalamic extracts: evidence that secretion is regulated with respect to energy balance [J]. Endocrinology, 2003, 144: 760
- [8] Zurlo F, Lillioja S, Esposito-Del Puente A, et al. Low ratio of fat to carbohydrate oxidation as predictor of weight gain: study of 24-h RQ[J]. Am J Physiol, 1990, 259: E650
- [9] Lin S, Storlien LH, Huang XF. Leptin receptor, NPY, POMC mRNA expression in the diet-induced obese mouse brain [J]. Brain Res, 2000, 875: 89
- [10] Hansen MJ, Ball MJ, Morris MJ. Enhanced inhibitory feeding response to alpha-melanocyte stimulating hormone in the diet-induced obese rat [J]. Brain Res, 2001, 892: 13
- [11] Levin BE, Keeseey RE. Defense of differing body weight set points in diet-induced obese and resistant rats [J]. Am J Physiol, 1998, 274: R412
- [12] Keeseey RE, Hirvonen MD. Body weight set-points: determination and adjustment [J]. J Nutr, 1997, 127: 1875S
- [13] Levin BE, Richard D, Michel C, Servatius R. Differential stress responsivity in diet-induced obese and resistant rats [J]. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, 2000, 279: R1357
- [14] Mountjoy KG, Wong J. Obesity, diabetes and functions for proopiomelanocortin-derived peptides [J]. Mol Cell Endocrinol, 1997, 128: 171

(2004 - 06 - 25 收稿)

参考文献著录规则

按国家标准 GB 7714—87《文后参考文献著录规则》采用顺序编码制著录。参考文献中的作者, 1~3名全部列出, 3名以上只列前3名, 后加“等”英文加“et al”。

外文期刊名称应缩写, 以《Index Medicus》的格式为准; 中文期刊用全名。

(期刊格式) 作者. 文题. 刊名[文献类型标识]如专著[M]; 期刊[J]等. 年份, 卷(期): 起页 - 止页.

1 吴孟超, 张伯和. 我国肝脏外科现状和发展前景[J]. 中华外科杂志, 1996, 34(1): 515 - 518.

2 Iizuka H, Obara K, Ishijima A, et al. Correlation between anti-HBc titers and HBV DNA in blood units without detectable HbsAg[J]. Vox sang, 1992, 63(1): 107 - 110.

(书籍格式) 主编者. 书名[M]. 版次. 出版地: 出版者, 年份. 起页 - 止页(或作者. 文题. 见: 主编者. 书名. 版次. 出版地: 出版者, 年份. 起页 - 止页).

1 王波贞. 实用妇产科学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1987. 953 - 959.

2 裘法祖. 脾脏疾病. 见: 黄家驷, 吴阶平, 主编. 外科学[M]. 上册. 北京: 人民卫生出版社, 1979. 880 - 883.

(编辑部)