

应用Triacsin C构建新型高血糖肥胖小鼠心功能减退模型

赵小娜¹, 王 鹏², 叶茂青³, 曲新凯¹

(1. 复旦大学附属华东医院心血管内科, 上海 200040; 2. 复旦大学附属中山医院心血管内科, 上海 200032; 3. 上海市老年医学临床重点实验室, 上海 200040)

[摘要] **目的** 应用长链酰基辅酶A合成酶1 (acyl-CoA synthetase long-chain family member 1, ACSL1) 抑制剂Triacsin C联合高脂饮食建立新的高血糖肥胖小鼠心功能减退模型, 以模拟肥胖相关2型糖尿病患者脂肪组织和心功能的变化。**方法** 将20只SPF级雄性C57BL/6J小鼠随机分为2组: Con组(对照组, 腹腔注射柠檬酸-柠檬酸钠缓冲液)和TC组(实验组, 腹腔注射Triacsin C)。连续注射4周后, 2组小鼠均给予高脂饲料喂养, 自实验开始每8周监测小鼠体重及糖耐量。以空腹血糖 >8 mmol/L或餐后2 h血糖 >15 mmol/L视为造模成功。观测2组小鼠左心室舒张末期内径(left ventricular end-diastolic diameter, LVEDD)、左心室收缩末期内径(left ventricular end-systolic diameter, LVESD)、舒张末期室间隔厚度(end-diastolic interventricular septal thickness, EDIVS)、左心室射血分数(left ventricular ejection fraction, LVEF)和左心室短轴缩短分数(left ventricular short-axis fractional shortening, FS)等心功能指标的变化。HE染色后观测小鼠附睾白色脂肪组织(white adipose tissue, WAT)及背部棕色脂肪组织(brown adipose tissue, BAT)形态和面积的变化; 采用免疫荧光法分析棕色脂肪组织血管内皮标志蛋白CD31和棕色脂肪组织标志蛋白UCP1的变化; 采用蛋白质印迹法检测小鼠心肌组织中ACSL1表达的变化。**结果** Con组和TC组小鼠空腹血糖分别为(8.14 ± 1.43) mmol/L和(8.18 ± 0.85) mmol/L ($P>0.05$), 餐后2 h血糖浓度分别为(19.8 ± 4.01) mmol/L和(22.60 ± 3.97) mmol/L ($P<0.05$), 表明本研究中两组糖尿病小鼠模型均造模成功。与Con组相比, TC组小鼠葡萄糖耐量较差, LVEDD、LVEF和FS下降明显 ($P<0.05$), WAT及BAT面积明显增大 ($P<0.05$), CD31、UCP1的表达量明显减少 ($P<0.05$), 心肌组织ACSL1表达明显减少 ($P<0.05$)。**结论** Triacsin C联合高脂饮食制备新型高血糖肥胖小鼠心功能减退模型是可行的, 较单纯高脂饮食诱导2型糖尿病模型出现明显的棕色脂肪组织白色化、胰岛素抵抗及心功能减退现象。

[关键词] 动物模型; 长链脂酰辅酶A合成酶1; 棕色脂肪组织; 心功能减退; 小鼠

[中图分类号] R-332; Q95-33 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1674-5817(2024)06-0605-08

Establishment of a New Hyperglycemic Obesity Cardiac Dysfunction Mouse Model with Triacsin C

ZHAO Xiaona¹, WANG Peng², YE Maoqing³, QU Xinkai¹

(1. Department of Cardiology, Huadong Hospital, Fudan University, Shanghai 200040, China; 2. Department of Cardiology, Zhongshan Hospital, Fudan University, Shanghai 200032, China; 3. Shanghai Key Laboratory of Clinical Geriatric Medicine, Shanghai 200040, China)

Correspondence to: QU Xinkai (ORCID: 0000-0002-5000-6721), E-mail: qxkchest@126.com

[ABSTRACT] **Objective** This study aims to establish a novel hyperglycemic obesity mouse model by utilizing Triacsin C, an inhibitor of acyl-CoA synthetase long-chain family member 1 (ACSL1), combined with a high-fat diet, to simulate the changes in adipose tissue and cardiac function observed in patients with obesity-related type 2 diabetes. **Methods** Twenty adult SPF-grade male C57BL/6J mice were randomly

[基金项目] 复旦大学附属华东医院院级课题“SCFA通过抑制IL-1 β -NLRP3炎症小体产生减轻动脉粥样硬化”(H1297); 华东医院重点学科建设计划“临床医学研究中心-心血管内科”(LCZX2205)

[第一作者] 赵小娜(1989—), 女, 硕士研究生, 研究方向: 老年冠心病的诊疗。E-mail: zxncardiac1224@163.com

[通信作者] 曲新凯(1972—), 男, 博士, 教授, 博士生导师, 主任医师, 研究方向: 老年冠心病的诊疗。E-mail: qxkchest@126.com. ORCID: 0000-0002-5000-6721

divided into two groups: the Control group (injected intraperitoneally with citric acid-sodium citrate buffer, Con group) and the TC group (injected intraperitoneally with Triacsin C, TC group). After four consecutive weeks of intraperitoneal injections, both groups were fed high-fat diets. Body weight and glucose tolerance of the mice were assessed every eight weeks. The models were considered successful if fasting blood glucose exceeded 8 mmol/L or blood glucose was above 15 mmol/L two hours after glucose injection. Cardiac function, including ventricular end-diastolic diameter (LVEDD), left ventricular end systolic diameter (LVESD), end-diastolic interventricular septal thickness (EDIVS), left ventricular ejection fraction (LVEF), and left ventricular short-axis fractional shortening (FS), was measured by echocardiography. HE staining was used to detect the changes in epididymal white adipose tissue (WAT) and brown adipose tissue (BAT). Immunofluorescence technology was used to analyze changes in CD31 and UCP1 in BAT. ACSL1 expression in myocardial tissue was tested by Western blotting. **Results** The fasting blood glucose levels were (8.14±1.43) mmol/L in the Con group and (8.18±0.85) mmol/L in the TC group ($P>0.05$), and the 2-hour postprandial blood glucose levels were (19.8±4.01) mmol/L in the Con group and (22.60±3.97) mmol/L in the TC group ($P<0.05$). This indicated that both groups of diabetic mouse models were successfully established. Compared to the Con group, the TC group showed poor glucose tolerance; significant decreases in LVEDD, LVEF and FS ($P<0.05$); significant increases in WAT and BAT areas ($P<0.05$); significant decreases in CD31 and UCP1 expression ($P<0.05$); and a significant decrease in the expression of ACSL1 in myocardial tissues ($P<0.05$). **Conclusion** Compared with the high-fat diet-induced type 2 diabetes model, the new hyperglycemic obesity and cardiac dysfunction mouse model, created by the combination of Triacsin C and a high-fat diet, is feasible and allows for easier observation of brown adipose tissue whitening, insulin resistance and cardiac dysfunction.

[Key words] Animal model; Acyl-CoA synthetase long-chain family member 1; Brown adipose tissue; Cardiac dysfunction; Mice

糖尿病是一种以持续性高血糖及长期代谢紊乱为主要特征的疾病,其发病机制与遗传、代谢以及环境等多重因素有关^[1]。越来越多的研究表明,糖尿病是导致心脑血管死亡的高危因素,且对全球卫生系统经济产生了重大影响,糖尿病医疗支出约占世界卫生总支出的11.5%^[2-3]。因此,糖尿病在世界范围内引起高度重视。然而,糖尿病的发生、发展机制复杂,为了提高糖尿病的临床治愈率、减少心血管疾病相关并发症的发生,研究者不断研究该疾病的发生、发展机制,以探索新的治疗方法。因此,基于庞大而持续的科研需求,糖尿病动物模型的建立至关重要。

常见的糖尿病模型包括:胰岛素抵抗的啮齿类动物模型、胰岛细胞及功能破坏的啮齿类动物模型、胰岛素抵抗的非啮齿类动物模型、胰岛细胞或功能破坏的非啮齿类动物模型。胰岛素抵抗的啮齿类动物模型有基因突变的Zucker大鼠、ob/ob小鼠、db/db小鼠和我国自主研发的长爪沙鼠等模型。这类动物模型具有基因突变背景,在模拟大多数糖尿病患者群体的病理特征方面存在一定局限性^[4-6];胰岛细胞及功能破坏的啮齿类动物模型有链脲霉素(streptozotocin, STZ)注射制备胰岛细胞破坏的1型糖尿病小鼠模型,这类

模型缺乏胰岛素抵抗^[7];具有胰岛素抵抗的非啮齿类动物模型有与人类代谢表型极其相近的灵长类动物模型,然而,此类动物对福利伦理要求高,且具有饲养场地及费用的限制^[8];胰岛细胞及功能破坏的1型糖尿病非啮齿类动物模型有胰腺切除的猪糖尿病模型,但这类动物模型常发生酮症酸中毒和感染等现象,从而导致实验动物的死亡^[9]。

长链酰基辅酶A合成酶1(acyl-CoA synthetase long-chain family member 1, ACSL1)是线粒体和内质网上的蛋白,其参与长链脂肪酸的转运代谢,促进长链脂肪酸进入细胞内,从而参与线粒体三羧酸循环。ACSL1通过氧化分解脂肪酸,最终产生二氧化碳、水和ATP,为心脏、脑组织等高能代谢器官提供能量代谢底物^[10]。Triacsin C(TC)是从金黄色链霉菌中分离出来的天然产物,它能抑制ACSL1的表达并干扰长链酰基辅酶A的转运,是常用的ACSL1抑制剂^[11]。既往研究表明,用反式脂肪酸干扰STZ诱导糖尿病小鼠脂肪酸代谢后,心肌ACSL1的表达代偿性增加,这提示ACSL1在糖尿病心肌能量代谢中起重要的调节作用^[12]。然而,ACSL1在饮食诱导的肥胖患者中,对代谢及心脏的影响如何,目前并无明确的研究报告。上

述模型不能准确模拟 ACSL1 功能减退的肥胖相关糖尿病患者的真实表现, 因此本研究利用 Triacsin C 联合高脂饮食来建立一个新的高血糖肥胖小鼠模型, 通过观察脂肪组织和心功能的变化, 探讨 ACSL1 对代谢及心功能的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

SPF 级雄性 C57BL/6J 小鼠 20 只, 6 周龄, 平均体重为 (22.09 ± 1.42) g, 购自上海斯莱克实验动物有限公司 [SCXK (沪) 2017-005], 质量合格证编号为 20170005005249。小鼠于复旦大学附属中山医院 [SYXK (沪) 2016-0006] 的 SPF 级屏障设施内饲养并进行实验, 每笼 5 只, 行 12 h 明暗交替以模拟日夜转换。所有实验操作均经复旦大学附属中山医院实验动物管理委员会审核通过 (审批号 2019-030)。

1.1.2 主要试剂和仪器

Triacsin C (T4540-1MG) 购自美国 Sigma-Aldrich 公司; 柠檬酸-柠檬酸钠缓冲液 (XY51467-100 mL) 购自上海信裕生物科技有限公司; 异氟烷 (100 mL/瓶) 购自深圳市瑞沃德生命科技有限公司; 小动物超声仪器 (Visual_Sonics Vevo®770™) 购自加拿大 Visual_Sonics 公司; 血糖测试仪器 (HEA-232) 购自日本欧姆龙公司; 高脂饲料 (脂肪提供 60% 热量) 购自美国 Research Diet 公司; 葡萄糖粉剂 (SYPTT-25kg) 购自上海晶矿生物科技有限公司。10 g 葡萄糖溶于 50 mL 去离子水, 配成 20% 葡萄糖溶液。抗 ACSL1 一抗抗体 (9189S; Rabbit/IgG; Polyclonal) 购自美国 Cell Signaling Technology 公司; 抗 GAPDH 一抗抗体 (abs124037; Rabbit/IgG; Polyclonal) 购自上海爱必信生物科技有限公司; 山羊抗兔 IgG (LF102) 二抗抗体自购自上海雅酶生物医药科技有限公司; 山羊抗鼠 CD31 一抗抗体 (AF3628) 购自美国 R&D Systems 公司, 兔抗鼠解偶联蛋白 1 (uncoupling protein 1, UCP1) 一抗抗体 (ab23841) 购自美国 Abcam 公司。荧光标记抗鼠 IgG 二抗抗体 (Anti-Mouse CD45 eFluor®450, 48-0451-82) 购自美国 Invitrogen 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 动物分组

实验前, 20 只雄性 C57BL/6J 小鼠在设施内适应性饲养 2 周, 后续随机将其分为 2 组, 每组 10 只。Con 组即对照组, 腹腔注射柠檬酸-柠檬酸钠缓冲液; TC 组

即实验组, 将 5 mg Triacsin C 溶于 100 mL 柠檬酸-柠檬酸钠缓冲液中, 以 5 mg/kg 体重腹腔注射 Triacsin C。连续注射 4 周后, 两组小鼠均给予高脂饲料喂养。研究人员自实验开始每 8 周测一次小鼠体重及鼠尾血糖, 若小鼠空腹血糖 >8 mmol/L 或餐后 2 h 血糖值 >15 mmol/L, 视为造模成功。

1.2.2 分组后小动物体重及糖耐量实验

所有 C57BL/6J 小鼠在进行称重及血糖测试前, 禁食 12 h, 之后用电子秤称量小鼠体重。根据小鼠体重腹腔注射 20% 葡萄糖水 (葡萄糖剂量为 2 g/kg 体重)。分别于葡萄糖注射后 0 min、30 min、60 min、90 min 和 120 min 使用血糖仪采集鼠尾部血并测量葡萄糖含量。

1.2.3 小动物心脏超声测试

分组后喂养 16 周, 对小鼠实施异氟烷吸入麻醉, 随后使用小动物超声系统 30-MHz 高频扫描探头采集实时心血管超声图像。二维超声指导下的胸骨旁左心室短轴 M 型超声心动图按标准测量: 左心室舒张末期内径 (left ventricular end-diastolic diameter, LVEDD), 左心室收缩末期内径 (left ventricular end-systolic diameter, LVESD), 舒张末期室间隔厚度 (end-diastolic inter ventricular septal thickness, EDIVS), 左心室射血分数 (left ventricular ejection fraction, LVEF), 左心室短轴缩短分数 (left ventricular short-axis fractional shortening, FS)。用标准心尖四腔观双平面 Simpson's 法获得左心室容量, 利用多普勒技术获得二尖瓣血流频谱, 测量左心室舒张早期峰值速度 (E 峰) 和左心房收缩期峰值速度 (A 峰), 据此计算 E 峰与 A 峰的比值。连续测量 5 个心动周期, 取平均值。以 LVEDD、LVESD、EDIVS、LVEF、FS 来评价心脏的收缩功能, 以 E/A 比值评价心脏的舒张功能。

1.2.4 脂肪组织切片及 HE 染色、免疫荧光染色

各组小鼠经过异氟烷吸入麻醉后, 通过眼球取血处死, 分别采集附睾白色脂肪组织 (white adipose tissue, WAT) 及背部棕色脂肪组织 (brown adipose tissue, BAT)。组织样本用 4% 多聚甲醛溶液固定 30 h, 进行脱水、包埋后, 连续冷冻切片, 进行 HE 染色和免疫荧光染色。用 Image J 软件进行图像分析, HE 染色后测量脂肪组织面积; 免疫荧光染色分析棕色脂肪组织血管内皮标志蛋白 CD31 和棕色脂肪组织标志蛋白 UCP1 的表达。

1.2.5 蛋白质印迹法检测

造模成功后, 各组分别取小鼠的心肌组织 0.05 g,

匀浆裂解后提取总蛋白, 用BCA法测蛋白浓度, 然后进行凝胶电泳, 电泳时间为115 min, 电泳结束后以350 mA恒流电进行转膜(120 min), 再用5%牛血清白蛋白室温封闭30 min, 加入抗ACSL1一抗(1:1 000稀释)于4℃孵育过夜。细胞总蛋白以GAPDH为内参, 于室温孵育抗兔二抗(1:5 000稀释)2 h, 缓冲液洗涤后用增强化学发光试剂曝光使胶片显影。

1.2.6 统计学方法

采用Graph Pad Prism 8.0软件进行统计分析。数据用均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示, 两组间差异比较采用 t 检验。 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Triacsin C联合高脂饮食可成功获得高血糖肥胖小鼠模型

小鼠经腹腔注射Triacsin C后, 分别给予高脂饮食喂养, 在0周、8周、16周时, 测量小鼠体重及葡萄糖耐量。结果如图1所示: 高脂喂养8周、16周的TC组小鼠体重明显低于对照组($P<0.05$); 高脂喂养8周时,

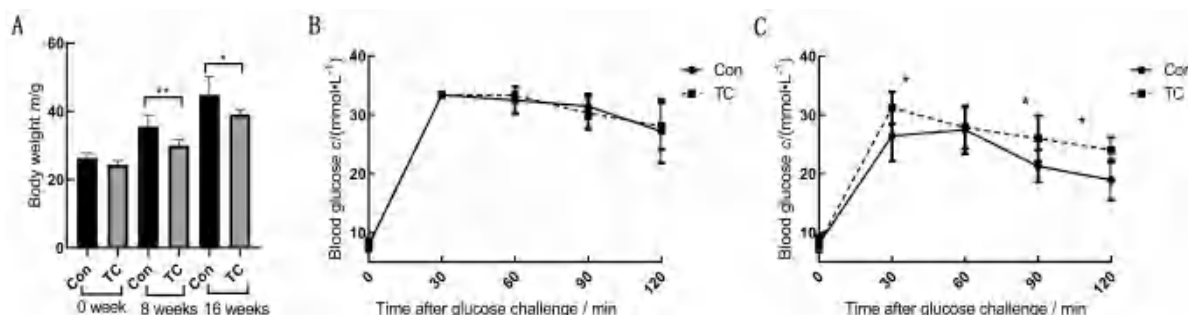
2组小鼠糖代谢无差异; 高脂喂养16周时, 2组小鼠的空腹血糖浓度差异不明显[分别为(8.14 ± 1.43) mmol/L和(8.18 ± 0.85) mmol/L, $P>0.05$], 而TC组小鼠的餐后2 h血糖浓度明显高于对照组[分别为(22.60 ± 3.97) mmol/L和(19.8 ± 4.01) mmol/L, $P<0.05$]。

另外, 2组小鼠比作者既往研究中常规饮食8周后小鼠体重[既往实验正常饮食, 脂肪提供25%热量, 小鼠体重为(28.34 ± 2.27) g; 而本研究中Con组小鼠体重为(45.82 ± 6.01) g, TC组小鼠体重为(39.60 ± 2.56) g]增加均超过20%($P<0.05$), 符合肥胖小鼠判断标准。

以上结果提示, 本研究中2组糖尿病小鼠模型均造模成功, 且TC组糖代谢紊乱更严重。

2.2 高血糖肥胖小鼠心肌ACSL1表达水平降低

小鼠经腹腔注射Triacsin C并接受高脂饮食16周后检测小鼠心肌组织中ACSL1表达的变化。蛋白质印迹法检测结果显示, 与Con组相比, TC组小鼠心肌组织中ACSL1蛋白表达水平明显减少($P<0.05$), 如图2所示。



注: Con为对照组; TC为实验组即Triacsin C腹腔注射组。A, Con组和TC组在高脂饮食0、8、16周时的体重变化($n=6$); B~C, 分别为高脂饮食8周(B)、16周(C)时Con组和TC组的葡萄糖耐量变化($n=6$)。与对照组相比, * $P<0.05$, ** $P<0.01$ 。

Note: Con is the control group; TC is the experimental group, i.e., the Triacsin C intraperitoneal injection group. A, Changes in body weight of the Con and TC groups at 0, 8, and 16 weeks of high-fat diet ($n=6$); B-C, Changes in the glucose tolerance of the Con and TC groups at 8 weeks (B) and 16 weeks (C) of high-fat diet, respectively ($n=6$). Compared to the control group, * $P<0.05$, ** $P<0.01$.

图1 高脂饮食喂养下小鼠体重及葡萄糖耐量变化

Figure 1 Changes in mouse weight and glucose tolerance after high-fat diet

2.3 高血糖肥胖小鼠模型的心功能减退

当高脂饮食16周后, 实时心血管超声结果显示, TC组小鼠左心室舒张末期径(LVEDD)、左心室射血分数(LVEF)以及左心室短轴收缩率(FS)均较Con组明显下降($P<0.05$), 如表1所示。

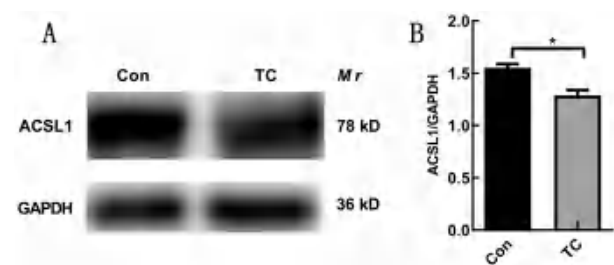
2.4 高血糖肥胖小鼠心功能减退模型中脂肪组织变化

在高脂饮食喂养16周后, HE染色结果显示, TC组附睾WAT及背部BAT面积变大($P<0.05$), 如图3所

示。提示ACSL1抑制可以促进白色脂肪蓄积, 棕色脂肪白色化, 从而加剧葡萄糖代谢紊乱。

2.5 高血糖肥胖小鼠心功能减退模型中CD31及UCP1表达水平降低

将HE染色显示面积变化的2组小鼠背部BAT进行免疫荧光染色分析, 结果发现, 应用Triacsin C构建的高血糖肥胖小鼠心功能减退模型中, 棕色脂肪组织血管内皮标志蛋白CD31和棕色脂肪组织标志蛋白UCP1表达量均较对照组显著减少($P<0.05$, 图4)。



注：Con 为对照组；TC 为实验组即 Triacsin C 腹腔注射组。A，心肌组织 ACSL1 蛋白质印迹图像；B，心肌组织 ACSL1 蛋白质印迹定量分析（ $n=6$ ）。与对照组相比， $^*P<0.05$ 。

Note: Con is the control group; TC is the experimental group, i.e. the Triacsin C intraperitoneal injection group. A, Western blotting image of ACSL1 in cardiac tissue; B, Quantitative analysis of ACSL1 in cardiac tissue ($n=6$). Compared to the control group, $^*P<0.05$.

图2 不同组小鼠心肌组织中 ACSL1 表达的变化
Figure 2 Changes in ACSL1 expression in cardiac tissues of the different group of mice

3 讨论

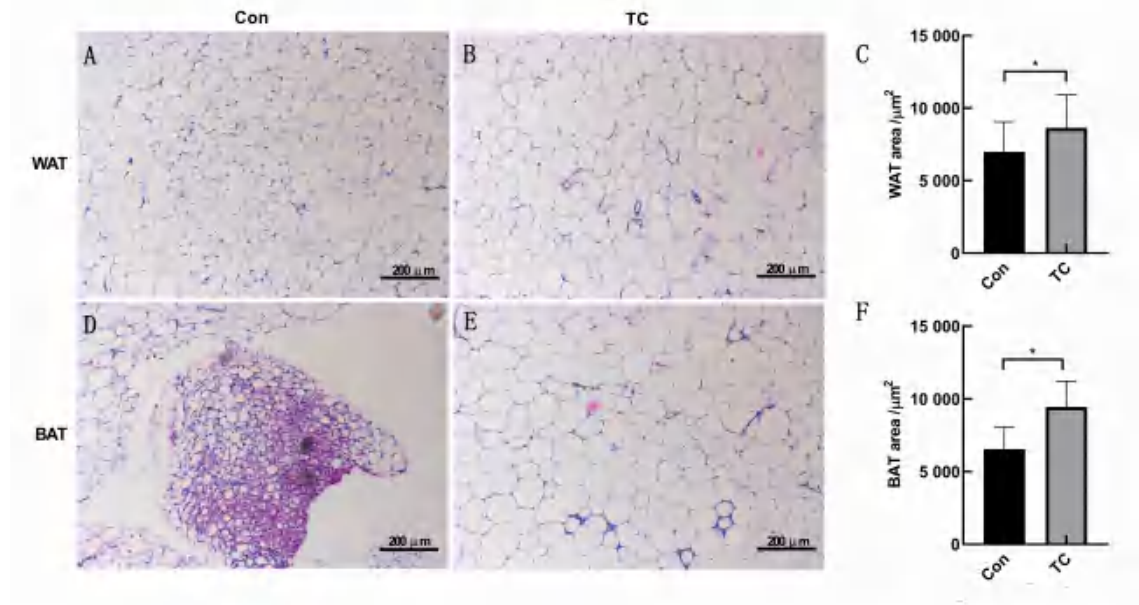
本研究利用 Triacsin C 联合高脂饮食建立高血糖肥胖小鼠心功能减退模型，与传统 STZ 腹腔注射制造胰

表1 各组小鼠心超检测结果
Table 1 Indexes of cardiac function in each group of mice measured by echocardiography

($\bar{x}\pm s$, $n=6$)		
参数	对照组	实验组
Parameters	Con group	TC group
LVEDD/mm	3.59±0.12	3.06±0.36*
LVESD/mm	2.25±0.26	2.47±0.71
EDIVS/mm	0.93±0.15	1.02±0.14
LVEF/%	70.87±8.71	54.79±10.27*
FS/%	42.71±2.89	34.26±5.96*
E/A	1.32±0.20	1.62±0.36

注：LVEDD 为左心室舒张末期内径，LVESD 为左心室收缩末期内径，EDIVS 为舒张末期室间隔厚度，LVEF 为左心室射血分数，FS 为左心室短轴缩短分数，E/A 为左心室舒张早期峰值速度 E 与左心房收缩期峰值速度 A 的比值。与 Con 组相比， $^*P<0.05$ 。

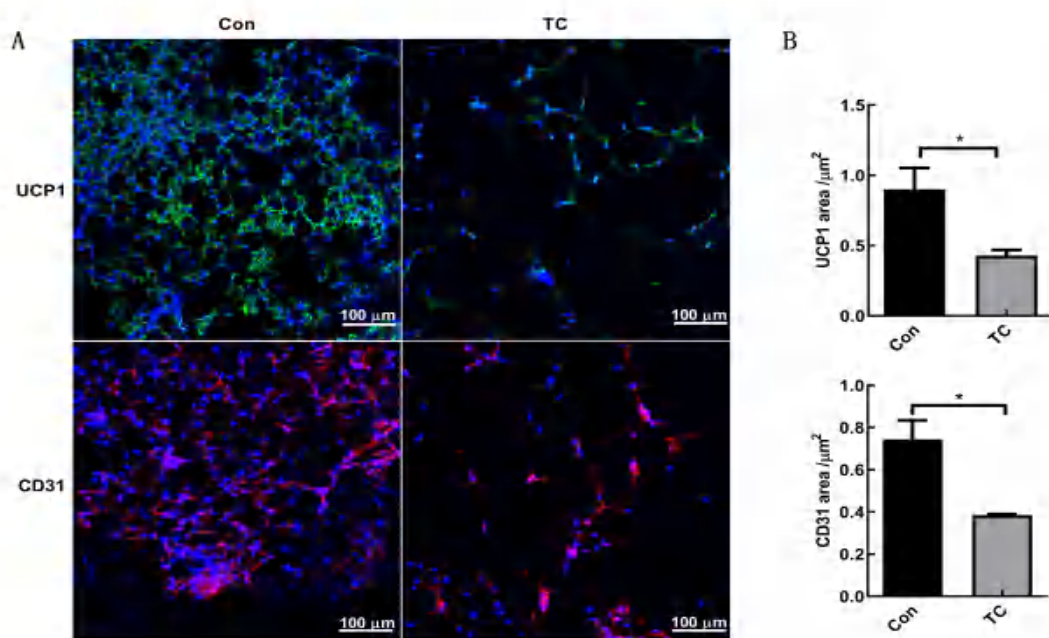
Note: LVEDD, left ventricular end-diastolic diameter; LVESD, left ventricular end-systolic diameter; EDIVS, end-diastolic interventricular septal thickness; LVEF, left ventricular ejection fraction; FS, left ventricular short-axis fractional shortening; E/A, ratio of left ventricular early diastolic peak velocity E to left atrial peak systolic velocity A. Compared with the control group, $^*P<0.05$.



注：Con 为对照组；TC 为实验组即 Triacsin C 腹腔注射组。A ~ B，高脂饮食 16 周后，小鼠附睾白色脂肪组织（WAT）HE 染色（ $n=6$ ， $\times 100$ ）；C，高脂饮食 16 周后，小鼠生殖腺周围白色脂肪组织（WAT）面积；D ~ E，小鼠背部棕色脂肪组织（BAT）HE 染色（ $n=6$ ， $\times 100$ ）；F，高脂饮食 16 周后，小鼠背部棕色脂肪组织（BAT）面积。比例尺为 200 μm 。与 Con 组相比， $^*P<0.05$ 。

Note: Con is the control group; TC is the experimental group, i.e. the Triacsin C intraperitoneal injection group. A-B, HE staining of epididymal white adipose tissue (WAT) after 16 weeks of high-fat diet ($n=6$, $\times 100$); C, Area of epididymal WAT of mice after 16 weeks of high-fat diet; D-E, HE staining of BAT after 16 weeks of high-fat diet ($n=6$, $\times 100$); F, Area of BAT after 16 weeks of high-fat diet. Scale bar is 200 μm . Compared to the control group, $^*P<0.05$.

图3 高脂饮食 16 周后各组小鼠脂肪组织病理变化
Figure 3 Pathological changes in adipose tissues in each group of mice after 16 weeks of high-fat diet



注: Con 为对照组; TC 为实验组即 Triacsin C 腹腔注射组。A, 棕色脂肪组织标志蛋白 UCP1 (绿色, $n=6$, $\times 200$), 血管内皮细胞标志蛋白 CD31 (红色, $n=6$, $\times 200$), 细胞核为蓝色, 比例尺为 100 μm; B, CD31 和 UCP1 区域面积比较分析。与 Con 组相比, $^*P<0.05$ 。

Note: Con is the control group; TC is the experimental group, i.e., the Triacsin C intraperitoneal injection group. A, Staining of brown adipose tissue marker UCP1 (green, $n=6$, $\times 200$), and vascular endothelial cell marker CD31 (red, $n=6$, $\times 200$), with the cell nucleus stained blue (Scale bar is 100 μm); B, Analysis of CD31 and UCP1 marked area. Compared with the control group, $^*P<0.05$.

图4 各组小鼠棕色脂肪组织中CD31、UCP1的表达

Figure 4 Expression of CD31 and UCP1 in brown adipose tissues of different groups of mice

岛细胞破坏的1型糖尿病小鼠模型相比,该模型可以较好地模拟临床代谢相关2型糖尿病心功能减退患者情况,探究小鼠模型中脂肪组织的变化,以期代谢性相关心血管疾病的机制研究提供新方向。

ACSL1是调节脂肪代谢的重要分子,在肥胖相关糖尿病小鼠(如ob/ob小鼠)机体中,其表达量增加以调节脂肪酸代谢及脂肪分布^[13]。Wang等^[14]研究提示,ACSL1被敲除后,线粒体 β 氧化受到抑制,使机体能量代谢底物供应减少。本研究中,TC组开始给药后,与对照组相比,小鼠体重增加无统计学意义,提示Triacsin C的注射对体重无明显影响;开始高脂喂养后,TC组小鼠的体重低于对照组,这提示Triacsin C可抑制高脂饮食的氧化供能。由于心肌是高能代谢组织,ACSL1表达减少后,心肌能量代谢底物的供应也减少,结合心超和蛋白质印记结果,本研究通过Triacsin C联合高脂饮食来建立新型心功能减退小鼠模型是切实可行的,并且TC组小鼠心功能减退可能和Triacsin C抑制ACSL1的表达有关。

脂肪组织是机体重要的能量贮存组织之一,脂质的过量摄入,常通过WAT,如皮下脂肪组织、附睾脂

肪组织的白色脂肪细胞进行脂质蓄积。当脂肪异常蓄积时,可加剧胰岛素抵抗,从而促进脂肪酸代谢紊乱及糖尿病的发生^[15]。与WAT不同,BAT主要分布于小鼠肩胛间区,是一种含有大量血红蛋白和血红素卟啉且细胞呈棕色的一种脂肪组织。这种脂肪组织含有丰富的线粒体和血管,线粒体膜上的UCP1能够促进经脂肪酸氧化产生的能量得到充分的利用,故BAT可以促进产热供能,减轻体重,改善胰岛素敏感性。除此之外,BAT可通过内分泌或旁分泌作用,释放一些蛋白和因子如外泌体生物活性酶iNOS、沉默复合体蛋白AGO1等,调节心脏的收缩和舒张功能^[16-18]。既往有研究提示,在糖脂代谢失调的人群中,脂肪组织重构如BAT白色化,可能是由于血管新生变少,BAT微循环障碍,进而影响BAT的能量代谢及氧化应激,从而加剧胰岛素抵抗造成的^[19-22]。CD31是常见的血管内皮细胞标记蛋白,UCP1是BAT标记蛋白^[23-24]。肥胖可导致BAT减少及功能异常,可表现为UCP1表达的下调、脂滴聚集及线粒体的功能障碍,即BAT白色化^[25]。本研究通过HE染色和定量分析发现,TC组小鼠在高脂饮食16周后,其生殖腺周围WAT的面积较

Con 组明显增大,提示TC组脂肪蓄积加重。免疫荧光染色定性分析发现,TC组BAT中CD31和UCP1的表达较Con组明显减少,提示TC组BAT发生白色化改变。因此,Triacsin C联合高脂饮食建立的高血糖肥胖小鼠模型糖代谢紊乱加重,可能与背部BAT血管减少有关,从而导致BAT白色化,这进一步提示ACSL1对糖代谢有重要的调节作用。

综上所述,Triacsin C联合高脂饮食建立一种新型高血糖肥胖小鼠心功能减退模型是切实可行的。本研究探究了该新型模型脂肪组织和心功能变化,这些变化可能和Triacsin C抑制心肌ACSL1表达以及棕色脂肪组织血管减少产生的白色化有关。本实验为代谢性心血管疾病机制的研究提供新的造模思路及研究方向。需要说明的是,本研究仅设立Triacsin C的单剂量实验组,缺少未饲喂高脂饮食的正常饮食小鼠空白对照组的各组数据,在后续的研究中将增加Triacsin C的不同剂量组及细胞实验,以进一步探究Triacsin C协同高脂饮食促进BAT白色化的分子机制。

[医学伦理声明 Medical Ethics Statement]

本研究涉及的所有动物实验均已通过复旦大学附属中山医院实验动物伦理委员会审批(审批号:2019-030)。所有实验过程均遵照中国实验动物相关法律法规条例要求进行。

All animal experiments involved in this study were reviewed and approved by the Institutional Animal Care and Use Committee of Zhongshan Hospital Affiliated to Fudan University (Approval Number: 2019-030), and all experimental procedures were conducted in accordance with the relevant laws and regulations concerning experimental animals in China.

[作者贡献 Author Contribution]

赵小娜负责实验设计、实验实施、数据整理和分析、文章撰写;
王鹏负责技术支持、数据分析;
叶茂青负责实验指导、文章修改;
曲新凯负责实验指导、经费获取。

[利益说明 Declaration of Interest]

所有作者均声明本文不存在利益冲突。

[参考文献 References]

- [1] TOMKINS M, LAWLESS S, MARTIN-GRACE J, et al. Diagnosis and management of central diabetes insipidus in adults[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2022, 107(10):2701-2715. DOI: 10.1210/clinem/dgac381.
- [2] ATILA C, LOUGHREY P B, GARRAHY A, et al. Central diabetes insipidus from a patient's perspective: management, psychological co-morbidities, and renaming of the condition: results from an international web-based survey[J]. Lancet Diabetes Endocrinol, 2022, 10(10):700-709. DOI: 10.1016/S2213-8587(22)00219-4.
- [3] REUREAN-PINTILEI D, POTCOVARU C G, SALMEN T, et al. Assessment of cardiovascular risk categories and achievement of therapeutic targets in European patients with type 2 diabetes[J]. J Clin Med, 2024, 13(8):2196. DOI: 10.3390/jcm13082196.
- [4] AL-AWAR A, KUPAI K, VESZELKA M, et al. Experimental diabetes mellitus in different animal models[J]. J Diabetes Res, 2016, 2016:9051426. DOI: 10.1155/2016/9051426.
- [5] 杜小燕, 李长龙, 王冬平, 等. 长爪沙鼠自发性糖尿病模型近交系培育及其生物学特性的研究进展[J]. 中国实验动物学报, 2018, 26(4):507-511. DOI: 10.3969/j.issn.1005-4847.2018.04.016.
DU X Y, LI C L, WANG D P, et al. Research progress in the establishment of a spontaneous diabetic inbred gerbil and its biological characteristics[J]. Acta Lab Animalis Sci Sin, 2018, 26(4):507-511. DOI: 10.3969/j.issn.1005-4847.2018.04.016.
- [6] 唐艺丹, 王鲜忠, 张姣姣. II型糖尿病动物模型构建的研究进展[J]. 中国实验动物学报, 2020, 28(6):870-876. DOI: 10.3969/j.issn.1005-4847.2020.06.020.
TANG Y D, WANG X Z, ZHANG J J. Research progress in the construction of type II diabetes animal models[J]. Acta Lab Animalis Sci Sin, 2020, 28(6):870-876. DOI: 10.3969/j.issn.1005-4847.2020.06.020.
- [7] 崔森, 朱春江, 刘向荣. 糖尿病动物模型构建的研究进展[J]. 中国实验诊断学, 2023, 27(2):227-230. DOI: 10.3969/j.issn.1007-4287.2023.02.026.
CUI M, ZHU C J, LIU X R. Research progress on the construction of animal model of diabetes mellitus[J]. Chin J Lab Diagn, 2023, 27(2):227-230. DOI: 10.3969/j.issn.1007-4287.2023.02.026.
- [8] LUTZ T A. Mammalian models of diabetes mellitus, with a focus on type 2 diabetes mellitus[J]. Nat Rev Endocrinol, 2023, 19(6):350-360. DOI: 10.1038/s41574-023-00818-3.
- [9] MARTÍN-CARRO B, DONATE-CORREA J, FERNÁNDEZ-VILLABRILLE S, et al. Experimental models to study diabetes mellitus and its complications: limitations and new opportunities[J]. Int J Mol Sci, 2023, 24(12):10309. DOI: 10.3390/ijms241210309.
- [10] REN G, BHATNAGAR S, HAHN D J, et al. Long-chain acyl-CoA synthetase-1 mediates the palmitic acid-induced inflammatory response in human aortic endothelial cells[J]. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2020, 319(5):E893-E903. DOI: 10.1152/ajpendo.00117.2020.
- [11] PRIOR A M, ZHANG M, BLAKEMAN N, et al. Inhibition of long chain fatty acyl-CoA synthetase (ACSL) and ischemia reperfusion injury[J]. Bioorg Med Chem Lett, 2014, 24(4):1057-1061. DOI: 10.1016/j.bmcl.2014.01.016.
- [12] 赵小娜, 王聪, 申程, 等. 反式脂肪酸摄取加重糖尿病小鼠脂代谢异常及初步机制研究[J]. 中国分子心脏病学杂志, 2016, 16(2):1659-1663. DOI: 10.16563/j.cnki.1671-6272.2016.10.026.
ZHAO X N, WANG C, SHEN C, et al. Trans fatty acids aggravate lipid metabolism dysfunction in STZ-induced diabetic mice and its possible mechanism[J]. Mol Cardiol China, 2016, 16(2):1659-1663. DOI: 10.16563/j.cnki.1671-6272.2016.10.026.
- [13] MA Y J, ZHA J Y, YANG X K, et al. Long-chain fatty acyl-CoA synthetase 1 promotes prostate cancer progression by

- elevation of lipogenesis and fatty acid beta-oxidation[J]. *Oncogene*, 2021, 40(10): 1806-1820. DOI: 10.1038/s41388-021-01667-y.
- [14] WANG C H, SURBHI, GORAYA S, et al. Fatty acids and inflammatory stimuli induce expression of long-chain acyl-CoA synthetase 1 to promote lipid remodeling in diabetic kidney disease[J]. *J Biol Chem*, 2024, 300(1): 105502. DOI: 10.1016/j.jbc.2023.105502.
- [15] SANTORO A, KAHN B B. Adipocyte regulation of insulin sensitivity and the risk of type 2 diabetes[J]. *N Engl J Med*, 2023, 388(22):2071-2085. DOI: 10.1056/NEJMra2216691.
- [16] KOTZBECK P, GIORDANO A, MONDINI E, et al. Brown adipose tissue whitening leads to brown adipocyte death and adipose tissue inflammation[J]. *J Lipid Res*, 2018, 59(5): 784-794. DOI: 10.1194/jlr.M079665.
- [17] LIN J R, DING L L, XU L, et al. Brown adipocyte ADRB3 mediates cardioprotection via suppressing exosomal iNOS [J]. *Circ Res*, 2022, 131(2): 133-147. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.121.320470.
- [18] TANG X F, MIAO Y F, LUO Y J, et al. Suppression of endothelial AGO1 promotes adipose tissue browning and improves metabolic dysfunction[J]. *Circulation*, 2020, 142(4): 365-379. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.119.041231.
- [19] WANG H D, SHEN L, SUN X T, et al. Adipose group 1 innate lymphoid cells promote adipose tissue fibrosis and diabetes in obesity[J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 3254. DOI: 10.1038/s41467-019-11270-1.
- [20] ADACHI Y, UEDA K, NOMURA S, et al. Beiging of perivascular adipose tissue regulates its inflammation and vascular remodeling[J]. *Nat Commun*, 2022, 13(1): 5117. DOI: 10.1038/s41467-022-32658-6.
- [21] YIN T T, CHEN S, ZENG G H, et al. Angiogenesis-browning interplay mediated by asprosin-knockout contributes to weight loss in mice with obesity[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(24): 16166. DOI: 10.3390/ijms232416166.
- [22] CHOUGHANI E T, KAZAK L, JEDRYCHOWSKI M P, et al. Mitochondrial ROS regulate thermogenic energy expenditure and sulfenylation of UCP1[J]. *Nature*, 2016, 532(7597):112-116. DOI: 10.1038/nature17399.
- [23] YANG Y, BEIGNEUX A P, SONG W X, et al. Hypertriglyceridemia in ApoA5-/- mice results from reduced amounts of lipoprotein lipase in the capillary lumen[J]. *J Clin Invest*, 2023, 133(23): e172600. DOI: 10.1172/JCI172600.
- [24] CHENG L, ZHANG S F, SHANG F, et al. Emodin improves glucose and lipid metabolism disorders in obese mice via activating brown adipose tissue and inducing browning of white adipose tissue[J]. *Front Endocrinol*, 2021, 12: 618037. DOI: 10.3389/fendo.2021.618037.
- [25] TANAKA Y, NAGOSHI T, TAKAHASHI H, et al. URAT1-selective inhibition ameliorates insulin resistance by attenuating diet-induced hepatic steatosis and brown adipose tissue whitening in mice[J]. *Mol Metab*, 2022, 55: 101411. DOI: 10.1016/j.molmet.2021.101411.
- (收稿日期:2024-05-31 修回日期:2024-10-21)
(本文编辑:翟玉凤,富群华,张萍,丁宇菁)

[引用本文]

赵小娜,王鹏,叶茂青,等.应用 Triacsin C 构建新型高血糖肥胖小鼠心功能减退模型[J]. *实验动物与比较医学*, 2024, 44(6): 605-612. DOI: 10.12300/j.issn.1674-5817.2024.078.

ZHAO X N, WANG P, YE M Q, et al. Establishment of a new hyperglycemic obesity cardiac dysfunction mouse model with triacsin C[J]. *Lab Anim Comp Med*, 2024, 44(6): 605-612. DOI: 10.12300/j.issn.1674-5817.2024.078.

《实验动物与比较医学》2025 年征订启事

《实验动物与比较医学》(CN 31-1954/Q, ISSN 1674-5817) 由上海科学院主管,上海市实验动物学会和上海实验动物研究中心联合主办,是我国实验动物科学及比较医学领域创刊最早的一本专业学术期刊。本刊目前是中国科技论文统计源期刊(即中国科技核心期刊),并被瑞典 DOAJ、美国 Chemical Abstracts 和 Ulrichsweb、英国 CAB Abstracts 和 Global Health、波兰 ICI World of Journals 和 ICI Master List、WHO 西太平洋地区医学索引(WPRIM)和美国 EBSCO 数据库,以及中国核心期刊数据库、中国科技期刊数据库、中国生物医学文献数据库、中国期刊全文数据库、中国学术期刊综合评价数据库、中国期刊网和万方医学网等收录,并入选中国医师协会发布的中国医药卫生“核心期刊”目录,以及中国科协组织的 2022—2024 年度“科技期刊双语传播工程”。

本刊兼顾理论与实践、普及与提高,刊登实验动物科学和比较医学领域的研究及应用新成果、新进展、新信息。期刊内容主要涉及人类疾病动物模型、实验动物资源开发与利用、实验动物管理、实验动物福利与伦理、动物实验技术与方法、实验动物医学、比较医学方法研究,以及以实验动物为基础的生物医药各领域基础与应用研究。设置栏目或文章类型包括专家论坛、研究论著、综述、经验交流、实践与探索、技术与平台、政策与法规、标准与指南、人物、简报、动态与书讯等。读者对象为生物学、医学、药学、动物学和农学等各领域从事实验动物生产、繁育、检测和管理,以及应用实验动物进行比较医学研究的广大科技工作者、教育工作者和医学工作者。欢迎订阅!

本刊为双月刊,大 16 开,铜版纸,彩色印刷;全年出版 6 期,每期定价 30 元/本,全年定价 180 元/套。读者可在各地邮局订阅,邮发代号为 4-789;也可以联系本刊编辑部购买,联系电话:021-50793657。E-mail:bjb50793657@163.com。编辑部地址:上海市浦东新区金科路 3577 号(邮编 201203)。期刊官网地址: <http://www.slarc.org.cn/dwyx>。

《实验动物与比较医学》编辑部