

卜浩林, 李丽红, 李欣, 等. 长期高蛋白饮食对 OVX 小鼠肝脂肪变性和脂肪堆积的影响 [J]. 中国比较医学杂志, 2021, 31 (11): 69-75.

Bu HL, Li LH, Li X, et al. Long-term intake of a high protein diet modulates liver steatosis and fat accumulation in OVX mice [J]. Chin J Comp Med, 2021, 31(11): 69-75.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2021.11.011

## 长期高蛋白饮食对 OVX 小鼠肝脂肪变性和脂肪堆积的影响

卜浩林<sup>1,2</sup>, 李丽红<sup>1,2</sup>, 李欣<sup>1,2</sup>, 郭建红<sup>1,2\*</sup>

(1.山西医科大学病理生理学教研室,太原 030001;2.山西医科大学肝病研究所,太原 030001)

**【摘要】** 目的 探讨长期高蛋白饮食对卵巢切除 (ovariectomy, OVX) 小鼠肝、脂肪组织的影响及胰高血糖素样肽-1 (glucagon-like peptide-1, GLP-1) 的作用。方法 32 只 8 周龄 C57BL/6 雌性小鼠随机分为对照 (Control) 组、模型 (OVX) 组、高蛋白 (OVX+HP) 组、低蛋白 (OVX+LP) 组, 每组 8 只, 模型组、高蛋白组、低蛋白组小鼠行卵巢切除后分别给予标准饮食、高蛋白饮食、低蛋白饮食; 对照组进行相同手术保留卵巢, 给以标准饮食。每周称量小鼠体重, 于 24 周末处死后, 取肝、结肠、腹膜后脂肪组织, 并称量脂肪组织; HE 染色观察肝、腹膜后脂肪的病理改变; 酶联免疫吸附测定 (ELISA) 法检测血清中 GLP-1 的含量; 实时定量 PCR 检测肝固醇调节元件结合蛋白-1c (sterol regulatory element binding protein-1c, SREBP-1c) 以及结肠组织中 GLP-1 mRNA 的表达, 免疫组织化学染色法检测肝 SREBP-1c 蛋白的表达。结果 24 周末, 与对照组相比, 模型组体重增加 ( $P < 0.05$ )、腹膜后脂肪组织增多 ( $P < 0.05$ ); HE 染色模型组肝细胞内可见大量脂滴、腹膜后脂肪组织细胞体积增大; 结肠组织中 GLP-1 mRNA 表达降低 ( $P < 0.05$ ), 血浆中 GLP-1 含量减少 ( $P < 0.05$ ), 肝组织中 SREBP-1c 的 mRNA 表达升高 ( $P < 0.05$ ), SREBP-1c 蛋白表达增多; 高蛋白组与模型组相比, 体重降低 ( $P < 0.01$ ), 腹膜后脂肪显著减少 ( $P < 0.001$ ), 病理切片肝细胞内可见少量脂滴、腹膜后脂肪细胞体积缩小; 结肠组织 GLP-1 mRNA 表达升高 ( $P < 0.01$ ), 血浆中 GLP-1 含量增多 ( $P < 0.001$ ), 肝 SREBP-1c 的 mRNA 表达降低 ( $P < 0.001$ ), SREBP-1c 蛋白表达减少; 低蛋白组与模型组在体重、腹膜后脂肪以及 GLP-1、SREBP-1c 的 mRNA 表达方面差异无统计学意义。结论 长期高蛋白饮食可以改善 OVX 小鼠体重增加和肝脂肪变性, 这可能与高蛋白饮食促进肠道分泌 GLP-1、下调肝 SREBP-1c 的 mRNA 及蛋白表达, 发挥类似雌激素的作用有关。

**【关键词】** 卵巢切除; 高蛋白饮食; 肝脂肪变性; GLP-1; SREBP-1c; 小鼠

**【中图分类号】** R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2021) 11-0069-07

## Long-term intake of a high protein diet modulates liver steatosis and fat accumulation in OVX mice

BU Haolin<sup>1,2</sup>, LI Lihong<sup>1,2</sup>, LI Xin<sup>1,2</sup>, GUO Jianhong<sup>1,2\*</sup>

(1. Department of Pathophysiology, Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China.

2. Institute of Hepatology, Shanxi Medical University, Taiyuan 030001)

**【Abstract】 Objective** To explore the effect of a long-term high protein diet on liver and adipose tissues of ovariectomy (OVX) mice and the role of glucagon-like peptide-1 (GLP-1). **Methods** 32 8-week-old C57BL/6 female mice were randomly divided into control (Control), model (OVX), high protein (OVX+HP) and low protein (OVX+LP) groups with eight rats in each group. After ovariectomized, OVX, OVX+HP and OVX+LP groups were provided with

[基金项目] 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] 卜浩林 (1993—), 男, 硕士研究生, 研究方向: 肝病理生理与相关疾病。E-mail: 370487549@qq.com

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

standard, high protein and low protein diets, respectively. The control group received the same operation to preserve the ovaries and were provided with a standard diet. The mice were weighed weekly and sacrificed at the end of 24<sup>th</sup> week. The liver, colon and retroperitoneal adipose tissue were collected, and retroperitoneal adipose tissue was weighed. HE staining was used to observe pathological changes of the liver and retroperitoneal adipose tissue. An enzyme-linked immunosorbent assay was used to measure serum GLP-1 levels. Real-time quantitative PCR was used to measure the expression of sterol regulatory element-binding protein-1c (SREBP-1c) in the liver and GLP-1 in colon tissues. Immunohistochemical staining was used to detect expression of SREBP-1c protein in the liver. **Results** At the end of 24<sup>th</sup> week, compared with the control group, the OVX group gained weight ( $P<0.05$ ) and retroperitoneal adipose tissue was increased ( $P<0.05$ ). A large number of lipid droplets in hepatocytes and the retroperitoneal adipocyte volume were increased in the OVX group. GLP-1 mRNA expression in colon tissues of the OVX group was decreased ( $P<0.05$ ), and the serum GLP-1 content in the OVX group was also decreased ( $P<0.05$ ). SREBP-1c mRNA and protein expression in liver tissues was increased in the OVX group ( $P<0.05$ ). Compared with the OVX group, the OVX+HP group showed a decrease in body weight ( $P<0.01$ ) and a significant decrease in retroperitoneal adipose tissue ( $P<0.001$ ). A small amount of lipid droplets was observed in hepatocytes, and retroperitoneal adipose cells had shrunk in pathological sections of the OVX+HP group. GLP-1 mRNA expression in colon tissues was increased in the OVX+HP group ( $P<0.01$ ). Serum GLP-1 content was significantly increased in the OVX+HP group ( $P<0.001$ ). SREBP-1c mRNA and protein expression in liver was decreased in the OVX+HP group ( $P<0.001$ ). There was no statistically significant difference in weight, retroperitoneal fat and the mRNA expression of GLP-1 and SREBP-1c between OVX+LP and OVX groups. **Conclusions** A long-term high protein diet improved weight gain and liver steatosis in OVX mice, which may be related to the high protein diet promoting GLP-1 secretion in intestines and downregulating the protein expression of SREBP-1c in the liver, which plays a similar role to estrogen.

**【Keywords】** ovariectomy; high protein diet; liver steatosis; GLP-1; SREBP-1c; mice

绝经综合征是指妇女绝经前后出现性激素波动或减少所致的一系列躯体及精神心理症状<sup>[1]</sup>。雌激素可以降低食欲、增加能量消耗,减少体重和脂肪聚集,因此,雌激素对体重的调节发挥重要作用<sup>[2]</sup>。绝经后妇女由于体内雌激素的减少出现体重增加、内脏脂肪积累等症状,绝经后肥胖的发生率为 64.3%<sup>[3-4]</sup>。另外,雌激素与肝雌激素受体结合上调小二聚体伴侣(SHP)的表达,从而抑制下游 SREBP-1c 的表达,减少肝脂类的合成<sup>[5]</sup>。女性绝经后失去雌激素的保护作用,非酒精性脂肪肝的患病率明显升高<sup>[6]</sup>。

目前绝经综合征的治疗包括药物治疗和非药物治疗,药物治疗主要为激素替代治疗和中药疗法等,而非药物治疗包括饮食与运动等调节方式<sup>[7]</sup>。先前调查表明,激素替代疗法患中风、乳腺癌和静脉血栓的风险增加<sup>[8]</sup>,因此激素替代治疗以外的研究也越来越受到重视。饮食治疗包括低蛋白饮食、高蛋白饮食、生酮饮食(高脂肪)等。据报道,低蛋白饮食可以通过蛋白质限制引起的肝综合应激反应改善代谢<sup>[9]</sup>,而高蛋白饮食则是通过膳食诱导热效应,以及蛋白质摄入增多引起的饱腹感从而减少能量的摄入,达到控制体重的作用<sup>[10-11]</sup>。此外,高

蛋白饮食能够改善由高脂饮食引起的脂肪肝<sup>[12]</sup>。因此,我们使用 OVX 小鼠模型模拟绝经后状态,同时给予不同蛋白浓度饮食喂养 24 周,观察其对卵巢切除小鼠肝和脂肪组织的影响,并研究其中可能涉及的机制。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验动物

SPF 级 8 周龄 C57/BL6 雌性小鼠 32 只,体重(20±0.5)g,购自山西医科大学动物中心[SCXK(晋)2019-0004],饲养于本课题组独立动物房[SYXK(晋)2019-0004],室温(22±1)℃,光暗循环 12 h/12 h。所有动物实验及操作遵循山西医科大学动物管理委员会的规定进行(IACUC-2017016),动物实验过程中遵循 3R 原则。

### 1.2 主要试剂与仪器

HE 染色液(索来宝生物科技有限公司,G1120);小鼠 GLP-1 ELISA 检测试剂盒(江莱生物,JL11122);M5 Total RNA Extraction Reagent(北京聚合美生物科技有限公司,MF034-01);M5 Super qPCR RT kit with gDNA remover(北京聚合美生物科技有限公司,MF166-1);2×M5 HiPer SYBER Premix

EsTaq (北京聚合美生物科技有限公司, MF787-1); SREBP-1c 引物、GLP-1、 $\beta$ -actin (华大基因)、Rabbit Anti-SREBP-1c antibody (北京博奥森生物技术有限公司, bs-1402R); 包埋机 (Leica 公司, Leica EG1150H, 德国); 组织切片机 (Leica 公司, Leica RM2245, 德国); 分光光度计 (Eppendorf 公司, BioSpectrometer, 德国); 实时定量 PCR 仪 (上海吉泰生物科技有限公司, STRATAGENE Mx3005P, 中国)。

### 1.3 实验方法

#### 1.3.1 高、低蛋白饮食的配制

参照本课题组制作特殊饲料的方法<sup>[13]</sup>: 100 g 标准饲料蛋白质含量为 18%, 由标准饲料粉剂和伊利高蛋白脱脂奶粉配制蛋白含量 24% 的高蛋白饮食, 由标准饲料粉剂和玉米淀粉配制蛋白含量 6% 的低蛋白饮食。1000 kcal 能量三种饮食的配法: (1) 标准饮食: 标准饲料 277.50 g; (2) 高蛋白饮食: 标准饲料粉 158.47 g + 伊利脱脂奶粉 110.56 g; (3) 低蛋白饮食: 标准饲料粉 78.68 g + 玉米淀粉 207.15 g。

#### 1.3.2 小鼠分组及处理

将 32 只 8 周龄雌性 C57BL/6 小鼠随机分为 4 组: (1) 对照组 ( $n=8$ ): 标准饮食; (2) 模型组 ( $n=8$ ): 标准饮食; (3) 高蛋白组 ( $n=8$ ): 高蛋白饮食; (4) 低蛋白组 ( $n=8$ ): 低蛋白饮食。所用小鼠用 1% 戊巴比妥钠麻醉后, 其中模型组、高蛋白组、低蛋白组小鼠行卵巢切除术, 切开腹部, 在左右两侧找到卵巢并摘除取出, 缝合切口; 对照组用同样的手法切开腹部, 找到卵巢复位后缝合腹部切口。手术恢复 3 d 后, 各组按照不同的饮食饲养 24 周, 自由进食进水, 每周测量小鼠体重, 24 周实验结束经 1% 戊巴比妥钠麻醉后眼眶采血, 取肝、结肠组织、腹膜后脂肪组织, 称重脂肪组织。

#### 1.3.3 HE 染色

取小鼠部分肝组织、部分腹膜后脂肪组织, 10% 福尔马林溶液固定 24 h, 常规脱水, 二甲苯透明, 石蜡包埋, 切片 (切片厚度为 4  $\mu$ m), HE 染色。

#### 1.3.4 ELISA

于 EP 管中收集全血后静置 30 min, 离心, 取上层血清, 按照 ELISA 试剂盒说明书步骤检测血清中 GLP-1 的含量。

#### 1.3.5 Real-time PCR

称取适量的肝组织、结肠组织, 在无菌无酶条

件下, 用 M5 Total RNA Extraction Reagent 试剂盒提取总的 RNA, 然后使用逆转录试剂盒逆转合成 cDNA, 最后使用 2 $\times$ M5 HiPer SYBER Premix EsTaq 对 cDNA 进行扩增, 反应条件: 95 $^{\circ}$ C 30 s, 1 个循环; 95 $^{\circ}$ C 5 s, 60 $^{\circ}$ C 20 s, 40 个循环。 $\beta$ -actin 上游引物序列为 5'-AGCCATGTACGTAGCCATCC-3', 下游引物为 5'-GCTGTGGTGGTGAAGCTGTa-3'; GLP-1 上游引物序列为 5'-CATCGTGGCTGGATTGTTT-3', 下游引物序列为 5'-GAATGGCGTTTGTCTTCGTTTa-3'; SREBP-1c 的上游引物序列为 5'-CTGCTTGGC TCTTCTCTTT-3', 下游引物序列为 5'-CTTGTTCGATGTCTCC-3'。

#### 1.3.6 图像采集

使用 OLYMPUS 光学显微照相系统采集组织学图片, 使用 Image J 软件对组织学结果进行光密度测定, GraphPad Prism 5.0 软件制作统计图。

### 1.4 统计学方法

使用 SPSS 21.0 软件统计分析, 多组间对比采用单因素方差分析, 实验数据以平均数 $\pm$ 标准差 ( $\bar{x}\pm s$ ) 表示,  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 小鼠体重变化及腹膜后脂肪的重量

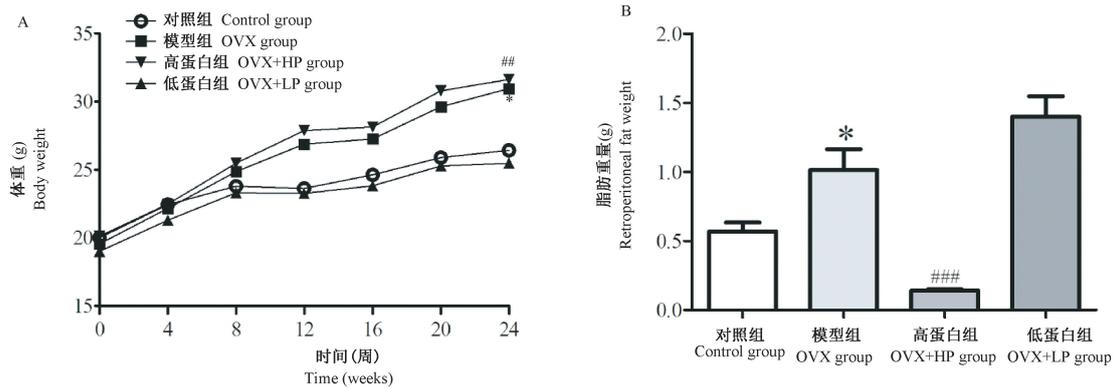
与对照组相比, 在 8 周之后, 模型组小鼠体重呈增加趋势, 12、16、20 和 24 周末体重增加 (图 1A,  $P<0.05$ ), 高蛋白组与模型组相比, 体重显著降低 (图 1A,  $P<0.01$ ), 低蛋白组与模型组差异无统计学意义; 24 周末, 与对照组相比, 模型组小鼠腹膜后脂肪重量增加 (图 1B,  $P<0.05$ ), 高蛋白组与模型组相比, 脂肪重量明显降低 (图 1B,  $P<0.001$ ), 低蛋白组与模型组差异无统计学意义。

### 2.2 小鼠肝、腹膜后脂肪组织 HE 染色

对照组小鼠肝细胞仅见少量脂滴 (图 2A), 模型组小鼠肝细胞排列松散, 肝细胞内可见大量脂滴, 出现脂肪变性 (图 2B); 高蛋白组肝细胞内可见微量脂滴, 脂肪变性明显改善 (图 2C); 低蛋白组肝细胞内脂滴增大、胞浆疏松 (图 2D); 相比于对照组, 模型组腹膜后脂肪细胞体积明显增大 (图 2E、2F), 高蛋白组脂肪细胞体积回缩 (图 2G), 而低蛋白组变化不明显 (图 2H)。

### 2.3 小鼠血清中 GLP-1 的含量

与对照组相比, 模型组血清中 GLP-1 含量降低



注:A:体重;B:腹膜后脂肪重量。与对照组相比,\* $P<0.05$ ;与模型组相比,## $P<0.01$ ,### $P<0.001$ 。

图1 小鼠体重及腹膜后脂肪的重量

Note. A, Body weight. B, Retroperitoneal fat weight. Compared with the control group, \* $P<0.05$ . Compared with the OVX group, ## $P<0.01$ , ### $P<0.001$ .

Figure 1 Weight of body and retroperitoneal fat

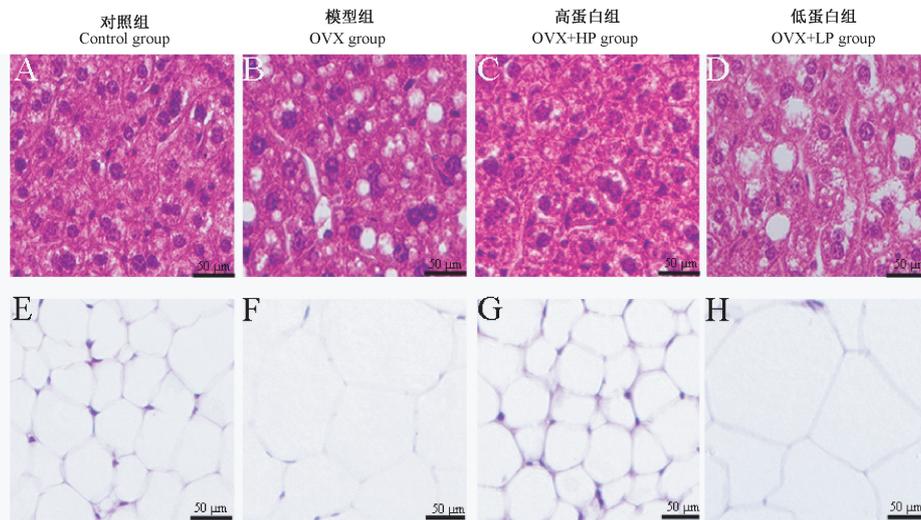


图2 小鼠肝和腹膜后脂肪组织 HE 染色

Figure 2 HE staining of mice liver and retroperitoneal adipose tissue

(图3,  $P<0.05$ ), 高蛋白组与模型组相比, 血清中 GLP-1 含量显著升高(图3,  $P<0.001$ ), 低蛋白与模型组差异无统计学意义。

#### 2.4 小鼠结肠组织 GLP-1 mRNA 以及肝组织中 SREBP-1 mRNA 的表达

与对照组相比, 模型组结肠组织 GLP-1 mRNA 表达量减少(图4A,  $P<0.05$ ), 高蛋白组与模型组相比 GLP-1 mRNA 表达量增加(图4B,  $P<0.01$ ), 低蛋白组与模型组差异无统计学意义。在肝中, 与对照组相比, 模型组 SREBP-1c mRNA 表达量增加(图4C,  $P<0.05$ ), 高蛋白组相比模型组 SREBP-1c mRNA 表达量减少(图4D,  $P<0.001$ ) 低蛋白组与模型组差异无统计学意义。

#### 2.5 小鼠肝组织中 SREBP-1c 蛋白的表达

相比于对照组, 模型组肝组织中棕黄色颗粒染色较深(图5A、5B、5E,  $P<0.01$ , 提示 SREBP-1c 蛋白表达增多); 与模型组相比, 高蛋白组染色较浅(图5B、5C、5E,  $P<0.01$ , SREBP-1c 蛋白表达减少), 低蛋白组(图5D)改善不明显。

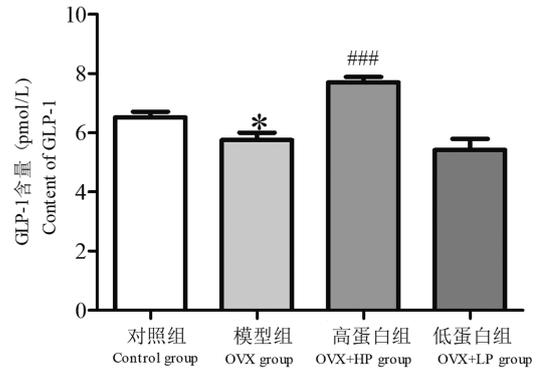
### 3 讨论

雌激素是参与机体物质能量代谢的重要激素, 其作用主要由雌激素受体(ER)介导<sup>[14]</sup>。在靶细胞中, ER 以多蛋白的抑制性复合体形式存在, 其与雌激素结合后, 发生同源二聚体化, 结合靶基因上的雌激素反应元件, 促进靶基因转录<sup>[2]</sup>。在下丘脑

中,雌激素与下丘脑 ER $\alpha$  受体结合,刺激下丘脑神经元释放厌食神经肽以及抑制摄食神经肽两种基因的表达。卵巢切除后的小鼠由于雌激素下降,引起食欲增加、基础代谢率降低、能量消耗减少,导致肥胖<sup>[15]</sup>。另外,雌激素可以通过增强过氧化物酶增殖受体  $\gamma$  的表达促进脂肪代谢,下调氧化物酶增殖受体  $\gamma_2$  的表达减少脂肪含量改善胰岛素敏感性。雌激素还可以抑制腹膜脂肪基因的表达,减少腹内脂肪细胞增殖分化,从而影响身体脂肪的分布<sup>[16-17]</sup>。卵巢切除的大鼠,内脏白色脂肪含量增加,容易发生肥胖,腹腔注射雌激素后肥胖和内脏脂肪得到改善<sup>[18]</sup>。这与本课题组在 24 周观察的结果一致,相比对照组,模型组体重、腹膜后脂肪重量增加,HE 染色观察到脂肪细胞扩张。

肝是体内调节脂质代谢的重要器官之一,绝经后女性由于体内雌激素的减少发生非酒精性脂肪肝的机率明显升高<sup>[6]</sup>。在肝脂质代谢方面,雌激素发挥着重要调节作用,雌激素与肝 ER 受体结合,上调 SHP 表达,抑制下游 SREBP-1c 的转录。另外,雌激素也可以通过膜受体介导的快速非基因信号 AMPK 通路抑制 SREBP-1a 的核定位,从而减少

SREBP-1c 的转录,减少肝脂质合成<sup>[19]</sup>。SREBP-1c 是肝甘油三酯合成的关键基因,在非酒精性脂肪肝的形成中具有重要作用。SREBP-1c 的调控主要发生在转录水平,可以激活下游脂肪酸合成酶、乙酰辅酶 A 羧化酶、酯酰辅酶 A 去饱和酶等,从而使肝脂质合成增加导致肝脂肪变性<sup>[5]</sup>。本实验结果显示:切除卵巢后的模型组相比于对照组,肝组织中

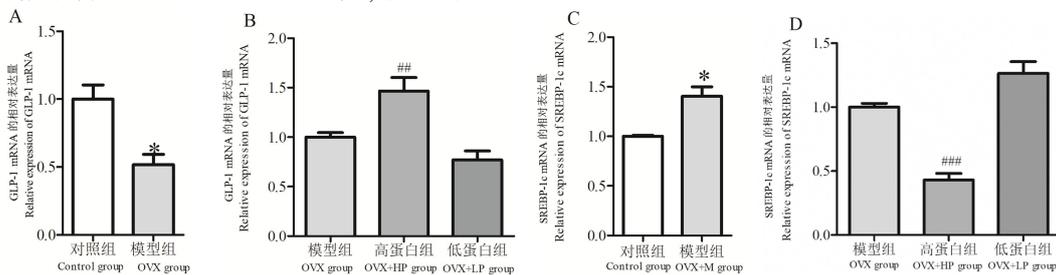


注:与对照组相比, \* $P < 0.05$ ;与模型组相比, ### $P < 0.001$ 。

图 3 小鼠血清中 GLP-1 的含量

Note. Compared with the control group, \* $P < 0.05$ . Compared with the OVX group, ### $P < 0.001$ .

Figure 3 GLP-1 content in serum of mice

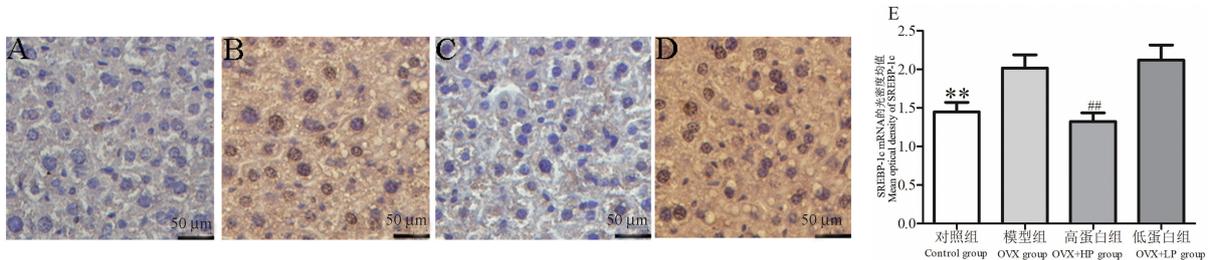


注:与对照组相比, \* $P < 0.05$ ;与模型组相比, ## $P < 0.01$ , ### $P < 0.001$ 。

图 4 小鼠结肠组织 GLP-1 和肝 SREBP-1c 的 mRNA 的表达

Note. Compared with the control group, \* $P < 0.05$ . Compared with the OVX group, ## $P < 0.01$ , ### $P < 0.001$ .

Figure 4 Expression of GLP-1 mRNA in colon tissues and SREBP-1c mRNA in liver of mice



注:A:对照组;B:模型组;C:高蛋白组;D:低蛋白组;E:光密度均值。与对照组相比, \*\* $P < 0.01$ ;与模型组相比, ## $P < 0.01$ 。

图 5 小鼠肝 SREBP-1c 免疫组织化学染色

Note. A, Control group. B, OVX group. C, OVX+HP group. D, OVX+LP group. E, Mean optical density value. Compared with the control group, \*\* $P < 0.01$ . Compared with the OVX group, ## $P < 0.01$ .

Figure 5 Immunohistochemical staining of mouse liver tissue SREBP-1c

SREBP-1c 的 mRNA 表达升高, SREBP-1c 蛋白表达增多, 肝细胞内出现大量脂滴聚集。

GLP-1 是在食物刺激下由肠道 L 细胞分泌的肠道肽类激素, 其生物学功能包括: 刺激胰岛素分泌, 保护胰岛  $\beta$  细胞; 延缓胃排空和肠蠕动; 抑制食欲等。其受体广泛分布于除胰岛外的组织, 包括肾、心脏、肝以及中枢神经系统等<sup>[20]</sup>。因此, 越来越多的学者开始研究其发挥降糖、减轻胰岛素抵抗之外的作用。据报道, 肠道 L 细胞主要位于空肠和结肠, 并且 L 细胞中存在 GLP-1 和促性腺激素释放激素共同分泌的现象, 但是 GLP-1 与雌激素的关系尚不明确<sup>[21]</sup>。GLP-1 改善肝脂代谢的可能机制: 减少了肝脂质合成相关蛋白的表达, 在 Ding 等<sup>[22]</sup>的研究中, GLP-1 受体激动剂可以增强脂肪酸氧化基因的表达, 增加脂肪酸的  $\beta$  氧化, 同时抑制脂质合成相关基因 SREBP-1c、硬脂酰辅酶 A 去饱和酶 1 的转录, 明显改善肥胖小鼠的肝脂肪变性; GLP-1 受体激动剂使非酒精性脂肪肝小鼠 AMPK 磷酸化增加, 抑制 SREBP-1c 的表达<sup>[23]</sup>。侯洪涛等<sup>[24]</sup>报道, GLP-1 能够抑制 JAK-STAT 通路中信号因子的表达, 下调高脂饮食诱导的非酒精性脂肪肝大鼠 SREBP-1c 的转录, 减轻高脂饮食大鼠肝脂质的聚集, 治疗非酒精性脂肪肝, 而非酒精性脂肪肝患者血浆中 GLP-1 含量减少<sup>[25]</sup>。本实验观察到: 与对照组相比, 模型组小鼠结肠组织中 GLP-1 mRNA 的表达量下降, 血清中 GLP-1 含量减少, 肝中 SERBP-1c 的 mRNA 表达上调, 提示由于 OVX 小鼠雌激素缺乏, 肠道 L 细胞分泌 GLP-1 减少、肝细胞内大量脂滴聚集。前人研究发现高蛋白饮食能够促进肠道分泌 GLP-1<sup>[26]</sup>, 我们在给予 OVX 小鼠高蛋白饮食饲养后, 小鼠结肠组织中 GLP-1 mRNA 表达明显升高, 血清中 GLP-1 含量增加, 肝中 SERBP-1c 的 mRNA 和蛋白表达减少, 肝细胞内脂肪变性明显减轻。另有研究表明, GLP-1 亦可以减少高脂饮食喂养小鼠腹部等部位脂肪的聚集<sup>[27]</sup>, 这与本研究结果一致, 长期高蛋白饮食可显著改善卵巢切除后引起的腹膜后脂肪聚集以及脂肪细胞体积胀大。

综上所述, OVX 小鼠出现体重增加、腹部脂肪堆积、肝脂质聚集, 在长期高蛋白饮食饲养后, 以上症状得到明显改善, 而低蛋白饮食效果不明显。其相关机制可能与高蛋白饮食促进肠道 L 细胞分泌 GLP-1 增加、下调肝中 SERBP-1c 及蛋白的表达, 发挥类似雌激素的作用有关。

#### 参考文献:

- [ 1 ] 毛海燕, 习振文, 陈国廉. 绝经综合征治疗现状述评 [J]. 中医临床研究, 2018, 10(8): 104-106.
- [ 2 ] Barros RP, Gustafsson JÅ. Estrogen receptors and the metabolic network [J]. Cell Metab, 2011, 14(3): 289-299.
- [ 3 ] Lovejoy JC, Champagne CM, de Jonge L, et al. Increased visceral fat and decreased energy expenditure during the menopausal transition [J]. Int J Obes, 2008, 32(6): 949-958.
- [ 4 ] Jouyandeh Z, Nayebzadeh F, Qorbani M, et al. Metabolic syndrome and menopause [J]. J Diabetes Metab Disord, 2013, 12(1): 1.
- [ 5 ] Wang X, Lu Y, Wang E, et al. Hepatic estrogen receptor  $\alpha$  improves hepatosteatosis through upregulation of small heterodimer partner [J]. J Hepatol, 2015, 63(1): 183-190.
- [ 6 ] Wang Z, Xu M, Hu Z, et al. Prevalence of nonalcoholic fatty liver disease and its metabolic risk factors in women of different ages and body mass index [J]. Menopause, 2015, 22(6): 667-673.
- [ 7 ] 张凡, 张广美. 女性绝经综合征的研究进展 [J]. 中国临床研究, 2017, 30(8): 1131-1133, 1137.
- [ 8 ] McCoy KD, Le Gros G. The role of CTLA-4 in the regulation of T cell immune responses [J]. Immunol Cell Biol, 1999, 77(1): 1-10.
- [ 9 ] Maida A, Zota A, Sjöberg KA, et al. A liver stress-endocrine nexus promotes metabolic integrity during dietary protein dilution [J]. J Clin Invest, 2016, 126(9): 3263-3278.
- [ 10 ] Mikkelsen PB, Toubro S, Astrup A. Effect of fat-reduced diets on 24-h energy expenditure: comparisons between animal protein, vegetable protein, and carbohydrate [J]. Am J Clin Nutr, 2000, 72(5): 1135-1141.
- [ 11 ] Morell P, Fiszman SM. Revisiting the role of protein-induced satiation and satiety [J]. Food hydrocolloids, 2017, 68: 199-210.
- [ 12 ] Garcia Caraballo SC, Comhair TM, Dejong CHC, et al. Dietary treatment of fatty liver: High dietary protein content has an antisteatotic and antiobesogenic effect in mice [J]. Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis, 2017, 1863(7): 1789-1804.
- [ 13 ] 王郝莹, 张丽君, 张琼, 等. 长期低蛋白饮食对中老年小鼠非特异性炎症反应和脾脏 T 细胞的影响 [J]. 中华老年医学杂志, 2018, 37(2): 215-219.
- [ 14 ] Hewitt SC, Korach KS. Estrogen receptors: new directions in the new millennium [J]. Endocr Rev, 2018, 39(5): 664-675.
- [ 15 ] Faulds MH, Zhao C, Dahlman-Wright K, et al. The diversity of sex steroid action: regulation of metabolism by estrogen signaling [J]. J Endocrinol, 2012, 212(1): 3-12.
- [ 16 ] Mansour MM, Goyal HO, Braden TD, et al. Activation of penile proadipogenic peroxisome proliferator-activated receptor gamma with an estrogen; interaction with estrogen receptor alpha during postnatal development [J]. PPAR Res, 2008, 2008: 651419.
- [ 17 ] Zhang H, Chen X, Sairam MR. Novel genes of visceral

- adiposity: identification of mouse and human mesenteric estrogen-dependent adipose (MEDA)-4 gene and its adipogenic function [J]. *Endocrinology*, 2012, 153(6): 2665-2676.
- [18] Yamakawa J, Moriya J, Takahashi T, et al. A Kampo medicine, Boi-ogi-to, inhibits obesity in ovariectomized rats [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2010, 7(1): 87-95.
- [19] 吴绍泽, 王立红, 谷剑. 雌激素及其受体对脂质代谢影响的研究进展 [J]. *疑难病杂志*, 2017, 16(4): 419-422, 428.
- [20] Holst JJ. The physiology of glucagon-like peptide 1 [J]. *Physiol Rev*, 2007, 87(4): 1409-1439.
- [21] Wang L, Wu J, Cao H, et al. The correlation between intestinal gonadotropin-releasing hormone (GnRH) and proglucagon in hyperlipidemic rats and Goto-Kakizaki (GK) rats [J]. *Endocr Pathol*, 2009, 20(4): 227-234.
- [22] Ding X, Saxena NK, Lin S, et al. Exendin-4, a glucagon-like protein-1 (GLP-1) receptor agonist, reverses hepatic steatosis in ob/ob mice [J]. *Hepatology*, 2006, 43(1): 173-181.
- [23] Xu F, Li Z, Zheng X, et al. SIRT1 mediates the effect of GLP-1 receptor agonist exenatide on ameliorating hepatic steatosis [J]. *Diabetes*, 2014, 63(11): 3637-3646.
- [24] 侯洪涛, 裘艳梅, 张建, 等. GLP-1 下调非酒精性脂肪肝大鼠 SOCS-3 和 SREBP-1c 的表达 [J]. *中国病理生理杂志*, 2016, 32(7): 1312-1316.
- [25] 刘志平, 赵致维, 张金华. 非酒精性脂肪性肝病患者肠道菌群与胰高血糖素样肽 1 的相关性分析 [J]. *临床肝胆病杂志*, 2020, 36(1): 136-139.
- [26] van der Klaauw AA, Keogh JM, Henning E, et al. High protein intake stimulates postprandial GLP1 and PYY release [J]. *Obesity*, 2013, 21(8): 1602-1607.
- [27] 于倩, 李春君, 丁敏, 等. 胰高血糖素样肽-1 受体激动剂减轻小鼠体质量的作用机制研究 [J]. *天津医药*, 2015, 43(11): 1226-1229, 1230.

〔收稿日期〕2020-11-27

## (上接第 68 页)

- [14] Hanaei S, Abdollahzade S, Khoshnevisan A, et al. Genetic aspects of intervertebral disc degeneration [J]. *Rev Neurosci*, 2015, 26(5): 581-606.
- [15] Luo L, Gao Y, Yang C, et al. Halofuginone attenuates intervertebral discs degeneration by suppressing collagen I production and inactivating TGF $\beta$  and NF- $\kappa$ B pathway [J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 101: 745-753.
- [16] Liang H, Yang X, Liu C, et al. Effect of NF- $\kappa$ B signaling pathway on the expression of MIF, TNF- $\alpha$ , IL-6 in the regulation of intervertebral disc degeneration [J]. *J Musculoskelet Neuronal Interact*, 2018, 18(4): 551-556.
- [17] Wang S, Wei J, Fan Y, et al. Progranulin is positively associated with intervertebral disc degeneration by interaction with IL-10 and IL-17 through TNF pathways [J]. *Inflammation*, 2018, 41(5): 1852-1863.
- [18] 佟德民, 孙凤杰, 孙利群, 等. 自体垂直悬吊牵引与靶向调控 caspase3 对兔退变椎间盘细胞的影响 [J]. *解放军医学杂志*, 2017, 42(12): 1072-1077.
- [19] Wang K, Chen T, Ying X, et al. Ligustilide alleviated IL-1 $\beta$  induced apoptosis and extracellular matrix degradation of nucleus pulposus cells and attenuates intervertebral disc degeneration *in vivo* [J]. *Int Immunopharmacol*, 2019, 69: 398-407.
- [20] Sun Z, Jian Y, Fu H, et al. MiR-532 downregulation of the Wnt/ $\beta$ -catenin signaling via targeting Bcl-9 and induced human intervertebral disc nucleus pulposus cells apoptosis [J]. *J Pharmacol Sci*, 2018, 138(4): 263-270.

〔收稿日期〕2020-11-10