

# 津力达对高脂诱导的胰岛素抵抗 ApoE<sup>-/-</sup> 小鼠 骨骼肌甘油三酯相关酶的影响

金鑫<sup>1</sup>, 张会欣<sup>1,2\*</sup>, 张彦芬<sup>2,3</sup>, 秘尧<sup>2</sup>, 何其龙<sup>2,4</sup>, 崔雯雯<sup>1</sup>, 周升山<sup>2</sup>

(1. 黑龙江中医药大学, 哈尔滨 150040; 2. 河北以岭医药研究院, 石家庄 050035;  
3. 国家中医药管理局重点研究室 心脑血管络病, 石家庄 050035; 4. 河北省络病重点实验室, 石家庄 050035)

**【摘要】** 目的 探究津力达对高脂诱导的胰岛素抵抗 ApoE<sup>-/-</sup> 小鼠骨骼肌甘油三酯相关基因的影响。方法 将 8 只雄性 C57BL/6J 小鼠设为正常组 (A 组); 40 只雄性 ApoE<sup>-/-</sup> 小鼠喂养 16 周后分为模型组 (B 组)、罗格列酮组 (C 组)、津力达低剂量组 (D 组)、津力达中剂量组 (E 组)、津力达高剂量组 (F 组), 开始灌胃给药, 连续 8 周。采用酶法、BCA 蛋白浓度法测定骨骼肌 TG 含量; OGTT 评价小鼠的胰岛素抵抗程度; RT-PCR 和 Western blot 测定小鼠骨骼肌 HSL、ATGL、PPAR $\gamma$  mRNA 和蛋白表达。**结果** 津力达能够不同程度降低小鼠的 FBG、TC、TG 和 LDL-C, 升高 HDL-C; 下调 FIns 水平, 提高 ISI, 明显改善小鼠糖耐量异常; 津力达能够不同程度的上调小鼠 HSL、ATGL、PPAR $\gamma$  mRNA 和蛋白表达。**结论** 津力达能够通过调节骨骼肌甘油三酯相关酶的表达, 改善高脂诱导的 ApoE<sup>-/-</sup> 小鼠的胰岛素抵抗。

**【关键词】** 津力达; ApoE<sup>-/-</sup> 小鼠; 胰岛素抵抗; 骨骼肌甘油三酯相关基因

**【中图分类号】** Q95-33, R587.1 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2015) 01-0069-06

Doi: 10.3969/j.issn.1005-4847.2015.01.013

## Effect of a Chinese medicine Jinlida on triglyceride-related genes in the skeletal muscle of fat-induced insulin-resistant ApoE<sup>-/-</sup> mice

JIN Xin<sup>1</sup>, ZHANG Hui-xin<sup>1,2\*</sup>, ZHANG Yan-fen<sup>2,3</sup>, BEI Yao<sup>2</sup>, HE Qi-long<sup>2,4</sup>, CUI Wen-wen<sup>1</sup>, ZHOU Sheng-shan<sup>2</sup>

(1. Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China;  
2. Yiling Medical Research Institute of Hebei Province, Shijiazhuang 050035, China;  
3. Key Laboratory of State Administration of Traditional Chinese Medicine (Cardio-Cerebral Vascular Network Disease), Shijiazhuang 050035; 4. Hebei Province Key Laboratory of Network Disease, Shijiazhuang 050035)

**【Abstract】 Objective** To investigate the effect of the Chinese medicine Jinlida on triglyceride-related genes in skeletal muscle of fat-induced insulin resistant ApoE<sup>-/-</sup> mice. **Methods** Eight male C57BL/6J mice were set to the normal group (group A). Forty male ApoE<sup>-/-</sup> mice were fed high-fat diet for 16 weeks and divided into model group (group B), rosiglitazone (group C), Jinlida low dose group (group D), Jinlida moderate dose group (group E), Jinlida high-dose group (group F), and giving gavage for 8 weeks. TG content in the skeletal muscle was determined by enzymatic and BCA protein concentration assay. Oral glucose tolerance test (OGTT) was used to evaluate the degree of insulin resistance in the mice. Real-time fluorescent quantitative reverse transcription PCR (RT-PCR) and Western blot method were used to determine the expressions of hormone-sensitive lipase (HSL), adipose triglyceride lipase (ATGL), and peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR $\gamma$ ) mRNA and proteins in the skeletal muscle. **Results** Jinlida to varying degrees lowered the fasting blood glucose (FBG), cholesterol (TC), triglyceride (TG) and low density lipoprotein cholesterol (LDL-C), increased the high density lipoprotein (HDL-C), reduced fasting insulin (FIns) level and raised insulin sensi-

[基金项目] 国家重点基础研究发展计划(973 计划)项目(编号:2012CB518606)。

[作者简介] 金鑫(1989-), 女, 硕士生, 研究方向: 中药学, Email: jinxin19890712@163.com

[通讯作者] 张会欣(1976-), 女, 博士, 正高级工程师, 研究方向: 糖尿病微血管病, E-mail: zhanghuixin@yiling.cn

tive index (ISI), and significantly improved the abnormal glucose tolerance in the mice. Jinlida to a certain degree raised the levels of HSL, ATGL, PPAR $\gamma$  mRNA and protein expressions. **Conclusions** Jinlida can alleviate fat-induced insulin resistance in ApoE<sup>-/-</sup> mice through regulation of triglyceride-related gene expression.

**【Key words】** Jinlida; ApoE<sup>-/-</sup> mice; Insulin resistance; Triglyceride-related genes; Skeletal muscle

近年来,由于人类的生活方式的改变和高卡路里的饮食,糖尿病等代谢性疾病已成为了大多数国家的公共卫生问题<sup>[1]</sup>。而胰岛素抵抗(insulin resistance, IR)是代谢综合征发生的中心环节<sup>[2]</sup>。甘油三酯(triglyceride, TG)的异位沉积可以使胰岛素信号传导受到阻碍<sup>[3]</sup>, TG 代谢与 IR 的关系是十分密切的。骨骼肌是胰岛素代谢的重要场所,然而目前关于 TG 代谢的研究大多集中在肝脏和脂肪,骨骼肌组织的代谢研究还很少,津力达经过临床试验发现可以降低糖尿病患者的胆固醇和甘油三酯等水平,但其具体的作用机制还不是很清楚。所以本文构建长期高脂诱导的胰岛素抵抗 ApoE<sup>-/-</sup> 小鼠模型探究在津力达干预下的小鼠骨骼肌的 TG 代谢的机制,以便能够更深入的研究 TG 在骨骼肌的代谢。

## 1 材料和方法

### 1.1 药品与试剂

津力达颗粒由人参、黄精、苍术(炒)、苦参、麦冬等 17 味中药组成,(石家庄以岭药业股份有限公司提供,中国,批号:120429);盐酸罗格列酮片(由贵州圣济堂制药有限公司生产,中国,批号 20120202);组织甘油三酯酶法测定试剂盒购自普利莱基因技术有限公司,中国;BCA 蛋白浓度测定试剂盒购自北京索莱宝科技有限公司,中国;激素敏感性脂肪酶(hormone-sensitive lipase, HSL)、脂肪甘油三酯酶(adipose triglyceride lipase, ATGL)和过氧化物酶体增殖物激活受体 $\gamma$ (peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$ , PPAR $\gamma$ )抗体均购于 abcam 公司,英国;HSL、ATGL、PPAR $\gamma$  引物均购自上海生工生物公司。

### 1.2 实验动物

ApoE<sup>-/-</sup> 雄性小鼠 40 只、C57BL/6J 雄性小鼠 8 只,均为 8 周龄,18~20 g,SPF 级,均购自北京大学医学部【SCXK(京)2011-0012】。在本实验室无特定病原体(specific-pathogen free, SPF)的饲养间【SYXK(冀)2009-0033】饲养,并按实验动物使用的 3R 原则给予人道的关怀。

### 1.3 实验饲料

实验基础饲料购自河北医科大学实验动物中

心,热量组成:碳水化合物 65.5%、脂肪 10.3%、蛋白质 24.2%,总热量为 348 kcal/100 g;自制高脂饲料热量组成:碳水化合物 20.1%、脂肪 59.8%、蛋白质占 20.1%,总热量为 501 kcal/100 g。

### 1.4 实验方法

#### 1.4.1 动物分组

8 只雄性 C57BL/6J 小鼠设为正常对照组(A 组),给予正常饲料;40 只雄性 ApoE<sup>-/-</sup> 小鼠,给予高脂饲料,喂养 16 周后,分为 5 组:模型组(B 组)、罗格列酮组(C 组)、津力达低剂量组(D 组)、津力达中剂量组(E 组)、津力达高剂量组(F 组),津力达用纯水配制,按照小鼠体重低剂量 0.95 g/(kg·d)、中剂量 1.9 g/(kg·d)、高剂量 3.8 g/(kg·d)灌胃给药,盐酸罗格列酮片按 1.33 mg/(kg·d)灌胃给药。正常对照组、模型组给予纯水,连续 8 周,处死小鼠后,留取血清;骨骼肌标本,-80℃保存备用。

#### 1.4.2 血清生化指标检测

空腹血糖(fasting plasma glucose, FBG)、甘油三酯(triglyceride, TG)、胆固醇(cholesterol, TC)、低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein cholesterol, HDL-C)均在全自动生化分析仪上检测。运用酶法检测小鼠骨骼肌甘油三酯(muscle triglyceride, mTG)含量,BCA 法测定蛋白浓度校正骨骼肌甘油三酯含量,实验严格按照说明书操作。

#### 1.4.3 胰岛素敏感性评价

##### (1) 空腹胰岛素水平和胰岛素敏感指数

空腹胰岛素(fasting insulin, FIns)水平测定采用放射免疫分析法检测,计算胰岛素敏感指数(insulin sensitivity index, ISI)评价其胰岛素抵抗程度,ISI = 1/(FBG × FINS)。

##### (2) 小鼠葡萄糖耐量实验评价小鼠的胰岛素敏感性

小鼠饲养 24 周后,禁食不禁水 14~16 h,尾部采血,测定空腹血糖,记为小鼠葡萄糖耐量实验(impaired glucose tolerance test, IGTT)实验 0 min 的血糖值,随后各组小鼠口服 30% 的葡萄糖溶液,用微量血糖仪测定 30、60、120 min 血糖水平。

#### 1.4.4 骨骼肌 TG 代谢相关代谢酶 mRNA 表达水

平检测

采用实时荧光定量反转录 PCR (RT-PCR) 法测定,取小鼠骨骼肌组织匀浆并用 Trizol 法提取总 RNA 后,反转录反应。采用实时荧光定量反转录 PCR (RT-PCR) 方法检测小鼠骨骼肌 HSL、ATGL、PPAR $\gamma$  的表达。内参  $\beta$ -actin 及各目的基因引物序列如下: HSL 上游引物: TGAGATTGAGGTGCT-GTCC, 下游引物: AGGGAGGTGAGATGGTAACTGT; ATGL 上游引物: TCCTTCACCATCCGCTTGT, 下游引物: TCTGCTCTTTCATCCACCG; PPAR $\gamma$  上游引物: ACCAGGGAGTTCCTCAAAGC, 下游引物: GCAAACCTCAAACCTTAGGCTCCATAA。反应结束后,按照各反应孔 Ct 值,以  $\beta$ -actin 基因为内参,根据公式  $2^{-\Delta Ct}$  计算各样品目的基因相对表达量。

1.4.5 骨骼肌组织胆固醇代谢相关蛋白表达水平测定

采用蛋白质印迹法 (Western blot) 法测定小鼠骨骼肌 HSL、ATGL、PPAR $\gamma$  蛋白表达水平。取骨骼肌组织 100 mg,加入 1 mL 细胞裂解液,充分裂解并定量。取 30  $\mu$ g 进行聚丙烯酰胺凝胶电泳,完毕后对凝胶进行半干转膜,转膜完毕,取出聚偏氟乙烯膜

室温封闭 2 h,将封闭后的聚偏氟乙烯膜置入稀释的一抗溶液中,4 $^{\circ}$ C 缓慢摇动过夜。洗膜后将聚偏氟乙烯膜置入适量稀释的辣根过氧化物酶标记的二抗溶液中,于室温反应 2 h。抗体结合区带用化学发光法检测。以目的蛋白的 IOD 与  $\beta$ -actin 的 IOD 比值表示该样品的目的蛋白相对含量。

1.4.6 统计学处理

用 SPSS 13.0 统计软件进行分析各项数据资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,组间比较采用单因素方差分析,以  $P < 0.05$  表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 血清生化指标比较

与 A 组相比,B 组小鼠 FBG、TC、TG、LDL-C 均明显升高,HDL-C 明显降低,差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ );与 B 组相比,C 组、F 组小鼠 FBG 明显降低 ( $P < 0.05$ );C、D、E、F 组小鼠 TC 明显降低 ( $P < 0.05$ );C 组、E、F 组小鼠 TG 含量降低 ( $P < 0.05$ );E、F 组小鼠 HDL-C 明显升高 ( $P < 0.05$ );F 组小鼠 LDL-C 明显降低 ( $P < 0.05$ )。见表 1。

表 1 津力达对血液生化指标的影响 ( $n = 8, \bar{x} \pm s, \text{mmol/L}$ )

Tab.1 Effects of Jinlida on blood biochemical parameters

| 组别 Groups | FBG                          | TC                            | TG                           | HDL-C                        | LDL-C                        |
|-----------|------------------------------|-------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| A 组       | 6.06 $\pm$ 0.71              | 2.78 $\pm$ 0.47               | 0.82 $\pm$ 0.06              | 4.02 $\pm$ 0.44              | 0.38 $\pm$ 0.14              |
| B 组       | 7.98 $\pm$ 0.68 <sup>#</sup> | 12.67 $\pm$ 1.16 <sup>#</sup> | 1.80 $\pm$ 0.18 <sup>#</sup> | 2.78 $\pm$ 0.63 <sup>#</sup> | 3.9 $\pm$ 0.52 <sup>#</sup>  |
| C 组       | 6.69 $\pm$ 0.54 <sup>*</sup> | 8.76 $\pm$ 1.00 <sup>*</sup>  | 1.25 $\pm$ 0.09 <sup>*</sup> | 3.08 $\pm$ 0.41              | 3.58 $\pm$ 0.63              |
| D 组       | 7.74 $\pm$ 0.34              | 11.03 $\pm$ 0.46 <sup>*</sup> | 1.62 $\pm$ 0.23              | 3.10 $\pm$ 0.29              | 3.83 $\pm$ 0.53              |
| E 组       | 7.62 $\pm$ 0.40              | 9.60 $\pm$ 0.57 <sup>*</sup>  | 1.31 $\pm$ 0.08 <sup>*</sup> | 3.39 $\pm$ 0.60 <sup>*</sup> | 3.55 $\pm$ 0.33              |
| F 组       | 6.77 $\pm$ 0.42 <sup>*</sup> | 7.78 $\pm$ 0.36 <sup>*</sup>  | 1.17 $\pm$ 0.06 <sup>*</sup> | 4.76 $\pm$ 0.85 <sup>*</sup> | 3.29 $\pm$ 0.45 <sup>*</sup> |

注:与正常组相比<sup>#</sup> $P < 0.05$ ,与模型组相比<sup>\*</sup> $P < 0.05$ 。A 组:正常组;B 组:模型组;C 组:罗格列酮组;D 组:津力达剂量组;E 组:津力达中剂量组;F 组:津力达高剂量组;FBG:空腹血糖;TG:甘油三酯;TC:胆固醇;LDL-C:低密度脂蛋白胆固醇;HDL-C:高密度脂蛋白胆固醇;分组情况下同。

Note. <sup>#</sup> $P < 0.05$  vs. the group NF, <sup>\*</sup> $P < 0.05$  vs. the group HF. Grouping: the same below.

2.2 骨骼肌甘油三酯含量比较

与 A 组相比,B 组小鼠 mTG 明显升高,差异均有显著性 ( $P < 0.05$ );与 B 组相比,C、D、E、F 组小鼠 mTG 显著降低 ( $P < 0.05$ )。见表 2。

表 2 津力达对骨骼肌甘油三酯的影响 ( $n = 8, \bar{x} \pm s$ )

Tab.2 Effects of Jinlida on TG in the skeletal muscle

| 组别 Groups | 骨骼肌甘油三酯 mTG (mmol/L)          |
|-----------|-------------------------------|
| A 组       | 8.32 $\pm$ 1.01               |
| B 组       | 30.35 $\pm$ 4.80 <sup>#</sup> |
| C 组       | 10.98 $\pm$ 0.83 <sup>*</sup> |
| D 组       | 21.69 $\pm$ 1.35 <sup>*</sup> |
| E 组       | 17.25 $\pm$ 1.47 <sup>*</sup> |
| F 组       | 13.74 $\pm$ 0.91 <sup>*</sup> |

注:与正常组相比<sup>#</sup> $P < 0.05$ ,与模型组相比<sup>\*</sup> $P < 0.05$ 。

Note. <sup>#</sup> $P < 0.05$  vs. the group NF, <sup>\*</sup> $P < 0.05$  vs. the group HF.

2.3 胰岛素敏感性评价

2.3.1 FIns 和 ISI

与 A 组相比,B 组 FIns 水平升高,ISI 降低 ( $P < 0.05$ ),与 B 组比较,C、D、E、F 组 FIns 水平明显下降,ISI 明显升高,结果具有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见表 3。

2.3.2 小鼠葡萄糖耐量实验

各组小鼠糖耐量于口服葡萄糖 30 min 后出现血糖水平升至高峰,以后逐渐降低;与 A 组相比 B 组各时间点的血糖水平均有明显升高;与 B 组相比,津力达高剂量组小鼠血糖升高峰值明显降低,降低血糖时间缩短,差异有显著性。见表 4。

表 3 津力达对血清胰岛素和胰岛素敏感指数的影响 ( $n=8, \bar{x} \pm s$ )

| 组别<br>Groups | 空腹胰岛素<br>FIns/mU/L         | 胰岛素敏感指数<br>ISI            |
|--------------|----------------------------|---------------------------|
| A 组          | 26.14 ± 7.97               | -5.01 ± 0.43              |
| B 组          | 145.28 ± 8.22 <sup>#</sup> | -7.05 ± 0.12 <sup>#</sup> |
| C 组          | 60.46 ± 9.03 <sup>*</sup>  | -5.99 ± 0.18 <sup>*</sup> |
| D 组          | 121.82 ± 2.33 <sup>*</sup> | -6.85 ± 0.05 <sup>*</sup> |
| E 组          | 95.13 ± 8.18 <sup>*</sup>  | -6.58 ± 0.09 <sup>*</sup> |
| F 组          | 63.94 ± 10.04 <sup>*</sup> | -6.06 ± 0.21 <sup>*</sup> |

注:与正常组相比<sup>#</sup> $P < 0.05$ ,与模型组相比<sup>\*</sup> $P < 0.05$ 。  
Note. <sup>#</sup> $P < 0.05$  vs. the group NF, <sup>\*</sup> $P < 0.05$  vs. the group HF.

表 4 津力达对各组小鼠葡萄糖耐量的影响 ( $\bar{x} \pm s$ , mmol/L,  $n=8$ )

| 组别<br>Groups | 空腹血糖水平/ mmol/L<br>Blood glucose level |                         |                         |                         |
|--------------|---------------------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
|              | 0 min                                 | 30 min                  | 60 min                  | 120 min                 |
| A 组          | 5.4 ± 0.3                             | 11.2 ± 1.0              | 9.3 ± 1.1               | 7.2 ± 0.7               |
| B 组          | 7.9 ± 0.5 <sup>#</sup>                | 17.9 ± 1.3 <sup>#</sup> | 15.3 ± 1.0 <sup>#</sup> | 11.5 ± 0.9 <sup>#</sup> |
| C 组          | 6.8 ± 1.1 <sup>*</sup>                | 12.4 ± 1.3 <sup>*</sup> | 11.8 ± 1.3 <sup>*</sup> | 7.8 ± 0.3 <sup>*</sup>  |
| D 组          | 7.2 ± 0.8                             | 18.3 ± 1.2              | 14.8 ± 1.5              | 11.2 ± 0.5              |
| E 组          | 6.9 ± 0.9 <sup>*</sup>                | 16.9 ± 1.5              | 14.0 ± 1.6              | 10.0 ± 1.0              |
| F 组          | 6.7 ± 1.2 <sup>*</sup>                | 15.4 ± 2.3 <sup>*</sup> | 12.9 ± 1.6 <sup>*</sup> | 8.0 ± 0.7 <sup>*</sup>  |

注:与正常组相比<sup>#</sup> $P < 0.05$ ,与模型组相比<sup>\*</sup> $P < 0.05$ 。  
Note. <sup>#</sup> $P < 0.05$  vs. the group NF, <sup>\*</sup> $P < 0.05$  vs. the group HF.

## 2.4 骨骼肌 HSL、ATGL、PPAR $\gamma$ mRNA 水平比较

与 A 组比较, B 组骨骼肌 HSL、ATGL、PPAR $\gamma$  水平均明显降低 ( $P < 0.05$ ); 与 B 组比较, E、F 组 HSL、ATGL mRNA 水平明显上升 ( $P < 0.05$ ), C 组没有明显改变; C、E、F 组 PPAR $\gamma$  mRNA 水平均明显升高 ( $P < 0.05$ )。见表 5。

表 5 津力达对 HSL、ATGL、PPAR $\gamma$  mRNA 表达的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=3$ )

Tab. 5 Effects of Jinlida on the expression of HSL, ATGL and PPAR $\gamma$  mRNA

| 组别<br>Groups | 激素敏感性脂肪酶<br>HSL          | 脂肪甘油三酯酶<br>ATGL          | 过氧化物酶体增殖物<br>激活受体 $\gamma$<br>PPAR $\gamma$ |
|--------------|--------------------------|--------------------------|---|
| A 组          | 1.01 ± 0.12              | 1.05 ± 0.18              | 1.03 ± 0.15                                 |
| B 组          | 0.28 ± 0.04 <sup>#</sup> | 0.36 ± 0.05 <sup>#</sup> | 0.33 ± 0.05 <sup>#</sup>                    |
| C 组          | 0.31 ± 0.04              | 0.29 ± 0.06              | 0.79 ± 0.16 <sup>*</sup>                    |
| D 组          | 0.30 ± 0.05              | 0.42 ± 0.06              | 0.36 ± 0.06                                 |
| E 组          | 0.41 ± 0.05 <sup>*</sup> | 0.71 ± 0.12 <sup>*</sup> | 0.65 ± 0.10 <sup>*</sup>                    |
| F 组          | 0.56 ± 0.07 <sup>*</sup> | 0.91 ± 0.15 <sup>*</sup> | 0.73 ± 0.13 <sup>*</sup>                    |

注:与正常组相比<sup>#</sup> $P < 0.05$ ,与模型组相比<sup>\*</sup> $P < 0.05$ 。  
Note. <sup>#</sup> $P < 0.05$  vs. the group NF, <sup>\*</sup> $P < 0.05$  vs. the group HF.

## 2.5 骨骼肌 HSL、ATGL、PPAR $\gamma$ 蛋白表达比较

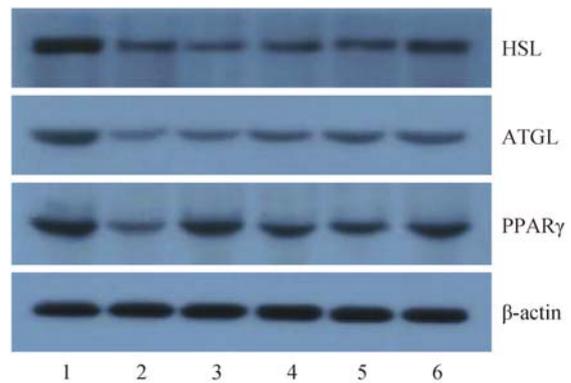
与 NF 组相比, B 组 HSL、ATGL、PPAR $\gamma$  蛋白表达均有明显降低, 差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 与 B 组相比, F 组 HSL 蛋白水平明显升高 ( $P < 0.05$ ); E、F 组的 ATGL 的蛋白表达明显升高; C、E、F 组 PPAR $\gamma$  蛋白水平均明显升高 ( $P < 0.05$ )。见表 6、图 1。

表 6 津力达对 HSL、ATGL、PPAR $\gamma$  蛋白表达的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=3$ )

Tab. 6 Effects of Jinlida on the expression of HSL, ATGL, and PPAR $\gamma$  protein in the mice

| 组别<br>Groups | 激素敏感<br>脂肪酶<br>HSL       | 脂肪甘油<br>三酯酶<br>ATGL      | 过氧化物酶<br>体增殖物激<br>活受体 $\gamma$<br>PPAR $\gamma$ |
|--------------|--------------------------|--------------------------|---|
| A 组          | 1.38 ± 0.17              | 0.68 ± 0.07              | 1.06 ± 0.01                                     |
| B 组          | 0.54 ± 0.03 <sup>#</sup> | 0.26 ± 0.03 <sup>#</sup> | 0.28 ± 0.03 <sup>#</sup>                        |
| C 组          | 0.48 ± 0.03              | 0.29 ± 0.03              | 0.72 ± 0.10 <sup>*</sup>                        |
| D 组          | 0.50 ± 0.02              | 0.34 ± 0.05              | 0.52 ± 0.09 <sup>*</sup>                        |
| E 组          | 0.69 ± 0.10              | 0.37 ± 0.03 <sup>*</sup> | 0.58 ± 0.05 <sup>*</sup>                        |
| F 组          | 0.90 ± 0.05 <sup>*</sup> | 0.45 ± 0.05 <sup>*</sup> | 0.69 ± 0.03 <sup>*</sup>                        |

注:与正常组相比<sup>#</sup> $P < 0.05$ ,与模型组相比<sup>\*</sup> $P < 0.05$ 。  
Note. <sup>#</sup> $P < 0.05$  vs. the group NF, <sup>\*</sup> $P < 0.05$  vs. the group HF.



注:1:正常组;2:模型组;3:罗格列酮组;4:津力达低剂量组;5:津力达中剂量组;6:津力达高剂量组。

图 1 津力达对 HSL、ATGL、PPAR $\gamma$  蛋白表达的影响

Note: 1. Normal group; 2. Model group; 3. Rosiglitazone; 4. Jinlida low dose group; 5. Jinlida moderate dose group; 6. Jinlida high dose group

Fig. 1 Effects of Jinlida on the expression of HSL, ATGL and PPAR $\gamma$  proteins in the skeletal muscle

## 3 讨论

没有高脂诱导的 ApoE<sup>-/-</sup>小鼠,就会产生很明显的脂代谢紊乱<sup>[4]</sup>,尽管对于 IR 的发生机制还不是很了解,但是目前普遍认为:IR 是遗传和环境因素共同影响的结果。经过我们高脂喂养 24 周之后,

发现模型组小鼠相对于正常组的 FBG、TC、TG、HDL-C、LDL-C 均明显升高;胰岛素敏感指数明显下降,小鼠的糖耐量实验都表明高脂组小鼠产生了明显的胰岛素抵抗特征。高甘油三酯血症或 TG 在其它组织异位沉积都会增加 IRS-1 上丝氨酸/苏氨酸的磷酸化同时降低酪氨酸残基的磷酸化,导致与 IRS-1 关联的 PI3K 以及 Akt 活性的下降,还阻止 GLUT4 的易位,破坏胰岛素作用的信号通路引起胰岛素抵抗。同时,IR 时胰岛素对脂肪分解的能力下降,又会进一步加重 TG 的代谢紊乱<sup>[5]</sup>,进而引起组织的 IR,由此可见 TG 的代谢对于 IR 的发生和发展有着十分重要的作用。为此本实验观察了 HSL、ATGL、PPAR $\gamma$  这三个和 TG 代谢相关酶的基因和蛋白的变化。

HSL 是经典的脂肪分解限速酶,能催化 TG、甘油二酯、胆固醇酯、视黄酯和类固醇酯等多种脂质<sup>[6,7]</sup>,脂解激素激活腺苷酸活化酶经蛋白激酶 A (PKA) 通路磷酸化 HSL 使之活化,发挥水解 TG 的作用<sup>[5]</sup>。HSL 在 TG 的分解过程中有重要作用。但是近期的研究发现:HSL 的基因敲除鼠仍然具有 TG 脂肪酶活性,甘油二酯水平明显提高,而脂肪组织并没有大量的 TG 积聚,提示 HSL 并非水解 TG 的唯一限速酶<sup>[8]</sup>。ATGL 是新近发现的脂肪酶,特异性水解甘油三酯,在肌肉中有少量表达<sup>[9]</sup>。ATGL 的升高可以促进 TG 的分解,在 ATGL 基因敲除的大鼠骨骼肌中发现 TG 聚积象,这表明 ATGL 在脂肪动员过程中发挥重要作用<sup>[10]</sup>。但是 ATGL 在骨骼肌中过度表达会增加来源于 TG 分解的 FFA 的氧化以及 DAG 和神经酰胺的生成,此时原有的 HSL 不能完全分解甘油二酯<sup>[11]</sup>。因此 HSL 和 ATGL 的表达活性失去平衡也会导致脂毒性中间产物合成而促进产生 IR。本实验的津力达高剂量组上调了小鼠骨骼肌 HSL、ATGL 的含量,推测津力达降低小鼠骨骼肌的脂质沉积可能与其上调了 HSL、ATGL 的含量因而促进小鼠骨骼肌内 TG 的分解,也可能与 ATGL 含量虽然上调却没有导致其过度表达而促使 HSL 不能正常发挥其降低 TG 作用有关。

大量实验研究证明,PPAR $\gamma$  可以降低 FFA 和 TNF- $\alpha$  的表达。PPAR $\gamma$  激活后还可以刺激脂肪细胞分化,使前脂肪细胞 TG 储存量上升,诱导脂蛋白脂酶和脂肪酸转移蛋白的转录,增加脂肪细胞摄取 TG,降低血脂,引起脂肪酸从肌肉组织向脂肪组织转移,降低肌肉细胞内 TG 的含量,从而发挥胰岛素

增敏作用<sup>[12]</sup>;有研究发现,ATGL 基因的启动子区域存在 PPAR $\gamma$  的结合位点,提示 PPAR $\gamma$  可能参与了 ATGL 的基因表达<sup>[13]</sup>。但是本实验罗格列酮组的骨骼肌 ATGL 的含量均没有明显升高,可能是由于样本数量较少或样本差异性较大有关系,其具体的作用机制还不是很清楚。本实验发现,津力达高剂量组的 PPAR $\gamma$  升高,津力达改善小鼠骨骼肌 IR 的机制可能与津力达能够上调 PPAR $\gamma$  的表达,进而降低骨骼肌 FFA 和 TNF- $\alpha$  的表达,降低肌肉细胞内 TG 的含量,从而发挥胰岛素增敏作用,并且上调 ATGL 的表达来改善 TG 的代谢等机制有关,但其中的具体原因仍然有待于研究。

综上所述,经过长期高脂诱导的 ApoE<sup>-/-</sup> 小鼠是很好的胰岛素抵抗模型,津力达可能通过上调 HSL、ATGL、PPAR $\gamma$  的含量来促进小鼠的骨骼肌的 TG 的代谢,改善小鼠骨骼肌以及全身的 IR,但其具体机制还需做进一步深入的研究。

#### 参 考 文 献

- [1] Kwak MK, Ha H. Where are we now in diabetic research? [J]. Arch Pharm Res, 2013, 36(2): 142-144.
- [2] 刘德恒, 陈文鑫, 叶靖, 等. 血脂清联合阿托伐他汀对高血压合并代谢综合征患者血清炎症因子和胰岛素抵抗的影响 [J]. 中国医药导报, 2013, 10(24): 79-82.
- [3] 祝超瑜, 刘晓华, 章建梅, 等. 吡格列酮对肥胖大鼠脂肪甘油三酯脂酶表达的调控 [J]. 中华内分泌代谢杂志, 2012, 28(6): 509-511.
- [4] Phillips JW, Barringhaus KG, Sanders JM, et al. Rosiglitazone reduces the accelerated neointima formation after arterial injury in a mouse injury model of type 2 diabetes [J]. Circulation, 2003, 108(16): 1994-1999.
- [5] 祝超瑜, 魏丽, 贾伟平. 甘油三酯代谢异常与胰岛素抵抗关系的研究进展 [J]. 中华内分泌代谢杂志, 2011, 27(4): 357-359.
- [6] Zechner R, Kienesberger PC, Haemmerle G, et al. Adipose triglyceride lipase and the lipolytic catabolism of cellular fat stores [J]. J Lipid Res, 2009, 50(1): 3-21.
- [7] 丁婧, 王辉, 余诗灏, 等. 肥胖大鼠模型的建立及其脂代谢相关分子机制研究 [J]. 中国实验动物学报, 2012, 20(5): 20-24.
- [8] Haemmerle G, Zimmermann R, Hayn M, et al. Hormone-sensitive lipase deficiency in mice causes diglyceride accumulation in adipose tissue, muscle, and testis [J]. J Biological Chem, 2002, 277(7): 4806-4815.
- [9] Jenkins CM, Mancuso DJ, Yan W, et al. Identification, cloning, expression, and purification of three novel human calcium-independent phospholipase A2 family members possessing triacylglycerol lipase and acylglycerol transacylase activities [J]. J Biol

- Chem, 2004, 279(47): 48968 - 48975.
- [10] Jocken JWE, Smit E, Goossens GH, et al. Adipose triglyceride lipase (ATGL) expression in human skeletal muscle is type I (oxidative) fiber specific [J]. Histochem Cell Biol, 2008, 129(4): 535 - 538.
- [11] Watt MJ, Van Denderen BJW, Castelli LA, et al. Adipose triglyceride lipase regulation of skeletal muscle lipid metabolism and insulin responsiveness [J]. Mol Endocrinol, 2008, 22(5): 1200 - 1212.
- [12] Edvardsson U, Bergstrom M, Alexandersson M, et al. Rosiglitazone (BRL49653), a PPARgamma-selective agonist, causes peroxisome proliferator-like liver effects in obese mice[J]. J Lipid Res, 1999, 40(7): 1177 - 1184.
- [13] Kim JY, Tillison K, Jun-Ho Lee. et al. The adipose tissue triglyceride lipase ATGL/PNPLA2 is downregulated by insulin and TNF- $\alpha$  in 3T3-L1 adipocytes and is a target for transactivation by PPAR- $\gamma$  [J]. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2006, 291(1): 115 - 127.
- [收稿日期] 2014-07-24

· 启 事 ·

## 2015 年《中国实验动物学报》《中国比较医学杂志》专题计划

2013 - 2014 年度《中国实验动物学报》入选“中国科协精品科技期刊工程项目”,影响因子与被引频次不断提升,充分彰显了期刊在业界的权威性与影响力。

2015 年《中国实验动物学报》《中国比较医学杂志》将计划由以下编委组织 7 期专题:(1)顾为望教授:小型猪在生物医药研究中的应用(已完成);(2)范慧敏教授:实验动物心肺移植模型的建立及相关研究(已完成);(3)范永升教授:中医药研究与“病症”结合动物模型(杂志截稿日期:2015 年 3 月 15 日);(4)高诚教授:实验动物质量检测、标识标记、模型和评价(学报截稿日期:2015 年 5 月 31 日);(5)王强教授:斑马鱼在发育生物学及实验动物模型中的应用(学报截稿日期:2015 年 7 月 31 日);(6)代解杰教授:实验动物新资源标准化研究及疾病动物模型的创建(杂志截稿日期:2015 年 8 月 31 日);(7)肖杭教授:实验动物在药理毒理方面的应用研究(杂志截稿日期:2015 年 9 月 30 日)。

如有相关文章可投稿到相应专题,请注意各个专题的截稿日期;论文可以通过《中国实验动物学报》网站(<http://zgswydw.alljournal.ac.cn/sydwbyjyx/ch/index.aspx>);《中国比较医学杂志》网站(<http://zgswydw.alljournal.ac.cn/zgbjyxzz/ch/index.aspx>)上的两刊远程稿件管理系统注册并投稿(请在投稿后,在“消息管理”中向编辑部发送消息,注明是哪个专题),收到后将与上述各位教授所组织的专题论文一起进行严谨的审稿,入选论文将在两刊专题中刊出。我刊还特别欢迎各位专家教授撰写有学术导向和指导意义的评论性文章(包括专家论坛、专论、学术争鸣,等等),此类论文可以随时通过 Email 直接发送到邮箱:b67761337@126.com。

相信在各编委、审稿专家和广大实验动物工作者的积极参与下,我刊 2015 年的学术质量和影响力度会更上一层楼。

《中国实验动物学报》《中国比较医学杂志》编辑部