

冯妙,卜浩林,李丽红,等. 小鼠急性肝损伤对棕色脂肪组织功能的影响及机制研究 [J]. 中国比较医学杂志, 2020, 30(4): 63-69.

Feng M, Bu HL, Li LH, et al. Effects of acute liver injury on brown adipose tissue function and associated mechanisms in mice [J]. Chin J Comp Med, 2020, 30(4): 63-69.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2020.04.010

小鼠急性肝损伤对棕色脂肪组织功能的影响及机制研究

冯 妙¹, 卜浩林¹, 李丽红¹, 郭林芝², 苗宇船³, 郭建红^{1*}

(1.山西医科大学病理生理学教研室,太原 030001; 2.山西医科大学形态学实验室,太原 030001;
3.山西中医药大学基础医学院,山西 晋中 030619)

【摘要】 目的 探讨四氯化碳(CCl₄)诱导的急性肝损伤小鼠在不同时间点对棕色脂肪组织的影响及相关机制。**方法** 18只8周龄C57BL/6雄性小鼠随机分为对照组、CCl₄2周组、CCl₄4周组,每组6只,CCl₄组注射CCl₄2次,对照组给予同剂量橄榄油。称重棕色脂肪组织;HE染色观察肝和棕色脂肪组织的病理变化;免疫组织化学和实时定量PCR检测棕色脂肪组织解偶联蛋白1(UCP1)的表达;酶联免疫吸附测定(ELISA)法检测血清中谷草转氨酶(AST)、谷丙转氨酶(ALT)和肿瘤坏死因子-α(TNF-α)的含量;Pearson法检验Ucp1 mRNA水平与TNF-α含量间的关系。**结果** 与对照组相比,CCl₄2周组血清ALT、AST含量增多($P<0.01$),棕色脂肪组织重量减少($P<0.05$),UCP1蛋白表达减少($P<0.05$),Ucp1 mRNA表达减少($P<0.05$),血清中TNF-α含量增多($P<0.001$);与CCl₄2周组相比,CCl₄4周组血清中ALT、AST含量减少($P<0.05$),棕色脂肪组织重量增加($P<0.05$),Ucp1 mRNA表达增多($P<0.01$),血清中TNF-α含量减少($P<0.001$);CCl₄2周组和CCl₄4周组Ucp1 mRNA水平与TNF-α含量均呈显著负相关($r=-0.950, P<0.01$; $r=-0.859, P<0.05$)。**结论** 急性肝损伤可导致棕色脂肪组织功能下降,机体产热减少,从而影响代谢稳态,机制可能与TNF-α含量升高有关。

【关键词】 棕色脂肪组织;解偶联蛋白1;肝损伤;肿瘤坏死因子-α

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2020)04-0063-07

Effects of acute liver injury on brown adipose tissue function and associated mechanisms in mice

FENG Miao¹, BU Haolin¹, LI Lihong¹, GUO Linzhi², MIAO Yuchuan³, GUO Jianhong^{1*}

(1. Department of Pathophysiology, Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China. 2. Laboratory of Morphology, Shanxi Medical University, Taiyuan 030001. 3. School of Basic Medicine, Shanxi University of Traditional Chinese Medicine, Jinzhong 030619)

【Abstract】 Objective To investigate the effects of carbon tetrachloride (CCl₄)-induced acute liver injury on brown adipose tissue at different time points and to evaluate the related mechanisms. **Methods** Eighteen 8-week-old C57BL/6 male mice were randomly divided into a control group, CCl₄ 2-week group, and CCl₄ 4-week group, with 6 rats in each group. CCl₄ group was injected with CCl₄ twice, and the control group was given the same dose of olive oil. Brown

[基金项目] 教育部产学研合作协同育人项目(201802268015);山西中医药大学“肝脏炎性疾病中西医结合基础研究创新团队”资助项目(2018TD-016)。

[作者简介] 冯妙(1993—),女,硕士研究生,研究方向:肝脏病理生理与相关疾病。E-mail: sherryf0719@163.com

[通信作者] 郭建红(1968—),女,副教授,研究方向:肝脏病理生理与相关疾病。E-mail: sgs7551@126.com

adipose tissue was then weighed, and HE staining was used to observe pathological changes in the liver and brown adipose tissue. Immunohistochemistry and real-time quantitative PCR were used to detect the expression of uncoupling protein 1 (UCP1) in brown adipose tissue. The enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) method was used to evaluate levels of aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), and tumor necrosis factor- α (TNF- α) in serum. The Pearson method was used to test the relationship between *Ucp1* mRNA levels and TNF- α content. **Results** Compared with the control group, the serum content of ALT and AST in the CCl₄ 2-week group were increased ($P < 0.01$), the weight of brown adipose tissue in the CCl₄ 2-week group was decreased ($P < 0.05$), the expression of UCP1 protein in brown adipose tissue in the CCl₄ 2-week group was decreased ($P < 0.05$), the expression of *Ucp1* mRNA in the CCl₄ 2-week group was decreased ($P < 0.05$), and the serum content of TNF- α in the CCl₄ 2-week group was increased ($P < 0.001$). Compared with the CCl₄ 2-week group, the serum content of ALT and AST in the CCl₄ 4-week group was decreased ($P < 0.05$), the weight of brown adipose tissue in the CCl₄ 4-week group was increased ($P < 0.05$), the expression of *Ucp1* mRNA in the CCl₄ 4-week group was increased ($P < 0.01$), and the serum content of TNF- α in the CCl₄ 4-week group was decreased ($P < 0.001$). There was a significant negative correlation between *Ucp1* mRNA levels and TNF- α content in the CCl₄ 2-week group and the CCl₄ 4-week group ($r = -0.950$, $P < 0.01$; $r = -0.859$, $P < 0.05$). **Conclusions** Acute liver injury can lead to the decrease of brown adipose tissue function and the decrease of body heat production, thus affecting the metabolic homeostasis. The mechanism may be related to increased TNF- α content.

[Keywords] brown adipose tissue; uncoupling protein 1; liver injury; tumor necrosis factor- α

啮齿动物体内的脂肪组织分为白色、米色和棕色脂肪组织,三种脂肪组织相互协同以确保啮齿动物维持最佳代谢状态,当它们出现功能失调时,就会导致胰岛素抵抗和相关的代谢并发症,从而损害机体代谢稳态^[1]。白色脂肪组织 (white adipose tissue, WAT) 是一种储能组织,能快速动员以提供其他组织的能量需求;米色和棕色脂肪组织 (brown adipose tissue, BAT) 是一种耗能组织,通过其线粒体上解偶联蛋白 1 (uncoupling protein 1, UCP1) 的作用,使能量以热量的形式释放^[2]。很多证据表明棕色脂肪组织的移植或活化逆转了肥胖并改善了胰岛素敏感性^[3-4],因此,棕色脂肪组织是治疗代谢综合征的潜在目标^[5]。

肝是新陈代谢的主要器官,它执行全身代谢稳态所需的多种生化功能,尤其在脂质代谢中起着重要作用。肝吸收血清中的游离脂肪酸、合成和输出脂质和脂蛋白。在肝细胞中,游离脂肪酸可以通过 β 氧化生成 ATP;也可以酯化生成甘油三酯,这些甘油三酯以极低密度脂蛋白的形式释放到血液中,运输至脂肪组织储存^[6-7]。作为全身代谢的主要参与者,肝与脂肪组织紧密相连,肝通过调节代谢产物影响脂质的储存和代谢;另外,肝源性调节分子也会影响脂肪组织的炎症和胰岛素抵抗^[8],然而肝对棕色脂肪组织功能的影响尚不明确。本研究通过用 25% CCl₄ 制备小鼠急性肝损伤模型,在不同时间点观察棕色脂肪组织的变化,探讨急性肝损伤对棕色脂肪组织功能的影响及相关机制。

1 材料和方法

1.1 实验动物

SPF 级 8 周龄 C57BL/6 雄性小鼠 18 只,体重 19.5~20.5 g,由长沙市天勤生物技术有限公司提供 [SCXK(湘)2014-0011]。所有动物在本实验室独立动物房饲养 [SYXK(晋)2015-0001],室温 (22±1)℃,12 h 光照/12 h 黑暗循环,自由获取食物和水。动物的使用及操作按照本校动物管理委员会 (IACUC2017-001) 的规定执行,在使用动物的过程中充分考虑动物福利 3R 原则,最大程度减少对动物的伤害和痛苦。

1.2 主要试剂与仪器

CCl₄ (天津市风船化学试剂科技有限公司,中国);RNAiso Plus (宝日医生物技术有限公司,9108/9109,中国);PrimeScript™ RT reagent Kit with gDNA Eraser (宝日医生物技术有限公司,RR047A,中国);TB Green® Premix Ex Taq™ II (宝日医生物技术有限公司,RR820A,中国);UCP1 抗体 (Abcam 公司,ab10983,英国);聚合 HRP 标记抗兔/鼠 IgG (BOSTER,SV0004,中国);DAB 显色液 (索莱宝生物科技有限公司,20190307,中国);*Ucp1* 引物、 β -actin 引物 (华大基因,中国);AST ELISA 试剂盒 (江莱生物,JL13939,中国);ALT ELISA 试剂盒 (江莱生物,JL13983,中国);TNF- α ELISA 试剂盒 (江莱生物,JL10484,中国);酶标仪 (伯腾仪器有限公司,SpectraMAX190,美国);离心

机(eppendorf 公司,eppendorf 5804R,德国);实时定量 PCR 反应仪(杭州博日科技有限公司,FQD-96a,中国);包埋机(Leica 公司,Leica EG 1150 H,德国);光学显微照相系统(奥林巴斯株式会社,Olympus IX71,日本)。

1.3 实验方法

1.3.1 动物分组与处理

将 18 只 8 周龄 C57BL/6 雄性小鼠随机分为对照组($n=6$)、CCl₄ 2 周组($n=6$)和 CCl₄ 4 周组($n=6$)。CCl₄ 和橄榄油根据体积比配置成 25% CCl₄ 溶液。CCl₄ 组腹腔注射(ip) 25% CCl₄, 剂量为每 3 d 0.1 mL/10 g, 共 2 次;对照组给予同等剂量的橄榄油。所有小鼠饲以普通饲料和饮用水。分别在 2 周末和 4 周末经 1%戊巴比妥钠麻醉各组小鼠后心脏采血,取肝和棕色脂肪组织,称重棕色脂肪组织。

1.3.2 HE 染色

取部分肝和棕色脂肪组织置于 10% 福尔马林溶液中固定,梯度乙醇脱水,二甲苯透明,石蜡包埋切片(切片厚度为 4 μ m),行苏木素-伊红(HE)染色。

1.3.3 免疫组织化学

棕色脂肪组织石蜡包埋切片(切片厚度为 4 μ m),切片常规脱蜡至水,微波炉中高温进行抗原修复,3% H₂O₂ 溶液孵育 10 min 以消除内源性过氧化物酶,5% BSA 溶液 37℃ 封闭 30 min,一抗孵育(UCP1 抗体浓度为 1:500),4℃ 过夜,次日滴加聚合 HRP 标记抗兔/小鼠 IgG,37℃ 孵育 30 min,DAB 显色适当时间(显微镜下出现阳性颗粒),苏木素复染 30 s,中性树胶封片。

1.3.4 实时定量 PCR

取部分棕色脂肪组织,用液氮充分研磨,根据试剂盒说明书,使用 RNAiso Plus 试剂提取棕色脂肪组织中的总 RNA。使用 PrimeScript™ RT reagent Kit with gDNA Eraser 逆转录试剂盒对总 RNA 进行逆转录。使用 TB Green® Premix Ex Taq™ II 试剂盒进行实时定量 PCR。引物由华大基因合成。小鼠 β -actin 引物序列为 F: 5'-AGCCATGTACGTA GCCATCC-3', R: 5'-GCTGTGGTGGTGAAGCTGTA-3'; Ucp1 引物序列为 F: 5'-ACTGCCACACCT CCAGTCATt-3', R: 5'-CTTTGCCTCACTCAGGA TTGG-3'。实时定量 PCR 的反应条件:95℃ 预变性 30 s,1 个循环;95℃ 变性 5 s,40 个循环;60℃ 退火 30 s,40 个循环。以 β -actin 作为内参,基因差异表

达水平用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 方法计算: $\Delta\Delta C_t = (C_{t_{目的基因}} - C_{t_{管家基因}})_{实验组} - (C_{t_{目的基因}} - C_{t_{管家基因}})_{对照组}$ 。

1.3.5 ELISA

将收集的全血室温静置片刻,4℃ 下以 3000 r/min 离心 10 min,收集上层血清,按照 ELISA 试剂盒说明书检测血清中 AST、ALT 和 TNF- α 的含量。

1.3.6 图像采集与分析

使用 OLYMPUS 光学显微照相系统进行取图,使用 Image J 软件对组织学结果进行光密度测定,使用 GraphPad Prism 5.0 软件绘制所有统计图表。

1.4 统计学方法

统计数据使用 IBM SPSS Statistics 21.0 软件进行分析。数据以平均数 $\pm$ 标准误差($\bar{x} \pm s\bar{x}$)表示,多组间比较采用单因素方差分析(ANOVA),组间两两比较采用最小显著性差异法(LSD 法),两变量间的相关性分析采用 Pearson 法, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 小鼠急性肝损伤 2 周和 4 周肝的病理变化

与对照组相比,CCl₄ 2 周组肝可见明显的细胞坏死、核溶解,肝细胞排列紊乱、肝窦扩张,大量炎性细胞浸润(图 1A、1B);与 CCl₄ 2 周组相比,CCl₄ 4 周组肝可见少量肝细胞坏死和炎性浸润(图 1B、1C)。

2.2 小鼠急性肝损伤 2 周和 4 周血清中 ALT、AST 的含量

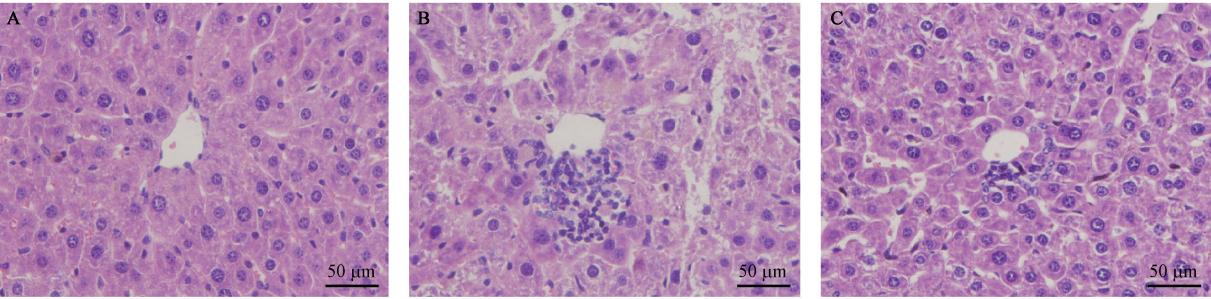
与对照组相比,CCl₄ 2 周组血清中 ALT 含量增加(图 2A, $P < 0.01$),AST 含量增加(图 2B, $P < 0.01$);与 CCl₄ 2 周组相比,CCl₄ 4 周组血清中 ALT 含量减少(图 2A, $P < 0.05$),AST 含量减少(图 2B, $P < 0.05$)。

2.3 小鼠急性肝损伤 2 周和 4 周棕色脂肪组织的重量

与对照组相比,CCl₄ 2 周组棕色脂肪组织重量减少(图 3, $P < 0.05$);与 CCl₄ 2 周组相比,CCl₄ 4 周组棕色脂肪组织重量增加(图 3, $P < 0.05$)。

2.4 小鼠急性肝损伤 2 周和 4 周棕色脂肪组织的病理变化

与对照组相比,CCl₄ 2 周组棕色脂肪组织脂滴增大,空泡增多(图 4A、4B);与 CCl₄ 2 周组相比,CCl₄ 4 周组棕色脂肪组织脂滴减小,但仍可见少量较大的脂滴(图 4B、4C)。

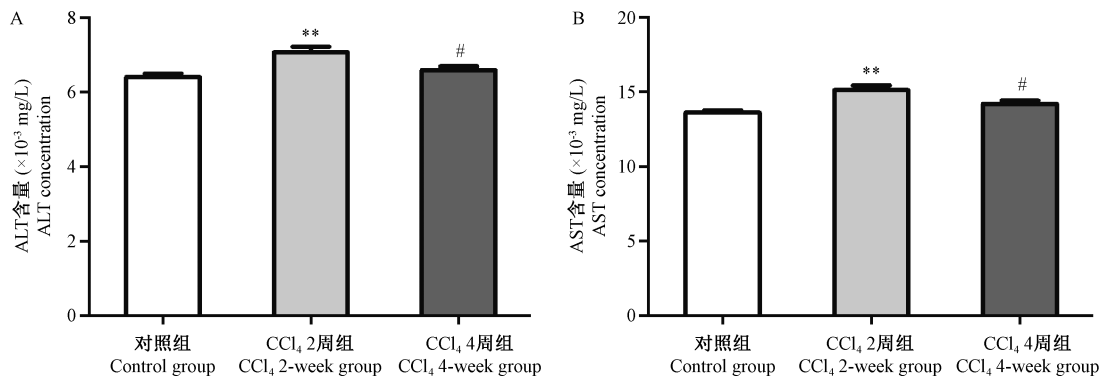


注:A:对照组;B:CCl₄ 2周组;C:CCl₄ 4周组。

图 1 小鼠急性肝损伤 2 周和 4 周肝的病理变化(HE 染色)

Note. A, Control group. B, CCl₄ 2-week group. C, CCl₄ 4-week group.

Figure 1 Pathological changes in the liver of mice with acute liver injury at 2 and 4 weeks(HE staining)

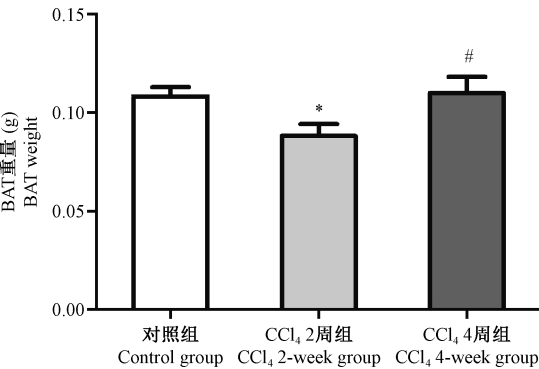


注:与对照组相比, ** $P<0.01$;与 CCl₄ 2 周组相比, # $P<0.05$ 。

图 2 小鼠急性肝损伤 2 周和 4 周血清中 ALT、AST 的含量

Note. Compared with the control group, ** $P<0.01$. Compared with the CCl₄ 2-week group, # $P<0.05$.

Figure 2 Serum content of ALT and AST in mice with acute liver injury at 2 and 4 weeks



注:与对照组相比, * $P<0.05$;与 CCl₄ 2 周相比, # $P<0.05$ 。

图 3 小鼠急性肝损伤 2 周和 4 周棕色脂肪组织的重量

Note. Compared with the control group, * $P<0.05$. Compared with the CCl₄ 2-week group, # $P<0.05$.

Figure 3 Weight of brown a dipose tissue in mice with acute liver injury at 2 and 4 weeks

2.5 小鼠急性肝损伤 2 周和 4 周棕色脂肪组织 UCP1 的表达

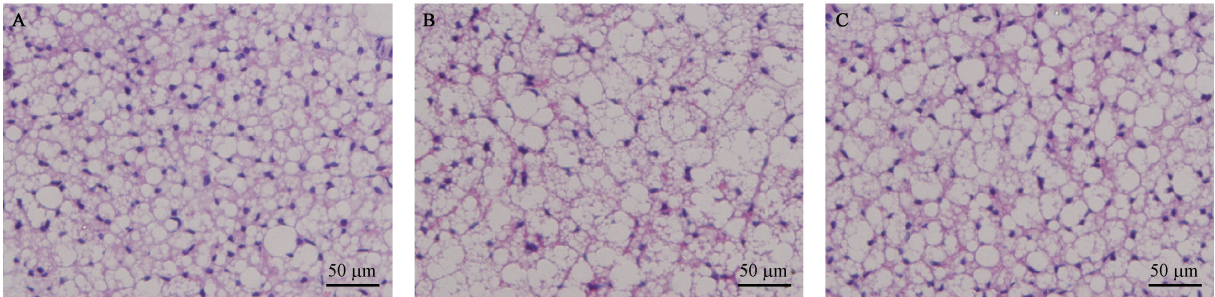
用免疫组化方法检测棕色脂肪组织特异性蛋白 UCP1 的变化,与对照组相比,CCl₄ 2 周组 UCP1 蛋白表达量减少(图 5A、5B、5D, $P<0.05$);与 CCl₄ 2 周组相比,CCl₄ 4 周组 UCP1 蛋白表达量增加不明显(图 5B、5C、5D, $P>0.05$)。

2.6 小鼠急性肝损伤 2 周和 4 周小鼠棕色脂肪组织 Ucp1 mRNA 的水平

与对照组相比,CCl₄ 2 周组 Ucp1 mRNA 表达量减少(图 6, $P<0.05$);与 CCl₄ 2 周组相比,CCl₄ 4 周组 Ucp1 mRNA 表达量增加(图 6, $P<0.01$)。

2.7 小鼠急性肝损伤 2 周和 4 周血清中 TNF-α 的含量

用 ELISA 法检测血清中 TNF-α 的含量,与对照组相比,CCl₄ 2 周组血清中 TNF-α 含量增加(图 7, $P<0.001$);与 CCl₄ 2 周组相比,CCl₄ 4 周组血清中

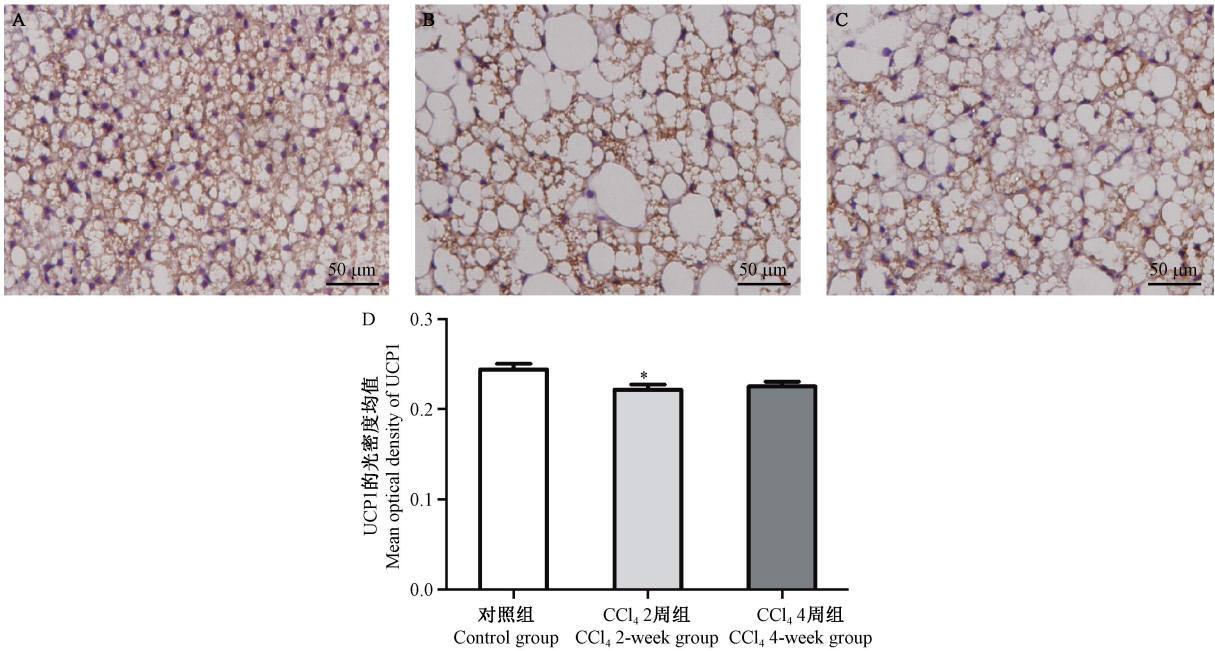


注:A;对照组;B;CCl₄ 2周组;C;CCl₄ 4周组。

图 4 小鼠急性肝损伤 2 周和 4 周棕色脂肪组织的病理变化(HE 染色)

Note. A, Control group. B, CCl₄ 2-week group. C, CCl₄ 4-week group.

Figure 4 Pathological changes in brown adipose tissue in mice with acute liver injury at 2 and 4 weeks(HE staining)



注:A;对照组;B;CCl₄ 2周组;C;CCl₄ 4周组;D:光密度均值。与对照组相比,**P*<0.05。

图 5 小鼠急性肝损伤 2 周和 4 周棕色脂肪组织 UCP1 的免疫组化结果

Note. A, Control group. B, CCl₄ 2-week group. C, CCl₄ 4-week group. D, Mean optical density value. Compared with the control group, **P*<0.05.

Figure 5 Immunohistochemical results of UCP1 in brown adipose tissue of mice with acute liver injury at 2 and 4 weeks

TNF-α 含量减少(图 7,*P*<0.001)。

2.8 小鼠急性肝损伤 2 周和 4 周棕色脂肪组织 *Ucp1* mRNA 水平与血清 TNF-α 含量的相关性分析

使用 Pearson 法来检验棕色脂肪组织 *Ucp1* mRNA 水平与血清 TNF-α 含量之间的关系,CCl₄ 2 周组棕色脂肪组织 *Ucp1* mRNA 水平与血清 TNF-α 含量呈显著负相关(表 1,*P*<0.01);CCl₄ 4 周组棕色脂肪组织 *Ucp1* mRNA 水平与血清 TNF-α 含量呈显著负相关(表 2,*P*<0.05)。

表 1 CCl ₄ 2 周组棕色脂肪组织 <i>Ucp1</i> mRNA 与血清 TNF-α 的相关性		
Table 1 Correlation between <i>Ucp1</i> mRNA in brown adipose tissue and serum TNF-α in the CCl ₄ 2-week group		
指标 Indicator	棕色脂肪组织 <i>Ucp1</i> mRNA <i>Ucp1</i> mRNA in brown adipose tissue	
	<i>r</i> 值 <i>r</i> value	<i>P</i> 值 <i>P</i> value
	血清 TNF-α Serum TNF-α	-0.950 <0.01

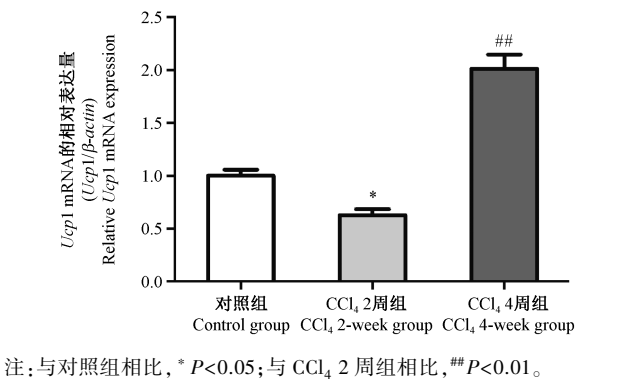


图 6 小鼠急性肝损伤 2 周和 4 周棕色脂肪组织 *Ucp1* mRNA 的水平

Note. Compared with the control group, * $P<0.05$. Compared with the CCl₄ 2-week group, ## $P<0.01$.

Figure 6 *Ucp1* mRNA level in brown adipose tissue of mice with acute liver injury at 2 and 4 weeks

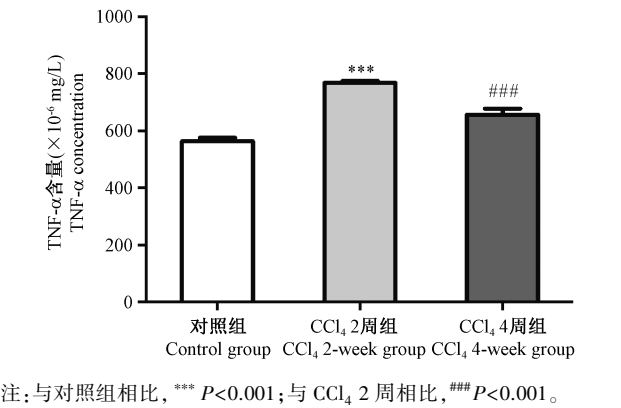


图 7 小鼠急性肝损伤 2 周和 4 周血清中 TNF-α 的含量

Note. Compared with the control group, *** $P<0.001$. Compared with the CCl₄ 2-week group, ### $P<0.001$.

Figure 7 Serum content of TNF-α in mice with acute liver injury at 2 and 4 weeks

表 2 CCl₄ 4 周组棕色脂肪组织 *Ucp1* mRNA 与血清 TNF-α 的相关性

指标 Indicator	棕色脂肪组织 <i>Ucp1</i> mRNA <i>Ucp1</i> mRNA in brown adipose tissue	
	<i>r</i> 值 <i>r</i> value	<i>P</i> 值 <i>P</i> value
血清 TNF-α Serum TNF-α	-0.859	<0.05

3 讨论

代谢综合征(metabolic syndrome, MS)目前已成为一个全球性问题,它是一组复杂的代谢紊乱症候群,其临床表现包括中心性肥胖、糖耐量异常、高血

压、血脂代谢紊乱^[9]。脂肪组织与代谢综合征的发生、发展密切相关^[10],众所周知,内脏白色脂肪积聚是引起代谢综合征的关键因素^[11-12]。而自从在成年人体内发现棕色脂肪组织以来,棕色脂肪组织由于其在能量代谢中的作用而备受关注^[13],与白色脂肪组织储存能量不同,棕色脂肪组织通过 UCP1 产生热量^[14]。因此,棕色脂肪组织被认为是治疗肥胖症和代谢综合征的新潜在靶标^[4]。肝在脂质代谢中起着重要作用^[6-7],然而目前肝对棕色脂肪组织功能的影响知之甚少,本研究通过用 CCl₄ 制备急性肝损伤模型,观察棕色脂肪组织功能的变化。

在本实验中,我们分离的棕色脂肪组织为肩胛间棕色脂肪组织,它被认为是经典的棕色脂肪库^[15-16]。CCl₄ 是诱导急性肝损伤模型的经典药物^[17],它主要的靶器官是肝,不会对其它器官造成明显的损害^[18],因此在本实验中我们可以排除 CCl₄ 对棕色脂肪组织的直接影响。此小鼠模型表现为肝功能障碍,包括炎症细胞浸润和肝细胞坏死^[19]。此外,急性肝损伤还伴有肝酶的升高,谷草转氨酶(AST)主要分布于肝细胞的线粒体和细胞质中,谷丙转氨酶(ALT)主要分布于肝细胞的细胞质中,当急性肝损伤导致细胞膜通透性增加时,ALT、AST 就会大量释放到血液中,因此血清中 ALT、AST 升高被认为是判断急性肝损伤严重程度的重要指标^[20]。基于本课题组造模的经验,选用 25% CCl₄ 制备急性肝损伤模型,在 2 周和 4 周动态观察肝和棕色脂肪组织的变化。

本研究结果显示在急性肝损伤 2 周时观察到肝损伤较严重,血清中 ALT、AST 含量明显增多,棕色脂肪组织重量减少,脂滴增大,4 周时肝损伤程度减轻,血清 ALT、AST 含量减少,棕色脂肪组织重量增加,脂滴减小;提示小鼠肝功能障碍可降低棕色脂肪组织的活化能力,使机体产热减少。我们进一步检测了棕色脂肪组织 UCP1 的表达,UCP1 是棕色脂肪组织线粒体内膜上的特异性蛋白,通过线粒体膜中的质子泄漏来耗散电化学质子梯度,从而导致氧化磷酸化的解偶联,使能量以热量的形式释放^[2],结果显示 2 周时 UCP1 蛋白表达减少,*Ucp1* mRNA 水平降低,4 周时 *Ucp1* mRNA 水平升高,表明肝功能障碍可导致棕色脂肪组织功能下降。此外,考虑到肝本身作为一个产热器官,急性肝损伤时肝产热功能也会受到影响,但本研究主要测定的是棕色脂肪组织 UCP1 的变化,UCP1 是表达于棕色脂肪组织的特异性蛋白^[2],以此判断急性肝损伤对棕色脂肪

组织产热能力的影响。

有研究表明腹腔注射重组 TNF- α 蛋白能抑制小鼠白色和棕色脂肪组织中的 UCP1^[21]。另外, Chen 等^[22-23]研究发现急性肝损伤后肝枯否细胞(Kupffer cells, KC)被激活,释放促炎因子 TNF- α ,进一步加重肝的损伤。因此,我们检测了血清中 TNF- α 的含量,结果显示肝损伤 2 周时血清中 TNF- α 含量增加,4 周时下降,提示棕色脂肪组织 UCP1 的表达与血清 TNF- α 含量的变化有关。为了进一步表明它们之间的关系,通过 Pearson 法检验棕色脂肪组织 *Ucp1* mRNA 水平和血清 TNF- α 含量之间的相关性,结果显示 2 周和 4 周时棕色脂肪组织 *Ucp1* mRNA 和血清 TNF- α 均呈现显著负相关,提示在小鼠急性肝损伤 2 周时,激活的肝枯否细胞分泌促炎因子 TNF- α 到血清中,抑制棕色脂肪组织 UCP1 的表达;而在 4 周时,肝恢复部分功能,血清中 TNF- α 水平下降,棕色脂肪组织 *Ucp1* mRNA 表达增加。而 UCP1 蛋白表达增加不明显,可能原因是基因水平的变化提前于蛋白水平的变化。

综上所述,在小鼠急性肝损伤后,棕色脂肪组织重量减少、脂滴增大、特异性蛋白 UCP1 表达减少、活化能力降低,提示肝功能障碍可导致棕色脂肪组织功能下降,机体产热减少,从而影响代谢稳态,机制可能与 TNF- α 含量升高有关。

参考文献:

- [1] Carobbio S, Pellegrinelli V, Vidal-Puig A. Adipose tissue function and expandability as determinants of lipotoxicity and the metabolic syndrome [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2017, 960: 161-196.
- [2] Desjardins EM, Steinberg GR. Emerging role of AMPK in brown and beige adipose tissue (BAT): implications for obesity, insulin resistance, and type 2 diabetes [J]. *Curr Diabetes Rep*, 2018, 18(10): 80.
- [3] Dong M, Lin J, Lim W, et al. Role of brown adipose tissue in metabolic syndrome, aging, and cancer cachexia [J]. *Front Med*, 2018, 12(2): 130-138.
- [4] Stanford KI, Middelbeek RJ, Townsend KL, et al. Brown adipose tissue regulates glucose homeostasis and insulin sensitivity [J]. *J Clin Invest*, 2013, 123(1): 215-223.
- [5] Moonen MPB, Nascimento EBM, Lichtenbelt WDV. Human brown adipose tissue: underestimated target in metabolic disease? [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids*, 2019, 1864(1): 104-112.
- [6] Mirza MS. Obesity, visceral fat, and NAFLD: querying the role of adipokines in the progression of nonalcoholic fatty liver disease [J]. *Isrn Gastroenterol*, 2011, 2011: 1-11.
- [7] Asaoka Y, Terai S, Sakaida I, et al. The expanding role of fish models in understanding non-alcoholic fatty liver disease [J]. *Dis*

- Model Mech*, 2013, 6(4): 905-914.
- [8] Scheja L, Heeren J. Metabolic interplay between white, beige, brown adipocytes and the liver [J]. *J Hepatol*, 2016, 64(5): 1176-1186.
- [9] Saklayen MG. The global epidemic of the metabolic syndrome [J]. *Curr Hypertens Rep*, 2018, 20(2): 12.
- [10] Grundy SM. Adipose tissue and metabolic syndrome: too much, too little or neither [J]. *Eur J Clin Invest*, 2015, 45(11): 1209-1217.
- [11] Ibrahim MM. Subcutaneous and visceral adipose tissue: structural and functional differences [J]. *Obes Rev*, 2010, 11(1): 11-18.
- [12] 王冉, 李晓南. 人体脂肪组织部位差异性与代谢综合征 [J]. *生理学报*, 2017, 69(3): 357-365.
- [13] Fernández-Verdejo R, Marlatt KL, Ravussin E, et al. Contribution of brown adipose tissue to human energy metabolism [J]. *Mol Aspects Med*, 2019, 68: 82-89.
- [14] 程龙, 董世芬, 袁悦莹, 等. 大黄素对 ApoE 基因敲除小鼠脂肪棕色化的影响 [J]. *中国比较医学杂志*, 2018, 28(11): 8-14.
- [15] De Jong JM, Larsson O, Cannon B, et al. A stringent validation of mouse adipose tissue identity markers [J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2015, 308(12): E1085-E1105.
- [16] Walden TB, Hansen IR, Timmons JA, et al. Recruited vs. nonrecruited molecular signatures of brown, "brite," and white adipose tissues [J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2012, 302(1): E19-E31.
- [17] Yu H, Zheng L, Yin L, et al. Protective effects of the total saponins from *Dioscorea nipponica* Makino against carbon tetrachloride-induced liver injury in mice through suppression of apoptosis and inflammation [J]. *Int Immunopharmacol*, 2014, 19(2): 233-244.
- [18] Manibusan MK, Odin M, Eastmond DA. Postulated carbon tetrachloride mode of action: a review [J]. *J Environ Sci Health C Environ Carcinog Ecotoicol Rev*, 2007, 25(3): 185-209.
- [19] Cong M, Zhao W, Liu T, et al. Protective effect of human serum amyloid P on CCl₄-induced acute liver injury in mice [J]. *Int J Mol Med*, 2017, 40(2): 454-464.
- [20] Yang J, Zhu D, Ju B, et al. Hepatoprotective effects of *Gentianaella turkestanorum* extracts on acute liver injury induced by carbon tetrachloride in mice [J]. *Am J Transl Res*, 2017, 9(2): 569-579.
- [21] Sakamoto T, Nitta T, Maruno K, et al. Macrophage infiltration into obese adipose tissues suppresses the induction of UCP1 level in mice [J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2016, 310(8): E676-E687.
- [22] Chen MJ, Huang W, Wang C, et al. High-mobility group box 1 exacerbates CCl₄-induced acute liver injury in mice [J]. *Clin Immunol*, 2014, 153(1): 56-63.
- [23] Lin X, Huang R, Zhang S, et al. Methyl helicterate protects against CCl₄-induced liver injury in rats by inhibiting oxidative stress, NF- κ B activation, Fas/FasL pathway and cytochrome P4502E1 level [J]. *Food Chem Toxicol*, 2012, 50(10): 3413-3420.