

布氏田鼠在冷暴露条件下褐色脂肪组织产热的神经内分泌调节*

杨明 李庆芬** 黄晨西

(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)

(沈阳师范大学化学与生命科学学院, 沈阳 110034)

摘要 为了解野生小哺乳动物在冷暴露条件下褐色脂肪组织产热的调节机理, 雄性布氏田鼠随机分为常温对照组 (24 ± 2 , 12L 12D), 冷暴露 1 天、1 周和 4 周组 (4 ± 1 , 12L 12D, 分别处理 1 天、1 周和 4 周), 驯化处理结束后测定下丘脑-垂体-甲状腺 (HPT) 轴和下丘脑-垂体-肾上腺 (HPA) 轴的中枢和外周激素及血清去甲肾上腺素含量。结果表明: (1), 冷暴露布氏田鼠 HPT 轴持续处于激活状态, 急性冷暴露下, 由于下丘脑促甲状腺激素释放激素 (TRH) 释放的增加而导致下丘脑 TRH 含量明显降低; 慢性冷暴露后, 下丘脑 TRH 的合成和正中隆起 (ME) 的释放显著增加, 血清 T_3 水平随着冷暴露时间的延长而增加; (2) 冷暴露持续激活布氏田鼠交感神经系统; (3) 急性冷暴露对布氏田鼠 HPA 轴的激活不明显, 慢性冷暴露布氏田鼠 HPA 轴明显被激活, 正中隆起促肾上腺皮质激素释放激素 (CRH) 及血清皮质酮水平平均增加, 这可能是交感神经系统作用的结果; (4) 下丘脑精氨酸加压素 (AVP) 含量在冷暴露过程中变化不明显。冷暴露布氏田鼠的产热受到甲状腺激素、肾上腺皮质激素、交感神经等多种神经内分泌因素的综合调节 [动物学报 49 (6): 748~754, 2003]。

关键词 布氏田鼠 冷暴露 产热 下丘脑-垂体-甲状腺轴 下丘脑-垂体-肾上腺轴 去甲肾上腺素

Neuroendocrine regulation of thermogenesis of brown adipose tissue in the cold-exposed Brandt's voles*

YANG Ming LI Qing-Fen** HUANG Chen-Xi

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

(College of Chemistry and Life Sciences, Shenyang Normal University, Shenyang 110034, China)

Abstract This paper focuses on the regulation of hypothalamic-pituitary-thyroid (HPT) axis, hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis and sympathetic nervous system (SNS) on thermogenesis of brown adipose tissue (BAT) in Brandt's voles (*Microtus brandti*). Male adult voles were divided into 4 groups, animals of regular temperature control group were kept in 24 ± 2 , 12L 12D, while animals of cold groups were exposed to cold (4 ± 1 , 12L 12D) for 1 day, 1 week and 4 weeks respectively. When voles were put into acute cold (1 day), GTP-binding to BAT mitochondria increased while content of TRH in hypothalamus decreased markedly and concentrations of T_3 and norepinephrine (NE) in serum tended to increase. Concentrations of CRH and arginine vasopressin (AVP) in the hypothalamus, weight of adrenal, and content of corticosterone in adrenal and in serum did not change significantly. After 4 weeks of cold exposure, GTP-binding to BAT mitochondria increased. Content of TRH in the hypothalamus recovered to that of control group, but content of TRH in the median eminence (ME) and concentration of T_3 and NE in serum increased markedly, so did the content of CRH in ME and concentration of corticosterone in serum. These results suggest that, (1) cold exposure activates the syn-

2003-02-19 收稿, 2003-03-26 修回

* 国家自然科学基金资助项目 (No. 39970124) [This research was funded by a grant from National Natural Science Foundation of China (No. 39970124)]

** 通讯作者 (Corresponding author). E-mail: lidu@bnu.edu.cn

第一作者简介 杨明, 女, 37岁, 副教授, 现在中国科学院动物研究所做博士后研究。研究方向: 动物生理生态学。E-mail: yming824@sina.cn

thesis and secretion of hormones of HPT axis continuously, (2) the SNS are activated continuously in Brandt's voles during cold exposure, (3) acute cold exposure does not activate the synthesis and secretion of CRH in hypothalamus whereas chronic cold treatment can activate the HPA axis markedly in Brandt's voles, and (4) AVP in the hypothalamus has no significant role in the regulation of BAT thermogenesis in voles exposed to cold. Thermogenesis of BAT in cold-exposed Brandt's voles are regulated by complicated factors including HPT and HPA axis, and SNS [Acta Zoologica Sinica 49 (6): 748 - 754, 2003].

Key words Brandt's vole (*Microtus brandti*), Cold exposure, Thermogenesis, Hypothalamic-pituitary-thyroid axis, Hypothalamic-pituitary-adrenal axis, Norepinephrine

寒冷是北方野生小哺乳动物冬季经常遇到的环境压力。在长期进化过程中, 各物种形成了适应于环境的生存对策, 如有些动物在冬季来临之前, 将体温调到接近于环境温度、进入冬眠状态、降低代谢率, 并减少能量消耗; 而另一些动物则是通过增加代谢率和产热能力来弥补低温环境下的体热丢失, 以维持恒定的体温(李庆芬等, 2001; 蔡理全等, 1998)。布氏田鼠(*Microtus brandti*)是分布在俄罗斯贝加尔湖地区、蒙古北部和我国的吉林、内蒙古、河北等地的非冬眠小哺乳动物, 是典型的草原害鼠, 属于啮齿目仓鼠科田鼠属。低温对布氏田鼠产热的影响有一些研究, 在冷环境下, 布氏田鼠的静止代谢率与非颤抖性产热均增加, 线粒体呼吸、呼吸酶与代谢酶的活力增强(李庆芬等, 1994, 1995; 侯建军等, 1999)。低温诱导小哺乳动物整体和褐色脂肪组织(Brown adipose tissue, BAT)产热的增加是通过体内的生理调节机制实现的, 对实验啮齿类的研究表明, 交感神经系统和下丘脑-垂体-甲状腺(Hypothalamic-pituitary-thyroid, HPT)轴是冷暴露动物产热增加的主要刺激因素(Arancibia *et al.*, 1996; Himms-Hagen, 1990), 此外下丘脑-垂体-肾上腺(Hypothalamic-pituitary-adrenal, HPA)轴也参与调节BAT的产热(Moriscot *et al.*, 1993; Strack *et al.*, 1995)。但对于野生小哺乳动物冷暴露过程中HPA轴、HPT轴和交感神经系统如何调节BAT产热, 有待进一步研究。本文在以前研究的基础上, 通过测定低温诱导布氏田鼠产热增加情况, 研究体内HPT轴、HPA轴激素以及交感神经递质的变化, 以进一步理解布氏田鼠适应性产热的神经内分泌调节机理。

1 材料与方法

1.1 实验动物

布氏田鼠2000年4月捕自内蒙古锡盟正镶白旗, 在北京师范大学实验动物房饲养。动物房人工控温 24 ± 2 、控光12L 12D(早06:00给光)。

动物喂以北京科澳协力饲料有限公司生产的标准鼠饲料和兔饲料, 水、食自取。用于实验的动物为32只实验室繁殖的子二代雄鼠成体, 随机分成4组, 每组8只: 常温对照组在动物房饲养, 冷暴露1天组、1周组及4周组置于室温为 4 ± 1 的低温房, 光照条件与对照组相同。冷暴露结束时, 断颈取血制备血清; 迅速取出下丘脑、正中隆起、肾上腺等放入液氮中速冻, 转入 -75 保存, 待用; 摘取肩胛间、肩胛下、颈下和腋下的褐色脂肪组织, 去除白色脂肪以及结缔组织, 用于酶活性测定, 或冻存用于GTP结合测定。

1.2 BAT线粒体的制备及线粒体酶活力测定

用差速离心法制备BAT线粒体, 以牛血清白蛋白为标准, Lowry(1951)法测定线粒体蛋白含量。细胞色素C氧化酶活力的测定及 γ -磷酸甘油氧化酶活力的测定均用铂氧电极法(李庆芬等, 1994)。

1.3 BAT线粒体三磷酸鸟苷(GTP)结合的测定

采用双标记离心沉淀法测定。GTP结合反应体系体积为150 μ l, 含20 mmol/L MOPS (pH6.7), 0.16 mmol/L EDTA, 20 mmol/L Na_2SO_4 , 0.5~5 μ mol/L的 $[^3\text{H}]$ -GTP (2.7 μ Ci/ml), 0.5~5 μ mol/L的 $[^{14}\text{C}]$ -Sucrose (2.7 μ Ci/ml), 与适量线粒体(约0.3 mg蛋白), 混匀后于25 $^{\circ}\text{C}$ 保温15 min; 12 000 r/min离心10 min, 上清加入含闪烁液的闪烁瓶中, 用200 μ l不含同位素的反应液洗掉管壁残留的同位素, 快速离心后弃上清, 向沉淀中加入50 μ l 20%的Triton X-100, 剧烈震荡使线粒体彻底溶解后, 加入含闪烁液的闪烁瓶中计数。根据上清及沉淀中同位素计数结果, 通过Scatchard作图计算BAT线粒体GTP结合的解离常数(K_D)和最大结合容量(B_{max}) (Liu *et al.*, 2001)。

1.4 下丘脑及ME中TRH、CRH和AVP含量的测定

按照Glowinski *et al.* (1966)方法取下丘脑组织块。下丘脑及正中隆起组织块用1 ml 0.1

mol/L HCl, 超声破碎, 4 离心, 各取 2 份 0.4 ml 的上清冷冻干燥, 用于促甲状腺激素释放激素 (Thyrotropin-releasing hormone, TRH)、促肾上腺皮质激素释放激素 (Corticotropin-releasing hormone, CRH) 或精氨酸加压素 (Arginine vasopressin, AVP) 含量的测定 (并取少量上清, 按 Lowry 法以牛血清蛋白为标准, 测定蛋白含量)。冻干样品测定前用 0.25 ml 或 0.5 ml 0.02 mol/L 的 PBS 缓冲液 (pH 7.4, 含 0.5% 的 BSA) 溶解。TRH 用中国北方生物技术公司生产的 TRH 放射免疫药盒测定; CRH 和 AVP 用第二军医大学标记的大鼠抗原, 放射免疫方法测定。预实验中, TRH、CRH、AVP 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。

1.5 血清和肾上腺皮质酮含量的测定

采用荧光法测定。去除肾上腺的被膜, 用 10% 高氯酸匀浆 (5 mg/ml), 3 000 r/min 离心 10 min, 取上清 1 ml 测定。血清 0.1 ml, 用水稀释 10 倍。用 2 ml 石油醚去除脂类后, 用 5 倍体积的二氯甲烷提取水相中的皮质酮, 弃去水相, 向有机相中加入 1 ml 0.1 mol/L 的 NaOH, 混匀后离心, 弃水相, 再向有机相中加入新鲜配制的硫酸-乙醇 (V/V = 75/25), 取下层溶液, 用 Fluormax-2 型荧光光谱仪检测。激发光波长 470 nm, 发射光波长 560 nm。

1.6 血清三碘甲腺原氨酸 (T_3) 和甲状腺素 (T_4) 含量的测定

血清中 T_3 和 T_4 浓度用中国原子能研究院生产的放射免疫药盒测定。

1.7 血清去甲肾上腺素 (Norepinephrine, NE) 含量的测定

血清中 NE 用 2 mol/L 高氯酸抽提, 经中性 Al_2O_3 吸附, 0.3 mol/L 醋酸溶液浸泡提取, 中性条件下 $K_3Fe(CN)_6$ 氧化, 产物在碱性溶液中生成三羟基吲哚类的荧光化合物。Fluormax-2 型荧光光谱仪检测, 激发光波长 410 nm, 发射光波长 524 nm (杨明等, 2002)。

1.8 统计学分析

使用 SPSS 统计软件包考察数据, 去除极值后, 用单个样本的 Kolmogorov-Smirnov 检验, 验证数据符合正态分布, 进一步用单因素方差分析 (One-way ANOVA) 和最小显著差数法 (LSD) 进行多重比较, 分析样本间的组间差异。差异显著性以双尾检验 $P < 0.05$ 为标准。数据用平均值 \pm 标

准误表示。

2 结果

2.1 布氏田鼠冷暴露过程中 BAT 重量、线粒体蛋白含量和线粒体 GTP 结合的变化

冷暴露 1 天布氏田鼠 BAT 绝对重量和相对重量均呈降低趋势, 但线粒体蛋白含量明显高于对照。随着冷暴露时间的延长, BAT 重量及线粒体蛋白含量均增加, 冷暴露 4 周时 BAT 绝对重量为对照的 1.38 倍, 线粒体蛋白为对照的 2.14 倍 (表 1)。

冷暴露增加了布氏田鼠 BAT 线粒体 GTP 结合的最大结合浓度, 冷 1 周时为对照的 1.87 倍, 冷 4 周时有所回落, 为对照的 1.6 倍。特殊结合在冷暴露 1 天时就明显高于对照, 冷暴露 1 周时达到对照的 2.17 倍, 冷 4 周时为对照的 2.05 倍。整体结合随着冷暴露时间的延长逐渐增加, 冷 4 周时值最大, 为对照的 3.28 倍 (表 1)。

2.2 冷暴露布氏田鼠下丘脑和正中隆起 TRH 含量以及血清 T_3 和 T_4 含量

急性冷暴露布氏田鼠下丘脑 TRH 含量显著减少, 正中隆起 TRH 含量变化不显著; 冷暴露 4 周后, 下丘脑 TRH 含量与对照组相比无明显变化, 正中隆起 TRH 含量增加了 59% (表 2)。

冷暴露 1 天的布氏田鼠血清 T_3 水平上升了 75%, 并随着冷暴露时间的延长进一步增加, 冷 4 周时达到对照的 2.6 倍; 血清 T_4 水平在冷暴露中降低, 血清 T_3/T_4 的值逐渐增加 (表 2)。

2.3 下丘脑和正中隆起 CRH 和 AVP 含量以及肾上腺和血清皮质酮含量

冷暴露过程中布氏田鼠下丘脑 CRH 含量没有变化, 正中隆起 CRH 表现出增加趋势, 并在冷 4 周时达到差异显著水平。下丘脑和正中隆起 AVP 含量在急性冷暴露时未表现出变化, 慢性冷暴露组下丘脑和正中隆起 AVP 均略有增加, 分别为对照的 1.46 倍和 1.31 倍, 但均未达到统计学的差异显著水平 (表 3)。

冷暴露布氏田鼠肾上腺的重量没有显著变化, 肾上腺皮质酮的含量表现出增加趋势, 但未达统计学显著水平。血清皮质酮含量在冷 1 天时无明显变化, 冷 4 周时是对照的 2 倍, 差异显著 (表 3)。

2.4 冷暴露布氏田鼠血清去甲肾上腺素含量变化

ANOVA 分析结果表明, 冷暴露布氏田鼠血清 NE 浓度发生显著变化 ($F_{2,5} = 5.634$, $P = 0.015$)。

急性冷暴露布氏田鼠血清去甲肾上腺素含量为对照的 1.57 倍, 冷暴露 4 周时, 血清去甲肾上腺素水平为对照的 3.14 倍 (图 1)。

3 讨 论

3.1 冷暴露布氏田鼠产热的变化

以前的研究表明, 冷暴露 1 天时, 布氏田鼠的

非颤抖性产热显著增加 (李庆芬等, 1994), 其 BAT 的 cAMP 含量、 Na^+/K^+ -ATP 酶活力、细胞色素 C 氧化酶活力、琥珀酸氧化酶活力、-磷酸甘油氧化酶活力均显著增加; 随着冷暴露时间的延长, 各项产热指标进一步提高, 并在冷 4 周时达到最大值 (李庆芬等, 1994; 侯建军等, 1999)。本文测定的冷暴露布氏田鼠 BAT 线粒体 GTP 结合参

表 1 冷暴露布氏田鼠 BAT 重量、线粒体蛋白含量和线粒体 GTP 结合参数的变化

Table 1 Mass and mitochondrial protein of BAT and parameters of GTP-binding to BAT mitochondria in cold-exposed Brandt's voles

	对 照 Control	冷 1 天 Cold 1 day	冷 1 周 Cold 1 week	冷 4 周 Cold 4 weeks	ANOVA 参数 Parameters of ANOVA		
					df	F	P
BAT 重量 (Mass of BAT)							
绝对重量 (Absolute mass) (g)	0.60 ±0.02 ^a (8)	0.50 ±0.06 ^a (7)	0.76 ±0.06 ^b (7)	0.87 ±0.04 ^b (6)	3	11.92	0.000
相对重量(Relative mass) (g/100 g BM)	1.85 ±0.03 ^a (6)	1.68 ±0.09 ^a (5)	2.32 ±0.19 ^b (6)	2.46 ±0.12 ^b (6)	3	8.78	0.001
BAT 线粒体蛋白含量 (Mitochondrial protein of BAT)							
mg/gBAT	6.1 ±0.64 ^a (5)	12.6 ±1.40 ^c (5)	9.4 ±1.42 ^{ab} (6)	12.20 ±1.28 ^{bc} (6)	3	5.38	0.008
mg/ Total BAT	3.5 ±0.39 ^a (5)	5.3 ±0.52 ^{ab} (5)	7.2 ±1.48 ^{bc} (6)	10.4 ±0.99 ^c (5)	3	7.93	0.002
BAT 线粒体 GTP 结合参数 (Mitochondrial GTP binding)							
最大结合浓度 (B_{\max}) (nmol/mg protein)	0.60 ±0.113 ^a (6)	0.78 ±0.082 ^{ab} (6)	1.12 ±0.139 ^c (5)	0.96 ±0.107 ^{bc} (6)	3	4.18	0.020
表观解离常数 (K_D) ($\mu\text{mol/L}$)	1.87 ±0.131 (6)	1.93 ±0.198 (6)	2.26 ±0.205 (5)	2.00 ±0.174 (6)	3	0.85	0.484
特殊结合 (Specific binding) (nmol/g BAT)	4.46 ±0.837 ^a (6)	7.88 ±0.416 ^b (5)	9.69 ±1.824 ^b (5)	9.13 ±1.183 ^b (5)	3	4.44	0.018
整体结合 (Total binding) (nmol/ Total BAT)	2.65 ±0.478 ^a (6)	4.51 ±0.472 ^{ab} (6)	7.0 ±1.66 ^{bc} (5)	8.7 ±1.60 ^c (6)	3	5.45	0.007

括号内数字为样本量, 同行中标有不同上标字母的数值表示多重比较组间差异显著 (The sample sizes are shown in parentheses. Within each row, values with different superscripts are significantly different in multiple comparisons, $P < 0.05$) BM: body mass

表 2 冷暴露布氏田鼠下丘脑和正中隆起 TRH 含量以及血清 T_3 和 T_4 含量

Table 2 Contents of TRH in hypothalamus and median eminence and concentration of T_3 and T_4 in serum of cold-exposed Brandt's voles

	对 照 Control	冷 1 天 Cold 1 day	冷 1 周 Cold 1 week	冷 4 周 Cold 4 weeks	ANOVA 参数 Parameters of ANOVA		
					df	F	P
TRH 含量 (Content of TRH) (ng/mg protein)							
下丘脑 (Hypothalamus)	0.85 ±0.044 ^a (6)	0.69 ±0.038 ^b (6)	-	0.91 ±0.047 ^a (6)	2	6.66	0.009
正中隆起 (Median eminence)	2.55 ±0.22 ^a (6)	2.64 ±0.22 ^a (6)	-	4.06 ±0.41 ^b (6)	2	8.06	0.004
血清 T_3 含量 (T_3 in serum) (ng/ml)	0.57 ±0.185 ^a (6)	1.00 ±0.112 ^{ab} (7)	1.17 ±0.147 ^b (7)	1.48 ±0.187 ^c (7)	3	5.79	0.004
血清 T_4 含量 (T_4 in serum) (ng/ml)	17.7 ±2.97 ^a (7)	11.7 ±1.38 ^b (7)	10.9 ±2.21 ^b (6)	11.8 ±1.37 ^b (7)	3	3.45	0.034
$T_3/T_4 \times 100\%$	4.3 ±1.78 ^a (6)	9.3 ±1.45 ^{ab} (7)	11.1 ±1.49 ^b (6)	13.7 ±2.19 ^b (7)	3	4.81	0.010

括号内数字为样本量, 同行中标有不同上标字母的数值表示多重比较组间差异显著 (The sample sizes are shown in parentheses. Within a row, values with different superscripts are significantly different in multiple comparisons, $P < 0.05$)

表 3 冷暴露布氏田鼠下丘脑和正中隆起 CRH 和 AVP 的含量以及肾上腺和血清皮质酮含量
Table 3 Contents of CRH and AVP in hypothalamus and median eminence and corticosterone content in adrenal and serum in cold-exposed Brandt's voles

	对照 Control	冷 1 天 Cold 1 day	冷 4 周 Cold 4 weeks	ANOVA 参数 Parameters of ANOVA		
				df	F	P
CRH 含量 (Concentration of CRH) (ng/ mg protein)						
下丘脑 (Hypothalamus)	0.12 ±0.013 (6)	0.12 ±0.018 (6)	0.12 ±0.013 (6)	2	0.030	0.971
正中隆起 (Median eminence)	0.83 ±0.078 ^a (6)	0.91 ±0.116 ^{ab} (6)	1.15 ±0.102 ^b (6)	2	2.79	0.093
AVP 含量 (Concentration of AVP) (ng/ mg protein)						
下丘脑 (Hypothalamus)	0.24 ±0.063 (6)	0.26 ±0.050 (5)	0.35 ±0.079 (6)	2	0.80	0.470
正中隆起 (Median eminence)	6.46 ±1.59 (6)	5.51 ±1.15 (6)	8.47 ±0.743 (6)	2	1.55	0.244
肾上腺重量 (Mass of adrenal) (mg)	7.9 ±0.87 (5)	8.0 ±0.31 (6)	7.1 ±0.47 (4)	2	0.655	0.537
肾上腺皮质酮 (Adrenal corticosterone) (ng/ mg)	6.3 ±0.64 (6)	7.4 ±0.71 (5)	7.0 ±0.70 (5)	2	0.76	0.488
血清皮质酮 (Serum corticosterone) (ng/ ml)	210 ±21.5 ^a (6)	256 ±35.5 ^a (6)	426 ±47.0 ^b (6)	2	9.929	0.002

括号内数字为样本量, 同行中标有不同上标字母的数值表示多重比较组间差异显著 (The sample sizes are shown in parentheses. Within a row, values with different superscripts are significantly different in multiple comparisons, $P < 0.05$)

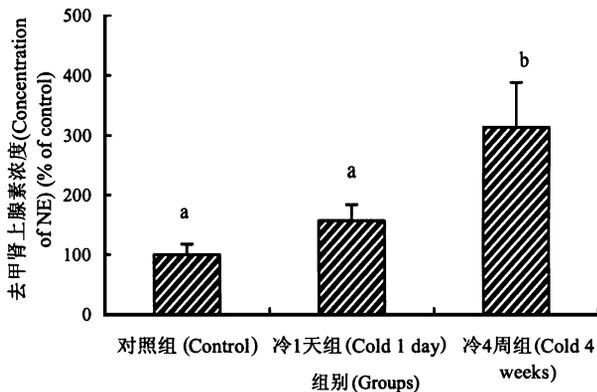


图 1 冷暴露布氏田鼠血清去甲肾上腺素含量的变化

Fig. 1 Concentration of norepinephrine (NE) in serum of cold-exposed Brandt's voles

图中条形上所标不同字母表示多重比较组间差异显著 (Bars with different superscripts are significantly different in multiple comparisons) ($P < 0.05$)

数, 表现出与上述产热指标相似的变化趋势: 冷 1 天时, 特殊结合就明显增高; 冷 1 周时, 特殊结合和整体结合都进一步增加; 冷 4 周时, 特殊结合值有所回落, 但仍显著高于对照, 整体结合达到最大值, 为对照的 3.28 倍。进一步确证了冷暴露激活布氏田鼠整体产热和 BAT 产热, 且随着冷暴露时间的延长, 各产热指标逐渐增大, 在冷暴露 4 周时达到冷适应, 各产热指标达到最大值。

3.2 血清去甲肾上腺素参与冷暴露布氏田鼠产热的调节

去甲肾上腺素是交感神经的主要递质, 血清去甲肾上腺素主要来源于外周交感神经末梢。交感神经是小哺乳动物适应性产热的主要支配和调节者。冷暴露条件下, 交感神经末梢释放 NE 激活组织, 是产热增加的生理基础 (Himms-Hagen, 1990)。急性冷暴露布氏田鼠血清去甲肾上腺素含量为对照的 1.57 倍, 冷暴露 4 周时, 血清去甲肾上腺素水平为对照的 3.14 倍。这个结果表明, 随着冷暴露时间的延长, 布氏田鼠外周交感神经活力进一步加强。去甲肾上腺素通过作用于褐色脂肪细胞上的受体, 使细胞内 cAMP 浓度增加, 最终促进脂滴中贮存的甘油三酯分解, 释放出脂肪酸。这些脂肪酸既是产热的能源物质, 又是产热的调节分子, 可调节线粒体内膜上解偶联蛋白 1 (Uncoupling protein 1, UCP1) 的活性, 增加产热 (Himms-Hagen, 1990)。

3.3 冷暴露布氏田鼠产热的 HPT 轴调节

以前的研究表明, 甲状腺的功能状态影响布氏田鼠 BAT 产热 (Liu *et al.*, 1997)。冷暴露布氏田鼠血清 T_3 水平增加 (李庆芬等, 1994)。本研究结果与以前的实验结果一致。本文中冷暴露 1 天布氏田鼠下丘脑 TRH 含量显著减少, 正中隆起 TRH 含量没有显著变化。两个部位 TRH 含量变化, 反映出下丘脑 TRH 的释放量超过了合成量。TRH 是垂体-甲状腺轴激素分泌的刺激因子, 急性冷暴露下, 布氏田鼠下丘脑释放的 TRH 通过刺激垂体

TSH 的分泌, 进而促进甲状腺激素的分泌, 这与冷暴露长爪沙鼠的 HPT 轴激素变化相似 (杨明等, 2002), 与实验大鼠的研究结果也相似 (Arancibia *et al.*, 1996)。表明急性冷暴露激活了布氏田鼠 HPT 轴, 使甲状腺激素分泌增加。

本实验中急性冷暴露布氏田鼠血清 T_4 水平降低了 44%, T_3/T_4 的值为对照的 2.16 倍。血清 T_3 和 T_4 水平的变化, 主要是急性冷暴露下布氏田鼠外周组织中脱碘酶被激活, 使 T_4 大量转化为 T_3 的结果 (刘小团等, 2001)。以前的研究表明, 冷暴露 4 周后, 布氏田鼠 BAT 中 $T_45\beta$ 型脱碘酶活力为对照的 3.34 倍 (侯建军等, 1999), 这可以使 BAT 细胞内 T_3 浓度增加。HPT 轴的激活, 以及血液循环中、BAT 局部组织细胞内 T_3 浓度的升高, 对冷暴露动物产热的增加起重要作用: 一方面 T_3 通过影响线粒体结构、加速底物氧化和刺激钠、钾转运系统等途径, 增加冷暴露条件下的静止代谢率; 另一方面, T_3 作用于 BAT 细胞核受体, 一是通过作用于 β 型甲状腺激素受体 (TR), 增进细胞内腺苷酸环化酶催化 cAMP 形成的过程, 从而增加冷应激或交感神经刺激的产热反应, 二是作用于 α 型受体 (TR), 刺激 UCP1 的基因表达 (Rabelo *et al.*, 1996; De Jesus *et al.*, 2001), 从而使冷暴露动物产热能力大大加强。所以, 在冷暴露条件下, 布氏田鼠 HPT 轴的持续激活, 是它增加产热、维持恒定体温的基础, 对其生存具有十分重要的作用。

3.4 HPA 轴在冷暴露布氏田鼠产热中的作用

急性冷暴露下实验大鼠的 HPA 轴被激活, 下丘脑 CRH 的基因表达上调, CRH 的合成和释放增加, 随着冷暴露时间的延长激素水平逐渐恢复 (Baram *et al.*, 1997)。但本研究中, 急性冷暴露没有激活布氏田鼠 HPA 轴, 对与布氏田鼠同域分布的长爪沙鼠 (*Meriones unguiculatus*) 的急性冷暴露研究得到相似的结果 (杨明等, 2003), 这些差异产生的原因可能与动物长期生存的环境条件有关。慢性冷暴露后布氏田鼠正中隆起 CRH 含量明显高于对照水平, 表明此时下丘脑 CRH 的合成和释放处于显著激活状态。在 HPA 轴的应激反应中, 除了 CRH 以外, AVP 也参与垂体 - 肾上腺功能的调节, 例如, AVP 主要参与失血应激反应 (Sapolsky *et al.*, 2000), 急性冷应激抑制人和大鼠 AVP 的释放 (Wittert *et al.*, 1992)。本研究的结果表明, 布氏田鼠冷暴露过程中下丘脑 AVP 的合成和

释放没有显著变化, AVP 是否参与冷暴露布氏田鼠的产热调节还有待于进一步研究。另有报道, 去甲肾上腺素注射入大鼠下丘脑室旁核后, 该核团小细胞部的 CRH hnRNA (heterogeneous nuclear RNA, 核内不均一 RNA) 快速明显地增加, 但大细胞部和小细胞部的 AVP hnRNA 都没有明显改变 (Itoi *et al.*, 1999), 说明去甲肾上腺素作用于中枢下丘脑室旁核, 能刺激 CRH 的合成, 但对 AVP 没有作用。对冷暴露大鼠的研究表明, 中枢不同脑区去甲肾上腺素的代谢物含量的变化与血清去甲肾上腺素含量变化基本一致, 由此可以推测, 慢性冷暴露布氏田鼠血清中去甲肾上腺素水平大幅度增加的同时, 脑内 NE 的利用可能也增加, 并刺激下丘脑 CRH 的合成。这可能是慢性冷暴露布氏田鼠正中隆起 CRH 增加而 AVP 无明显变化的原因。

布氏田鼠血清皮质酮的含量在急性冷暴露时无明显变化, 慢性冷暴露后血清皮质酮水平显著增加, 是对照组的 2 倍。血清皮质酮来源于肾上腺, 由此推测, 冷暴露布氏田鼠肾上腺皮质酮的合成和分泌持续处于激活状态。这一方面可能是下丘脑 CRH 通过垂体 ACTH 刺激肾上腺皮质分泌的结果, 另一方面可能是受到被高度激活的交感神经刺激的结果, 因为肾上腺皮质受来自于内脏神经的交感神经纤维的支配 (McDonald *et al.*, 1998)。皮质酮对 BAT 产热起抑制作用 (杨明等, 2003), 这样可以防止产热的过度增加引起的能量浪费。因此, 慢性冷暴露布氏田鼠的产热受到复杂的神经内分泌调节, 一方面交感神经和 HPT 轴处于高度激活状态, 高浓度的去甲肾上腺素和 T_3 协同刺激 BAT 产热增加; 另一方面血清皮质酮水平明显增高, 皮质酮抑制冷暴露布氏田鼠产热的增加。

致 谢 中国农业大学施大钊教授惠赠布氏田鼠种鼠, 在此表示衷心感谢!

参考文献 (References)

- Arancibia, S., F. Rage, H. Astier and L. Tapiar-Arancibia 1996 Neuroendocrine and autonomus mechanisms underlying thermoregulation in cold environment. *Neuroendocrinology* 64: 257 ~ 267.
- Baram, T. Z., S. Yi, S. Avishair-Eliner and L. Schultz 1997 Development neurobiology of the stress response: multilevel regulation of corticotropin-releasing hormone function. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 814: 252 ~ 265.
- Cai, L. Q., C. X. Huang and Q. F. Li 1998 The adaptive thermogenesis of the brown adipose tissue of the Mongolian gerbil

- (*Meriones unguiculatus*). *Acta Zool. Sin.* **44**: 391 ~ 397. [蔡理全, 黄晨西, 李庆芬 1998 长爪沙鼠褐色脂肪组织的适应性产热. *动物学报* **44**: 391 ~ 397.]
- De Jesus, L. A., S. D. Carbalho, M. O. Ribeiro, M. Schneider, S. W. Kim, J. W. Harney, P. R. Larsen and A. C. Bianco 2001 The type 2 iodothyronine deiodinase is essential for adaptive thermogenesis in brown adipose tissue. *J. Clin. Invest.* **108** (9): 1 379 ~ 1 385.
- Glowinski, J. and L. L. Iversen 1966 Regional studies of catecholamines in the rat brain. *J. Neurochem.* **13**: 655 ~ 669.
- Himmis-Hagen, J. 1990 Brown adipose tissue thermogenesis: role in thermoregulation, energy regulation and obesity. In: Schonbaum E. and P. Lomax ed. *Thermoregulation: Physiology and Biochemistry*. New York: Pergamon Press, 327 ~ 414.
- Hou, J. J., Q. F. Li and C. X. Huang 1999 Mechanism of adaptive thermogenesis in Brandt's voles (*Microtus brandti*) during cold exposure. *Acta Zool. Sin.* **45** (2): 143 ~ 147. [侯建军, 李庆芬, 黄晨西 1999 布氏田鼠冷暴露中的适应性产热机理. *动物学报* **45** (2): 143 ~ 147.]
- Itoi, K., D. L. Helmreich, M. O. Lopez-Figureoa and S. J. Watson 1999 Differential regulation of corticotropin-releasing hormone and vasopressin gene transcription in the hypothalamus by norepinephrine. *J. Neurosci.* **19** (13): 5 464 ~ 5 472.
- Li, Q. F., N. Li and R. Y. Sun 1994 The adaptive thermogenesis of Brandt's voles (*Microtus brandti*) during cold exposure. *Acta Theriol. Sin.* **14** (4): 286 ~ 293. [李庆芬, 李 宁, 孙儒泳 1994 布氏田鼠对低温的适应性产热. *兽类学报* **14** (4): 286 ~ 293.]
- Li, Q. F., C. X. Huang and X. T. Liu 1995 Effects of photoperiod and temperature on thermogenesis in Brandt's voles (*Microtus brandti*). *Acta Zool. Sin.* **41** (4): 362 ~ 369. [李庆芬, 黄晨西, 刘小团 1995 光周期和温度对布氏田鼠产热的影响. *动物学报* **41** (4): 362 ~ 369.]
- Li, Q. F., X. T. Liu, C. X. Huang, R. Y. Sun and Q. S. Lin 2001 Thermogenic capacity and expression of uncoupling protein gene of brown adipose tissue from Mongolian gerbils (*Meriones unguiculatus*) during cold acclimation. *Acta Zool. Sin.* **47**: 388 ~ 393. [李庆芬, 刘小团, 黄晨西, 孙儒泳, 林其谁 2001 长爪沙鼠冷驯化中褐色脂肪组织产热特性及解偶联蛋白基因表达. *动物学报* **47** (4): 388 ~ 393.]
- Liu, X. T., Q. F. Li, C. X. Huang and R. Y. Sun 1997 Effects of thyroid status on cold-adaptive thermogenesis in Brandt's vole, *Microtus brandti*. *Physiol. Zool.* **70** (3): 352 ~ 361.
- Liu, X. T., Q. F. Li, Q. S. Lin and R. Y. Sun 2001 Uncoupling protein1 mRNA, mitochondrial GTP-binding, and T₂5⁻ deiodinase of brown adipose tissue in euthermic daurian ground squirrel during cold exposure. *Comp. Biochem. Physiol. A* **128**: 827 ~ 835.
- Liu, X. T., Q. F. Li, C. X. Huang and R. Y. Sun 2001 Variation of peripheral thyroid hormone level in daurian ground squirrel (*Spermophilus dauricus*) during cold exposure, hibernation and arousal. *Acta Zool. Sin.* **47** (5): 502 ~ 506. [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 ~ 506.]
- Lowry, O. H., N. J. Rosebrough, A. L. Farr and R. J. Randall 1951 Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **193**: 265 ~ 275.
- McDonald, T. J. and P. W. Nothanielsz 1998 The involvement of innervation in the regulation of fetal adrenal steroidogenesis. *Horm. Metab. Res.* **30**: 297 ~ 302.
- Moriscot, A., R. Rogerio and A. C. Bianco 1993 Corticosterone inhibits uncoupling protein gene expression in brown adipose tissue. *Am. J. Physiol.* **256** (*Endocrinol. Metab.* 28): E81 ~ E87.
- Rabelo, R., C. Reyes, A. Schifman and E. Silva 1996 Interactions among receptors, thyroid hormone response elements, and ligands in the regulation of the rat uncoupling protein gene expression by thyroid hormone. *Endocrinology* **137** (8): 3 478 ~ 3 487.
- Sapolsky, R. B., L. M. Romero and A. Munck 2000 How do glucocorticoids influence stress responses? Integrating permissive, suppressive, stimulatory, and preparative actions. *Endocrine Reviews* **21** (1): 55 ~ 89.
- Strack, A. M., M. J. Bradbury and M. F. Dallman 1995 Corticosterone decreases nonshivering thermogenesis and increases lipid storage in brown adipose tissue. *Am. J. Physiol.* **268**: R183 ~ R191.
- Wittert, G. A., H. K. Or, J. H. Livesey, A. M. Richards, R. A. Donald and E. A. Espiner 1992 Vasopressin, corticotrophin-releasing factor, and pituitary adrenal responses to acute cold stress in normal humans. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **75** (3): 750 ~ 755.
- Yang, M., Q. F. Li, C. X. Huang 2002 Action of hypothalamus-pituitary-thyroid axis on thermogenesis in Mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*) exposed to cold. *Zool. Res.* **23** (5): 379 ~ 383. [杨 明, 李庆芬, 黄晨西 2002 下丘脑-垂体-甲状腺轴在冷暴露长爪沙鼠产热中的作用. *动物学研究* **23** (5): 379 ~ 383.]
- Yang, M., Q. F. Li and C. X. Huang 2003 Effect of hypothalamic-pituitary-adrenal axis on thermogenesis and thermoregulation in the cold-exposed Mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*). *Acta Zool. Sin.* **49**: 571 ~ 577. [杨 明, 李庆芬, 黄晨西 2003 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.]