

[文章编号] 1000-2782(1999)04-0028-06

激素对猪脂肪组织离体代谢的影响

孙金梅, 杨公社, 唐文花, 秦国庆

(西北农业大学动物科学与动物医学学院, 陕西杨陵 712100)

[摘 要] 合成代谢的研究结果表明, $1.667 \text{ nmol} \cdot \text{s}^{-1}$ 的胰岛素对香猪、长白猪脂肪的合成均无明显的促进作用 ($P < 0.05$), $0.4168 \text{ pmol} \cdot \text{s}^{-1}$ 的胰岛素显著促进香猪脂肪酸的生物合成 ($P > 0.05$)。肾上腺素抑制长白猪脂肪组织 ^{14}C 葡萄糖转化为脂肪酸, 但促进 ^{14}C 葡萄糖氧化为二氧化碳及甘油。分解代谢的研究结果表明, 不同浓度的肾上腺素均促进脂肪分解, 且香猪对肾上腺素的敏感性明显高于长白猪。香猪、长白猪均表现为 $0.4168 \text{ pmol} \cdot \text{s}^{-1}$ 的胰岛素不抑制脂解, $1.667 \text{ nmol} \cdot \text{s}^{-1}$ 的胰岛素则明显抑制脂解。

[关键词] 脂肪组织; 离体代谢; 胰岛素; 肾上腺素

[中图分类号] S828.1; Q591.5 [文献标识码] A

猪被认为具有变肥胖的自然属性, 因此, 遗传上的肥胖及瘦肉型猪是研究肥胖机理的有用模型, 对于了解脂肪的分泌机理具有重要作用。脂肪组织主要代谢途径的调节是由血浆中激素浓度的改变引起的, 脂肪组织对许多激素都是敏感的, 因而对这种组织的研究一般着眼于了解激素调节其代谢的机理。国外从 60 年代开始研究激素对猪体脂肪组织离体代谢的影响^[1], 至今已在分子水平上研究转录与翻译过程中脂肪调控的机理, 然而我国至今从未进行过有关这方面的探索。本研究对肥胖型香猪及瘦肉型长白猪的离体脂肪组织进行培养, 研究在其脂肪沉积过程中激素调节的差异, 以期为揭示我国地方猪种的种质特性提供科学依据, 并为最终阐明猪种脂肪沉积的机理奠定理论基础。

1 材料与方法

1.1 样品的采集

选择日龄相近的香猪及长白猪各 3 头, 分别于 5、6.5 及 8 月龄采用活组织取样技术, 于试猪颈部第 1 肋骨处距背中线 2 cm 取皮下脂肪组织 1 块, 采得的样品放入 37°C 消毒过的 9 g/L 的生理盐水中尽快运回实验室。

1.2 脂肪组织的离体合成代谢

将活体采得的脂肪组织用活组织切片机切成厚 0.4 mm 的薄片, 取 $50 \sim 100 \text{ mg}$ 放入盛有 $3 \text{ mL } 37^{\circ}\text{C}$ Kreb-Ringer 缓冲液的试管中, 缓冲液中加入 $1.85 \times 10^4 \text{ Bq}$ 的 $\text{D-[U-}^{14}\text{C] 葡萄糖}$, 置于 CO_2 培养箱, 充入含 950 mL/L 氧气, 50 mL/L 二氧化碳的气体, 加塞, 橡胶

[收稿日期] 1999-01-05

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目 (39570533)。

[作者简介] 孙金梅 (1970-), 女, 讲师, 博士。

塞上悬吊一塑料中心小杯,用以吸收 [U-¹⁴C]葡萄糖转化成的¹⁴CO₂。

收集完 CO₂后,将试管中的脂肪组织匀浆,于匀浆后的样品中加入三氯甲烷 甲醇水各 5 mL以提取¹⁴C-脂肪。将下层有机相溶液于 70℃烘箱中烘干,再加入 4 mL三氯甲烷,其中 2 mL蒸干后加入 5 mL闪烁液,液闪计数,此部分代表 D-[U-¹⁴C]葡萄糖掺入总脂的量;另 2 mL进行转酯化反应,以测定 D-[U-¹⁴C]葡萄糖分别掺入组成总脂的甘油和脂肪酸的量^[2]。

1.3 脂肪组织的分解代谢

取厚约 0.4 mm的脂肪组织薄片 50~ 100 mg置于 3 mL 37℃ Kreb-Ringer缓冲液中,另外加入 30 g/L牛血清白蛋白;根据试验需要,不同试管加入不同浓度的肾上腺素 胰岛素等。试管于 950 mL/L二氧化碳,50 mL/L氧气的环境下培养 2 h。0~ 4℃ 冰浴停止反应,取出每一试管中的脂肪组织准确称取质量,按文献 [3]报道的方法滴定由脂肪组织释放到培养液中的游离脂肪酸的含量,以代表脂肪的分解率。

1.4 统计处理方法

采用方差分析法对试验结果进行显著性检验,若 F检验差异显著,再采用最小显著极差法进行多重比较

2 结果与分析

2.1 胰岛素对脂肪合成代谢的影响

本研究设计了 2种不同的葡萄糖浓度 (0.5 mmol/L, 10 mmol/L)和 2种不同的胰岛素浓度 (生理浓度 0.416 8 pmol° s⁻¹,药理浓度 1.667 nmol° s⁻¹)对两品种猪的效应 (表 1,表 2)。方差分析结果表明,无论香猪、长白猪,10 mmol/L的葡萄糖极显著地高于 0.5 mmol/L葡萄糖的代谢能力 (P> 0.01)。

表 1 不同浓度葡萄糖对香猪胰岛素效应的影响

葡萄糖浓度 / (mmol° L ⁻¹)	胰岛素浓度 / (pmol° L ⁻¹)	脂肪酸 /Bq	甘 油 /Bq	二氧化碳 /Bq
0.5	CK	14.93± 0.99	0.50± 0.25	0.32± 0.05
	0.416 8	27.36± 4.95	1.03± 0.36	0.53± 0.17
	166 7	14.43± 2.94	0.78± 0.09	0.41± 0.08
10	CK	70.56± 19.35	6.13± 1.09	4.14± 1.34
	0.416 8	103.17± 2.03	3.68± 0.08	4.01± 0.83
	166 7	65.80± 16.27	4.12± 0.76	2.80± 0.29

表 2 不同浓度葡萄糖对长白猪胰岛素效应的影响

葡萄糖浓度 / (mmol° L ⁻¹)	胰岛素浓度 / (pmol° L ⁻¹)	脂肪酸 /Bq	甘 油 /Bq	二氧化碳 /Bq
0.5	CK	15.09± 1.62	0.58± 0.13	0.42± 0.14
	0.416 8	21.83± 6.25	1.58± 0.60	0.89± 0.08
	166 7	15.16± 2.49	0.38± 0.19	0.46± 0.22
10	CK	82.20± 5.88	7.81± 1.58	7.37± 1.27
	0.416 8	72.80± 6.62	6.13± 0.79	9.98± 1.08
	166 7	73.43± 7.81	6.60± 0.52	8.28± 0.76

胰岛素浓度显著影响香猪葡萄糖代谢 ($P> 0.05$),进一步的 q 检验结果表明: 生理浓度的胰岛素可显著提高葡萄糖转化为脂肪酸的水平,而药理浓度的胰岛素对脂肪酸合成的影响与对照差异不显著,生理浓度及药理浓度的胰岛素对葡萄糖氧化及甘油合成均无显著影响. 对长白猪而言,生理浓度及药理浓度的胰岛素对葡萄糖合成脂肪酸及甘油均无明显的促进作用,但对葡萄糖氧化为 CO_2 的能力却存在显著差异 ($P> 0.05$),表现为生理浓度的胰岛素显著地促进葡萄糖氧化,而药理浓度的胰岛素对葡萄糖的氧化能力无显著影响. 这与 Walton 等^[4]的研究结论相吻合.

2.2 肾上腺素对脂肪合成代谢的影响

进一步研究肾上腺素 (包括生理浓度 $0.1\mu\text{mol/L}$ 和药理浓度 $10\mu\text{mol/L}$)及其与胰岛素 (生理浓度和药理浓度)的互作对 ^{14}C -葡萄糖掺入脂肪酸、甘油及二氧化碳的影响,结果如表 3、4所示.

表 3 激素对长白猪合成脂肪酸、甘油及 CO_2 的影响 Bq

项目	对照	肾生 ¹⁾	肾药 ²⁾	胰生肾生 ³⁾	胰生肾药 ⁴⁾	胰药肾生 ⁵⁾	胰药肾药 ⁶⁾
脂肪酸	82.20±2.38	62.48±8.09	65.55±8.22	74.83±10.80	70.03±1.37	96.73±8.16	104.9±19.49
甘油	7.84±1.70	9.39±2.17	12.8±2.83	6.04±1.01	7.83±1.48	5.99±1.22	7.49±0.64
CO_2	7.37±1.55	16.77±4.31	6.47±0.74	6.77±1.74	6.37±1.29	7.94±3.07	5.87±1.12

注: 1) $0.1\mu\text{mol/L}$ 肾上腺素; 2) $10\mu\text{mol/L}$ 肾上腺素; 3) $0.4168\text{pmol}\cdot\text{s}^{-1}$ 胰岛素+ $0.1\mu\text{mol/L}$ 肾上腺素; 4) $0.4168\text{pmol}\cdot\text{s}^{-1}$ 胰岛素+ $10\mu\text{mol/L}$ 肾上腺素; 5) $1.667\text{nmol}\cdot\text{s}^{-1}$ 胰岛素+ $0.1\mu\text{mol/L}$ 肾上腺素; 6) $1.667\text{nmol}\cdot\text{s}^{-1}$ 胰岛素+ $10\mu\text{mol/L}$ 肾上腺素 (下表同).

表 4 激素对香猪合成脂肪酸、甘油及 CO_2 的影响 Bq

项目	对照	肾生	肾药	胰生肾生	胰生肾药	胰药肾生	胰药肾药
脂肪酸	70.10±19.28	38.30±4.80	48.23±9.47	61.35±3.65	55.76±9.59	68.57±10.02	48.90±8.59
甘油	6.37±1.33	5.11±0.58	6.35±1.81	2.53±0.25	6.93±2.13	2.93±0.47	2.70±0.14
CO_2	4.14±1.34	3.52±0.56	4.33±1.15	2.37±0.13	2.26±0.39	3.28±0.45	3.34±0.25

由表 3可见,生理浓度及药理浓度的肾上腺素均抑制长白猪 ^{14}C -葡萄糖转化为脂肪酸. 生理浓度的肾上腺素显著促进 ^{14}C -葡萄糖氧化为 CO_2 ,但对甘油的生物合成无明显作用;药理浓度的肾上腺素显著促进 ^{14}C -葡萄糖转化为甘油,但对葡萄糖氧化为 CO_2 无显著影响. 生理浓度的胰岛素与生理浓度的肾上腺素及药理浓度的肾上腺素互作,对葡萄糖掺入脂肪酸、总脂及甘油均无明显影响;药理浓度的胰岛素与生理浓度的肾上腺素及药理浓度的肾上腺素互作对葡萄糖掺入 CO_2 及甘油均无显著影响,却明显提高脂肪酸的生物合成量,因此,药理浓度的胰岛素与肾上腺素对脂肪酸的合成有正协调作用. 由表 4可见,生理浓度及药理浓度的肾上腺素均抑制香猪葡萄糖转化为脂肪酸,而对葡萄糖氧化为 CO_2 及转化为甘油均无显著效应. 此外,胰药肾生、胰生肾生及胰药肾药明显抑制葡萄糖掺入甘油的量,胰生肾药、胰药肾生及胰生肾生明显抑制葡萄糖氧化为 CO_2 的量.

2.3 胰岛素及肾上腺素对脂肪组织分解的影响

激素对脂肪组织分解的影响见表 5. 研究表明,生理浓度的胰岛素并不抑制基础脂解率,而药理浓度的胰岛素则明显抑制基础脂解率. 当肾上腺素浓度梯度为 $0.1, 1, 10, 100\mu\text{mol/L}$ 时,均明显促进脂肪分解,且随着浓度的增加,其促进程度也增加,至 $100\mu\text{mol/L}$

达最大。比较而言,香猪的脂肪组织对激素的敏感程度明显高于长白猪,以各自的对照值为基础,香猪的脂肪组织中加入肾上腺素,可使其脂解率提高 2~ 3 倍;而长白猪的脂肪组织中加入不同浓度的肾上腺素,最多可将脂解率提高 60%。

表 5 激素对脂肪组织分解的影响

激 素	长白猪		香 猪	
	脂解率 / ($\mu\text{mol}^{\circ}\text{L}^{-1}$)	提高脂解率 %	脂解率 / ($\mu\text{mol}^{\circ}\text{L}^{-1}$)	提高脂解率 %
CK	13.85 $\pm$ 4.74	0	5.56 $\pm$ 1.56	0
胰生肾生	15.85 $\pm$ 0.89	14.4	11.04 $\pm$ 1.48	98.6
胰药肾药	21.06 $\pm$ 8.29	52.5	11.4 $\pm$ 2.84	105
胰生肾药	19.49 $\pm$ 2.19	40.7	13.69 $\pm$ 2.56	146.2
胰药肾生	13.08 $\pm$ 3.80	- 4	5.73 $\pm$ 0.94	3
肾上腺素 /($\mu\text{mol}^{\circ}\text{L}^{-1}$)	100	21.95 $\pm$ 3.61	19.85 $\pm$ 0.92	257
	10	21.16 $\pm$ 2.74	13.78 $\pm$ 2.18	147.8
	1	20.42 $\pm$ 6.97	16.74 $\pm$ 4.53	201
	0.1	19.37 $\pm$ 5.94	11.4 $\pm$ 5.89	105
胰岛素 /($\text{pmol}^{\circ}\text{s}^{-1}$)	166.7	15.69 $\pm$ 1.47	5.64 $\pm$ 2.40	1
	0.416.8	10.6 $\pm$ 1.55	3.07 $\pm$ 1.89	- 44.8

肾上腺素对香猪的脂解作用是双相的,生理浓度的肾上腺素能将基础脂解率提高 105%,此时若加入生理浓度的胰岛素可使肾上腺素引起的促脂解作用降低 6.4%,若加入药理浓度的胰岛素可使肾上腺素引起的促脂解作用降低至基础代谢水平。药理浓度的肾上腺素可使基础脂解率提高 147.8%,此时若加入生理浓度的胰岛素,则肾上腺素引起的促脂解作用基本保持不变,但加入药理浓度的胰岛素,肾上腺素引起的促脂解作用将被降低 42.8%。

3 讨 论

3.1 激素对脂解的效应

Jungas 等^[5]首先报道了用高浓度的肾上腺素刺激脂解与用低浓度相比,胰岛素的抑脂解作用就很微弱。Hales 等^[6]研究表明,肾上腺素浓度为 0.1 mg/L 时,提高胰岛素浓度,开始时抑制脂解之后却提高了甘油的释放。胰岛素之所以能抑制脂肪组织脂解活性,可能是由于激活了 cAMP 磷酸二酯酶活性,因而降低了细胞内 cAMP 浓度。

Bojacobsson 等^[7]认为,体积较大的脂肪细胞对脂解激素的反应较敏感。由于香猪的脂肪细胞大于长白猪,因而本试验观察到香猪对脂解激素反应敏感与香猪脂肪细胞体积较大有一定关系。体积较大的脂肪细胞对脂解激素敏感,可能由于细胞表面积的增加导致细胞表面与激素结合的受体总数目增加。

儿茶酚胺类激素的受体可分为 α 及 β 两种,其中 α 肾上腺素能受体的活性抑制 cAMP 的沉积及脂解,而 β 肾上腺素能受体的活性促进 cAMP 的形成及脂解。cAMP 对肾上腺素及去甲肾上腺素的反应依赖于 α 与 β 受体的比例。肥胖对猪 α 及 β 受体活性比例的影响尚未进行过检测,但正常狗的脂肪细胞无 α 受体的抑脂解作用,肥胖狗的脂肪细胞却存在明显的 α 受体活性抗脂解的效应,同样在肥胖兔中亦存在此反应^[8]。

本研究的结果表明,香猪及长白猪对激素的反应性明显不同,这是否由于脂肪细胞表面受体的浓度及比例不同所致,有待进一步的研究证实

3.2 激素对脂肪合成代谢的影响

葡萄糖是猪脂肪组织从头开始的脂肪酸合成的主要前体物,因而葡萄糖通常被选作研究脂肪生物合成的底物。本研究表明:高浓度葡萄糖(10 mmol/L)的代谢能力(包括合成脂肪酸、甘油及氧化成 CO_2)数倍于低浓度葡萄糖(0.5 mmol/L)。这大概由于低浓度葡萄糖的跨膜转运是限速的,而高浓度的葡萄糖可以饱和氧化及合成,其跨膜转运是非限速的,与 Etherton等^[9]的结论相吻合。

本研究表明生理浓度的胰岛素可显著提高葡萄糖转化为脂肪酸的水平,而药理浓度的胰岛素对脂肪酸的合成无显著影响,这大概由于高浓度的胰岛素使脂肪细胞膜表面激素受体的亲和力下降。同时表明,我国地方猪种在老龄阶段对胰岛素的刺激依然敏感,表现出明显的品种特异性。许多学者都将老龄长白猪的葡萄糖代谢对胰岛素反应性的下降归咎于老龄长白猪的肥胖,因此,有关肥胖个体脂肪组织对胰岛素反应下降机理的研究,尤其是有关肥胖个体的糖耐量与胰岛素效应的关系问题引起人们的关注。葡萄糖是胰岛素作用的底物,又可能是胰岛素分泌的调节者,肥胖个体血液中高浓度的葡萄糖是导致胰岛素大量分泌的原因。为了对抗大量的葡萄糖负荷,机体必须增加胰岛素的量,因此肥胖个体胰岛素水平明显高于正常个体。脂肪组织对胰岛素反应的敏感性与血浆中的胰岛素水平呈明显的负相关,因而肥胖个体血浆高水平的胰岛素是导致脂肪细胞对胰岛素抗性的直接原因。在长期高浓度的胰岛素作用下,脂肪细胞内脂肪酸的酯化及甘油酯的沉积均以增加的速率进行,导致大的充满脂肪的细胞对胰岛素的敏感性下降^[10, 11]。此外,胰岛素受体亦是蛋白质,具有抗原性,血中高浓度的胰岛素可令其产生抗胰岛素抗体,使受体与胰岛素的结合量非常低,从而导致胰岛素抗性。

[参考文献]

- [1] O Hea, Leveille. Lipid metabolism in isolated adipose tissue of the domestic pig[J]. Comp Biochem Physiol, 1968, 26 1081~ 1087.
- [2] Etherton T D, Elton D, Aberle, et al. Effects of Cell size and animal age on glucose metabolism in pig adipose tissue[J]. Journal of Lipid Research, 1981, 22 72~ 80.
- [3] Standal N, Vold E. Lipid mobilization in pigs selected for leanness and fatness[J]. Anim Prod, 1973, 16 37~ 41.
- [4] Walton P E, Etherton T D. Stimulation of lipogenesis by Insulin in swine adipose tissue[J]. J Anim Sci, 1986, 62 1584~ 1595.
- [5] Jungas R L, Ball E G. Effect of insulin and epinephrine on free fatty acid and glycerol production in the presence and absence of glucose[J]. Biochemistry, 1963, 2 383~ 388.
- [6] Messman H J, Brown L J. Lipolytic activity of swine adipocytes[J]. American Journal of Physiology, 1976, 5 1439~ 1443.
- [7] Bojacobsson, Ulfsmith. Effect of cell size on lipolysis and antilipolytic action of insulin in human fat cells[J]. Journal of Lipid Research, 1972, 13 651~ 656.
- [8] Fain N, Adolfo J. Adrenergic regulation of adipocyte metabolism[J]. Journal of Lipid Research, 1983, 24 945~ 967.
- [9] Etherton, Chung. Preparation, characterization and insulin sensitivity of isolated swine adipocyte[J]. Journal of

Lipid Research, 1986, 22 1053~ 1059.

- [10] Di Girolamo M, Rudman V. Variations in glucose metabolism and sensitivity to insulin of the rat's adipose tissue in relation to age and body weight [J]. Endocrinology, 1968, 82 1133~ 1141.
- [11] Olefsky J M. Mechanisms of decreased insulin responsiveness of large adipocytes [J]. Endocrinology, 1977, 100 1169~ 1177.

The Effect of Hormone on Swine Adipose Tissue Metabolism in Vitro

SUN Jin-mei, YANG Gong-she, TANG Wen-hua, QIN Guo-qing

(College of Animal Science and Veterinary Medicine, Northwestern
Agricultural University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract The effect of hormone on lipogenesis indicated: Regardless of Xiang pig or Landrace, pharmacological concentration of insulin didn't stimulate adipose tissue anabolism, but physiological concentration of insulin significantly stimulated fatty acid synthesis in Xiang pig. Epinephrine inhibited ^{14}C -glucose incorporated into fatty acid, but stimulated glucose oxidized to CO_2 and glycerol synthesis in Landrace. Any concentrations of epinephrine stimulated lipolysis. The sensitivity of epinephrine to Xiang pig was significantly higher than Landrace. Physiological concentration of insulin didn't inhibit lipolysis. Pharmacological concentration of insulin significantly inhibited lipolysis.

Key words insulin; epinephrine; lipogenesis; lipolysis