

## 雌激素对大鼠体重及水-甘油通道蛋白表达影响\*

吴俊霞<sup>1</sup>, 崔睿<sup>1</sup>, 王益君<sup>1</sup>, 刘苏熠<sup>1</sup>, 张璇<sup>1</sup>, 王晓珂<sup>1</sup>, 陈刚<sup>1</sup>, 向全永<sup>2</sup>, 王春<sup>1</sup>

**摘要:**目的 探讨雌激素对体重内稳态调节及水-甘油通道蛋白(AQPs)表达的影响。方法 雌性 SD 大鼠 32 只随机分为 4 组,假手术组、去卵巢组,100、400  $\mu\text{g}/\text{kg}$  雌二醇组,连续给予受试物 2 周。定期观察体重和摄食量变化、血糖仪检测血糖、实时荧光定量 PCR 检测脂肪和肝脏组织水-甘油通道蛋白(AQPs)、沉默信息调节因子 1(Sirt1)基因表达水平。结果 去卵巢大鼠摄食量增加,平均体重[(330.44 ± 25.09)g]明显高于假手术组[(287.44 ± 13.18)g]( $P < 0.05$ ),脂肪系数(1.55 ± 0.48)明显高于假手术组(0.93 ± 0.19)( $P < 0.05$ ),口服葡萄糖 90 min 后血糖浓度[(11.30 ± 0.50)mmol/L]明显高于假手术组[(8.23 ± 1.39)mmol/L]( $P < 0.05$ ),肝脏组织 AQP9 表达水平(1.37 ± 0.17)明显高于假手术组(1.04 ± 0.10)( $P < 0.05$ )。而给予去卵巢大鼠雌激素后,其摄食量和体重下降,子宫周围脂肪组织 AQP7 和肝脏组织 AQP9 表达水平明显降低。结论 雌激素缺乏会导致大鼠体重上升,雌激素可能通过影响摄食行为、胰岛素敏感性、改变 AQP 表达等参与体重内稳态调节。

**关键词:**肥胖;雌激素;水-甘油通道蛋白

中图分类号:R 181.2<sup>4</sup> 文献标志码:A 文章编号:1001-0580(2014)10-1276-03 DOI:10.11847/zgggws2014-30-10-13

## Impacts of estrogen on body weight and aquaglyceroporin expression in female rats

WU Jun-xia\*, CUI Rui, WANG Yi-jun, et al (\* Department of Occupational Medicine Environmental Health, School of Public Toxicology, Nantong University, Nantong, Jiangsu Province 226000, China)

**Abstract: Objective** To explore whether estrogen is involved in the regulation of weight homeostasis and impacts of estrogen on expression levels of aquaglyceroporin (AQP). **Methods** Female Sprague-Dawley (SD) rats were randomly divided into four groups ( $n = 8$  for each group): a sham-operated group (SO), and three ovariectomized groups (OVX). Four weeks after the operation, the rats were administrated with corn oil (SO), corn oil (OVX), 100  $\mu\text{g}/\text{kg}$  17 $\beta$ -estradiol (E2) (OVXE1) and 400  $\mu\text{g}/\text{kg}$  E2 (OVXE2) via subcutaneous injection for 2 weeks. The body weight and food consumption were monitored. The levels of glucose in blood were detected with glucometer. The mRNA expression levels of AQP and silent information regulator 1 (Sirt 1) in parametrial adipose tissues and liver were determined with real-time PCR method. **Results** The OVX rats (330.44 ± 25.09 g) weighed heavier than SO rats (287.44 ± 13.18 g), with a statistically significant difference ( $t = 3.71, P < 0.05$ ). The organ coefficient of parametrial adipose tissues was greater in OVX rats (1.55 ± 0.48) than that in SO rats (0.93 ± 0.19) ( $t = 2.79, P < 0.05$ ). The glucose level in OVX rats reached the maximum (11.30 ± 0.50 mmol/L) in 90 min after glucose gavage, which was significantly higher than that in SO rats (8.23 ± 1.39 mmol/L) ( $t = 3.60, P < 0.05$ ). The AQP9 expression level in liver significantly increased in OVX rats (1.37 ± 0.17) than that in SO rats (1.04 ± 0.10) ( $t = 3.86, P < 0.05$ ). Administration of E2 to OVX rats significantly reduced the food consumption, body weight, and the expression levels of AQP7 in parametrial adipose tissues and AQP9 in liver. **Conclusion** Estrogen deficiency induces weight gain, while estrogen replacement could reverse it. Estrogen may participate in the regulation of weight homeostasis by influencing food intake, affecting insulin sensitivity, and modifying expression levels of AQP.

**Key words:** obesity; estrogen; aquaglyceroporin

超重是目前人类所面临的十大健康问题之一。雌激素与体重内稳态有关,男性对肥胖易感和绝经期后妇女体重的增加均表明雌激素与体重之间的密切关系,并且雌激素影响体脂分布,绝经后妇女脂肪蓄积部位转移到腹部,由周围性分布向中心性分布趋势转化<sup>[1]</sup>,但是雌激素干扰能量代谢、参与体重内稳态调节的机制尚未完全阐明。水-甘油通道蛋

白属于水通道蛋白(aquaporins, AQPs)亚家族,是转运水、甘油等小分子溶剂的膜通道蛋白,参与脂质代谢过程,可能与肥胖、糖尿病等代谢综合症的发生有关<sup>[2]</sup>。研究表明去卵巢大鼠膀胱上皮细胞中 AQP2 和 AQP3 表达水平显著降低,而给予雌二醇后恢复到对照水平<sup>[3]</sup>,但目前尚不清楚雌激素是否对脂肪等组织水-甘油通道蛋白的表达产生影响。本研究

\* 基金项目:国家自然科学基金(21377005;21277078);江苏省自然科学基金(BK20131202;YKC13041)

作者单位:1.南通大学公共卫生学院职业医学与环境毒理教研室,江苏 226000;2.江苏省疾病预防控制中心慢性非传染性疾病防治所;3.南通市通州区疾病预防控制中心健康教育和消杀科

作者简介:吴俊霞(1986-),女,淮安人,硕士在读,研究方向:环境毒理。

通讯作者:王春,E-mail:cwang@ntu.edu.cn;向全永,E-mail:quanyongxiang@yahoo.cn;向全永,E-mail:quangyongxiang@yahoo.com

数字出版日期:2014-4-8 14:29

数字出版网址:http://www.cnki.net/kcms/detail/21.1234.R.20140408.1429.056.html

通过对雌性大鼠进行去卵巢手术,再给予一定剂量雌二醇,观察雌激素对大鼠体重的调节、糖代谢的影响及机制。

### 1 材料与方法

1.1 主要试剂与仪器 17β-雌二醇(美国 Sigma 公司),Trizol 试剂(宝生物工程(大连)有限公司)。Light Cycler 480 II 荧光定量 PCR 仪(罗氏诊断产品(上海)有限公司),罗氏罗康全活力型血糖仪(德国罗氏公司)。

1.2 实验动物与处理 雌性 SD 大鼠 32 只(南通大学实验动物中心),使用许可证号:SCXK(苏)2008-0010。体重(180~200)g,随机分成假手术组、去卵巢组(双侧卵巢去除术)、雌二醇低、高剂量组,大鼠去卵巢后饲养 4 周使其内源性雌激素耗竭,皮下注射分别给予玉米油、100、400 μg/kg 雌二醇,注射量为 0.1 mL/100g,连续 2 周,期间定期测定大鼠体重和摄食量。

#### 1.3 观察指标与方法

1.3.1 体重与脂肪系数 收集腹腔内脂肪,计算脂肪系数。

1.3.2 口服葡萄糖耐量试验 大鼠禁食过夜 16 h,配置 30% 葡萄糖溶液,以 2 mg/kg 灌胃,采集尾血样本,在灌胃后 0、30、60、90 和 120 min 时,使用血糖仪检测大鼠血糖浓度,用梯形法计算血糖-时间曲线下面积(AUC)。

1.3.3 基因表达水平检测 取子宫周围脂肪和肝脏组织 100 mg,加入 Trizol、氯仿、异丙醇提取 RNA。cDNA 合成:65 °C 5 min,逆转录 42 °C 50 min,70 °C 15 min。采用实时荧光定量 PCR (qPCR) 检测 AQP7、AQP9、沉默信息调节因子 1 (silent information regulator 1, Sirt1) 基因 mRNA 表达水平,引物序列如下:AQP7 上游 5'-GGCCTAGTGCACAGTTA-GTG-3', 下游 5'-GGAGTTCCTGAGTACCTATG-3'; AQP9 上游 5'-GACACCACTGGTCTACAAAG-3', 下游 5'-GAAGGATGGAGTGGTTCAAG-3'; Sirt1 上游 5'-TGAAGAGGTGTTGGTGGC-3', 下游 5'-CATAGGTTAGGTGGCGAGTA-3'; β-actin 上游 5'-CTACAATGAGCTGCGTGTGG-3', 下游 5'-CTCGGAGTCCATCACAATG-3'; 反应条件:95 °C 5 s, 60 °C 30 s, 72 °C 30 s, 40 个循环,根据溶解曲线判

断 PCR 产物纯度。以 β-actin 为内参,采用相对定量法计算各基因 mRNA 表达水平。

1.3.4 组织形态学观察 取子宫周围脂肪和肝脏组织制备常规病理切片,苏木素-伊红染色(hematoxylin-eosin staining, HE),镜下观察组织形态学改变。

1.4 统计分析 采用 SPSS 17.0 统计软件进行数据录入和统计分析,组间均数比较采用非配对 t 检验,以 P < 0.05 为差异有统计学意义。

### 2 结果

2.1 雌激素对大鼠体重、摄食量和脂肪系数影响(表 1) 去卵巢大鼠平均体重较假手术组明显增加;与去卵巢组比较,雌二醇组大鼠体重下降明显。与假手术组比较,去卵巢组大鼠平均摄食量升高,大鼠内脏脂肪系数明显升高;与去卵巢组比较,雌二醇组大鼠摄食量和能量利用率下降,400 μg/kg 雌二醇组大鼠内脏脂肪系数则明显将低,差异均有统计学意义(P < 0.05)。

表 1 各组大鼠内脏脂肪系数及体重比较( $\bar{x} \pm s, n=8$ )

组别(μg/kg)	子宫周围脂肪 (×10 <sup>-2</sup> )	肾脏周围脂肪 (×10 <sup>-2</sup> )	体重(g)
假手术组	0.93 ± 0.19	1.10 ± 0.26	287.44 ± 13.18
去卵巢组	1.55 ± 0.48 <sup>a</sup>	2.02 ± 0.29 <sup>a</sup>	330.44 ± 25.09 <sup>a</sup>
雌二醇 100	0.84 ± 0.20 <sup>b</sup>	1.28 ± 0.28 <sup>b</sup>	283.23 ± 19.43 <sup>b</sup>
400	0.51 ± 0.13 <sup>ab</sup>	0.81 ± 0.09 <sup>ab</sup>	264.37 ± 14.88 <sup>ab</sup>

注:与假手术组比较,a P < 0.05;与去卵巢组比较,b P < 0.05。

2.2 雌激素对大鼠血糖浓度影响 各组大鼠在葡萄糖灌胃后 0、30、60 min 时血糖浓度无明显差异;葡萄糖灌胃后 90 min,去卵巢组大鼠血糖浓度达到(11.30 ± 0.50) mmol/L,明显高于假手术组和雌二醇组。假手术组、去卵巢组、雌二醇 100、400 μg/kg 组大鼠 AUC 依次为(1020 ± 85)、(1144 ± 17)、(989 ± 26)、(1051 ± 80),去卵巢组大鼠 AUC 明显增加,提示去卵巢组大鼠血糖调节能力受损。

2.3 雌激素对大鼠脂肪和肝脏组织 AQP、Sirt1 基因表达影响(表 2) 去卵巢组大鼠肝脏组织 AQP9 的表达水平明显高于假手术组及雌二醇组;与去卵巢组比较,400 μg/kg 雌二醇组大鼠子宫周围脂肪组织 AQP7 表达水平明显下降;去卵巢组大鼠肝脏组织 Sirt1 表达水平略有增加,但差异无统计学意义(P > 0.05)。

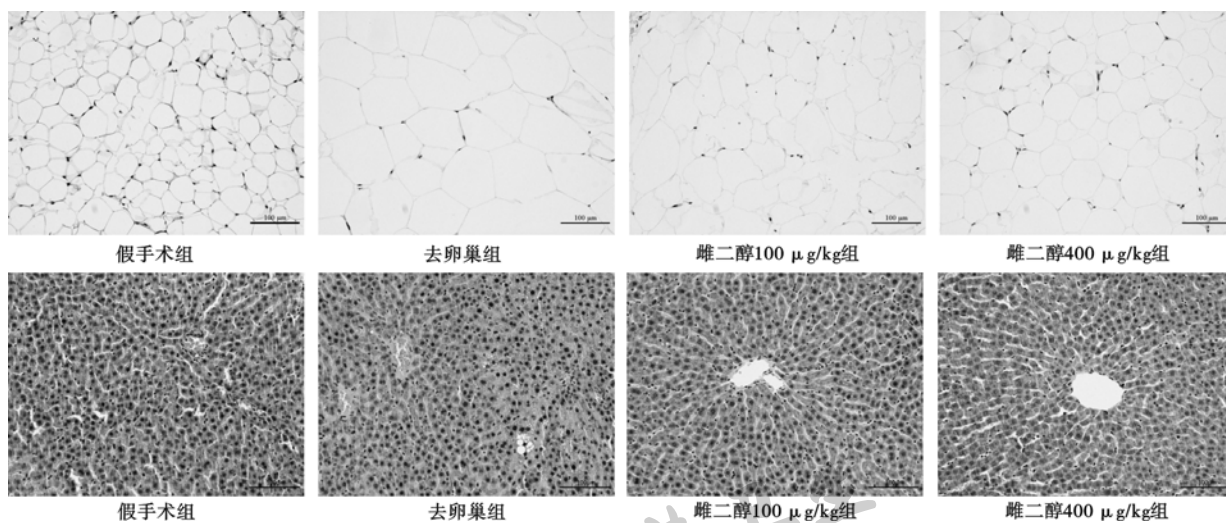
表 2 各组大鼠脂肪和肝脏组织 AQP、Sirt1 基因表达水平比较( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

组别(μg/kg)	肝脏		子宫周围脂肪	
	AQP9	Sirt1	AQP7	Sirt1
假手术组	1.04 ± 0.10	1.0 ± 0.20	1.00 ± 0.26	1.02 ± 0.22
去卵巢组	1.37 ± 0.17 <sup>a</sup>	1.09 ± 0.26	1.50 ± 0.48	0.93 ± 0.14
雌二醇 100	1.02 ± 0.27 <sup>b</sup>	0.92 ± 0.18	0.91 ± 0.34	0.94 ± 0.31
400	0.97 ± 0.22 <sup>b</sup>	0.90 ± 0.14	0.61 ± 0.34 <sup>b</sup>	0.88 ± 0.16

注:与假手术组比较,a P < 0.05;与去卵巢组比较,b P < 0.05。

2.4 脂肪和肝脏组织形态学改变(图 1) 与假手术组比较,去卵巢组大鼠肝脏中可见部分脂滴,子宫

周围脂肪细胞体积明显变大,而雌二醇组大鼠脂肪细胞的体积变小、个数增多。



注:A:子宫周围脂肪组织,B:肝脏组织。

图 4 脂肪和肝脏组织病理改变(HE, ×200)

### 3 讨论

绝经后女性雌激素分泌减少、肥胖率上升。本研究结果表明,去卵巢肥胖大鼠进食量明显高于假手术组,而给予雌二醇后大鼠摄食量下降,表明雌激素与摄食行为有关。Liang 等<sup>[4]</sup>在实验中发现雌激素治疗组与去卵巢组比较,每日摄食量降低 10% ~ 20%,相应的体重及腹部脂肪均比去卵巢组减少 14%。研究发现雌二醇能降低神经肽量<sup>[5-7]</sup>。神经肽位于下丘脑室旁核神经元内,可能是一种进食信号,具有增肥效应。有研究表明,雌二醇可以刺激瘦素分泌,进而抑制神经肽 Y 的产生,促进促黑色素细胞刺激素的释放,从而引起食欲下降,摄食减少<sup>[8]</sup>。

水-甘油通道蛋白在调节机体的甘油运输和脂质代谢方面具有重要意义,可能与肥胖等发生有关。本研究结果显示,雌激素缺乏导致肝脏 AQP9 和脂肪 AQP7 表达水平升高,而给予雌激素后其表达水平下降。有研究发现,如果 AQP9 表达异常升高,大量甘油进入肝细胞将引起脂肪合成和蓄积增加,从而导致脂肪肝的形成<sup>[9]</sup>。此外,AQP9 功能异常也与胰岛素抵抗等密切相关<sup>[10]</sup>。研究还发现 AQP7 基因敲除小鼠成年后出现肥胖和胰岛素抵抗现象<sup>[11]</sup>。但是肥胖人群脂肪组织中 AQP7 表达水平变化的报道结果却并不一致<sup>[12-13]</sup>。有研究称,Sirt1 参与调控甘油三酯在细胞中的积累<sup>[14]</sup>。但本研究结果显示,4 组大鼠的子宫周围脂肪及肝脏组织 Sirt1 表达水平差异无统计学意义。但 Sirt1 表达水平在细胞脂肪变性中可能作用,值得进一步探讨。

### 参考文献

[1] 朱旅云,刘坤申. 血管内皮功能与体脂含量、分布及胰岛素抵

抗的关系[J]. 解放军医学杂志,2003,28(8):739-741.  
 [2] Maeda N. Implications of aquaglyceroporins 7 and 9 in glycerol metabolism and metabolic syndrome [J]. Mol Aspects Med, 2012,33(5-6):665-675.  
 [3] Kim SO, Song SH, Hwang EC, et al. Changes in aquaporin (AQP) 2 and AQP3 expression in ovariectomized rat urinary bladder: potential implication of water permeability in urinary bladder[J]. World J Urol, 2012,30(2):207-212.  
 [4] Liang YQ, Akishita M, Kim S, et al. Estrogen receptor beta is involved in the anorectic action of estrogen [J]. Int J Obes Relat Metab Disord, 2002,26(8):1103-1109.  
 [5] 唐小玲,毛绍蓉. 更年期雌激素、孕酮、睾酮与肥胖的关系[J]. 标记免疫分析与临床,2010(2):132-133.  
 [6] 邱烈旺,顾陆响,吕琳,等. 水甘油通道蛋白在非酒精性脂肪变性肝细胞模型中的表达及意义[J]. 第三军医大学学报, 2012,34(7):622-626.  
 [7] 潘妹霞,张彩霞,肖本熙,等. 大豆异黄酮及雌激素对去势大鼠体重和 ghrelin 影响[J]. 中国公共卫生,2012,28(6):795-796.  
 [8] 张丽,陆颖理. 瘦素与脂肪肝[J]. 国外医学:内分泌学分册, 2004,24(1):65-67.  
 [9] Miranda M, Ceperuelo-Mallafre V, Lecube A, et al. Gene expression of paired abdominal adipose AQP7 and liver AQP9 in patients with morbid obesity: relationship with glucose abnormalities [J]. Metabolism, 2009,58(12):1762-1768.  
 [10] Postic C, Girard J. The role of the lipogenic pathway in the development of hepatic steatosis [J]. Diabetes Metab, 2008, 34: 643-648.  
 [11] Hibuse T, Maeda N, Funahashi T, et al. Aquaporin 7 deficiency is associated with development of obesity through activation of adipose glycerol kinase [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2005, 102(31):10993-10998.  
 [12] Rodríguez A, Catalan V, Gomez-Ambrosi J, et al. Insulin- and leptin-mediated control of aquaglyceroporins in human adipocytes and hepatocytes is mediated via the PI3K/Akt/mTOR signaling cascade [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2011,96(4):E586-E597.  
 [13] Ceperuelo-Mallafre V, Miranda M, Chacon MR, et al. Adipose tissue expression of the glycerol channel aquaporin-7 gene is altered in severe obesity but not in type 2 diabetes [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2007,92(9):3640-3645.  
 [14] Picard F, Kurtev M, Chung N, et al. Sirt1 promotes fat mobilization in white adipocytes by repressing PPAR-gamma [J]. Nature, 2004,429:771-776.