

鸢尾素对高脂膳食小鼠血脂水平的影响

邓鑫磊¹, 吴凌云¹, 李婧嘉¹, 郭雨辰¹, 林涛¹, 侯世娇¹, 彭健², 王庆¹

(1. 中山大学公共卫生学院, 广东 广州 510080;

2. 南华大学护理学院, 湖南 衡阳 421001)

【摘要】 目的 通过饲喂高脂饲料建立高血脂小鼠模型,并给予血清鸢尾素(Irisin)处理,探索Irisin对小鼠血脂水平的影响,为Irisin的临床应用提供依据。**方法** 24只8周龄雄性昆明小鼠,采用完全随机设计,根据随机数表法分为三组,每组8只:普通膳食对照组[普通饲料+磷酸盐缓冲液(PBS)]、高脂膳食模型组(高脂饲料+PBS)和Irisin干预组(高脂饲料+0.125 ng/kg Irisin,用等量PBS溶解)。饲养2周,记录体质量,同时Irisin干预组每周给予2次尾静脉注射Irisin处理,最后一次处理后隔夜取血,用甘油三酯(TG)试剂盒、总胆固醇(T-CHO)试剂盒和高密度脂蛋白(HDL-C)试剂盒检测小鼠的血脂变化水平。**结果** 实验结束后,高脂膳食模型组中小鼠体质量达(42.28±1.27) g、血清TG含量为(0.86±0.21) mmol/L、T-CHO含量为(6.79±0.86) mmol/L、HDL-C含量为(6.18±0.85) mmol/L,分别与普通膳食对照组的(40.65±1.26) g、(0.69±0.10) mmol/L、(3.25±0.54) mmol/L和(8.49±1.69) mmol/L比较差异均有统计学意义($P<0.05$);Irisin干预组小鼠的体质量为(40.54±1.34) g,而血清中TG和HDL-C含量分别为(0.59±0.10) mmol/L和(8.03±1.54) mmol/L,与高脂膳食模型组相比差异均有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 血清Irisin对小鼠血脂代谢水平有显著改善。

【关键词】 鸢尾素;血脂代谢;高血脂;小鼠模型**【中图分类号】** R-332 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1003—6350(2018)10—1337—04

Effects of irisin on serum lipid level in mice fed a high-fat diet. DENG Xin-lei¹, WU Ling-yun¹, LI Jing-jia¹, GUO Yu-chen¹, LIN Tao¹, HOU Shi-jiao¹, PENG Jian², WANG Qing¹. 1. School of Public Health, Sun Yat-Sen University, Guangzhou 510080, Guangdong, CHINA; 2. School of Nursing, University of South China, Hengyang 421001, Hunan, CHINA

【Abstract】 Objective To provide the basis for clinical application of irisin through investigating the effects of irisin on lipid metabolism of mice by establishing hyperlipidemia models induced by high-fat diet and disposed of serum

基金项目:广东省大学生科技创新培育专项资金(编号:pjdh2016b0012);中山大学实验室开放基金项目(编号:201610260128);

通讯作者:王庆。E-mail: wangq27@mail.sysu.edu.cn

参考文献

- [1] Mao GX, Deng HB, Yuan LG, et al. Protective role of salidroside against aging in a mouse model induced by D-galactose [J]. Biomed Environ Sci, 2010, 23(2): 161-166.
- [2] 马莉, 蔡东联, 黎怀星, 等. 红景天苷对疲劳小鼠氧化损伤的保护作用[J]. 中西医结合学报, 2009, 7(3): 237-241.
- [3] Wu T, Zhou H, Jin Z, et al. Cardioprotection of salidroside from ischemia/reperfusion injury by increasing N-acetylglucosamine linkage to cellular proteins [J]. Eur J Pharmacol, 2009, 613(1-3): 93-99.
- [4] Guan S, Feng H, Song B, et al. Salidroside attenuates LPS-induced pro-inflammatory cytokine responses and improves survival in murine endotoxemia [J]. Int Immunopharmacol, 2011, 11(12): 2194-2199.
- [5] Hu X, Lin, SYu D, et al. A preliminary study: the anti-proliferation effect of salidroside on different human cancer cell lines [J]. Cell Biol Toxicol, 2010, 26(6): 499-507.
- [6] Hu X, Zhang X, Qiu S, et al. Salidroside induces cell-cycle arrest and apoptosis in human breast cancer cells [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2010, 398(1): 62-67.
- [7] Zhang Y, Yao Y, Wang H, et al. Effects of salidroside on glioma formation and growth inhibition together with improvement of tumor microenvironment [J]. Chin J Cancer Res, 2013, 25(5): 520-526.
- [8] 金雪莲. 红景天苷在不同缺氧状况下抗缺氧作用的实验研究[J]. 卫生职业教育, 2012, 30(3): 121-122.
- [9] 付宝春, 魏爱丽, 翟晓燕, 等. NO、ROS对SO₂诱导的万寿菊保卫细胞凋亡的调控[J]. 环境科学学报, 2015, 35(7): 2289-2296.
- [10] Boveris AD, Galatro A, Puntarulo S. Effect of nitric oxide and plant antioxidants on microsomal content of lipid radicals [J]. Biol Res, 2000, 33(2): 159-165.
- [11] 刘晓丹, 成绍武, 范婧莹, 等. 人参皂苷Rg₁对H₂O₂诱导的HT22细胞凋亡及胞内Ca²⁺变化的影响[J]. 湖南中医药大学学报, 2017, 37(3): 236-239.
- [12] Matsuda T, Arakawa N, Takuma K, et al. SEA0400, a novel and selective inhibitor of the Na⁺-Ca²⁺ exchanger attenuates reperfusion injury in the *vitro* and *in vivo* cerebral ischemic models [J]. J Pharmacol Exp Ther, 2001, 298(1): 249-256.
- [13] Szydlowska K, Fymianski M. Calcimn, ischemia and excitotoxicity [J]. Cell Calcium, 2010, 47(2): 122-129.
- [14] 金伟伟, 白山岭, 肖明中, 等. 牛黄参含药血清调控Bax、Bcl-2表达诱导人肝癌细胞HepG-2凋亡的实验研究[J]. 湖北中医药大学学报, 2017, 19(2): 11-14.
- [15] 方文娟, 余璐尧, 李大鹏, 等. 马红丸含药血清对人肝癌smmc-7721细胞bcl-2和bax mRNA表达的影响[J]. 中成药, 2011, 33(7): 1141-1145.
- [16] Zhang L, Tu Y, He W, et al. A novel mechanism of hepatocellular carcinoma cell apoptosis induced by lupeol via brain-derived neurotrophic factor inhibition and glycogen synthase kinase 3 beta reactivation [J]. Eur J Pharmacol, 2015, 762(21): 55-62.
- [17] Mamaghani S, Simpson CD, Cao PM, et al. Glycogen synthase kinase-3 inhibition sensitizes pancreatic cancer cells to TRAIL-induced apoptosis [J]. PLoS One, 2012, 7(7): e41102.

(收稿日期: 2017-09-08)

irisin. Methods A total of 24 eight-week male Kunming mice were divided into 3 groups according to random number table method as follow: the diet control group (normal diet + phosphate buffer [PBS]), the high fat diet model group (high-fat diet + PBS), the irisin intervention group (high-fat diet + 0.125 ng/kg irisin dissolved by PBS), with 8 mice in each group. During 2 weeks of feeding, the irisin intervention group was performed by the intravenous injection with corresponding dose of irisin through vena caudalis twice a week and the weight was recorded. The blood samples were taken after overnight after the last injection, the changes in lipid metabolism were tested with triglyceride (TG), cholesterol total (T-CHO) and high-density lipoprotein (HDL-C) kits. **Results** There were significant difference between the diet control group (weight: (40.65 ± 1.26) g; TG: (0.69 ± 0.10) mmol/L; T-CHO: (3.25 ± 0.54) mmol/L; HDL-C: (8.49 ± 1.69) mmol/L) and the high-fat diet model group (weight: (42.28 ± 1.27) g; TG (0.86 ± 0.21) mmol/L; T-CHO: (6.79 ± 0.86) mmol/L; HDL-C: (6.18 ± 0.85) mmol/L) in difference indexes ($P < 0.05$). It meant that the hyperlipidemia model was successfully established. There also were significant differences between the high-fat diet model group and the irisin intervention group (weight: (40.54 ± 1.34) g; TG (0.59 ± 0.10) mmol/L; HDL-C: (8.03 ± 1.54) mmol/L) in some indexes ($P < 0.05$).

Conclusion The effects of serum irisin on the level of lipid metabolism improvement in mice are significant.

[Key words] Irisin; Lipid metabolism; Hyperlipidemia; Mice model

随着小康社会的推进,人们生活水平和生活方式也在不断转变。因生活方式的不合理,高脂血症的出现也在不断增加^[1-2],而动脉粥样硬化等慢性病可由高脂血症引起。高脂血症是由于机体代谢或转运失常,导致血清中血脂含量过高的病理状态,表现为总胆固醇(T-CHO)和或甘油三酯(TG)过高,可伴有低密度脂蛋白(LDL-C)升高和高密度脂蛋白(HDL-C)降低。据有关研究显示,高密度脂蛋白作为具有保护作用的脂蛋白,每当HDL-C增长1%,高脂血症的总体发病率就能下降3%^[3]。

鸢尾素(Irisin)是哈佛医学院 Boström 等^[4]发现并报道的一种肌肉因子。通过运动可以诱导骨骼肌细胞表达转录因子——过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 辅激活因子(PGC-1 α),从而升高骨骼肌细胞中Ⅲ型纤连蛋白包含蛋白5(FNDC5)的含量,随后FNDC5基因编码的Ⅰ型膜蛋白经过剪切、修饰和加工后,形成的一种蛋白因子,即鸢尾素^[4]。Irisin为具有高度保守性序列的蛋白质激素,共由111个氨基酸残基组成,不同种属的Irisin氨基酸序列可以相同,去糖基后,其分子量约为20 ku^[4]。作为一种新发现的肌肉蛋白因子Irisin,目前国内外在其对胰岛素抵抗、糖尿病以及冠心病的作用上研究比较多,并已被报道Irisin具有可以调节白脂棕色化等多条调节通路,调节人体体质量、维持葡萄糖稳态等作用^[4-17]。Irisin有希望成为一种治疗动脉粥样硬化、糖尿病等慢病的新思路和新方法,因而近年来被广泛研究。但Irisin在血脂代谢水平上的作用尚未十分明确,尤其在研究Irisin与HDL-C相关性上尚缺乏有关报道^[18]。本实验拟从动物实验入手,探索Irisin对小鼠血脂水平的影响。

1 材料与方法

1.1 试剂与药物 Irisin蛋白(美国 PeproTech 公司,产品编号 ZPT-100-65-100,生产批号 0514593,规格为 100 μ g)。总胆固醇(T-CHO)、甘油三酯(TG)、高密度脂蛋白(HDL-C)检测盒(南京建成生物工程研究所)。

高脂饲料(南通特洛菲饲料科技有限公司定制),其中高脂饲料代码:TP28900,饲料配方:普通混合饲料(88.5%)、猪胆盐(0.5%)、胆固醇(1%)、猪油(10%);普通混合饲料代码:LAD0011,原料组成:小麦粉、玉米蛋白粉、豆粕、植物油、赖氨酸、玉米粉、蛋氨酸啤酒酵母、次粉、盐、矿物质、维生素。磷酸盐缓冲液(PBS,pH 7.2)。

1.2 实验动物 健康雄性8周龄SPF级昆明小鼠24只,由中山大学动物实验中心提供,体质量38~42 g,动物合格证号:SCXK(粤)2016-0029。SPF环境下饲养,温度保持在 $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$,相对湿度控制在55%~65%,每天12 h光照时间,干燥通风。饲养过程中,每天观察小鼠生长情况并记录有无特殊情况,及时补充相应饲料及饮用水。垫料每2~3 d更换1次。

1.3 所用仪器 高速离心机,多功能酶标仪,CO₂恒温培育箱,电子天平。

1.4 研究方法

1.4.1 分组与处理 24只8周龄雄性昆明小鼠,随机分3组,普通膳食对照组(普通饲料+PBS),高脂膳食模型组(高脂饲料+PBS),Irisin干预组(高脂饲料+0.125 ng/kg Irisin),每组8只。实验动物按组别分笼喂养,自由进食进水。普通膳食对照组给予普通饲料并定时注射等量PBS,高脂膳食模型组给予高脂饲料并定时注射等量PBS,Irisin干预组给予高脂饲料并定时注射0.125 ng/kg Irisin(用等量PBS溶解)。每周注射2次,共4次。实验期间,每天定量定时补充相应饲料,记录体质量,密切观察小鼠的进食量及精神状态。末次处理后隔夜禁食,摘眼球取血,处死方法为颈椎脱臼法。

1.4.2 检测方法 记录各组小鼠初始体质量。饲养两周后,记录小鼠终末体质量和用相应试剂盒检测血清中TC、TG、HDL-C水平。用电子天平称取小鼠体质量,按试剂盒说明书检测血脂指标。TC采用单试剂GPO-PAP法试剂盒测定,HDL-C采用双试剂直接法试剂盒测定,TG采用单试剂GPO-PAP法试剂盒测定。

1.5 统计学方法 应用统计软件SPSS20.0进行统计分析,计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用方差分析(ANOVA)进行多组组间比较,组间两两比较采用SNK- q 检验,均以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 Irisin对小鼠体质量的影响 体质量的增加常常伴有高脂血症的发生,因此体质量变化与Irisin对血脂的作用关系密切。在实验过程中,每组小鼠发育正常,饮食和精神状态正常,未出现异常情况,无死亡现象。实验过程中记录每组小鼠的初始体质量和终末体质量。三组小鼠的初始体质量均处于40 g左右,随着实验的进行,三组小鼠的体质量都有增长,但普通膳食对照组与Irisin干预组的体质量增长不显著,而高脂膳食模型组体质量增加明显。三组的初始体质量及终末体质量见表1。从表1中可见给予高脂膳食喂养及Irisin干预后,高脂膳食模型组的小鼠体质量相对于普通膳食对照组及Irisin干预组差异均有统计学意义。而普通膳食对照组和Irisin干预组之间的体质量差异无统计学意义($P > 0.05$),说明Irisin干预能有效的改善高脂膳食诱导的小鼠体质量增加。

表1 Irisin对高脂血症小鼠体质量的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	只数	初始体质量(g)	终末体质量(g)
普通膳食对照组	8	39.98±1.16	40.65±1.26 ^b
高脂膳食模型组	8	40.19±1.48	42.28±1.27 ^a
Irisin干预组	8	40.01±1.69	40.54±1.34 ^b
F值		0.049	4.578
P值		0.952	0.022

注:与普通膳食对照组比较,^a $P < 0.05$;高脂膳食与模型组比较,^b $P < 0.05$ 。

2.2 小鼠高脂模型的建立 实验结束时,普通膳食对照组与高脂膳食模型组进行TG、HDL-C和T-CHO水平的对比,结果见表2。小鼠饲料喂养14 d后,高脂膳食模型组TG、T-CHO和HDL-C水平的变化与普通膳食对照组比较差异有统计学意义,说明构建小鼠高脂模型符合实验要求,并提示使用该种高脂饲料喂养,可以使小鼠血清中的TG和T-CHO水平升高,HDL-C水平降低。

表2 饲喂普通饲料和高脂饲料小鼠的血脂变化($\bar{x} \pm s$, mmol/L)

组别	只数	TG	HDL-C	T-CHO
普通膳食对照组	8	0.69±0.10	8.49±1.69	3.25±0.54
高脂膳食模型组	8	0.86±0.21 ^a	6.18±0.85 ^a	6.79±0.86 ^a
Irisin干预组	8	0.59±0.10 ^b	8.03±1.54	6.51±1.23 ^a
F值		5.560	5.379	35.180
P值		0.015	0.014	<0.001

注:与普通膳食对照组比较,^a $P < 0.05$;与高脂膳食模型组比较,^b $P < 0.05$ 。

2.3 Irisin对小鼠血脂代谢水平的影响 在高脂膳食饲养两周并同时注射Irisin干预后,各组血脂代谢水平变化见图1。其中,高脂膳食模型组和Irisin干预

组TG比较差异有统计学意义($P < 0.05$),且高脂膳食模型组高于Irisin干预组,提示Irisin可能会影响TG的代谢。高脂膳食模型组与普通膳食对照组的T-CHO水平比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。但高脂膳食模型组与Irisin干预组T-CHO水平比较差异无统计学意义($P > 0.05$),可能是由于建模时间较短,差异尚不明显。高脂膳食模型组与Irisin干预组HDL-C比较差异有统计学意义($P < 0.05$),与普通膳食对照组比较差异亦有统计学意义($P < 0.05$),但普通膳食对照组和Irisin干预组之间的差异无统计学意义($P > 0.05$),提示Irisin可以通过增加HDL-C的含量从而调节血脂。这说明注射Irisin后,Irisin可调节高脂膳食饲养小鼠的血清TG和HDL-C至正常膳食饲养的小鼠水平,但在改善血清T-CHO水平方面,效果不明显。

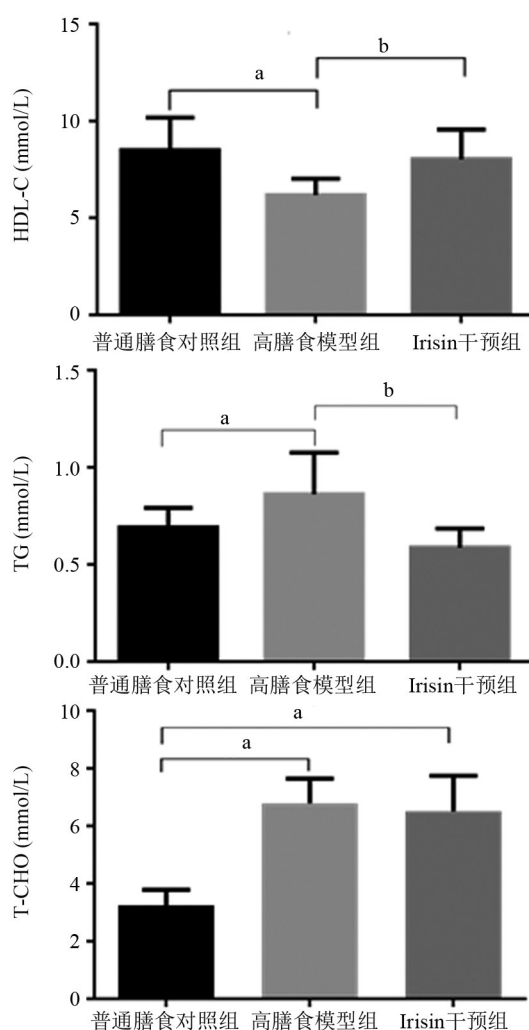


图1 各组血脂代谢水平变化

注:与普通膳食对照组比较,^a $P < 0.05$;与高脂膳食模型组比较,^b $P < 0.05$ 。

3 讨论

Irisin是近年来被发现的一类能促进脂肪类型转化的新激素,在治疗肥胖方面可能具有较好的应用前景。以往有文献报道表明人体内存在“Irisin正反馈”,即血中的Irisin促进脂肪组织FND5 mRNA转录翻译

再加工合成 Irisin, 而脂肪组织中的 Irisin 又促进骨骼肌产生 Irisin 释放入血, 体内多处存在的 Irisin 可协同推进白色脂肪棕色化^[5], 将导致肥胖的白色脂肪组织转变为减轻体质量的棕色脂肪组织, 将可储存能量转变为消耗能量, 从而减轻体质量, 提高代谢率、改善糖耐量异常以及胰岛素抵抗^[4]。

另有研究显示, 高脂血症患者服用辛伐他汀治疗 2 周后血清 Irisin 明显升高, 且升高程度与服用剂量呈正相关关系。此外, 血清 Irisin 水平的升高会导致低密度脂蛋白受体(LDLR)和尼曼匹克 C1 样 1 蛋白(NPC1L1)的表达降低, NPC1L1 是肠道和肝脏吸收 TG 的关键蛋白, LDLR 则是介导血清 LDL 进入细胞的主要受体^[19], 这也提示高水平血清 Irisin 能降低高脂血症小鼠血中 TG 和 LDL 的含量, 从而降低高脂血症的风险。

近期, 有报道采用巢式病例对照研究发现血清 Irisin 水平与冠心病患者冠脉病变严重程度呈负相关^[12-13], 而 Liu 等^[17]在研究中发现健康人 Irisin 水平与 DBP、BMI、TC、TG、LDL 等指标呈正相关关系, 这均提示了血清 Irisin 水平可能与多种心血管疾病的发生发展相关。现已经有研究通过临床统计分析以及细胞培养等方法证实, 肥胖者以及 2 型糖尿病患者的血清 Irisin 水平较正常人显著降低^[8-10]。除此之外, 朱迪等人也通过细胞实验证明 Irisin 可以通过抑制氧化应激来减轻高糖或高脂导致的人脐静脉内皮细胞损伤, 提示抑制氧化应激可能是 Irisin 控制高脂血症的一个机制^[6]。

本实验通过设计动物实验研究证实, 增加小鼠血清 Irisin 水平能显著调节其血清中的 TG 和 HDL-C 含量, 降低后两者对高脂血症发生发展的威胁, 同时能使小鼠体质量减轻。虽未能明显调节高脂血症小鼠模型组血清 T-CHO 含量(可能原因是由于实验诱导时间短, 高脂血症小鼠模型组的 T-CHO 未能在短时间内得到改善, 需要进一步研究), 但已有的结果说明 Irisin 对预防高脂血症有较为明显的效果, 为 Irisin 在血脂方面的相关研究提供了基础和动物实验参考。未来, 还需更多研究来探讨和分析 Irisin 与其他心血管疾病的预防、诊断、治疗和预后的相关性。

参考文献

[1] 刘小燕, 林炳柱. 高龄体检血脂检验分析研究[J]. 中外医疗, 2014, 33(10): 30-31.

- [2] 胡海杰, 黄蕊, 郭晨虹, 等. 利拉鲁肽对高脂小鼠血脂的影响[J]. 药物评价研究, 2016, 39(1): 66-70.
- [3] Gillespie CD, Keenan NL, Miner JB, et al. Screening for lipid disorders among adults—National Health and Nutrition Examination Survey, United States, 2005-2008 [J]. MMWR Suppl, 2012, 61(2): 26-31.
- [4] Boström P, Wu J, Jedrychowski MP, et al. A PGC1- α -dependent myokine that drives brown-fat-like development of white fat and thermogenesis [J]. Nature, 2012, 481(7382): 463-468.
- [5] Moreno-Navarrete JM, Ortega F, Serrano M, et al. Irisin is expressed and produced by human muscle and adipose tissue in association with obesity and insulin resistance [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2013, 98(4): E769-E778.
- [6] 朱迪, 张小天, 刘毅, 等. 鸢尾素通过抑制氧化应激减轻高糖/高脂诱导的人脐静脉内皮细胞损伤[J]. 心脏杂志, 2015, 27(5): 506-509.
- [7] Park KH, Zaichenko L, Brinkoetter M, et al. Circulating irisin in relation to insulin resistance and the metabolic syndrome [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2013, 98(12): 4899-4907.
- [8] 魏兰. 血清 Irisin 水平与肥胖和 2 型糖尿病的相关性研究[D]. 苏州: 苏州大学, 2015.
- [9] 杨梅丽. 血清 Irisin 水平与肥胖和 2 型糖尿病关系的临床研究[D]. 苏州: 苏州大学, 2015.
- [10] 田文霞. 2 型糖尿病患者血清 irisin 水平及其与胰岛素抵抗相关性研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2015.
- [11] Kuloglu T, Aydin S, Eren MN, et al. Irisin: a potentially candidate marker for myocardial infarction [J]. Peptides, 2014, 55: 85-91.
- [12] Aronis KN, Moreno M, Polyzos SA, et al. Circulating irisin levels and coronary heart disease: association with future acute coronary syndrome and major adverse cardiovascular events [J]. Int J Obes (Lond), 2015, 39(1): 156-161.
- [13] 王蕊, 巨敏, 张君毅, 等. 血清 Irisin 水平与冠状动脉病变严重程度相关性[J]. 心脏杂志, 2016, 28(1): 43-45.
- [14] 黄卫东, 刘毅, 辛超, 等. Irisin 对 2 型糖尿病小鼠血糖的影响及机制[J]. 心脏杂志, 2014, 26(4): 408-410.
- [15] 宋盼, 柯丽娜. Irisin 与糖脂代谢性疾病的研究进展[J]. 国际妇产科学杂志, 2016, 43(4): 463-466.
- [16] Shanaki M, Moradi N, Emamgholipour S, et al. Lower circulating irisin is associated with nonalcoholic fatty liver disease and type 2 diabetes [J]. Diabetes Metab Syndr, 2017, 11 Suppl 1: S467-S472.
- [17] Liu JJ, Wong MD, Toy WC, et al. Lower circulating irisin is associated with type 2 diabetes mellitus [J]. J Diabetes Complications, 2013, 27(4): 365-369.
- [18] 郭延云, 潘天荣. 肌肉因子 Irisin 研究进展[J]. 安徽医药, 2014, 18(6): 1013-1016.
- [19] Berthold HK, Rizzo M, Spenrath N, et al. Effects of lipid-lowering drugs on high-density lipoprotein subclasses in healthy men—a randomized trial [J]. PLoS One, 2014, 9(3): e91565.

(收稿日期: 2017-09-25)