

· 论著 ·

雌激素对去卵巢大鼠内脏脂肪细胞脂肪因子表达水平的影响

田清武 孙树凯 翟玉娥 赵鹏 赵涵 申井利 翟木绪

【摘要】 目的 观察雌激素对去卵巢大鼠内脏脂肪细胞瘦素、脂联素、抵抗素和肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 表达水平的影响,探讨雌激素对体脂分布的影响机制。**方法** 6 周龄 Sprague-Dawley 雌性大鼠 30 只,采用随机数字表法分成 3 组:假手术组、去卵巢组和去卵巢 + 戊酸雌二醇组 (OVX + E₂ 组),每组 10 只。术后 1 周,OVX + E₂ 组大鼠每天按 1 mg/kg 体重灌胃戊酸雌二醇水溶液,其他组大鼠灌胃等体积蒸馏水。连续给药 12 周后,腹主动脉取血,迅速剥离内脏脂肪组织。采用全自动生化分析仪检测血脂、血糖。采用免疫组化染色、实时荧光定量 RT-PCR 和 Western 印迹检测脂肪细胞瘦素、脂联素、抵抗素和 TNF- α 的表达。**结果** 3 组血清瘦素、脂联素和抵抗素水平差异无统计学意义 (P 均 >0.05),但去卵巢组 TNF- α 水平显著高于假手术组 ($F=4.785, P<0.05$)。免疫组化显示,与假手术组相比,去卵巢组内脏脂肪组织中瘦素表达明显减弱,而脂联素、抵抗素和 TNF- α 表达明显增强;与去卵巢组相比,OVX + E₂ 组内脏脂肪组织中瘦素表达明显增强,脂联素、抵抗素和 TNF- α 表达明显减弱 ($F=3.712 \sim 5.198, P$ 均 <0.05)。3 组内脏脂肪细胞瘦素 mRNA 和蛋白表达水平差异无统计学意义 (P 均 >0.05);去卵巢组内脏脂肪细胞脂联素、抵抗素和 TNF- α 的 mRNA 和蛋白表达水平显著高于假手术组,而 OVX + E₂ 组内脏脂肪细胞脂联素、抵抗素和 TNF- α 的 mRNA 和蛋白表达水平显著低于去卵巢组 ($F=3.175 \sim 5.342, P$ 均 <0.05)。**结论** 雌激素可通过下调去卵巢大鼠内脏脂肪细胞脂联素、抵抗素和 TNF- α 的表达,进而影响去卵巢大鼠体脂再分布。

【关键词】 卵巢切除;脂肪组织;脂肪因子

基金项目:青岛经济技术开发区重点科技发展计划项目(2013-1-83)

Effects of estrogen on the expression of adipokines in visceral fat cells in ovariectomized rats Tian Qingwu*, Sun Shukai, Zhai Yu'e, Zhao Peng, Zhao Han, Shen Jingli, Zhai Muxu. Department of Laboratory, The Affiliated Hospital of Qingdao University, Qingdao 266555, China
Corresponding author: Zhai Muxu, Email: mxzhai@163.com

【Abstract】 Objective To observe the effects of estrogen on the expression of leptin, adiponectin, resistin and tumor necrosis factor- α (TNF- α) in visceral fat cells in ovariectomized rats and to investigate the mechanism of estrogen on body fat distribution. **Methods** A total of 30 female Sprague-Dawley (SD) rats (6 weeks) were divided into three groups by random number table method: sham operation group, ovariectomy group and ovariectomy combined with estrogen treatment group (OVX + E₂ group), with 10 rats in each group. One week after surgery, rats in OVX + E₂ group were gavaged with estradiol valerate (1 mg/kg) whereas rats in the other groups were gavaged with the same volume of distilled water per day for 12 weeks. Blood was obtained from abdominal aorta, and then the visceral adipose tissue was quickly removed. Blood glucose and lipids were measured by full automatic biochemical analyzer. Expression of leptin, adiponectin, resistin and TNF- α were detected by immunocytochemical staining, real-time fluorescence quantitative RT-PCR and Western blotting, respectively. **Results** There were no significant differences in serum leptin, adiponectin and resistin among three groups (all $P>0.05$), but serum TNF- α was significantly higher in ovariectomy group than that in sham operation group ($F=4.785, P<0.05$). Immunohistochemical staining

showed that the expression of leptin in visceral adipose tissue of ovariectomy group was significantly decreased, and adiponectin, resistin and TNF- α were increased greatly compared with those in sham operation group. The expression of leptin was enhanced, whereas expression of adiponectin, resistin and TNF- α were significantly decreased in OVX + E₂ group compared with those in ovariectomy group ($F = 3.712-5.198$, all $P < 0.05$). There were no significant differences in leptin mRNA and protein expression in visceral adipocyte among three groups (all $P > 0.05$). The mRNA and protein of adiponectin, resistin and TNF- α were significantly higher in visceral fat cells of OVX + E₂ group than those of sham operation group, and were significantly lower in visceral fat cells of OVX + E₂ group compared with those of ovariectomy group ($F = 3.175-5.342$, all $P < 0.05$). **Conclusion** Estrogen affects the redistribution of body fat in ovariectomized rats through downregulating the expression of adiponectin, resistin and TNF- α in visceral fat cells.

【Key words】 Ovariectomy; Adipose tissue; Adipokine

Fund program: Key Science and Technology Development Project of Qingdao Economic and Technological Development Zone (2013-1-83)

脂肪组织不仅是一个能源储存器官,而且是一个重要的内分泌器官,可分泌多种脂肪因子,包括瘦素、脂联素、抵抗素、肿瘤坏死因子(TNF)- α 等。这些因子通过多种机制影响机体的能量平衡和糖、脂代谢,进而调控体脂量。绝经后女性存在体脂再分布的倾向,特别是内脏脂肪组织增多,进而导致肥胖相关疾病如代谢综合征、糖尿病、心血管疾病的发病风险增加,严重影响身心健康。研究证实,绝经后女性雌激素的缺乏与其内脏脂肪堆积密切相关,但其具体机制尚未完全阐明^[1-2]。本研究以去卵巢大鼠为研究对象,观察外源性雌激素对脂肪因子表达水平的影响,进而探讨雌激素影响脂肪分布的可能机制。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 6 周龄 Sprague-Dawley 雌性大鼠 30 只,体重(200 ± 20)g,由青岛药品研究所实验动物中心提供[许可证号:SCXK(鲁)201400061,批号:0028322]。分笼饲养,室温 23 ~ 25℃,相对湿度 50% ~ 70%,使用普通饲料,自由饮水。

1.1.2 主要试剂及设备 补佳乐(法国 DELPHARM LilleS. A. S 公司),每片含 1 mg 戊酸雌二醇。Trizol 试剂盒(美国 Invitrogen 公司),PCR 引物(上海生工生物工程技术有限公司),FastQuant cDNA 第一链合成试剂盒、SuperReal 荧光定量 PCR (SYBR Green)试剂盒(北京天根生物技术公司),兔抗鼠瘦素单克隆抗体、兔抗鼠脂联素单克隆抗体、兔抗鼠 TNF- α 单克隆抗体(英国 abcam 公司),兔抗鼠抵抗素单克隆抗体(英国 Biorbyt 公司),山羊抗兔二抗 PV-6001、DAB 显色试剂盒(北京中杉金桥生物有限公司),脂联素、瘦素、抵抗素、TNF- α 酶联免疫检测试剂盒(武汉伊莱瑞特生物科技公司)。

实验用仪器主要有高速低温离心机(德国 Heraeus),微量可调移液器(德国 Eppendorf),微量核酸测量仪(瑞典 Amershan),超声匀浆器(德国 IKA),Stratagene MX3000 PCR 扩增仪(美国 Agilent),贝克曼 AU5400 全自动生化分析仪(美国 Beckman),Leica A、Leica EG1150H 包埋机、Leica RM2235 切片机(德国 Leica)。

1.2 方法

1.2.1 去卵巢大鼠模型的建立 Sprague-Dawley 大鼠适应性喂养 1 周后,采用随机数字表法分成假手术组($n = 10$)和手术组($n = 20$)。手术前大鼠禁食 12 h,腹腔注射 10% 水合氯醛麻醉。假手术组无菌条件下经腰背部双侧切口进入腹腔,摘除腹腔内卵巢体积大小脂肪组织,即可缝合切口。手术组打开腹腔,切除双侧卵巢,切口分层缝合。术后用青霉素注射 3 d,防止伤口感染。术后 1 周美蓝染色观察阴道上皮细胞,如无动情周期变化则确定去势成功,术后 1 周开始干预。

1.2.2 实验动物分组及给药方法 手术恢复 1 周后,手术组大鼠再采用随机数字表法分成去卵巢组($n = 10$)和去卵巢 + 戊酸雌二醇组(OVX + E₂组, $n = 10$)。OVX + E₂组每天灌胃戊酸雌二醇水溶液,给药剂量为 1 mg/kg,而其他组给予相应体积的蒸馏水,连续给药 12 周,每周称重 1 次,按体重调整药量。以假手术组每日平均进食量为标准,控制其他各组饲料摄入量。

1.2.3 样品采集与制备 12 周后所有大鼠禁食过夜,称重。采用腹腔注射 10% 水合氯醛溶液麻醉,然后把大鼠固定于手术台,腹主动脉取血,以 4 000 r/min ($r = 16$ cm)离心 10 min 分离血清,于 -20℃ 保存。取血后迅速剥离内脏脂肪组织,用

预冷生理盐水洗净血液,滤纸吸干组织表面水分,并分别称重,计算内脏脂肪指数(内脏脂肪重量/体重 \times 100%)。然后取部分内脏脂肪组织速冻于液氮中,隔日移入 -80°C 冰箱中保存,用于后续 mRNA 和免疫组化检测。

1.2.4 血清中指标的检测 取大鼠血清,室温复溶后用全自动生化分析仪测定葡萄糖、总胆固醇、甘油三酯、低密度脂蛋白-胆固醇(LDL-C)、高密度脂蛋白-胆固醇(HDL-C),ELISA法检测瘦素、脂联素、抵抗素和 TNF- α 水平。

1.2.5 免疫组化方法 取材后 4% 多聚甲醛固定,经乙醇梯度脱水、二甲苯透明、浸蜡、包埋制成蜡块。常规石蜡切片, 64°C 烤片 60 min,梯度酒精脱蜡至水,抗原热修复,3% 过氧化氢 10 min 灭活内源性酶。山羊血清工作液封闭, 37°C 10 min。分别加稀释好的一抗脂联素(1:300)、瘦素(1:300)、抵抗素(1:200)、TNF- α (1:300) 37°C 孵育 1 h。PBS 清洗后加二抗 PV-6001, 37°C 30 min, PBS 清洗后加 DAB 显色 1 min,清洗,苏木素复染、脱水、透明、封片,显微镜观察、拍照。灰度分析采用 Image-Pro Plus 6.0 图像分析软件。

1.2.6 RT-PCR 测定内脏脂肪组织中脂联素、瘦素、抵抗素、TNF- α mRNA 水平 提取内脏脂肪组织总 RNA,紫外分光光度计检测确定总 RNA 浓度及纯度。严格按照 cDNA 第一链合成试剂盒说明,合成 cDNA 第一链。取 2 μl 合成的 cDNA 产物及相应的上、下游引物加入 SuperReal PreMix Plus 实时荧光定量 PCR 反应体系中,总反应体系为 20 μl ,扩增条件为 95°C 预变性 15 min, 95°C 10 s, 60°C 30 s, 40 个循环, β -actin 作为内参。以 β -actin 基因的表达量作为内参来校正目的基因的表达量,结果以 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 表示,实验重复 3 次取平均值。RT-PCR 引物序列由上海生工生物工程技术有限公司设计、合成,见表 1。

表 1 RT-PCR 引物序列

指标	引物	产物长度
TNF- α	上游引物 5'-GCTCCCTCTCATCAGTTCCA-3'	102 bp
	下游引物 5'-GCTTGCTGGTTTGCTACGAC-3'	
脂联素	上游引物 5'-ACAAGGCCGTTCTCTTCACCC-3'	111 bp
	下游引物 5'-ACACTTGGAGCCAGACTTGG-3'	
抵抗素	上游引物 5'-TCATGCCAGAACCGAGTTG-3'	148 bp
	下游引物 5'-GGCTTCATCCATGGGACACA-3'	
瘦素	上游引物 5'-AGCAGCTGCAAGGTCCAAG-3'	197 bp
	下游引物 5'-CCGACTGCGTGTGTGAAATG-3'	
β -actin	上游引物 5'-CCCATCTATGAGGGTTACGC-3'	165 bp
	下游引物 5'-TTTAATGTACGCACGATTTC-3'	

注:TNF- α :肿瘤坏死因子- α

1.2.7 Western 印迹检测大鼠内脏脂肪中瘦素、脂联素、抵抗素和 TNF- α 的表达 取适量冻存的大鼠内脏脂肪组织,提取组织中的总蛋白,取上清用 BCA 法测定蛋白含量。取提取的总蛋白 30 μg 经 12% SDS-PAGE 分离后,转至硝酸纤维素(PVDF)膜,用 5% 脱脂奶粉封闭 2 h,随后加入稀释后兔抗鼠瘦素(1:500)、脂联素(1:500)、抵抗素(1:300)和 TNF- α (1:500)抗体, 4°C 过夜。用 TBST 洗膜,加入稀释后羊抗兔 HRP 标记的二抗(1:10 000),室温孵育 2 h,再用 TBST 洗膜。取 PVDF 膜置于凝胶成像仪中,然后进行发光,显影,定影,电脑观察蛋白质条带,并成像记录,计算灰度值。

1.3 统计学处理 采用 SPSS 17.0 软件包进行统计学分析,计量资料为正态分布数据,以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,组间比较采用 LSD- t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组一般资料比较 3 组初始体重、初始身长、终末身长以及空腹血糖、总胆固醇水平差异无统计学意义(P 均 > 0.05),去卵巢组血清甘油三酯水平、终末体重显著高于假手术组(P 均 < 0.05),而去卵巢组和 OVX + E_2 组间终末体重差异无统计学意义($P > 0.05$);与假手术组相比,去卵巢组内脏脂肪指数、血清 LDL-C 水平显著升高,而血清 HDL-C 水平显著降低($P < 0.05$);与去卵巢组相比,OVX + E_2 组内脏脂肪指数、血清 LDL-C 水平显著降低,而血清 HDL-C 水平显著升高($P < 0.05$),见表 2。

2.2 血清瘦素、脂联素、抵抗素、TNF- α 水平比较 3 组血清瘦素、脂联素和抵抗素水平的差异无统计学意义(P 均 > 0.05),去卵巢组 TNF- α 水平显著高于假手术组($F = 4.785, P < 0.05$),见表 3。

2.3 内脏脂肪组织脂肪因子免疫组化染色结果 免疫组化显示,瘦素、脂联素、抵抗素和 TNF- α 均在脂肪细胞胞质表达,棕黄色颗粒散在分布,细胞核内几乎没有表达。图像扫描分析显示,与假手术组相比,去卵巢组内脏脂肪组织中瘦素表达显著减弱,而脂联素、抵抗素和 TNF- α 表达显著增强;与去卵巢组相比,OVX + E_2 组内脏脂肪组织中瘦素表达显著增强,而脂联素、抵抗素和 TNF- α 显著减弱($F = 3.712 \sim 5.198, P$ 均 < 0.05),见图 1(封 3)。

2.4 实时荧光定量 PCR 结果 3 组内脏脂肪组织瘦素 mRNA 表达水平差异无统计学意义($P > 0.05$);去卵巢组内脏脂肪组织脂联素、抵抗素

表 2 3 组大鼠一般资料的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	初始 体重(g)	终末 体重(g)	初始 身长(cm)	终末 身长(cm)	内脏脂肪 指数(%)
假手术组	10	240.7 ± 25.8	359.9 ± 33.4	18.0 ± 1.3	22.7 ± 0.9	5.18 ± 1.35
去卵巢组	10	229.0 ± 20.1	387.6 ± 33.5 ^a	17.8 ± 1.3	22.8 ± 1.1	7.17 ± 1.68 ^a
OVX + E ₂ 组	10	233.9 ± 16.4	370.8 ± 21.2	17.6 ± 1.4	22.9 ± 0.6	4.17 ± 1.18 ^b
F 值		0.530	4.968	0.493	0.682	6.233
P 值		0.595	0.016	0.616	0.514	0.006

组别	例数	空腹血糖 (mmol/L)	甘油三酯 (mmol/L)	总胆固醇 (mmol/L)	LDL-C (mmol/L)	HDL-C (mmol/L)
假手术组	10	10.48 ± 2.07	0.98 ± 0.48	1.77 ± 0.33	0.32 ± 0.06	1.32 ± 0.24
去卵巢组	10	10.32 ± 2.83	1.22 ± 0.55 ^a	1.72 ± 0.66	0.48 ± 0.11 ^a	0.97 ± 0.30 ^a
OVX + E ₂ 组	10	11.55 ± 2.19	1.15 ± 0.63 ^a	1.68 ± 0.25	0.41 ± 0.10 ^b	1.20 ± 0.20 ^b
F 值		1.559	5.265	1.362	7.134	8.134
P 值		0.229	0.015	0.247	0.009	0.002

注:OVX + E₂ 组: 去卵巢 + 戊酸雌二醇组; LDL-C: 低密度脂蛋白-胆固醇; HDL-C: 高密度脂蛋白-胆固醇; 与假手术组相比, ^a $P < 0.05$; 与去卵巢组相比, ^b $P < 0.05$

表 3 3 组大鼠血清中瘦素、脂联素、抵抗素、TNF- α 水平检测结果比较($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	瘦素($\mu\text{g/L}$)	脂联素($\mu\text{g/L}$)	抵抗素($\mu\text{g/L}$)	TNF- α (ng/L)
假手术组	10	4.41 ± 0.43	4.15 ± 0.35	12.42 ± 2.35	120.37 ± 10.34
去卵巢组	10	3.66 ± 0.39	4.39 ± 0.50	13.58 ± 3.24	169.39 ± 17.65 ^a
OVX + E ₂ 组	10	4.25 ± 0.51	4.26 ± 0.46	12.27 ± 2.75	135.62 ± 14.54
F 值		2.638	0.158	1.163	4.785
P 值		0.092	0.855	0.330	0.017

注:OVX + E₂ 组: 去卵巢 + 戊酸雌二醇组; TNF- α : 肿瘤坏死因子- α ; 与假手术组相比, ^a $P < 0.05$

和 TNF- α 的 mRNA 表达水平显著高于假手术组, 而 OVX + E₂ 组内脏脂肪组织脂联素、抵抗素和 TNF- α 的 mRNA 表达水平显著低于去卵巢组 (P 均 < 0.05); OVX + E₂ 组与假手术组间各指标的差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见表 4。

2.5 Western 印迹结果 3 组内脏脂肪组织瘦素蛋白表达差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。与假手术组相比, 去卵巢组内脏脂肪组织脂联素、抵抗素和 TNF- α 蛋白表达水平显著升高 ($P < 0.05$); 与去卵巢组相比, OVX + E₂ 组内脏脂肪组织脂联素、抵抗素和 TNF- α 蛋白表达水平显著降低 ($F = 3.175 \sim 4.894$, P 均 < 0.05), 见图 2。

3 讨论

绝经后女性超重和肥胖, 特别是腹型肥胖的发病率较绝经前显著升高, 这种绝经后女性脂肪组织的再分布促进了一系列代谢性疾病的发生, 特别是代谢综合征患病率显著增加, 加速了动脉粥样硬化的进展^[3]。但引发绝经后女性肥胖和体脂再分布的机制尚未完全阐明, 其中绝经后女性雌激素缺乏可能是一个重要肥胖触发因素^[4]。本实验以去卵巢大鼠为动物模型, 造成体内雌激素水平的降低, 以模拟女性绝经后状态。结果显示, 去卵巢大鼠喂养

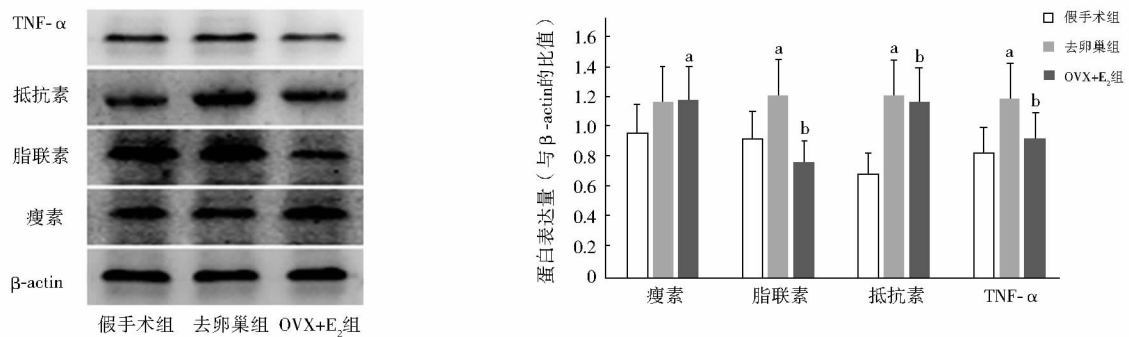
3 个月后, 与假手术组相比, 在初始和终末身长无显著差异的情况下, 去卵巢大鼠体重以及内脏脂肪指数显著增加, 血清 LDL-C 水平逐渐升高, 而 HDL-C 逐渐降低, 说明去卵巢造成的雌激素缺乏, 可引起脂代谢紊乱, 导致肥胖和体内脂肪的堆积, 特别是内脏脂肪堆积。而雌激素替代治疗后, 去卵巢大鼠体重及内脏脂肪指数有所下降, 血脂水平有所改善, 提示雌激素可逆转去卵巢大鼠血脂谱的改变以及体脂的再分布。这与 Pantaleão 等^[5]研究结果一致。

有研究认为雌激素及其受体 (ER) 对脂肪组织的代谢和分布发挥重要影响, 人体皮下和内脏脂肪组织均表达 ER α 和 ER β ^[6]。其中, ER α 在脂肪细胞的活性和脂肪分布的性别差异方面发挥主要作用。无论雌性还是雄性, ER α 基因敲除小鼠均表现为腹型肥胖、严重的胰岛素抵抗和糖尿病^[7-8]。ER α 基因多态性与脂肪组织的堆积, 尤其是内脏脂肪组织的堆积密切相关^[9-10]。雌激素可由 ER α 介导上调内脏脂肪组织 β 肾上腺素能受体表达, 增强肾上腺素的脂解作用, 以减少内脏脂肪的堆积。雌激素还可通过下调脂蛋白脂肪酶的活性, 减少脂肪的生成直接, 抑制脂肪组织堆积。此外, 雌激素通过多个机制影响能量平衡, 进而抑制脂肪组织过度积累^[11-13]。

表 4 3 组瘦素、脂联素、抵抗素及 TNF- α mRNA 表达结果比较 ($2^{-\Delta\Delta C_t}$, $\bar{x} \pm s$)

组别	例数	瘦素	脂联素	抵抗素	TNF- α
假手术组	10	1.00 \pm 0.42	1.00 \pm 0.41	1.00 \pm 0.39	1.00 \pm 0.43
去卵巢组	10	0.87 \pm 0.30	2.42 \pm 0.86 ^a	1.71 \pm 0.68 ^a	6.61 \pm 2.34 ^a
OVX + E ₂ 组	10	0.94 \pm 0.39	1.25 \pm 0.54	0.85 \pm 0.34	1.17 \pm 0.64
F 值		0.695	4.173	3.526	5.342
P 值		0.509	0.019	0.023	0.012

注:OVX + E₂ 组:去卵巢 + 戊酸雌二醇组;TNF- α :肿瘤坏死因子- α ;与假手术组相比,^a $P < 0.05$



注:OVX + E₂ 组:去卵巢 + 戊酸雌二醇组;TNF- α :肿瘤坏死因子- α ;与假手术组相比,^a $P < 0.05$;与去卵巢组相比,^b $P < 0.05$

图 2 3 组瘦素、脂联素、抵抗素及 TNF- α 蛋白表达的比较

同时,脂肪细胞可合成和分泌多种脂肪因子,包括瘦素、脂联素、抵抗素、内脏脂肪素、TNF- α 等,这些因子可通过内分泌机制参与食欲和能量平衡的调节,影响胰岛素敏感性,同时这些因子也可以调节脂肪细胞的大小和数目,通过旁分泌机制参与血管的生成,从而在脂肪量的调节中发挥主要作用^[14]。绝经后女性循环雌激素水平与血脂异常、腹型肥胖以及血清瘦素水平呈正相关,与脂联素水平呈负相关^[15]。提示雌激素可能参与脂肪组织内分泌功能的调控。已有研究表明,雌激素可通过调控脂肪细胞过氧化物酶体增殖物活化受体 γ 或炎症因子如一氧化氮、一氧化氮合酶的表达等途径,进而影响脂肪因子的表达^[16]。处于动情周期的动物循环瘦素水平的波动研究证实,雌激素可刺激脂肪组织瘦素的表达,而拮抗雌激素药物如他莫西芬则抑制其表达^[17-18]。本研究中免疫组化结果显示,Sprague-Dawley大鼠去卵巢后内脏脂肪组织中瘦素表达明显减弱,而雌激素替代治疗可使其逆转,提示雌激素可刺激脂肪组织瘦素的表达,但在 mRNA 和蛋白质水平未得到进一步的印证。另外,雌激素可显著降低芳香化酶基因敲除鼠血清脂联素水平,以及脂肪组织脂联素 mRNA 的表达^[19]。去卵巢大鼠循环脂联素和抵抗素水平显著升高,而雌激素替代治疗也可使其逆转^[20-22]。本研究也证实,Sprague-Dawley大鼠

去卵巢后内脏脂肪细胞脂联素和抵抗素的表达显著增强,而雌激素替代治疗可降低其表达,与上述研究一致。

芳香化酶基因敲除鼠脂肪组织 TNF- α mRNA 表达显著升高,而雌激素替代治疗可进一步升高芳香化酶基因敲除鼠脂肪组织 TNF- α mRNA 表达^[19]。但本研究与上述研究正好相反,雌激素替代治疗可逆转去卵巢大鼠内脏脂肪细胞 TNF- α 的高表达。本研究血清学检测未发现 3 组大鼠瘦素、脂联素和抵抗素存在显著差异,仅发现去卵巢组 TNF- α 水平显著升高,而雌激素替代治疗后有所下降,但未达统计学显著意义,分析可能是由于血清脂肪因子水平反映机体总体脂肪组织脂肪因子分泌水平,而皮下脂肪组织和内脏脂肪组织脂肪因子的表达可能存在差异^[24]。未来将进一步研究这种差异及其对体脂分布的影响。

综上所述,去卵巢大鼠内脏脂肪细胞脂联素、抵抗素和 TNF- α 的表达显著增强,而雌激素替代治疗可逆转其高表达,提示雌激素可通过调控内脏脂肪细胞脂肪因子的合成和分泌,进而影响去卵巢大鼠脂肪再分布。

参 考 文 献

- [1] Toth MJ, Tchernof A, Sites CK, et al. Menopause-related chan-

- ges in body fat distribution[J]. Ann N Y Acad Sci, 2000,904: 502-506.
- [2] Tchernof A, Poehlman ET. Effects of the menopause transition on body fatness and body fat distribution[J]. Obes Res, 1998,6 (3):246-254.
- [3] Lobo RA. Metabolic syndrome after menopause and the role of hormones[J]. Maturitas, 2008,60(1):10-18. DOI: 10.1016/j.maturitas.2008.02.008.
- [4] Clegg DJ. Minireview: the year in review of estrogen regulation of metabolism[J]. Mol Endocrinol, 2012, 26 (12): 1957-1960. DOI: 10.1210/me.2012-1284.
- [5] Pantaleão TU, Mousovich F, Rosenthal D, et al. Effect of serum estradiol and leptin levels on thyroid function, food intake and-body weight gain in female Wistar rats[J]. Steroids, 2010, 75 (10):638-642. DOI: 10.1016/j.steroids.2010.03.009.
- [6] Weigt C, Hertrampf T, Zoth N, et al. Impact of estradiol, ER subtype specific agonists and genistein on energy homeostasis in a rat model of nutrition induced obesity[J]. Mol Cell Endocrinol, 2012,351(2):227-238. DOI: 10.1016/j.mce.2011.12.013.
- [7] Kumar R, McEwan IJ. Allosteric modulators of steroid hormone receptors: structural dynamics and gene regulation[J]. Endocr Rev, 2012,33(2):271-299. DOI: 10.1210/er.2011-1033.
- [8] Lu X, Peng L, Lv M, et al. Recent advance in the design of small molecular modulators of estrogen-related receptors[J]. Curr Pharm Des, 2012,18(23):3421-3431.
- [9] Nilsson M, Dahlman I, Rydén M, et al. Oestrogen receptor alpha gene expression levels are reduced in obese compared to normal weight females[J]. Int J Obes (Lond), 2007,31(6):900-907. DOI:10.1038/sj.ijo.0803528.
- [10] Okura T, Koda M, Ando F, et al. Association of polymorphisms in the estrogen receptor alpha gene with body fat distribution[J]. Int J Obes Relat Metab Disord, 2003,27(9):1020-1027. DOI: 10.1038/sj.ijo.0802378.
- [11] Mauvais-Jarvis F. Estrogen and androgen receptors: regulators of fuel homeostasis and emerging targets for diabetes and obesity[J]. Trends Endocrinol Metab, 2011,22(1):24-33. DOI: 10.1016/j.tem.2010.10.002.
- [12] Mauvais-Jarvis F, Clegg DJ, Hevener AL. The role of estrogens in control of energy balance and glucose homeostasis[J]. Endocr Rev, 2013,34(3):309-338. DOI: 10.1210/er.2012-1055.
- [13] Stirone C, Duckles SP, Krause DN, et al. Estrogen increases mitochondrial efficiency and reduces oxidative stress in cerebral blood vessels[J]. Mol Pharmacol, 2005,68(4):959-965. DOI: 10.1124/mol.105.014662.
- [14] Waki H, Tontonoz P. Endocrine functions of adipose tissue[J]. Annu Rev Pathol, 2007, 2: 31-56. DOI: 10.1146/annurev.pathol.2.010506.091859.
- [15] Karim R, Stanczyk FZ, Brinton RD, et al. Association of endogenous sex hormones with adipokines and ghrelin in postmenopausal women[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2015,100(2):508-515. DOI: 10.1210/jc.2014-1839.
- [16] Sato H, Ishikawa M, Sugai H, et al. Sex hormones influence expression and function of peroxisome proliferator-activated receptor γ in adipocytes: pathophysiological aspects[J]. Horm Mol Biol Clin Invest, 2014,20(2):51-61. DOI: 10.1515/hmbci-2014-0026.
- [17] Fungfuang W, Terada M, Komatsu N, et al. Effects of estrogen on food intake, serum leptin levels and leptin mRNA expression in adipose tissue of female rats[J]. Lab Anim Res, 2013, 29 (3):168-173. DOI: 10.5625/lar.2013.29.3.168.
- [18] Machinal F, Dieudonne MN, Leneuve MC, et al. *In vivo* and *in vitro* ob gene expression and leptin secretion in rat adipocytes: evidence for a regional specific regulation by sex steroid hormones[J]. Endocrinology, 1999,140(4):1567-174. DOI:10.1210/endo.140.4.6617.
- [19] Van Sinderen ML, Steinberg GR, Jørgensen SB, et al. Effects of estrogens on adipokines and glucose homeostasis in female aromatase knockout mice[J]. PLoS One, 2015,10(8):e0136143. DOI: 10.1371/journal.pone.0136143.
- [20] Combs TP, Berg AH, Rajala MW, et al. Sexual differentiation, pregnancy, calorie restriction, and aging affect the adipocyte-specific secretory protein adiponectin[J]. Diabetes, 2003,52(2):268-276.
- [21] Iwasa T, Matsuzaki T, Matsui S, et al. The effects of ovariectomy and LPS-induced endotoxemia on resistin levels in female rats[J]. Cytokine, 2015,76(2):558-560. DOI: 10.1016/j.cyto.2015.06.003.
- [22] Huang SW, Seow KM, Ho LT, et al. Resistin mRNA levels are downregulated by estrogen *in vivo* and *in vitro*[J]. FEBS Lett, 2005,579(2):449-454. DOI:10.1016/j.febslet.2004.12.010.
- [23] Titov VN. Phylogenesis of function of trophology. Functional difference between visceral fat cells and subcutaneous adipocytes[J]. Vopr Pitan, 2015,84(1):15-24.

(收稿日期:2015-12-15)