

doi:10.3969/j.issn.1000-9760.2011.04.004

长期高脂饲料喂养致小鼠肥胖模型的建立

崔立坤

(济宁医学院基础医学与法医学院, 山东 济宁 272067)

摘要 目的 长期高脂饲料喂养致小鼠肥胖模型并探讨其糖脂代谢的特点。方法 采用高脂饲料喂养小鼠三个月,实验结束时测定血糖、血脂、肝体系数和脂体系数,实时荧光定量 PCR 方法检测肝脏、骨骼肌中脂代谢关键基因 mRNA 水平。结果 长期高脂饲料喂养可升高小鼠的血糖、血脂和脂体系数;降低肝脏、骨骼肌中 CPT1mRNA 的表达($P < 0.05$)。结论 长期高脂饲料喂养可引起小鼠的脂代谢紊乱及糖耐量的异常。

关键词 高脂饲料;高脂血症;小鼠

中图分类号:R331 文献标识码:A 文章编号:1000-9760(2011)08-240-03

Establishment of obesity mouse model by long-term high fat diet

CUI Li-kun

(Academy of Basic and Forensic Medicine, Jining Medical University, Jining 272067, China)

Abstract: Objective To establish the obesity mouse model by long-term high fat diet and explore the characteristics of glucose and lipid metabolism. **Methods** The mice were treated with high fat diet for three months. Their serum levels of sugar and lipid, and index of liver and fat to body weight were also measured. The quantitative analysis of mRNA expression of genes related to lipid metabolism was performed by real-time PCR. **Results** Compared with control group serum glucose level, serum lipid level and index of fat to body weight were remarkably increased in the group of high fat diet, while the expression of CPT1 mRNA in liver and muscle were reduced ($P < 0.05$). **Conclusion** Long-term high fat diet could induce hyperlipidemia and the abnormality of glucose tolerance in mice.

Key words: High fat diet; Hyperlipidemia

随着经济的发展,生活水平的提高,人们的饮食习惯部分地转向高脂高蛋白饮食,肥胖患病与日俱增,肥胖者常伴有脂代谢紊乱,表现为高脂血症,而高脂血症与冠心病、高血压病和糖尿病等多种疾病紧密相关。本实验通过高脂饲料喂养建立稳定的小鼠肥胖模型,探讨肥胖小鼠脂代谢的特点,为临床研究肥胖、高脂血症及减肥、降脂药物的研究提供稳定的实验模型。

1 材料与方

1.1 动物与分组

5~6 周龄的雄性 C57BL/6J 小鼠 24 只,随机分为 2 组:对照组和高脂饲料组。对照组用普通饲料喂养;高脂饲料组用高脂饲料喂养,连续 3 个月。

1.2 主要仪器和试剂

BP121S 型电子分析天平(北京赛多利斯有限公司产品),550 型酶标仪(美国 Bio-RAD 公司产

品);葡萄糖检测试剂盒、总胆固醇检测试剂盒均购于上海荣盛生物技术有限公司,甘油三酯检测试剂盒、高密度脂蛋白胆固醇检测试剂盒均购于浙江东瓯生物工程有限公司,游离脂肪酸检测试剂盒购于南京建成生物工程研究所。

1.3 高脂饲料配方 见表 1。

表 1 高脂饲料配方

成分	比例(%)	成分	比例(%)
酪蛋白	22.8	重酒酸胆碱	0.2
糊精	17	蔗糖	17.5
DL-甲硫氨酸	0.2	豆油	2.5
矿物质	4	氢化椰子油	33.35
碳酸氢钠	10.5	柠檬酸钾	0.4
维生素	1		

1.4 葡萄糖耐量测试(oral glucose tolerance test, OGTT)

处死小鼠前 1 周禁食 12h,灌胃给予葡萄糖(2g/kg)。自小鼠尾静脉采血测定给予葡萄糖前

和给予葡萄糖后 0、30、60 和 120 min 时血糖值,并根据此值计算血糖随时间变化的曲线下面积(AUC)。

1.5 取材

实验结束时小鼠禁食 12h,称重后处死,收集肝脏、腹内脂肪、骨骼肌,计算肝体系数和脂体系数。

$$\text{肝/脂体系数} = \frac{\text{肝脏/脂肪重量}}{\text{动物体重}} \times 100\%$$

1.6 测定指标

实验结束时小鼠禁食 12h,采集血液,离心后收集血清。按照试剂盒说明书测定血清中甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)和游离脂肪酸(FFA)含量;采用实时荧光定量 PCR 方法检测肝脏、骨骼肌中脂代谢关键基因 mRNA 水平。

1.7 统计方法

实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,计量资料用 t 检验进行组间比较。

2 结果

2.1 长期高脂饲料喂养对小鼠体重、肝体系数和脂体系数的影响

由表 2 可以看出实验结束时高脂饲料喂养组小鼠体重和脂体系数明显高于对照组($P < 0.01$);肝体系数有所增加,但并没有统计学差异。

表 2 实验动物体重、肝体系数及脂体系数的变化($\bar{x} \pm s, n=12$)

组别	实验前体重(g)	实验结束时体重(g)	肝体系数	脂体系数
对照组	18.2±1.63	30.7±2.13	3.66±0.32	2.1±0.55
高脂饲料组	18.2±1.79	35.0±3.39	3.79±0.27	4.6±1.80
t		3.72	1.08	4.6
P		<0.01	>0.05	<0.01

2.2 长期高脂饲料喂养对小鼠血液生化的影响

由表 3 可以看出高脂饲料喂养组小鼠血糖、甘油三酯、总胆固醇和游离脂肪酸水平均高于对照组($P < 0.05$)。

表 3 长期高脂饲料喂养对小鼠血糖、血脂的影响($\bar{x} \pm s, n=12$)

组别	GLU (mmol/L)	TG (mmol/L)	HDL-C (mmol/L)	TC (mmol/L)	FFA (mmol/L)
对照组	5.21±1.05	0.98±0.3	1.20±0.12	2.49±0.42	4.23±1.15
高脂饲料组	7.03±1.20	1.19±0.24	1.70±0.11	3.66±0.43	5.26±1.62
t	3.95	1.89	10.64	6.74	1.79
P	<0.01	<0.05	<0.01	<0.01	<0.05

2.3 长期高脂饲料喂养对小鼠葡萄糖耐量的影响

高脂饲料组 AUC 比对照组显著增加($P < 0.05$),表明其葡萄糖耐受性比对照组小鼠显著下降。

表 4 长期高脂饲料喂养对小鼠葡萄糖耐量的影响($\bar{x} \pm s, n=12$)

组别	GLU(mmol/L)				AUC (mol·min/L)
	0 min	30 min	60 min	120 min	
对照组	5.18±1.05	15.86±2.41	9.74±2.33	5.40±0.84	1.05±0.16
高脂饲料组	7.18±1.20	15.82±3.02	10.45±0.81	7.82±1.47	1.29±0.13
t					4.03
P					<0.01

2.4 肝脏组织 HE 染色

高脂饲料喂养小鼠肝脏中遍布脂滴(石蜡切片中为白色圆形),说明高脂饲料喂养小鼠与对照组相比肝脏中脂肪含量丰富(见图 1、2)。

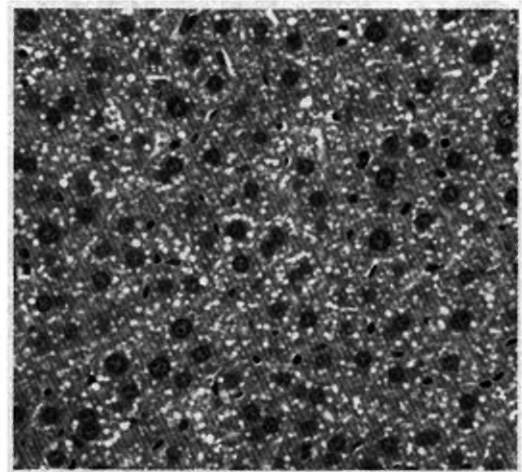


图 1 对照组小鼠肝脏组织 HE 染色(×400)

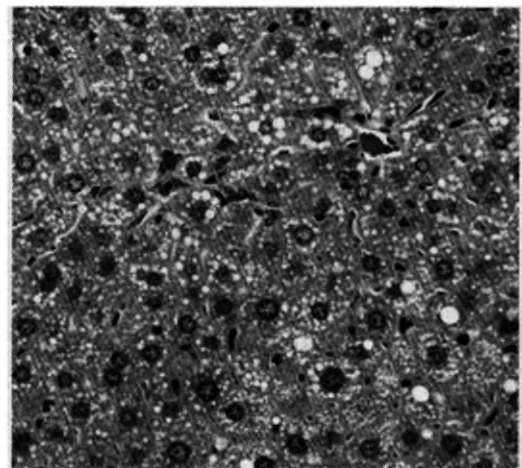


图 2 高脂饲料组肝脏组织 HE 染色(×400)

2.5 长期高脂饲料喂养对小鼠肝脏、骨骼肌脂代谢关键基因 mRNA 的影响

由表 5 可以看出高脂饲料组与对照组相比 CPT1mRNA 相对表达量明显降低。

表 5 长期高脂饲料喂养对小鼠肝脏和骨骼肌 CPT1mRNA 相对表达量的影响($\bar{x} \pm s, n=12$)

组别	肝脏 CPT1	骨骼肌 CPT1
对照组	1.00±0.07	1.00±0.05
高脂饲料组	0.38±0.08	0.38±0.02
<i>t</i>	10.1	19.94
<i>P</i>	<0.01	<0.01

3 讨论

肥胖、脂代谢紊乱和胰岛素抵抗密切相关,当今社会由于膳食结构不合理,高糖高脂食物摄入过多,从而导致血脂异常现象,如高胆固醇、高甘油三酯、高游离脂肪酸。长期研究发现脂代谢紊乱和胰岛素抵抗互为因果,是一系列代谢相关疾病产生的重要原因^[1]。

本研究中,采用高脂饮食喂养致脂代谢紊乱的肥胖模型。实验中通过观察动物体重的变化发现,高脂饲料组小鼠体重明显高于对照组,表明肥胖模型已经形成。高脂饲料组小鼠的脂体系数明显高于对照组,说明高脂饲料组小鼠体重的增加部分原因是脂肪组织在动物体内积聚的结果;高脂饲料组小鼠肝体系数与对照组相比虽无统计学差异,但在体重明显增加的同时也有增大,取材时发现高脂饲料组小鼠肝脏重量增加,肝脏组织 HE 染色显示高脂饲料喂养小鼠与对照组相比肝脏中脂肪含量增加,进一步证明了肝脏增大的原因是脂肪在肝脏积聚的结果。长期高脂饲料喂养形成肥胖模型后,高脂饲料组小鼠甘油三酯、总胆固醇、游离脂肪酸水

平均高于对照组,表明小鼠在形成肥胖的同时也出现了脂代谢的紊乱。体内脂肪代谢,是分解代谢和合成代谢综合作用的结果,涉及多基因表达的调控,其中 CPT1 是脂肪酸转运入线粒体进行氧化的关键酶^[3],高脂饲料组与对照组相比 CPT1mRNA 相对表达量明显降低,脂类物质氧化利用减少,可以部分的解释高脂饲料组体内脂类物质积聚的原因,其具体机制有待进一步研究。

肝脏是胰岛素产生作用的主要器官,脂类物质在肝脏的积聚是产生胰岛素抵抗的重要原因^[2-3],肥胖小鼠伴有葡萄糖耐量异常,呈胰岛素抵抗状态^[4],在本实验中高脂饲料组小鼠在葡萄糖耐量 AUC、餐后血糖值常均高于对照组,表明长期高脂饲料喂养的肥胖小鼠可能存在胰岛素抵抗。

通过本实验我们发现肥胖小鼠伴有脂代谢紊乱和糖耐量的异常,本模型可为高脂血症、肥胖及相关药物的研究提供稳定的实验模型。

参考文献:

- [1] 陈金仲,邵豪. 脂代谢紊乱与胰岛素抵抗的相关研究进展[J]. 中国实用医学,2008,3(7):147-149.
- [2] Tanaka T, Yamamoto J, Iwasaki S, et al. Activation of peroxisome proliferator-activated receptor δ induces fatty acid β -oxidation in skeletal muscle and attenuates metabolic syndrome[J]. PNAS,2003,100(6):15924-15929.
- [3] Bruce CR, Hoy AJ, Turner N, et al. Overexpression of carnitine palmitoyltransferase-1 in skeletal muscle is sufficient to enhance fatty acid oxidation and improve high-fat diet-induced insulin resistance[J]. Diabetes,2009,58(3):550-558.
- [4] Kahn BB, Flier JS. Obesity and insulin resistance[J]. J Clin Invest,2000,106:473-481.

(收稿日期 2011-07-03)

(上接第 239 页)

参考文献:

- [1] Sanyog Jain, Rakesh Kumar Sharma, S. P. Vyas. Chitosan nanoparticles encapsulated vesicular systems for oral immunization: *p* repairation, in-vitro and in-vivo characterization[J]. Journal of Pharmacy & Pharmacology, 2006, 58(3): 303-310.
- [2] Khaksa G, D'Souza R, Lewis S, et al. Pharmacokinetic study of Niosome encapsulated insulin[J]. Indian Journal Of Experimental Biology, 2000, 38(9): 901-905.
- [3] 赵晓宇,李慧,张保献. 新型药物载体非离子囊泡的制备和研究进展[J]. 国际药学研究杂志, 2007, 34(6): 439-441.
- [4] Manconi M, Sinico C, Valenti D, et al. Niosomes as carriers

fort retinoin III. A study into the in vitro cutaneous delivery of resicle tretinoin[J]. Int J Pharm, 2006, 311(1): 11-19.

- [5] 陆彬. 作为载体系统的聚合物胶束和囊泡的研究[J]. 河南大学学报(医学版), 2008, 27(1): 1-3.
- [6] Pardakhty A, Varshosaz J, Rouholamini A, et al. In vitro study of polyoxyet H₁₂ alkyl niosomes for delivery of insulin[J]. Int J Pharm, 2007, 328(2): 130-132.
- [7] 时明. 抗菌新药头孢匹胺的脂质体的研究[J]. 山东大学硕士学位论文, 2009, 11(25).
- [8] 陈腾,余锦芬. 头孢匹胺钠与木糖醇注射液配伍的稳定性考察[J]. 中国药师, 2007, 3(22): 832-833.
- [9] 袁悦,王红霞,刘岩,等. 类脂囊泡作为 5-氟尿嘧啶药物载体的研究[J]. 分子科学学报, 2010, 12(6): 420-423.

(收稿日期 2011-07-03)