

生长激素与奥曲肽对肥胖小鼠 SOCS 转录表达的影响

彭永佳, 孙超, 堵斌, 谢亮, 解芸菲

(西北农林科技大学 动物科技学院, 陕西 杨凌 712100)

【摘要】 【目的】探讨在肥胖状态下, 生长激素和奥曲肽对信号转导抑制因子(SOCS)转录表达的影响, 为进一步探索生长激素通路参与肥胖形成的可能机制提供理论和实验依据。【方法】利用高脂日粮诱导小鼠肥胖模型, 用外源性生长激素和生长抑素类似物奥曲肽处理肥胖小鼠, 记录体质量变化, 观察皮下脂肪、附睾脂肪和肾周脂肪的沉积情况, 检测血清中甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)、高密度脂蛋白(HDL-C)和低密度脂蛋白(LDL-C)含量, 同时利用 RT-PCR 法分析与生长激素密切相关的信号转导抑制因子 1, 2, 3 (SOCS1, SOCS2 和 SOCS3) mRNA 的表达。【结果】外源性生长激素处理并不能减少肥胖小鼠脂肪沉积, 反而增加了体脂含量($P < 0.01$), 血清中 TG、TC、HDL-C 和 LDL-C 含量无显著变化, 而 SOCS1、SOCS2 和 SOCS3 mRNA 水平显著增加($P < 0.01$); 奥曲肽处理减少了体脂含量($P < 0.01$), 血清中 TG、TC 和 HDL-C 含量显著减少(分别为 $P < 0.05$, $P < 0.05$ 和 $P < 0.01$), SOCS1 和 SOCS3 mRNA 表达水平显著减少($P < 0.01$), 但 SOCS2 却显著增加($P < 0.01$)。【结论】在肥胖状态下, 生长激素并不能减少体脂沉积, 但生长抑素类似物奥曲肽却能够减少体脂含量; SOCS1 和 SOCS3 可能参与此作用机制, 而 SOCS2 对于生长激素信号通路变化更敏感。

【关键词】 饮食诱导肥胖; 重组人生长激素(rhGH); 奥曲肽; 信号转导抑制因子(SOCS)

【中图分类号】 Q786; S865.1⁺3

【文献标识码】 A

【文章编号】 1671-9387(2009)08-0043-05

Effect of GH and Octreotide on SOCS expressions in diet induced obese mice

PENG Yong-jia, SUN Chao, DU Bin, XIE Liang, XIE Yun-fei

(College of Animal Science and Technology, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: 【Objective】 This study aimed at the effect of Growth Hormone and Octreotide on the transcription of Suppressor of cytokine signaling in order to provide experimental and theoretical evidence for the potential role of Growth Hormone signal pass-involved in regulating obesity synthesis. 【Method】 This study established high-fat-diet induced obese mice which are administrated with recombinant human Growth Hormone (rhGH) and Somatostatin Analogue Octreotide. The body weight, subcutaneous fat tissue, periepididymal fat pads and perirenal fat pads were weighed, total cholesterol (TC), triglycerides (TG), high density lipoprotein cholesterol (HDL-C) and low density lipoprotein cholesterol (LDL-C) were measured, and the expression of suppressor of cytokine signaling SOCS1, SOCS2 and SOCS3 which were related to GH were measured by RT-PCR. 【Result】 Determination of rhGH can't reduce but increase fat mass of obese mice ($P < 0.01$), no change was found about the contents of TG, TC, HDL-C, and LDL-C in

* [收稿日期] 2008-12-08

[基金项目] 国家自然科学基金项目(30871785); 国家“十一五”科技支撑计划项目(2006BAD04A11); 教育部新世纪优秀人才计划项目(NCET-06-0865)

[作者简介] 彭永佳(1984-), 女, 新疆乌鲁木齐人, 在读硕士, 主要从事动物生物技术研究。E-mail: pengyj0109@gmail.com

[通信作者] 孙超(1968-), 男, 陕西商南人, 教授, 博士生导师, 主要从事生物技术与动物遗传育种研究。

E-mail: sunchao2775@163.com

serum, and the expression of *SOCS1*, *SOCS2* and *SOCS3* mRNA remarkably increased. After administration with Octreotide, body fat mass decreased significantly ($P<0.01$), the contents of TG, TC and HDL-C in serum decreased ($P<0.05$, $P<0.05$ and $P<0.01$ respectively), the expression of *SOCS1*, *SOCS3* mRNA reduced ($P<0.01$) while *SOCS2* mRNA increased ($P<0.01$). **【Conclusion】** GH could not reduce fat mass in obesity circumstance, but Octreotide could. So it is suggested that *SOCS1*, *SOCS3* might be involved in this functional system, while *SOCS2* has more close relationship with Growth hormone signal pathway.

Key words: diet-induce-obesity; recombinant human Growth Hormone (rhGH); octreotide; suppressor of cytokine signaling (*SOCS*)

生长激素(Growth hormone, GH)是由脑垂体前体分泌的参与机体生长发育调控的一种激素。多项研究证实, GH 在促生长的同时也具有减少脂肪合成的作用^[1]。信号转导抑制因子家族(Suppressor of cytokine signaling, *SOCS*)是近年来新发现的一类负向调节蛋白, 具有可抑制多种细胞因子的作用, 且可被细胞因子和生长因子诱导产生^[2]。GH 能够诱导 *SOCS2* 和 *SOCS3* 的表达^[3], *SOCS* 家族对 GH 信号转导也具有调控作用^[4-5]。奥曲肽属于生长抑素类似物, 对 GH 通路信号有抑制作用。有研究显示, *SOCS* 家族与 GH 信号通路关系密切, 但在肥胖状态下, *SOCS* 家族是否参与了 GH 作用的发挥, 尚未见相关报道。

为进一步探索在肥胖状态下, GH 是否仍可发挥调节脂肪代谢的作用, 以及 *SOCS* 蛋白家族是否共同参与此作用, 并探讨其中可能原因, 本试验选用高脂饮食诱导的肥胖小鼠模型为供试动物, 使用重组人生长激素(rhGH)和生长抑素类似物奥曲肽处理模型小鼠, 观察二者对肥胖小鼠肝脏中 *SOCS1*、

SOCS2 和 *SOCS3* 表达的影响, 为进一步分析肥胖状态下 *SOCS* 参与作用的机制, 及探索调控干扰脂肪沉积的潜在治疗靶点提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材 料

1.1.1 试验动物 雄性昆明小白鼠 48 只, 体质量(21±1) g, 购于第四军医大学实验动物中心。

1.1.2 试 剂 重组人生长激素(rhGH), 长春金赛药业有限责任公司产品; 醋酸奥曲肽冻干粉针剂, 购自成都信力邦生物制药有限公司; 高密度脂蛋白胆固醇试剂盒、甘油三酯试剂盒、总胆固醇试剂盒, 中生北控生物科技股份有限公司产品; RNA 提取试剂盒 TRIpure Reagent, 百泰克公司产品; 反转录试剂盒 RevertAidTM First Strand cDNA Synthesis Kit, TaKaRa 公司产品; *Taq* 酶, Fermentas 公司产品; Marker II, 购自北京天为公司。

1.1.3 日粮配方 普通日粮和用于诱导小鼠肥胖模型所用的饲粮配方见表 1。

表 1 普通日粮和高脂日粮配方组成(质量分数)

Table 1 Formulations of Normal-diet and High-fat-diet (percent) %

日粮 Diet	面粉 Flour	玉米 Corn	麸皮 Wheat bran	豆粕 Soybean meal	鱼粉 Fish meal	骨粉 Bone meal	酵母 Yeast	食盐 Salt	鱼油 Fish oil	添加剂 Additive	猪油 Pork fat
普通 Normal	38	20	16	15	4	3	1	1	1	1	—
高脂 High-fat	30.4	16	12.8	12	3.2	2.4	0.8	0.8	0.8	0.8	20

1.2 小鼠肥胖模型的建立

小鼠适应性饲养 1 周后, 随机分为 2 组, 普通日粮对照组 10 只, 高脂日粮饲喂组 38 只。小鼠单笼饲养, 环境温度(22±3) ℃, 相对湿度(45±5)%, 每天光照 12 h, 自由摄食和饮水, 共饲喂 4 周。之后称质量, 并测量体长, 计算李氏指数^[6], 随机抽取 2 种日粮饲喂小鼠各 8 只, 摘眼球采血后脱颈椎处死。

1.3 肥胖小鼠的处理

从第 5 周起, 将肥胖小鼠随机分成 3 组, 每组

10 只, 分别为高脂空白对照组、GH 处理组和奥曲肽处理组。空白对照组注射生理盐水, GH 处理组注射 rhGH 0.1 IU/(kg·d), 奥曲肽处理组注射醋酸奥曲肽注射液 0.25 mg/(kg·d)。注射方式均为皮下注射。2 周后, 摘眼球采血后脱颈椎处死。分离血清, -20 ℃保存待测。称取皮下脂肪、附睾脂肪和肾周脂肪质量, 同时取肝脏放入液氮中迅速冷却后转入-80 ℃保存待测。

1.4 小鼠血液指标的测定

采用酶法,按照试剂盒说明书检测各组小鼠血清中甘油三脂(TG)、高密度脂蛋白(HDL-C)、低密度脂蛋白(LDL-C)和总胆固醇(TC)含量。

1.5 小鼠 SOCS1,SOCS2,SOCS3 mRNA 表达水平的检测

采用 Trizol 试剂提取小鼠肝脏的总 RNA,10 g/L 琼脂糖凝胶上样检测 RNA 完整性。根据 NC-BI 公布的 β actin (NM_007393.2)、SOCS1 (NM_009896)、SOCS2 (NM_007706) 和 SOCS3 (NM_007707) 的序列分别设计引物(各基因引物序列见表

2),反转录合成 cDNA,进行 PCR 反应。PCR 反应体系为: Taq Buffer 5 μ L, Mg²⁺ 4 μ L, cDNA 2 μ L, dNTP 5 μ L,上游引物 1 μ L, 下游引物 1 μ L, Taq 酶 0.5 μ L,补加灭菌水至 50 μ L。反应条件:95 $^{\circ}$ C 10 min;95 $^{\circ}$ C 40 s,退火 40 s(温度因引物而异,见表 2),72 $^{\circ}$ C 延伸 1 min,29 个循环;72 $^{\circ}$ C 10 min,4 $^{\circ}$ C 冷却,20 g/L 琼脂糖凝胶上样检测扩增结果。

1.6 数据分析

采用 SPSS 13.0 统计软件对试验数据进行方差分析与显著性检验,数据用“ $\bar{x}\pm SD$ ”表示。

表 2 引物序列及退火温度
Table 2 Sequence of primers and Tm

基因 Gene	引物序列(5'→3') Primer sequences (5'→3')	扩增长度/ bp Length	退火温度/ $^{\circ}$ C Tm
β actin	Forward:ACTGCCGCATCCTCTTCCTC Reverse:CTCCTGCTTGCTGATCCACATC	399	53.8
SOCS-1	Forward:TCCGTGACTACCTGAGTTTCCTT Reverse:ATCTCACCTCCACAACCACT	171	57.0
SOCS-2	Forward:ACTAACCTGCGGATTGAG Reverse:CAGAGTGGGTGCTGATGT	213	53.6
SOCS-3	Forward:AGCGGATTCTACTGGAGCG Reverse:GGATGCGTAGGTTCTTGGTC	157	58.8

2 结果与分析

2.1 小鼠肥胖模型的建立

由表 3 可知,饲喂 4 周后,高脂饲喂组小鼠体质

量、体长和李氏指数均明显高于对照组,具有统计学意义,表明高脂诱导的肥胖小鼠模型建立成功,适用于下一步试验。

表 3 不同日粮对小鼠体质量及李氏指数的影响

Table 3 Effects of different diets on the body mass of mice and the Lee index

组别 Group	体质量/g Weight	体长/cm Length	李氏指数 Lee index
普通对照组 Control	24.642 4 $\pm$ 2.979 2 B	9.6 $\pm$ 2.572 9 b	302.639 0 $\pm$ 12.324 0 B
高脂饲喂组 High-fat-diet	33.683 7 $\pm$ 2.546 1 A	9.9 $\pm$ 2.841 4 a	326.009 9 $\pm$ 8.317 9 A

注:同列数据后标不同大写字母者表示差异极显著($P<0.01$),标不同小写字母者表示差异显著($P<0.05$)。下表同。
Note:Different capital letters represent significant difference ($P<0.01$), different small letters represent difference ($P<0.05$). The following tables are the same.

2.2 rhGH 和奥曲肽对肥胖小鼠体质量的影响

由图 1 可见,对肥胖小鼠用 rhGH 和奥曲肽处理后,处理组与对照组体质量有一定差异;从处理后 10 d 起,与对照组相比,2 个处理组表现出不同的变化趋势;在处理后 14 d,这一趋势差别达到最大。推测外源性 GH 可能增加肥胖小鼠体质量,而奥曲肽处理则具有减少体质量的作用趋势。

2.3 rhGH 和奥曲肽对肥胖小鼠体脂含量的影响

由表 4 可见,rhGH 处理组小鼠脂肪组织质量极显著高于对照组($P<0.001$),而奥曲肽处理组极显著低于对照组($P<0.001$)。表明外源性 GH 处理可以继续增加肥胖小鼠的脂肪沉积量,而用醋酸奥曲肽处理作用则相反。

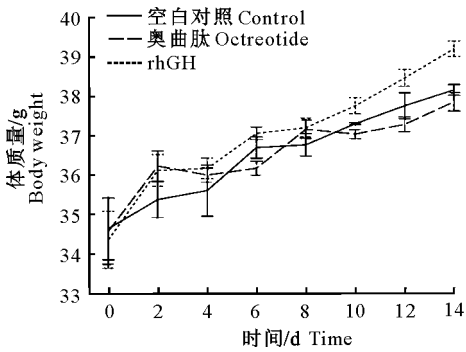


图 1 rhGH 和奥曲肽对肥胖小鼠体质量的影响
Fig. 1 Effect of rhGH and Octreotide on the body weight of obesity mice

表 4 rhGH 和奥曲肽对肥胖小鼠体脂含量的影响
Table 4 Effect of rhGH and Octreotide on body fat mass of obese mice

组 别 Group	皮下脂肪 Subcutaneous fat	肾周脂肪 Perirenal fat	附睾脂肪 Epididymal fat
空白对照 Control	0.262 0±0.002 1 B	0.121 9±0.001 1 B	0.486 7±0.005 2 B
rhGH	0.414 0±0.003 0 A	0.217 5±0.003 4 A	0.751 7±0.001 8 A
奥曲肽 Octreotide	0.164 6±0.002 6 C	0.057 0±0.003 2 C	0.277 1±0.003 1 C

2.4 rhGH 和奥曲肽对肥胖小鼠血脂指标的影响

由表 5 可知, rhGH 处理组小鼠血清中的甘油三酯、高密度脂蛋白和总胆固醇浓度与对照组相比无显著差异;奥曲肽处理组小鼠血清中的甘油三酯、高密度脂蛋白和总胆固醇浓度较对照组降低,分别达显著($P<0.05$)或极显著($P<0.01$)水平;与 rhGH 处理组相比,奥曲肽处理组甘油三酯、高密度脂蛋白

和总胆固醇浓度均降低,分别达极显著($P<0.01$)或显著($P<0.05$)水平。这说明 rhGH 处理并未显著影响小鼠体内的脂肪蛋白浓度,但是奥曲肽则能够明显干扰小鼠的脂肪代谢,降低血清高密度脂蛋白浓度,表明奥曲肽在肥胖状态下仍能够参与调节脂肪的合成及分解过程。

表 5 rhGH 和奥曲肽对肥胖小鼠血脂水平的影响
Table 5 Effect of rhGH and Octreotide on serum lipid level of obese mice

组 别 Group	TG	HDL-C	TC	LDL-C
空白对照组 Control	2.214 1±0.121 5 a	1.568 0±0.116 2 A a	3.601 4±0.073 8 a	2.476 3±0.199 4
rhGH	2.010 8±0.193 3 a	1.835 2±0.141 6 A a	3.430 9±0.169 9 a	2.397 9±0.066 5
奥曲肽 Octreotide	1.693 3±0.060 2 b	0.979 6±0.010 5 B	3.244 0±0.734 4 b	2.603 1±0.079 1

2.5 rhGH 和奥曲肽对肥胖小鼠肝脏组织中 SOCS1、SOCS2 和 SOCS3 mRNA 表达的影响

由图 2 可以看出,在 rhGH 处理后,小鼠肝脏组织中 SOCS1、SOCS2 和 SOCS3 mRNA 的表达水平均极显著高于对照组;用奥曲肽处理后,小鼠肝脏组织中 SOCS1、SOCS3 的表达水平极显著低于对照组,而 SOCS2 则极显著高于对照组。

SOCS1、SOCS2 和 SOCS3 表达,而奥曲肽处理抑制 SOCS1 和 SOCS3 mRNA 的表达,但 SOCS2 mRNA 的表达却被诱导增加。暗示 SOCS2 与 SOCS1 和 SOCS3 相比,与 GH 通路的关系更密切,且可能存在不同的作用机制。

3 讨 论

GH 除了影响人和动物出生后的体长外,还可增加肌肉沉积,减少肥胖,从而调节机体组成。通过对生长激素缺乏的病人和动物的研究发现,GH 含量与肥胖存在一定联系^[7]。在高脂诱导的肥胖大鼠血清中,GH 水平降低^[8],而外源性 GH 能否调节脂肪代谢还不清楚。本试验表明,肥胖小鼠用 GH 处理后,体质量和血脂指标均未见显著变化,说明肥胖小鼠外在表型不受 GH 刺激而变化;体质量虽无显著变化,但体脂成分显著增加,这说明外源性 GH 并不能减轻肥胖小鼠的脂肪沉积现象。

奥曲肽是生长抑素类似物的一种,有研究表明,奥曲肽能够降低由于 GH 水平过高导致的肢端肥大患者血清中的 GH 水平^[9]。本试验中,奥曲肽处理虽未使肥胖小鼠体质量与对照组差异达到显著水平,但仍有减少趋势;小鼠体脂含量、血清中甘油三酯水平较对照组均显著减少,说明奥曲肽可减少肥胖小鼠脂肪沉积,降低血清中甘油三酯含量,推测其对脂肪合成代谢有抑制作用。

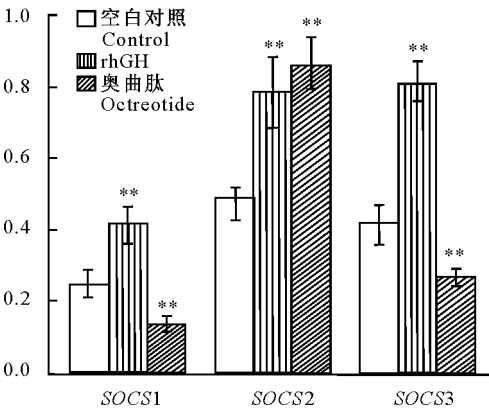


图 2 rhGH 和奥曲肽对肥胖小鼠肝脏中 SOCS1、SOCS2 和 SOCS3 mRNA 表达的影响

* 表示差异显著($P<0.05$); ** 表示差异极显著($P<0.01$)
Fig. 2 Effect of rhGH and Octreotide on the expression of SOCS1, SOCS2 and SOCS3 mRNA in liver tissue of obese mice
* represent difference($P<0.05$); ** represent significant difference($P<0.01$)

以上结果表明,外源性 GH 处理能够诱导

SOCS 家族通过抑制 JAK/STAT 信号通路而负调节许多细胞因子和生长因子的胞内作用^[10]。该家族蛋白在受到细胞因子刺激后,其负反馈作用机制各有不同,SOCS1 和 SOCS3 含有独特的激酶抑制区,通过结合 JAKs 而直接抑制 JAK 活性^[11]。SOCS2 对于 GH 信号通路具有双向调节作用,低浓度时负调控 GH 活性,而高浓度时作用相反^[7]。GH 作用是通过 JAK/STAT 信号通路来传导的^[1,4],SOCS 蛋白家族是 GH 作用关键的负调控因子^[12],本试验进一步证实,rhGH 处理使肥胖小鼠肝脏中 3 种 SOCS 成员 mRNA 表达水平均显著升高。据此推测,SOCS 家族被 GH 诱导表达,并且 GH 作用可能受到其负反馈抑制。

在本试验中,奥曲肽使 SOCS1 和 SOCS3 mRNA 水平降低,SOCS2 mRNA 水平升高,由于 SOCS2 的过表达能够使其他 SOCS 成员发生降解^[7],因此可推测 SOCS1 和 SOCS3 的表达也可能受到了 SOCS2 的影响。近年来的研究表明,SOCS1 和 SOCS3 抑制胰岛素信号通路引起胰岛素抵抗并诱发 II 型糖尿病造成肥胖^[13-14],而 SOCS3 在肥胖型猪脂肪组织中表达量高于瘦型猪,并与瘦素表达呈负相关^[15],说明 SOCS1 和 SOCS3 与肥胖关系密切。因此可推测,在本试验中,SOCS1 和 SOCS3 参与调节 2 种不同处理对肥胖小鼠脂肪沉积的不同影响过程。Vidal 等^[16]研究发现,SOCS2 启动子存在 2 个关键区域,是 GH 通过 STAT5b 直接调控 SOCS2 转录表达所必需的。因此在本试验中,无论对小鼠给予外源性 GH 刺激还是干扰体内 GH 水平,都能使 SOCS2 mRNA 的表达水平升高,表明 SOCS2 和 GH 作用通路的关系与其他 SOCS 蛋白不同。

总之,在肥胖状态下,GH 的降脂作用钝化,生长抑素类似物奥曲肽可减少肥胖小鼠脂肪沉积,其中 SOCS1 和 SOCS3 可能参与作用。

[参考文献]

- [1] Lichanska A M, Waters M J. How growth hormone controls growth, obesity and sexual dimorphism [J]. Trends in Genetics, 2008, 24(1): 41-47.
- [2] Krebs D L, Hilton D J. Socs proteins: Negative regulators of cytokine signaling [J]. Stem Cells, 2001, 19(5): 378-387.
- [3] Jorgensen J O L, Jessen N, Pedersen S B, et al. Gh receptor signaling in skeletal muscle and adipose tissue in human subjects following exposure to an intravenous gh bolus [J]. Am J Phys-

- iol-Endocrinol Metab, 2006, 291(5): E899-E905.
- [4] Ronn S G, Hansen J A, Lindberg K, et al. The effect of suppressor of cytokine signaling 3 on gh signaling in beta-cells [J]. Mol Endocrinol, 2002, 16(9): 2124-2134.
- [5] Greenhalgh C J, Metcalf D, Thaus A L, et al. Biological evidence that socs-2 can act either as an enhancer or suppressor of growth hormone signaling [J]. J Biol Chem, 2002, 277(43): 40181-40184.
- [6] Bernardis L L, Patterson B D. Correlation between 'lee index' and carcass fat content in weanling and adult female rats with hypothalamic lesions [J]. J Endocrinol, 1968, 40(4): 527-528.
- [7] Donahue L R, Beamer W G. Gh deficiency in "little" mice results in aberrant body composition, reduced igf-1 and igfbp-3, but does not affect igfbp-2, -1 or -4 [J]. J Endocrinol, 1993, 136(1): 91-104.
- [8] 郑琳琳, 姚兴家, 吴 辉, 等. 饮食诱导雄性肥胖大鼠生长激素轴变化 [J]. 中国公共卫生, 2005, 21(3): 269-270.
Zheng L L, Yao X J, Wu H, et al. Study on change of gh/igf-i axis in diet-induced male obese rats [J]. China Public Health, 2005, 21(3): 269-270. (in Chinese)
- [9] Slingerland L I, Voorhout G, Rijnberk A, et al. Growth hormone excess and the effect of octreotide in cats with diabetes mellitus [J]. Domestic Animal Endocrinology, 2008, 35(4): 352-361.
- [10] Yasukawa H, Sasaki A, Yoshimura A. Negative regulation of cytokine signaling pathways [J]. Annu Rev Immunol, 2000, 18: 143-164.
- [11] Redelman D, Welniak L A, Taub D, et al. Neuroendocrine hormones such as growth hormone and prolactin are integral members of the immunological cytokine network [J]. Cell Immunol, 2008, 252(1/2): 111-121.
- [12] Flores-Morales A, Greenhalgh C J, Norstedt G, et al. Negative regulation of growth hormone receptor signaling [J]. Mol Endocrinol, 2006, 20(2): 241-253.
- [13] Ueki K, Kondo T, Kahn C R. Suppressor of cytokine signaling 1 (socs-1) and socs-3 cause insulin resistance through inhibition of tyrosine phosphorylation of insulin receptor substrate proteins by discrete mechanisms [J]. Mol Cell Biol, 2004, 24(12): 5434-5446.
- [14] Lebrun P, Van Obberghen E. Socs proteins causing trouble in insulin action [J]. Acta Physiol (Oxf), 2008, 192(1): 29-36.
- [15] Wu J W, Wang B, Zhang H W, et al. Different transcription profiles of socs-3, ob and igf-i genes and their possible correlations in obese and lean pigs [J]. Acta Biochim Biophys Sin, 2007, 39(4): 305-310.
- [16] Vidal O M, Merino R, Rico-Bautista E, et al. *In vivo* transcript profiling and phylogenetic analysis identifies suppressor of cytokine signaling 2 as a direct signal transducer and activator of transcription 5b target in liver [J]. Mol Endocrinol, 2007, 21(1): 293-311.