

短光照诱导达乌尔黄鼠产热

黄晨西 林琳 李庆芬

(北京师范大学生物多样性与生态工程教育部重点实验室, 北京, 100875)

摘要: 本文通过测定静止代谢率 (RMR)、非颤抖性产热 (NST)、线粒体呼吸酶、脂肪代谢酶活力、褐色脂肪组织 (BAT) 线粒体 GTP 结合能力、下丘脑促甲状腺激素释放激素 (TRH) 和促肾上腺激素释放激素 (CRH) 等指标, 探讨短光照对达乌尔黄鼠产热的诱导和调节。结果表明, 温暖 (22℃) 短光照 (8D:6L) 组, 达乌尔黄鼠的 RMR、NST、肝脏和 BAT 线粒体细胞色素 C 氧化酶活力以及 BAT 线粒体 GTP 结合能力均明显高于温暖长光照 (16D:8L) 组中的动物, 而体重、BAT 重量、肝细胞呼吸、BAT α -磷酸甘油氧化酶活力则没有明显变化。短光照组黄鼠下丘脑 TRH 水平显著高于长光照组, 而血清中三碘甲状腺原氨酸 (T_3) 及甲状腺素 (T_4) 浓度、 T_3/T_4 以及 BAT 中 T_4-5' 脱碘酶的活性没有明显变化。短光照组黄鼠下丘脑 CRH 水平显著高于对照组, 而肾上腺皮质酮含量无明显变化。结果表明短光照能够诱导达乌尔黄鼠产热增加, 主要是通过激活细胞色素 C 氧化酶活性和增加 BAT 中解耦联蛋白浓度; 短光照可能激活下丘脑 TRH 和 CRH, 但它们没有直接诱导产热增加, 推测其增加了黄鼠潜在的产热能力。

关键词: 短光照; 产热; 达乌尔黄鼠

中图分类号: Q958.1

文献标识码: A

文章编号: 1000-1050 (2006) 04-0346-08

Short photoperiod induces the thermogenesis in Daurian ground squirrels

HUANG Chenxi, LIN Lin, LI Qingfen

(Ministry of Education Key Laboratory for Biodiversity Sciences and Ecological Engineering, Beijing Normal University, Beijing, 100875, China)

Abstract: Thermogenesis and thermoregulation induced by short photoperiod were investigated in Daurian ground squirrels (*Spermophilus dauricus*) by measuring resting metabolic rate (RMR), nonshivering thermogenesis (NST), activity of cytochrome C oxidase (CCO) of liver and brown adipose tissues (BAT), BAT mitochondrial GTP-binding capacity, and hypothalamic thyrotropin-releasing hormone (TRH) and corticotrophin-releasing hormone (CRH) levels in squirrels. The results showed that the RMR, NST, CCO activity, and BAT mitochondrial GTP-binding capacity were markedly increased by exposure to short photoperiod (8D:16L, SP) and constant ambient temperature ($22 \pm 2^\circ\text{C}$) relative to those for long photoperiod (16D:8L, $22 \pm 2^\circ\text{C}$, LP), while body weight and BAT mass, hepatic mitochondrial respiration, and BAT α -glycerophosphate oxidase activity were not significantly changed. The short photoperiod induced higher hypothalamic TRH and CRH levels than did the LP. However, the serum concentration of triiodothyronine (T_3), thyroxine (T_4), the ratio of T_3 and T_4 , the activity of T_4-5' deiodinase in BAT, and the adrenal corticosterone level showed no significant change. The results suggest that the short photoperiod may induce an increased thermogenesis in Daurian ground squirrel's through activating CCO and enhancing uncoupling-protein levels in BAT, and simultaneously activating hypothalamic TRH and CRH that do not directly induce an increased thermogenesis but may be a potential factor.

Key words: Daurian ground squirrel (*Spermophilus dauricus*); Short photoperiod; Thermogenesis

冬眠哺乳动物的体重、体温、代谢率、激素水平等与产热有关的指标均表现出明显的季节性变化, 适应性产热的褐色脂肪组织 (Brown adipose tissue, BAT) 的季节性变化尤其明显 (Milner *et al.*, 1989; Turner *et al.*, 1989)。在一年四季的气

候变化中, 光周期因其稳定性和可预测性而成为环境中的计时器, 影响着动物的行为、换毛、繁殖以及代谢 (Bartness *et al.*, 2002; Barrett *et al.*, 2005; Bowers *et al.*, 2005), 还影响着小哺乳动物的基础代谢产热和非颤抖性产热 (Nonshivering

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (39970124)

作者简介: 黄晨西 (1962-), 女, 高级实验师, 主要从事动物生理生态学研究。

收稿日期: 2005-12-07; 修回日期: 2006-04-04

thermogenesis, NST) (Himms-Hagen, 1990; Haim *et al.*, 1999; 王政昆等, 1999; Zhao and Wang, 2005)。但动物对短光照诱导产热的敏感性具有种属差异性, 如短光照不影响鼯科动物 (*Clethrionomys glareolus*, *Clethrionomys rutilus*) (Feist and Feist, 1986; Heldmaier *et al.*, 1989) 产热, 但调节大多数田鼠科动物如橙腹田鼠 *Microtus ochrogaster* (Wunder 1985)、更 卢鼠 *Dip domy ordi* (G ttinge and R lph, 198)、黑线毛 鼠 *Phod pus sungorus* (Wiesinger *et al.*, 1989)、非洲刺毛鼠 *Acomys cahirinus* (Haim and Zisapel, 1999)、高原鼠兔 *Ochotona curzoniae* (王德华等, 1999)、长爪沙鼠 *Meriones unguiculatus* (Li and Wang, 2005) 等的产热。短光照诱导动物产热有季节差异性 (Heldmaier *et al.*, 1981), 如秋季短光照可调节布氏田鼠 (*Lasiopodomys brandtii*) 适应性产热增加 (李庆芬等, 1995), 但在春季此作用不明显 (候建军等, 1995)。短光照诱导的产热还有地理分布的差异性, 例如生活在不同地理区域的同一个物种——宽齿姬鼠 (*Apodemus mystacinus*) 的两个种群, 对短光照表现出不同的体温和 NST 日节律 (Spiegel and Haim, 2004)。

当实验大鼠、小鼠和长爪沙鼠冷暴露时, 其下丘脑-垂体-甲状腺轴 (hypothalamic-pituitary-thyroid, HPT) 被激活, 下丘脑促甲状腺激素释放激素 (Thyrotropin-releasing hormone, TRH) 分泌和合成增加、血浆促甲状腺激素 (thyroid-stimulating hormone) 浓度升高、血浆中和 BAT 细胞内 T_3 水平升高, 促使细胞产热增加, 表明 HPT 轴参与机体产热调节 (Arancibia *et al.*, 1996; Joseph-Bravo *et al.*, 1998; 杨明等, 2002)。急性冷暴露也激活大鼠下丘脑-垂体-肾上腺轴 (hypothalamic-pituitary-adrenal, HPA), 但慢性冷暴露后 HPA 轴激素水平可能恢复正常 (Bhatnagar *et al.*, 1995)。HPA 轴激素对动物产热调节是复杂的, 皮质酮抑制 BAT 的 GTP 结合, 抑制 BAT 中的产热蛋白—解耦联蛋白 (Uncoupling protein, UCP) 的基因表达, 但 BAT 增生又必须依赖一定量的皮质酮 (Strack *et al.*, 1995)。短光照诱导适应性产热中, 这两个轴系是否也参与调节? 目前尚未见报道。

达乌尔黄鼠 (*Spermophilus dauricus*) 是我国北方分布较广泛的一种典型的冬眠哺乳动物, 在夏季的冷驯化中, 动物的代谢产热明显增加, BAT 中 UCP 基因表达明显上调 (Liu *et al.*, 2001; 刘小团

等, 2001; 张淑珍等, 1997); 在自然环境的四季变化中, 其产热量也随之改变 (张淑珍等, 1996)。但单独的光周期因子能否影响达乌尔黄鼠的基础代谢产热和 BAT 的 NST, 还不清楚。本文旨在探讨短光照是否能诱导达乌尔黄鼠增加产热, 以及 HPT 轴和 HPA 轴能否参与此调节。

1 材料和方法

1.1 实验动物

达乌尔黄鼠捕自吉林伊通地区, 带回北京后, 置于塑料笼中单只饲养于自然光照和室温为 $22 \pm 2^\circ\text{C}$ 的饲养房中, 喂以标准鼠饲料、新鲜白菜, 水自取。饲养 3 周后, 于 9 月进行驯化实验。

动物分 3 组进行光周期驯化实验: 短光照 4 周组 (8L: 16D, 10: 00 ~ 18: 00 给光, 室温 $22 \pm 2^\circ\text{C}$); 短光照 3 d 组 (条件同短光 4 周组); 长光照 4 周组 (16L: 8D, 6: 00 ~ 22: 00 给光, 恒温 $22 \pm 2^\circ\text{C}$)。设 3 d 组是为了检测急性短光照能否激活下丘脑-肾上腺轴。

驯化实验结束前两天, 测定各组动物静止代谢率 (Rest metabolic rate, RMR) 和 NST。驯化结束后, 断颈处死动物, 采集血液、迅速取出动物的下丘脑、肩胛间的 BAT、肝脏、肾上腺等, 迅速放入液氮中, 然后转到 -70°C 冰箱中保存。

1.2 RMR 和 NST 测定

在水浴 $25^\circ\text{C} \pm 0.5^\circ\text{C}$ 中, 采用封闭式流体液压呼吸器测定 RMR (王政昆等, 1999)。RMR 测定结束后, 取出动物, 于动物背部皮下注射去甲肾上腺素 0.7 mg/kg (通过预实验确定的剂量), 再测定 0.5 h 内最大耗氧量作为 NST。

1.3 $T_4 - 5'$ 脱碘酶活性测定

BAT 组织液的制备和酶活力测定参照杨明等 (2003 a) 使用的方法。

1.4 BAT 线粒体 GTP 结合测定

先用差速离心法 (Liu *et al.*, 1997) 制备 BAT 的线粒体。在含有 20 mM Mops (pH 6.7)、0.61 mM EDTA、20 mM Na_2SO_4 , 反应体积为 150 μl 的反应系统中加入约 0.3 ~ 0.5 mg 线粒体蛋白后立即摇匀, 保温 1 min 后, 采用双标记离心沉淀法, 测定 GTP 结合 (Liu *et al.*, 2001)。

1.5 血清 T_3 、 T_4 含量测定

使用中国原子能研究所生产的 T_3 、 T_4 放射免疫药盒测定。所有样品一批测定, 批内误差小于 5%。

1.6 肾上腺皮质酮浓度测定

肾上腺加入 2 ml 10% 的高氯酸匀浆，离心，取 1 ml 上清液加入 5 ml 二氯甲烷，再离心，沉淀经 NaOH 溶液洗涤，除去碱层，加入硫酸-乙醇反抽提 (V/V = 75/25)，Fluornax-2 型荧光光谱仪检测。激发光波长为 470 nm，接收光波长为 560 nm。用标准皮质酮配置标准曲线，计算样品皮质酮含量 (杨明等, 2003a)。

1.7 下丘脑 TRH 和促肾上腺皮质激素释放激素 (Corticotropin-releasing hormone, CRH) 含量测定

取 -70℃ 保存的下丘脑，加入 1 ml 0.1 M 冷 HCl 超声破碎，离心，将上清分为两个 0.4 ml 的等份，-80℃ 冷冻真空干燥。测定时，用磷酸缓冲液溶解，TRH 用北京北方生物技术研究所 TRH 放射免疫测定药盒；CRH 样品，用第二军医大学标记的大鼠抗原，放射免疫法测定。预实验中，TRH 和 CRH 待测样品对半稀释的剂量反应曲线，显示出与标准曲线有很好的平行关系 (Du and You, 1992)。

1.8 细胞线粒体呼吸与细胞色素 C 氧化酶活性测定

取新鲜肝和 BAT 组织，差速离心法获得线粒体。用铂氧电极-溶氧仪 (中国科学院上海植物生理研究所制) 测定线粒体呼吸。反应杯温度为 30℃，总体积为 2 ml，以琥珀酸为底物，加入 0.5 μM ADP。用铂氧电极-溶氧仪测定线粒体细胞色素 C 氧化酶活性 (Sudin *et al.*, 1987)，α-磷酸甘油氧化酶活性测定按照 Steffen 和 Roberts (1977) 的方法。

为了计算线粒体呼吸和下丘脑 TRH 与 CRF 含量，测定线粒体蛋白及下丘脑蛋白，按 Lowry 等的 Folin-phenol 法定量，以牛血清白蛋白为标准。

1.9 数据分析

采用 SPSS10.0 统计软件包统计处理数据。短光照对达乌尔黄鼠体重和对 BAT 重量的影响以及对 RMR 和 NST 的影响用 *T*-检验方法，其它用 One-way ANOVA 及最小显著差数法 (LSD) 进行参数的各实验组间多重比较。文章中数据以均值 ± 标准误差 ($\bar{X} \pm SE$) 表示， $P < 0.05$ 差异显著。为了消除体重差异的影响，与体重有关的指标采用 $W^{0.73}$ 进行校正 (Hart, 1971)。

2 结果

2.1 短光照对达乌尔黄鼠整体水平代谢产热的影响

2.1.1 短光照对达乌尔黄鼠体重和 BAT 重量的影响

短光照 4 周组与长光照 4 周组动物的体重在驯化前相近，驯化 4 周后，两组动物体重均有变化，但组间差异不显著 ($F = 3.72$, $df = 12$, $P = 0.163$)。短光照 4 周组与长光照 4 周组黄鼠的 BAT 重量差异不显著 ($F = 0.91$, $df = 12$, $P = 0.248$) (表 1)。

表 1 短光照对达乌尔黄鼠体重和 BAT 重量的影响

Table 1 The effect of short photoperiod on weight of body and BAT in ground squirrels

	长光 4 周组 (LP-4 weeks)	短光 4 周组 (SP-4 weeks)
实验前体重 Initial body weight (g)	201 ± 12.7 (8)	206 ± 12.7 (8)
实验后体重 Final body weight (g)	192 ± 10.2 (7)	221 ± 16.7 (7)
BAT 重量	1.73 ± 0.22 (7)	2.13 ± 0.24 (7)
BAT/体重 (%) BAT /Body weight (%)	0.88 ± 0.079 (7)	0.95 ± 0.050 (7)

LP: 长光照; SP: 短光照; 括号里数字为样本数量。下表同。

LP: Long photoperiod; SP: Short photoperiod; The sample sizes are shown in parentheses. The following tables are the same.

2.1.2 短光照对达乌尔黄鼠 RMR 和 NST 的影响

短光照 4 周组动物的 RMR 显著大于长光照组动物 ($F = 7.111$, $df = 10$, $P = 0.049$)，两组动物的 NST 差异非常显著 ($F = 7.848$, $df = 10$, $P = 0.04$)，非颤抖性产热能力 (NST-RMR) 也有明显差异 ($F = 6.59$, $df = 10$, $P = 0.033$) (图 1)。

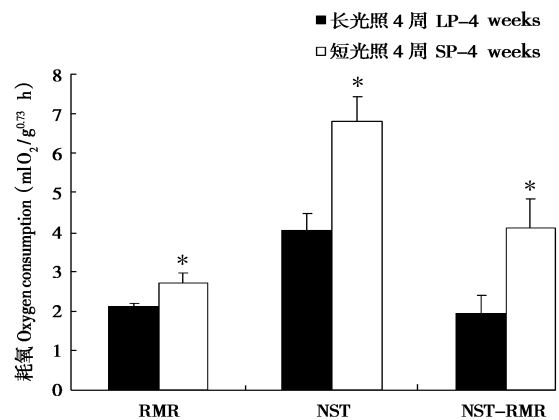


图 1 短光照对达乌尔黄鼠 RMR 和 NST 的影响

* 和长光照 4 周组相比较 $P < 0.05$

Fig. 1 The effects of short photoperiod on RMR and NST in ground squirrels

* $P < 0.05$ compared with LP 4 weeks

2.2 短光照对达乌尔黄鼠细胞水平能量代谢的影响

2.2.1 短光照对达乌尔黄鼠肝脏细胞水平能量代

谢的影响

短光照组，肝脏细胞色素 C 氧化酶活性显著大于长光照组 ($F = 7.389$, $df = 17$, $P = 0.006$)，其中短光照 4 周组黄鼠其酶活性比短光照 3 d 组的

高出 34.7%，差异显著 ($P = 0.009$) (表 2)。而肝细胞线粒体呼吸在短光照组和长光照组中，没有显著差异 ($F = 3.251$, $df = 17$, $P = 0.069$) (表 2)

表 2 短光照对达乌尔黄鼠肝细胞线粒体呼吸和细胞色素 C 氧化酶活力 (ng O/min·mg protein) 的影响
Table 2 The effects of short photoperiod on the respiration of mitochondria and the activity of the cytochrome C oxidase (ng O/min·mg protein) in liver in ground squirrel

	长光 4 周组 LP-4 weeks	短光 3 d 组 SP-3 days	短光 4 周组 SP-4 weeks
细胞色素 C 氧化酶活力 Activity of the cytochrome C oxidase	121 ± 25.17 (6)	135 ± 4.64 (6)	208 ± 15.05* (6)
状态 4 呼吸 The state-4 respiration	32.0 ± 3.52 (6)	37.0 ± 3.04 (6)	37.1 ± 1.79 (6)
状态 3 呼吸 The state-3 respiration	89.2 ± 6.67 (6)	94.3 ± 7.79 (6)	113 ± 6.29 (6)

* 与短光照 3 d 组比较 $P < 0.05$; * $P < 0.05$ compared with SP-3 d

2.2.2 短光照对达乌尔黄鼠 BAT 酶活力的影响

短光照组达乌尔黄鼠 BAT 细胞色素 C 氧化酶活力均显著高于长光照组 ($F = 7.843$, $df = 17$, $P = 0.005$)，两个短光照组间酶活性没有明显变化 (P

$= 0.802$) (表 3)；而短光照组黄鼠 BAT 线粒体 α -磷酸甘油氧化酶活力和 T_4 -5' 脱碘酶活力与长光照组相比没有显著性差异 ($F = 0.501$, $df = 17$, $P = 0.616$; $F = 1.627$, $df = 17$, $P = 0.229$) (表 3)。

表 3 短光照对达乌尔黄鼠 BAT 细胞色素 C 氧化酶、 α -磷酸甘油氧化酶及 T_4 -5' 脱碘酶活力的影响

Table 3 The effect of short photoperiod on the activity of cytochrome C oxidase (CCO), α -glycerophosphate oxidase (α -PGO) and T_4 -5'-deiodinase in BAT in ground squirrel

	长光 4 周组 LP-4 weeks	短光 3 d 组 SP-3 days	短光 4 周组 SP-4 weeks
细胞色素 C 氧化酶活力 CCO (ng O/min·mg protein)	165 ± 23.10 (6)	358 ± 39.07* (6)	344 ± 48.68* (6)
α -磷酸甘油氧化酶活力 α -PGO (ng O/min·mg protein)	119 ± 15.42 (6)	140 ± 28.37 (6)	148 ± 17.28 (6)
T_4 -5' 脱碘酶活力 T_4 -5'-deiodinase (fmol T_3 /mg protein/hr)	28.9 ± 2.11 (6)	36.5 ± 4.21 (6)	36.4 ± 3.58 (6)

* 与长光照 4 周组比较 $P < 0.05$; * $P < 0.05$ compared with LP-4 weeks.

2.2.3 短光照对达乌尔黄鼠 BAT 线粒体 GTP 结合能力的影响

通过 Schatchard 分析可以得到达乌尔黄鼠线粒体与 GTP 结合的表现解离常数 (KD) 以及单位线粒体蛋白最大的 GTP 结合量 (Bmax)。结果表明，

KD 在不同光周期驯化的达乌尔黄鼠中没有显著变化 ($F = 2.562$, $df = 16$, $P = 0.113$)。Bmax 在短光照 3 d 组中显著上升 ($F = 8.15$, $df = 16$, $P = 0.004$)，但是短光 4 周组和长光组之间没有明显变化 ($P = 0.094$) (表 4)。

表 4 达乌尔黄鼠 BAT 中线粒体 GTP 结合能力

Table 4 GTP-binding to BAT mitochondria in ground squirrel

	长光 4 周组 LP-4 weeks	短光 3 d 组 SP-3 days	短光 4 周组 SP-4 weeks
最大结合常数 Bmax (nmol/mg Protein)	0.54 ± 0.114 (6)	1.07 ± 0.0802* (6)	0.79 ± 0.079 (5)
解离常数 KD (μ M)	1.11 ± 0.106 (6)	1.40 ± 0.139 (6)	1.63 ± 0.244 (5)

* 与长光照 4 周组比较 $P < 0.05$; * $P < 0.05$ compared with LP-4 weeks

2.3 短光照对达乌尔黄鼠下丘脑-垂体-甲状腺轴的影响

短光照组的达乌尔黄鼠下丘脑 TRH 含量显著地高于长光照组 ($F = 10.48$, $df = 17$, $P = 0.001$)，但短光照两组间差异不显著 ($P = 0.405$) (表 5)。

短光照组黄鼠血清中 T_3 、 T_4 浓度以及 T_3/T_4 与长光照组比较，没有显著差异 ($F = 0.39$, $df = 17$, $P = 0.962$; $F = 0.657$, $df = 17$, $P = 0.533$; $F = 0.218$, $df = 17$, $P = 0.807$) (表 5)。

2.4 短光照对达乌尔黄鼠下丘脑-垂体-肾上腺

轴的影响

短光照的两组黄鼠下丘脑 CRH 含量均明显高于长光照组 ($F=8.578$, $df=17$, $P=0.024$, 短光照 3 d, $P=0.014$, 短光照 4 周, $P=0.015$), 而短

光照下的两组黄鼠之间其含量没有明显差异 ($P=0.969$) (表 5)。短光照组达乌尔黄鼠肾上腺皮质酮的含量和长光照组相比没有明显差异 ($F=1.354$, $df=17$, $P=0.707$) (表 5)。

表 5 短光照对达乌尔黄鼠下丘脑甲状腺轴和肾上腺轴激素的影响

Table 5 The effect of short photoperiod on hormonal levels in hypothalamus-thyroid-axis and adrenal-axis in ground squirrel

	长光 4 周组 LP-4 weeks	短光 3 d 组 SP-3 days	短光 4 周组 SP-4 weeks
下丘脑 TRH (ng/mg protein) Concentration of TRH in hypothalamus	2.27 ± 0.171 (6)	2.55 ± 0.320 (6)	3.68 ± 0.168* (6)
血清 T ₃ (ng/ml) Concentration of serum T ₃	2.19 ± 0.140 (6)	2.26 ± 0.179 (6)	2.23 ± 0.232 (6)
血清 T ₄ (ng/ml) Concentration of serum T ₄	41.5 ± 2.75 (6)	42.5 ± 3.93 (6)	46.2 ± 2.22 (6)
血清 T ₃ /T ₄ (%) Serum T ₃ /T ₄	4.95 ± 0.684 (6)	5.14 ± 0.707 (6)	5.67 ± 0.966 (6)
下丘脑 CRH (ng/mg protein) Concentration of CRF in hypothalamus	2.36 ± 0.383 (6)	3.52 ± 0.668* (6)	3.49 ± 0.495* (6)
肾上腺皮质酮含量 (ng/mg tissue) Concentration of corticosterone in adrenal gland	56.4 ± 7.12 (6)	48.6 ± 5.68 (6)	52.4 ± 6.69 (6)

* 与长光照 4 周组比较 $P < 0.05$; * $P < 0.05$ compared with Lp-4 weeks.

3 讨论

3.1 短光照对产热的影响

光周期在诱导小哺乳动物的适应性产热中起了重要的作用。本研究中, 达乌尔黄鼠经过一个夏天的育肥后, 体内脂肪累积可能已趋于最大 (张淑珍等, 1996)。因此, 在秋季不同光周期驯化中, 达乌尔黄鼠体重与驯化前相比变化不明显。虽然短光照驯化未能引起达乌尔黄鼠 BAT 重量显著高于长光照组, 不同于兼性冬眠动物黑线毛足鼠 (Hol-tore *et al.*, 1985; Heldmaier and Lynch 1986), 但具有产热活性的 BAT 线粒体与 GTP 结合能力明显提高, 而解离常数 KD 变化不大。在线粒体与 GTP 的亲合力基本一致的前提下, BAT 线粒体中 GTP 结合位点的增加代表 UCP 浓度增加 (Huang and Klingenberg, 1995)。这表明不仅寒冷能够诱导黄鼠 BAT 中 UCP 浓度增加, 导致黄鼠产热能力增加 (Liu *et al.*, 1998), 而短光照同样可激活达乌尔黄鼠 BAT 中 UCP, 增加黄鼠适应性产热能力。

短光照 4 周组达乌尔黄鼠的 RMR、NST、肝脏与 BAT 的细胞色素 C 氧化酶活力均明显高于长光照组, 从个体水平到细胞水平两组间有显著差异。表明秋季短光照能够激活达乌尔黄鼠产热增加, 与低温诱导的非冬眠期达乌尔黄鼠产热变化一致 (张淑珍等, 1997)。同时我们看到, 短光照 3 d 组黄鼠肝脏与 BAT 的细胞色素 C 氧化酶活力也明显升高, BAT 中 UCP 浓度显著增加, 表明达乌尔黄

鼠对秋季短光照很敏感, 在急性短光照下能迅速调整产热能力。

短光照驯化中肝脏与 BAT 中细胞色素 C 氧化酶活力变化趋势不同。3 d 短光暴露刺激黄鼠 BAT 细胞色素 C 氧化酶活性增加很高, 而后基本维持在此水平上; 但肝脏的细胞色素 C 氧化酶活性随短光照日数的延长而缓慢增加, 其活性始终低于 BAT 细胞色素 C 氧化酶活性。由此看出 BAT 是达乌尔黄鼠接受短光照刺激增加产热的主要器官, 在光周期的季节性变化诱导的体温调节中起主要作用, 反应在个体水平上的产热变化也表现出 NST 比 RMR 增长量高。

对非冬眠期达乌尔黄鼠进行低温驯化后, BAT 中 α -磷酸甘油氧化酶活性显著高于常温对照组 (张淑珍等, 1996)。而短光照达乌尔黄鼠 BAT 中 α -磷酸甘油氧化酶活性没有发生明显变化, 表明短光照没有引起黄鼠脂肪代谢水平的变化, 而温度是影响脂肪代谢的主要环境因子。达乌尔黄鼠 α -磷酸甘油氧化酶活性与非冬眠动物布氏田鼠相同, 只在低温下激活, 不断合成新的甘油三脂, 为脂肪细胞氧化提供“燃料” (李庆芬等, 1995)。

达乌尔黄鼠肝脏线粒体状态 3 呼吸及状态 4 呼吸在短光照后比长光照组虽然提高了 5.7% 和 15.6%, 但没有表现出显著差异。在非冬眠期的达乌尔黄鼠低温驯化研究中, 冷诱导下达乌尔黄鼠肝脏线粒体状态 3、4 呼吸显著提高 (张淑珍等, 1997)。表明短光照下达乌尔黄鼠肝脏产热能力的

提高主要依赖于细胞色素 C 氧化酶活性的提高。

总之，短光照诱导 RMR 和 NST 显著增高，主要是通过肝和 BAT 的细胞色素 C 氧化酶活力上升以及 BAT 的 UCP 上调，而脂肪代谢的激活和肝脏产热能力的再提高，则需要进一步的低温刺激。这可能与达乌尔黄鼠生活的寒冷环境和自身冬眠特性有关，为了提高能量利用效率，光周期作为低温来临的信号仅引起其体内能量代谢的部分变化。

3.2 短光照诱导的产热调节

动物体的生长、发育、代谢都离不开甲状腺激素的调节，在哺乳动物的兼性产热中，甲状腺激素也是一个重要的调节因子 (Branco *et al.*, 1999)。因此，HPT 轴在小哺乳动物的冷适应中起了重要的调控作用 (Jansky, 1995; 杨明等, 2002)。达乌尔黄鼠在低温状态下血清 T_3 、 T_4 浓度增加的变化趋势与兼性冬眠动物金色中仓鼠 (*Mesocricetus auratus*) 及非冬眠的长爪沙鼠相似 (Kopecky *et al.*, 1986; Liu *et al.*, 1998), $T_4 - 5'$ 脱碘酶高度激活也与长爪沙鼠极其相似 (Liu *et al.*, 1998)。达乌尔黄鼠冬眠时，其下丘脑 TRH 含量及血清 T_3 、 T_4 浓度显著增高 (黄晨西等, 2003)，与长爪沙鼠冷暴露时下丘脑 - 甲状腺轴的激活相似 (杨明等, 2002)。表明达乌尔黄鼠下丘脑甲状腺轴激素水平和功能存在季节性变化，冬眠时该轴的激活，有利于黄鼠冬眠觉醒中 BAT 的产热 (黄晨西等, 2003)。在光周期驯化中，短光照 4 周的达乌尔黄鼠下丘脑 TRH 含量显著高于长光照组和短光暴露 3 d 组，推测短光照可能诱导下丘脑 TRH 合成增加，或者 TRH 分泌抑制。由于短光照的达乌尔黄鼠血清 T_3 、 T_4 浓度以及 T_3/T_4 与长光照组动物相比，既没有增加、也没有减少，因此短光照的达乌尔黄鼠 TRH 分泌可能维持原有水平，而下丘脑 TRH 含量增加，意味着 TRH 合成增加。这方面研究还未见相关文献报道，根据上述实验结果分析推测，短光照可能激活了达乌尔黄鼠下丘脑合成 TRH，增加了动物潜在的产热能力。只要环境中气温降低，TRH 即可大量释放，通过垂体前叶激活甲状腺，使循环中的 T_3 和 BAT 细胞内局部的 T_3 水平增加，促使细胞产热增加，以利动物适应环境的变化。

HPA 轴是动物应激反应的重要激素轴，当完整的动物受到环境刺激时，此轴系被激活，引起血循环中糖皮质激素水平增加，得以维持机体内平衡。HPA 轴对 BAT 产热的作用是复杂的，其机理

还不十分清楚。实验大鼠中枢室旁核注射 CRH，能够引起 BAT 产热增加，如果切除 BAT 的神经，这种作用则消失 (LeFeuvre *et al.*, 1987)；侧脑室注射 CRH，抑制了冷暴露的长爪沙鼠 HPT 轴激素的分泌，进而抑制 UCP 的基因表达，抑制 BAT 产热，但同时又刺激了交感神经系统，增加了 BAT 产热 (杨明等, 2003b)；另有研究证明，应激诱导的 CRH 释放引起下丘脑同区域去甲肾上腺素的释放 (Song *et al.*, 1995)，即激活了交感神经中枢；摘除肾上腺大鼠的实验表明，皮质酮抑制 BAT 的 GTP 结合，抑制 UCP 的基因表达，但 BAT 的增生又必需有低剂量的皮质酮存在 (Strack *et al.*, 1995)。在短光照中 HPA 轴是否参与诱导黄鼠产热？从我们的实验结果中看出，短光照 3 d 组引起达乌尔黄鼠下丘脑 CRH 含量显著上升，表明急性短光照确实成为应激因子，引起黄鼠产生应激反应。尽管短光照 3 d 组和 4 周组的黄鼠下丘脑 CRH 含量显著上升，但肾上腺皮质酮含量没有增加，推测短光照有可能激活黄鼠下丘脑 CRH 合成，没有激活 CRH 的进一步释放，因此没有激活肾上腺分泌皮质酮，去抑止 BAT 产热。

因此，短光照诱导达乌尔黄鼠代谢产热增加，诱导肝和 BAT 细胞水平产热增加，可能并非是下丘脑 TRH 和 CRH 激活的直接结果，可能还有其他因素参与直接的调节。我们实验室曾观察到，短光照的布氏田鼠血清中交感神经递质——去甲肾上腺素水平增加。下丘脑旁室核是交感神经中枢 (Arancibia *et al.*, 1996)，又是 TRH 神经元和 CRH 神经元的分布区。我们推测，短光照激活达乌尔黄鼠旁室核的 TRH 神经元和 CRH 神经元的同时，可能也激活了交感神经中枢，直接激活了肾上腺受体参与的代谢产热与细胞水平的产热。但这还需要进一步的实验加以证实。

参考文献：

- Arancibia S, Rage F, Astier H, Tapia-Arancibia L. 1996. Neuroendocrine and autonomic mechanisms underlying thermoregulation in cold environment. *Neuroendocrinology*, **64**: 257 - 267.
- Barrett P, Ross A W, Balik A, Littlewood P A, Mercer J G, Moar K M, Sallmen T, Kaslin J, Panula P, Schuhler S, Ebling F J, Ubeaud C, Morgan P J. 2005. Photoperiodic regulation of histamine H3 receptor and VGF messenger ribonucleic acid in the arcuate nucleus of the Siberian hamster. *Endocrinology*, **146** (4): 1930 - 1939.
- Bartness T J, Demas G E, Song C K. 2002. Seasonal changes in Adiposity: the roles of the photoperiod, melatonin and other hormones,

- and sympathetic nervous system. *Experimental Biology and Medicine*, **227**: 363 – 376.
- Bhatnagar S, Mitchell J B, Betito K, Boksa P. 1995. Effects of chronic intermittent cold stress on pituitary adrenocortical and sympathetic adrenomedullary functioning. *Physiol behave*, **57** (4): 633 – 639.
- Bowers R R, Gettys T W, Ruth V P, Harris B S, Bartness T J. 2005. Short photoperiod exposure increases adipocyte sensitivity to noradrenergic stimulation in Siberian hamsters. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, **288**: R1354 – R1360.
- Branco M, Ribeiro M, Negr N, Bianco A C. 1999. 3, 5, 3' -Triiodothyronine actively stimulates UCP in brown fat under minimal sympathetic activity. *Am J Physiol*, **276** (1): E179 – E187.
- Du J Z, You Z B. 1992. A radiomunoassay of corticotropin releasing factor of hypothalamus in *Ochotona curzoniae*. *Acta Theriologica sinica*, **12** (3): 223 – 229.
- Feist D D, Feist C F. 1986. Effects of cold, short day and melatonin on thermogenesis, body weight and reproductive organs in Alaskan red-backed voles. *J Comp Physiol*, **B156**: 741 – 746.
- Gettinger R D, Ralph C L. 1985. Thermoregulatory responses to photoperiod by Kangaroo rats (*Dipodomys ordii*): Influence of night lighting on nonshivering thermogenesis and resting metabolism. *J Exp Zool*, **234**: 335 – 340.
- Hou J J, Huang C X, Li Q F. 1995. The effects of photoperiod on thermogenesis of brandt's voles (*Microus brandti*) during early spring. In: Zhang J ed. Studies on mammal biology in Chian. Beijing: China forestry publishing house, 161 – 168. (in Chinese)
- Huang C X, Li Q F, Lin L. 2003. Thermogenic activity and hormonal regulation of Daurian ground squirrel during hibernation and nonhibernation. *Journal of Beijing Normal University (Natural Science)*, **39** (5): 683 – 687. (in Chinese)
- Haim A, Shabtay A, Azad Z. 1999. The thermoregulatory and metabolic responses to photoperiod manipulations of the Macedonian mouse (*Mus macedonicus*), a post-fire invader. *J Therm Biol*, **24**: 279 – 286.
- Haim A, Zisapel N. 1999. Daily rhythms of nonshivering thermogenesis in common spiny mice *Acomys cahirinus* under short and long photoperiods. *J Therm Biol*, **17**: 347 – 351.
- Hart J S. 1971. Rodents. In: Whittow G C ed. Comparative physiology of thermoregulation, Vol. II Mammals: London: Academic Press, 1 – 149.
- Heldmaier G, Lynch G R. 1986. Pineal involvement in thermoregulation and acclimatization. *Pineal Research Reviews*, **4**: 97 – 130.
- Heldmaier G, Steinlechner S, Rafael J, Vsiansky P. 1981. Photoperiodic control and effects of melatonin on nonshivering thermogenesis and brown adipose tissue. *Science*, **212**: 917 – 919.
- Heldmaier G, Steinlechner S, Ruf T, Wiesinger H, Kingenspor M. 1989. Hotoperiod and thermoregulation in vertebrate: body temperature rhythms and thermogenic acclimation. *J Biol Rhythms*, **4**: 251 – 265.
- Himms-Hagen J. 1990. Brown adipose tissue thermogenesis: role in the thermoregulation, energy regulation and obesity. In: Schonbaum E, Lomax P eds. Thermoregulation physiology and biochemistry. Pergamon Press Inc., 327 – 414.
- Holtore A P, Heldmaier G, Thiele G, Steinlechner S. 1985. Diurnal changes in sensitivity to melatonin in intact and pinealectomized Djungarian hamsters: Effects on thermogenesis, cold tolerance and gonads. *J Pineal Res*, **2**: 393 – 403.
- Huang S G, Klingenberg M. 1995. Nature of the masking of nucleotide-binding sites in brown adipose tissue mitochondria: involvement of endogenous adenosine triphosphate. *Eur J Biochem*, **229**: 718 – 725.
- Jansky L. 1995. Humoral thermogenesis and its role in maintaining energy balance. *Physiol Rev*, **75**: 247 – 259.
- Joseph-Bravo P, Uribe R M, Vargas M A, Perea-Martomer L, Zoeller T, Charli J L. 1998. Multifactorial modulation of TRH metabolism. *Cell Mol Neurobiol*, **18** (2): 231 – 247.
- Kopecky J, Sigurdson L, Park A I R, Himms-Hagen J. 1986. Thyroxine 5'-deiodinase in hamster and rat brown adipose tissue: effect of cold and diet. *Am J Physiol*, **251**: E8 – E13.
- LeFeuvre R A, Rothwell N J, Stock M J. 1987. Activation of brown fat thermogenesis in response to central injection of corticotropin releasing hormone in the rat. *Neuropharmacology*, **26**: 1217 – 1221.
- Li Q F, Huang C X, Liu X T. 1995. Effects of photoperiod and temperature on thermogenesis in brandt's voles (*Microus brandti*). *Acta Zoologica Sinica*, **41** (4): 362 – 369. (in Chinese)
- Li X S, Wang D H. 2005. Seasonal adjustments in body mass and thermogenesis in Mongolian gerbils (*Meriones unguiculatus*): the roles of short photoperiod and cold. *J Comp Physiol B*, **175**: 593 – 600.
- Liu X T, Li Q F, Huang C X, Sun R Y. 2001. Variation of peripheral thyroid hormone level in daurian ground squirrel (*Spermophilus dauricus*) during cold exposure, hibernation and arousal. *Acta Zoologica Sinica*, **47** (5): 502 – 507. (in Chinese)
- Liu X T, Li Q F, Lin Q S, Sun R Y. 2001. Uncoupling protein 1 mRNA, mitochondrial GPT-binding, and T₄ 5'-deiodinase of brown adipose tissue in euthermic Daurian ground squirrel during cold exposure. *Comp Biochem and Physiol Part A*, **128**: 827 – 835.
- Liu X T, Lin Q S, Li Q F, Huang C X, Sun R Y. 1998. Uncoupling Protein mRNA, mitochondrial GTP-binding, and T₄ 5'-deiodinase activity of brown adipose tissue in Daurian ground squirrel during hibernation and arousal. *Comp Biochem Physiol*, **120A**: 745 – 752.
- Liu X T, Li Q F, Huang C X, Sun R Y. 1997. Effects of thyroid status on cold-adaptive thermogenesis in Brandt's vole, *Microtus brandti*. *Physiol Zool*, **70**: 352 – 361.
- Milner R E, Wang L C H, Trayhurn P. 1989. Brown fat thermogenesis during hibernation and arousal in Richardson's ground squirrel. *Am J Physiol*, **256**: R42 – R48.
- Song C, Earley B, Leonard B E. 1995. Behavioral, neurochemical, and immunological responses to CRF administration. Is CRF a mediator of stress? *Annals of the New York Academy of Sciences*, **771**: 55 – 72.
- Spiegel M, Hsim A. 2004. Daily rhythms of nonshivering thermogenesis and responses to photoperiod manipulations in *Apodemus mystaci-*

- nus from two different ecosystems. *J Therm Biol*, **29**: 635 - 640.
- Steffen J M, Roberts J C. 1977. Temperature acclimation in the Mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*): biochemical and organ weight changes. *Comp Biochem Physiol*, **58B**: 237 - 242.
- Strack A M, Bradbury M J, Dallman M F. 1995. Corticosterone decreases nonshivering thermogenesis and increases lipid storage in brown adipose tissue. *Am J Physiol*, **268**: R183 - R191.
- Sudin U, Moore G, Nedergarrd J. 1987. Thermogenin amount and activity in hamster brown fat mitochondria: Effect of cold acclimation. *Am J Physiol*, **252**: 822 - 832.
- Turner J J, Anderson B O, Bintz G L. 1989. Whole body lipids and fatty acids synthase activity in Richardson's ground squirrel, *Spermophilus richardsonii*. *Physiol Zool*, **62**: 1393 - 1397.
- Wiesinger H, Heldmaier G, Buchberger A. 1989. Effect of photoperiod and acclimation temperature on nonshivering thermogenesis and GDP-binding of brown fat mitochondria in the Djungarian hamster *Phodopus s. sungorus*. *Pflügers Archiv European Journal of Physiology*, **413**: 667 - 672.
- Wunder S A. 1985. Energetics and thermoregulation. In: Tamarin R H ed. *Biology of new world Microtus*. American Society of Mammalogists. Special Publication, No. **8**, 812 - 844.
- Wang Z K, Li Q F, Sun R Y, Liu L. 1999. Effects of photoperiod and temperature on thermogenesis in the tree shrew (*Tupaia belangeri*). *Acta Zoologica Sinica*, **45** (3): 287 - 293. (in Chinese)
- Wang D H, Sun R Y, Wang Z W. 1999. Effects of photoperiod and temperature on brown adipose tissue thermogenic properties in plateau pika. *Zool Res*, **20** (5): 347 - 351. (in Chinese)
- Yang M, Li Q F, Huang C X. 2002. Action of hypothalamus-pituitary-thyroid Axis on thermogenesis in Mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*) exposed to cold. *Zool Res*, **23** (5): 379 - 383. (in Chinese)
- Yang M, Li Q F, Huang C X. 2003. Effect of hypothalamic-pituitary-adrenal axis on thermogenesis and thermoregulation in the cold-exposed Mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*). *Acta Zoologica Sinica*, **49** (5): 571 - 577. (in Chinese)
- Yang M, Li Q F, Huang C X. 2003. Effects of introventricular injection of CRH on thermogenesis and regulation of BAT in *Meriones unguiculatus* in acute cold exposure. *Acta Theriologica Sinica*, **23** (1): 45 - 51. (in Chinese)
- Zhang S Z, Li Q F, Huang C X. 1996. Seasonal variations of the thermogenesis in Daurian ground squirrel (*Citellus dauricus*). *Acta Theriologica Sinica*, **16** (3): 211 - 216. (in Chinese)
- Zhang S Z, Li Q F, Huang C X. 1997. Adaptive thermogenesis of Daurian ground squirrel (*Citellus dauricus*) during cold acclimation in summer. *Acta Theriologica Sinica*, **17** (1): 67 - 72. (in Chinese)
- Zhao Z J, Wang D H. 2005. Short photoperiod enhances thermogenic capacity in Brandt's voles. *Physiol Behav*, **85**: 143 - 149.
- 王政昆, 李庆芬, 孙儒泳, 刘璐. 1999. 光周期和温度对中缅树鼯产热能力的影响. *动物学报*, **45** (3): 287 - 293.
- 王德华, 孙儒泳, 王祖望. 1999. 光照和温度对高原鼠兔褐色脂肪组织产热特征的影响. *动物学研究*, **20** (5): 347 - 351.
- 刘小团, 李庆芬, 黄晨西, 孙儒泳. 2001. 达乌尔黄鼠冷驯化、冬眠及觉醒时的外周甲状腺激素水平变化. *动物学报*, **47** (5): 502 - 507.
- 李庆芬, 黄晨西, 刘小团. 1995. 光周期及温度因子对布氏田鼠产热的影响. *动物学报*, **41** (4): 362 - 369.
- 杨明, 李庆芬, 黄晨西. 2002. 下丘脑-垂体-甲状腺在冷暴露长爪沙鼠产热中的作用. *动物学研究*, **23** (5): 379 - 383.
- 杨明, 李庆芬, 黄晨西. 2003a. 冷暴露长爪沙鼠下丘脑-垂体-肾上腺轴对产热的调节. *动物学报*, **49** (5): 571 - 577.
- 杨明, 李庆芬, 黄晨西. 2003b. 侧脑室注射 CRH 对急性冷暴露长爪沙鼠 BAT 产热的影响及产热调节机理. *兽类学报*, **23** (1): 45 - 51.
- 张淑珍, 李庆芬, 黄晨西. 1996. 达乌尔黄鼠产热的季节性变化. *兽类学报*, **16** (3): 211 - 216.
- 张淑珍, 李庆芬, 黄晨西. 1997. 非冬眠期达乌尔黄鼠对低温的适应性产热. *兽类学报*, **17** (1): 67 - 72.
- 候建军, 黄晨西, 李庆芬. 1995. 光周期在早春季节对布氏田鼠产热的影响. 张洁主编: 中国兽类生物学研究. 北京: 中国林业出版社, 161 - 168.
- 黄晨西, 林琳, 李庆芬. 2003. 达乌尔黄鼠冬眠期与非冬眠期的产热活性及激素调节. *北京师范大学学报 (自然科学版)*, **39** (5): 683 - 687.