

doi:10.11918/j.issn.0367-6234.2016.02.020

FGF-21 改善谷氨酸钠引起的体内脂肪堆积

刘铭瑶¹,王 菁¹,侯玉婷²,曹宏伟³,任桂萍¹,李德山¹,王文飞¹

(1.东北农业大学 生命科学学院,150030 哈尔滨;2.长春卫尔赛生物药业有限公司,
130616 长春;3.黑龙江八一农垦大学 生命科学学院,163319 黑龙江 大庆)

摘 要:为研究成纤维细胞生长因子-21(FGF-21)对谷氨酸钠(MSG)诱导的肥胖大鼠的脂肪代谢是否具有调节作用,给新生SD大鼠饲喂MSG至20周龄后,连续注射FGF-21(1 mg/kg)32 d,检测FGF-21注射前后大鼠体质量、Lee's指数、进食量、腹部和皮下脂肪质量、血脂浓度、糖耐量和肝脂代谢中的相关指标.结果显示,与MSG对照组相比,FGF-21试验组大鼠体质量、Lee's指数、腹部脂肪质量及脂肪细胞大小显著降低($P<0.01$),进食量没有明显变化;血糖、TG、TC、LDL-C浓度显著降低($P<0.01$),HDL-C浓度升高;脂肪中Glut-1水平显著上升($P<0.05$),Leptin mRNA的高表达水平显著下降($P<0.01$);肝脏的质量和肝脏中ALT、AST、ALP的水平得到改善,FGF-21、PPAR α 、PPAR γ mRNA水平显著下降($P<0.05$),脂肪肝得到恢复,糖耐受得到改善.以上结果表明,FGF-21明显改善由MSG诱导引起的体内脂肪堆积,对腹部脂肪的减少效果尤其显著,同时有效改善MSG肥胖大鼠的肝脂代谢水平,恢复脂肪肝.

关键词:成纤维细胞生长因子-21;谷氨酸钠;脂肪肝;瘦素;肥胖

中图分类号: R329.2; Q71; R458.5

文献标志码: A

文章编号: 0367-6234(2016)02-0119-07

FGF-21 correct the fat accumulation caused by monosodium glutamate

LIU Mingyao¹, WANG Jing¹, HOU Yuting², CAO Hongwei³, REN Guiping¹, LI Deshan¹, WANG Wenfei¹

(1.College of Life Science, Northeast Agricultural University, 150030 Harbin, China;

2.Changchun Weresai Biotic Pharmaceutical Co. Ltd., 130616 Changchun, China;

3.College of Life Science, Heilongjiang Bayi Agricultural University, 163319 Daqing, Heilongjiang, China)

Abstract: The paper is to study the effect of fibroblast growth factor-21 (FGF-21) on lipid metabolism in the monosodium glutamate (MSG) induced obese rats. SD rats were induced by MSG after weaning, and then randomly divided into experimental and vehicle groups. After fed to 20 weeks, the experimental groups were injected with FGF-21 (1 mg/kg) for a continuous 32 d. The rats were detected the body weight, Lee's index, food intake, abdominal and subcutaneous fat content, lipid content, glucose tolerance and the relevant indicators of hepatic and lipid metabolism before and after the injection. As compared to vehicle-treated rats, FGF-21 did not affect the amount of daily food intake in MSG rats, but led to a significant reduction in Lee's index, total body weight and abdominal fat mass (52.8% reduction) at the end of treatment. After FGF-21 treatment, the levels of glucose, triglycerides, cholesterol and LDL-C decreased except HDL-C. The exogenous FGF-21 led to the improvement of the liver weight, hepatic AST, ALT and ALP and the reduction of endogenous FGF-21, PPAR α and PPAR γ in liver. In summary, FGF-21 could regulate on lipid metabolism and reverse hepatic steatosis in MSG rats.

Keywords: FGF-21; MSG; fatty liver; Leptin; obesity

收稿日期: 2014-11-15.

基金项目: 黑龙江省高校科技成果产业化前期研发培育项目(1252CGZH29);国家自然科学基金东北农业大学生物学科基地科研训练及科研能力提高项目(J1210069/J0131).

作者简介: 刘铭瑶(1984—),女,博士,实验师;
李德山(1950—),男,教授,博士生导师.

通信作者: 李德山,deshanli@163.com;
王文飞,wangwenfei@neau.edu.cn.

肥胖发生的原因很多,能量摄入过多导致的热能入超以及脂肪堆积,是当今世界肥胖群体增加的普遍原因^[1].机体脂肪堆积尤其是腹腔内的脂肪累积影响机体器官结构,还能引起一系列疾病.有报道,腹型肥胖和腹部脂肪所占比例增加是冠心病和2型糖尿病及相关死亡的主要危险因素^[2-3].

成纤维细胞生长因子-21(FGF-21)是FGF家族的新成员,能够高效并持续调节机体糖脂代

谢^[4-5],刺激脂肪细胞的葡萄糖吸收^[6],降低 ob/ob 和 db/db 小鼠血浆中葡萄糖和甘油三酯的浓度,在转基因小鼠中过表达时可有效抵抗由饮食引起的肥胖^[7].与以往研究相比,本研究采用的谷氨酸钠(MSG)诱导的肥胖模型属于下丘脑性肥胖,是由于大剂量谷氨酸钠选择性地破坏了大鼠下丘脑腹内侧核的饱食中枢,致使大鼠进食量增加、食欲旺盛.并且因其交感神经处于抑制状态而自发活动显著减少,从而导致肥胖,特别是腹部脂肪堆积明显,酷似人类肥胖的形成过程^[8-10].本研究应用 MSG 诱导的肥胖模型,研究 FGF-21 改善脂肪堆积的效果,以及对肝脂代谢的调节作用,以期为临床应用 FGF-21 治疗肝脂代谢异常提供理论基础.

1 实 验

1.1 实验材料

1.1.1 试验动物

SD 大鼠(20 只雌雄各半)由上海斯莱克实验动物有限责任公司提供,动物合格证号为 SCXK(沪)2007-0005.

1.1.2 主要药品及试剂

FGF-21 由本实验室提供,纯度>90%;MSG (Amresco);逆转录酶 M-M LVRT (Promega);TRIzol reagent (Invitrogen);SYBR GREEN PCR MasterMix (ABI).

1.1.3 引物

所用引物均由 Invitrogen 公司合成.实时荧光定量 PCR 引物序列如下:

大鼠 GLUT1

上游引物:5'-CCATCCACCACACTCACCAC-3'

下游引物:5'-GCCCAGGATCAGCATCTCAA-3'

大鼠 Leptin

上游引物:5'-GACACCAAAACCCCTCAT-3'

下游引物:5'-CAGTGCTGCTCCATCT-3'

大鼠 FGF-21

上游引物:5'-AGGCTTTGACACCCAGGATT-3'

下游引物:5'-ACAGATGACGACCAGGACAC-3'

大鼠 PPAR α

上游引物:5'-TGTCGAATATGTGGGGACAA-3'

下游引物:5'-AAACGGGATTGCATTGTGTGA-3'

大鼠 PPAR γ

上游引物:5'-GATCCTCCTGTTGACCCAGA-3'

下游引物:5'-TCAAAGGAATGGGAGTGGTC-3'

大鼠 β -actin

上游引物:5'-ATCATGTTTGAGACCTTCAACA-3'

下游引物:5'-CATCTCTTGCTCGAAGTCCA-3'

1.2 动物造模及处理

选择 10 窝新生(由买来的 20 只 SD 大鼠交配获得)的 1 日龄 SD 大鼠,每窝随即分成 2 组,一组为空白组(以剪尾做标记),另一组为 MSG 组.MSG 组大鼠按 2 mg/kg 体质量剂量连续 5 d 皮下注射(颈背部)质量分数为 0.3 的 MSG 溶液,空白组大鼠连续 5 d 皮下注射(颈背部)等量 0.9% NaCl 溶液.22 d 断奶后^[11-12],筛选出造模成功的大鼠进行后续试验.造模成功的标准:体质量超过空白组平均体质量的 20%^[13].将 MSG 成模肥胖大鼠随即平均分成 FGF-21 组和 MSG 组(每组 $n > 10$),采用电子天平 1 周 1 次定时测量体质量和进食量.MSG 肥胖大鼠模型建立后饲喂至 20 周龄时,FGF-21 组按 1 mg/kg 剂量连续 32 d 腹腔注射 FGF-21^[14].MSG 组连续 32 d 腹腔注射等量 0.9% NaCl 溶液.采用电子天平 1 周 1 次定时测量体质量和进食量.

1.3 样品采集

停药后检测大鼠空腹糖耐量水平,将葡萄糖溶液按 2 g/kg 剂量腹腔注射到大鼠体内,监测其 0(注射葡萄糖前)、30、60、90 和 120 min 的血糖值.利用公式 $AUC(\text{min} \cdot \text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}) = 30 \text{ min} \times [1/2 \times (\text{BG}_0 + \text{BG}_{120}) + 1 \times (\text{BG}_{30} + \text{BG}_{60} + \text{BG}_{90})]$ 分析糖耐量情况.麻醉称质量测体长(鼻子至肛门)后,心脏采血(3~5 mL),血样经 3 000 r/min 离心后吸出血清并标号,所有血清在-80℃条件下保存.甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)和碱性磷酸酶(ALP)用酶法通过全自动生化分析仪检测.采血完毕后大鼠安乐处死,取大鼠肾、睾丸、肠系膜脂肪及肝脏称质量后,部分经液氮速冻数分钟后放入-80℃条件下保存,部分放入 10% 的甲醛中准备制备石蜡切片.

1.4 大鼠肝脏及脂肪组织 RNA 的提取

取各组大鼠组织,每 0.1 g 组织用 1 mL TRIzol 试剂裂解,按常规方法提取 RNA,用 NanoDrop 紫外分光光度计检测 RNA 纯度和浓度($\text{OD}_{260 \text{ nm}} / \text{OD}_{280 \text{ nm}} > 1.8$, $\text{OD}_{260 \text{ nm}} / \text{OD}_{230 \text{ nm}} > 2.0$).

1.5 cDNA 合成

使用逆转录酶 M-MLVRT,按说明书操作合成 cDNA,cDNA 产物作为荧光定量 PCR 反应的模板.

1.6 实时荧光定量 PCR

使用实时荧光定量 PCR 技术检测脂肪中葡萄糖转运蛋白-1(Glut-1)、瘦素(Leptin),肝脏中 FGF-21、过氧化物酶体增殖物激活受体 α (PPAR α)、过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (PPAR γ) mRNA 的相对

表达情况,以 β -actin 的表达量作为内参.将 cDNA 连续 10 倍稀释,分别用两对引物进行反应,构建两个基因的相对定量标准曲线,根据曲线斜率计算各引物的扩增效率.反应体系按试剂盒说明书操作.每组反应 3 个复孔,取平均值.每对引物均设空白对照,空白对照孔不加任何形式的模板,其余成分浓度与检测组相同.荧光定量 PCR 反应程序:95 ℃ 10 min;95 ℃ 15 s, 60 ℃ 1 min 40 个循环;95 ℃ 15 s,60 ℃ 30 s,95 ℃ 15 s(生成溶解曲线).通过分析溶解曲线确定是否产生引物二聚体和非特异性扩增.

1.7 石蜡切片

脂肪细胞和肝细胞病理形态学观察:取甲醛固定好的脂肪和肝组织,酒精梯度脱水,常规石蜡包埋,冠状切片,厚度为 4~6 μm ,HE 染色,显微镜下随机采集 3~4 个视野的图像观察脂肪细胞和肝细胞的组织形态学状态.

1.8 统计学方法

利用 SPSS10.0 统计软件,计量资料多个样本均数之间的比较用单因素方差分析,计量资料数据用 $\bar{x}\pm s$ 表示.

2 结果与分析

2.1 FGF-21 的制备及纯化

取蛋白纯度达 90%,能够调节脂肪细胞吸收葡萄糖且具有剂量依赖性的 FGF-21 蛋白用于实验^[7].

2.2 MSG 肥胖模型

MSG 造模大鼠的体质量、Lee's 指数((体质量

量/ $\text{g})^{1/3}\times 10^3/\text{体长}/\text{cm}$)、进食量(表 1)、TG、TC、LDL-C(表 3)显著高于同期正常对照组($P<0.01$),提示大鼠造模成功.

2.3 FGF-21 对 MSG 肥胖大鼠体质量、腹部脂肪质量和进食量的影响

由图 1 和表 1 可以看出,经过 FGF-21 的治疗,试验组的 MSG 大鼠体质量和 Lee's 指数显著下降($n=6,P<0.01$),并且体质量下降趋势稳定,对照组未经治疗的 MSG 大鼠体质量呈上升趋势.结果表明,FGF-21 可以促使 MSG 肥胖大鼠体质量下降.同时,MSG 对照组的进食量明显高于正常饲养的空白组($n=6,P<0.05$),这一结果符合 MSG 肥胖模型高进食量的特点.经 FGF-21 注射以后试验组大鼠的进食量并没有受到影响,说明 FGF-21 降低 MSG 大鼠体质量并不是通过对进食量的抑制(表 1).

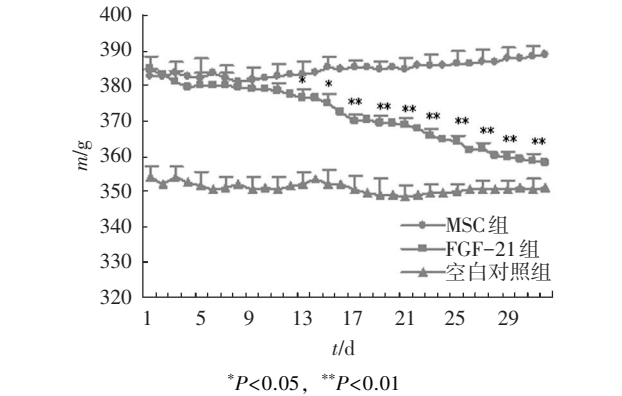


图 1 FGF-21 注射后 MSG 大鼠模型体质量变化

表 1 FGF-21 对体质量、食物摄取、Lee's 指数的影响

分组	不同处理	体质量/g	食物摄取量/g	Lee's 指数
空白对照	正常大鼠	339.14±5.112	17.565±3.214	303.20±5.126
MSG 组	注射生理盐水前	381.37±6.910 [~]	20.537±3.191 [^]	317.86±5.905 [~]
	注射生理盐水后	388.78±6.040 [~]	19.867±3.008 [^]	320.00±5.267 [~]
FGF-21 处理组	注射 FGF-21 前	385.38±4.310 [~]	21.661±3.777 [~]	321.11±7.537 [~]
	注射 FGF-21 后	356.70±4.570 ^{**}	22.464±3.751	312.87±7.201 ^{**}

注:与未处理的正常对照组相比,[^] $P<0.05$ 表示差异显著,[~] $P<0.01$ 表示差异极显著,与 FGF-21 注射前的 MSG 组相比,^{**} $P<0.01$ 表示差异极显著.

表 2 显示,试验组大鼠的腹部脂肪质量显著低于 MSG 对照组($n=6,P<0.01$),减少 52.08%,而试验组和 MSG 对照组相比大鼠皮下脂肪质量变化不大,减少 12.9%.结果表明,FGF-21 主要是通过减少肥胖大鼠腹部脂肪的质量来降低其体质量.

表 2 FGF-21 对腹部及皮下脂肪的影响

分组	腹部脂肪/g	皮下脂肪/g
MSG 组	39.46±2.375	15.89±8.860
FGF-21 组	18.91±3.489 ^{**}	13.84±6.158

注:与 MSG 组相比,^{**} $P<0.01$ 表示差异极显著.

2.4 各组大鼠给药前后血清中 TG、TC、HDL-C、LDL-C 比较

经过 FGF-21 干预 32 d 后,试验组的 TG、TC 水平显著下降,并明显低于模型对照组($n=6,P<0.05$),提示 FGF-21 具有降低 MSG 大鼠血清甘油三酯和胆固醇的作用.FGF-21 处理组 HDL-C 水平较 MSG 组显著提高($n=6,P<0.05$),而 LDL-C 水平较 MSG 组显著下降($n=6,P<0.01$),说明 FGF-21 对 MSG 肥胖大鼠的脂代谢具有调节作用.结果见表 3.

表 3 FGF-21 注射后各组大鼠血清脂类代谢情况

mmol·L⁻¹

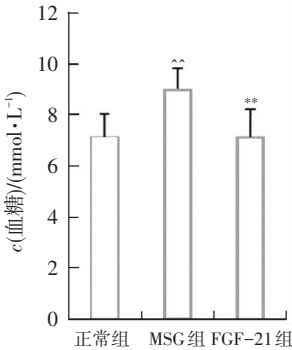
分组	不同处理	TG	TC	HDL-C	LDL-C
空白对照	正常大鼠	0.375±0.073	1.484±0.179	0.904±0.094	0.355±0.026
MSG 组	注射生理盐水前	1.024±0.315 [~]	2.886±0.308 [~]	1.500±0.198 [~]	0.658±0.076 [~]
	注射生理盐水后	1.262±0.441 [~]	2.892±0.340 [~]	1.520±0.232 [~]	0.764±0.085 [~]
FGF-21 组	注射 FGF-21 前	1.162±0.306 [~]	2.928±0.537 [~]	1.720±0.322 [~]	0.690±0.080 [~]
	注射 FGF-21 后	0.886±0.153 [*]	2.380±0.413 [*]	1.950±0.378 [*]	0.402±0.086 ^{**}

注:与未处理的正常对照组相比,~*P*<0.01 表示差异极显著,与 MSG 组相比,^{*}*P*<0.05 表示差异显著,^{**}*P*<0.01 表示差异极显著。

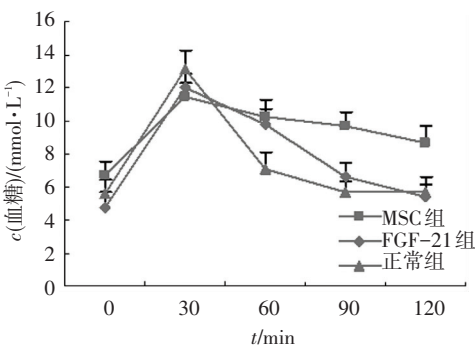
2.5 各组大鼠给药餐后血糖和葡萄糖耐受的比较

由图 2(a)可以看出,MSG 肥胖大鼠餐后血糖值显著高于正常组(*n*=6,*P*<0.01),而经过 FGF-21 治疗后其血糖值恢复正常.MSG 肥胖大鼠的葡萄糖耐受能力低

于正常组,经过 FGF-21 治疗后其葡萄糖耐受能力提高,如图 2(b)所示.各组 AUC 值分别为:正常组,933 min·mmol·L⁻¹; FGF-21 组,1 013.5 min·mmol·L⁻¹; MSG 组,1 050 min·mmol·L⁻¹.



(a) FGF-21 对 MSG 大鼠血糖的影响



(b) FGF-21 对 MSG 大鼠葡萄糖耐受能力的影响

与未处理的正常对照组相比,~*P*<0.01 表示差异极显著,与 MSG 组相比, ^{**}*P*<0.01 表示差异极显著

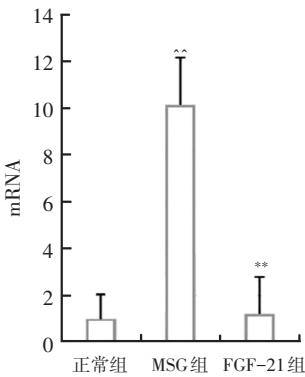
图 2 FGF-21 对 MSG 大鼠血糖和葡萄糖耐受能力的影响

2.6 荧光定量 PCR 检测各组大鼠肝脏中 FGF-21、PPARα、PPARγ mRNA 水平

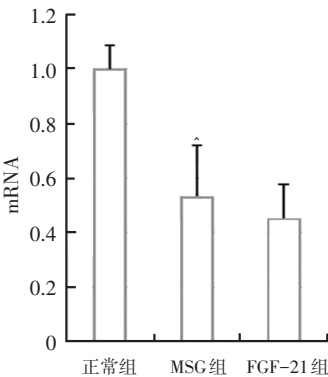
图 3(a) 结果表明,MSG 组肝脏中的 FGF-21 mRNA 水平是未处理正常组的 10 倍(*n*=6,*P*<0.01),这与 Fisher 等^[15]报道的 FGF-21 在肥胖中高表达的结果相一致,经过 FGF-21 治疗后其内源高

表达的 FGF-21 水平下降至正常。

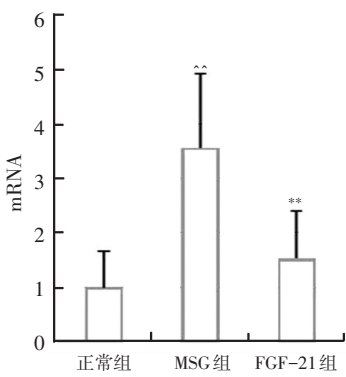
图 3(b)、(c) 显示 MSG 组肝脏中的 PPARα mRNA 水平显著低于未处理的正常组(*n*=6,*P*<0.05),而 PPARγ mRNA 水平显著高于正常组(*n*=6,*P*<0.01).经过 FGF-21 的治疗后,PPARα 和 PPARγ mRNA 水平较 MSG 对照组有所下降。



(a) 内源性 FGF-21



(b) PPARα



(c) PPARγ

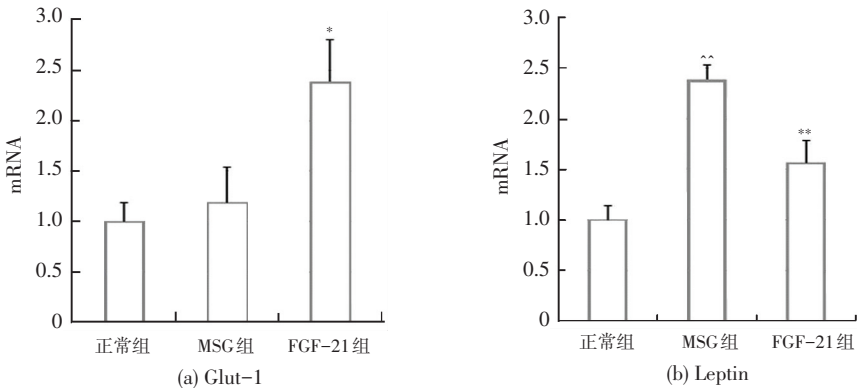
与未处理的正常对照组相比,~*P*<0.05 表示差异显著,~*P*<0.01 表示差异极显著,与 MSG 模型组相比,^{**}*P*<0.01 表示差异极显著

图 3 FGF-21 对 MSG 模型大鼠内源性 FGF-21、PPARα 和 PPARγ mRNA 表达水平的影响

2.7 荧光定量 PCR 检测各组大鼠脂肪中 Glut-1、Leptin mRNA 水平

经过 FGF-21 的治疗后,试验组大鼠脂肪中 Glut-1 mRNA 水平显著高于 MSG 模型组和正常未处理组,说明 FGF-21 在脂肪细胞中起到了调节作

用.MSG 模型对照组大鼠脂肪中 Leptin mRNA 水平显著高于正常未处理组(*n*=6,*P*<0.01),经过 FGF-21 治疗后试验组大鼠脂肪中 Leptin mRNA 水平显著低于 MSG 模型组(*n*=6,*P*<0.01),结果如图 4 所示。



与未处理的正常对照组相比, $^{**}P<0.01$ 表示差异极显著, 与 MSG 模型组相比, $^{*}P<0.05$ 表示差异显著, $^{**}P<0.01$ 表示差异极显著

图 4 FGF-21 对 MSG 大鼠脂肪 Glut-1 和 Leptin mRNA 表达水平的影响

2.8 FGF-21 对 MSG 肥胖大鼠腹部脂肪细胞及肝细胞的影响

图 5 显示, 与正常组相比, MSG 模型对照组大鼠脂肪细胞面积增大, 同一视野下的细胞数目减少; 与 MSG 模型对照组相比, 经 FGF-21 治疗后试验组脂肪细胞面积明显减小, 而且同一视野下的细胞数目明显增多; FGF-21 组和正常组差别不明

显. 从肝细胞形态可以看出, 与正常组相比, MSG 模型组大鼠肝细胞大部分发生脂肪变性, 肝细胞肿大变圆且形态不规则, 伴有肝细胞水样变化及炎症细胞浸润, 细胞质着色变淡, 胞质充满微小脂泡. 与 MSG 组相比, FGF-21 治疗后肝细胞形态明显得到恢复, 肝细胞脂肪变性显著减少, 细胞结构清晰, 细胞质丰富.

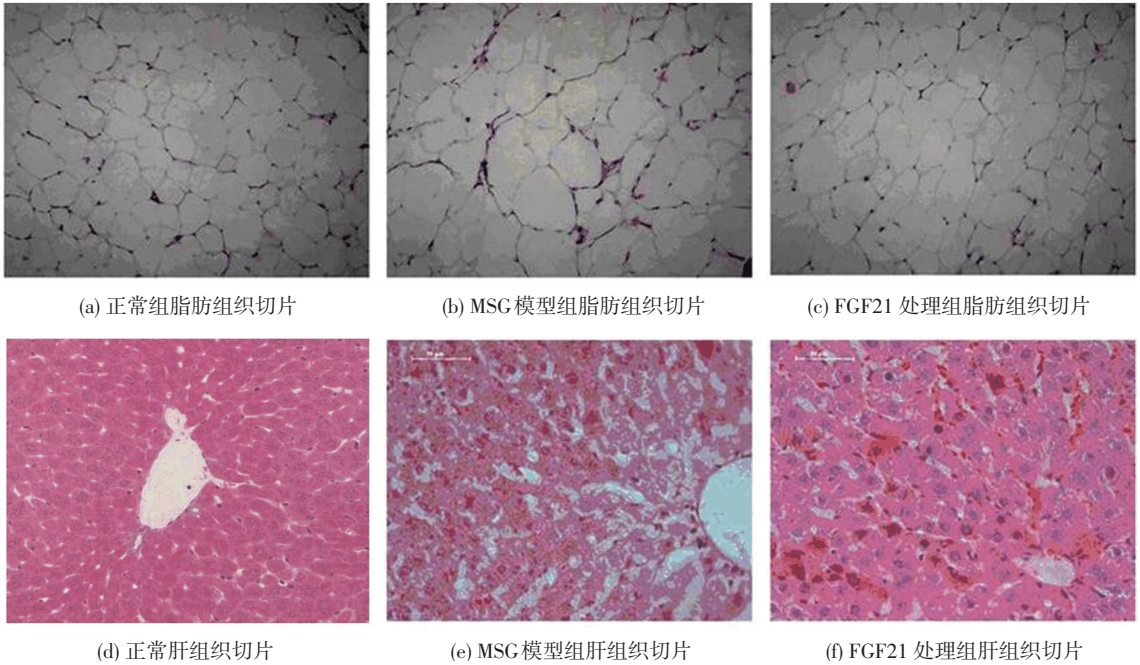


图 5 组织切片分析

2.9 FGF-21 对 MSG 肥胖大鼠肝脏代谢的影响

表 4 表明, MSG 模型对照组的肝质量、ALT、AST 和 ALP 显著高于正常组 ($n=6, P<0.05$), 经过

FGF-21 的治疗后 MSG 大鼠肝脏各项参数均显著下降 ($n=6, P<0.05$) 且与正常组无显著差异.

表 4 FGF-21 对 MSG 大鼠肝代谢的影响

分组	肝质量/g	ALT/(U·L ⁻¹)	AST/(U·L ⁻¹)	ALP/(U·L ⁻¹)
正常组	8.732±1.077	60.070±11.967	331.685±12.654	99.764±8.700
MSG 对照组	12.630±2.782 [^]	120.730±13.540 ^{^^}	438.753±19.830 ^{^^}	145.342±10.465 [^]
FGF-21 处理组	9.431±2.415 [*]	75.428±13.138 [*]	350.462±13.503 ^{**}	108.560±16.532 [*]

注: 与未处理的正常组相比, $^{^}P<0.05$ 表示差异显著, $^{^^}P<0.01$ 表示差异极显著, 与 MSG 模型组相比, $^{*}P<0.05$ 表示差异显著, $^{**}P<0.01$ 表示差异极显著.

3 讨 论

肥胖,尤其是腹型肥胖与糖、脂代谢异常的关系已得到公认.而且腹部脂肪的堆积与致动脉粥样硬化的脂质紊乱关系密切,也是增加机体患心血管疾病的危险因素^[16].本研究采用的 MSG 诱导的大鼠肥胖模型具有类似人体肥胖的形成特点.通过对刚出生大鼠脑后注射高剂量 MSG,利用颅脑未闭合的特点,大量的 MSG 进入大鼠脑部,对下丘脑造成永久性破坏,使大鼠进食量显著增加,日常能量摄入量远超消耗量,进而导致向心性肥胖.与其他造模方法(高脂饮食、转基因动物)相比,该方法成膜率高,成本较低,动物基因表达谱正常,脂肪堆积原理更接近人类肥胖模式.利用上述方法,成功制备了体质量显著高于同窝正常组的肥胖大鼠模型,而且解剖观察发现模型鼠的腹部脂肪堆积严重.采用该模型评估 FGF-21 生物学效应可以更真实地反映 FGF-21 对人类肥胖的预期治疗效果.

经过 FGF-21 干预后,MSG 诱导的肥胖大鼠体质量和 Lee's 指数明显下降,尤其是腹部脂肪湿质量显著减轻,镜下观察脂肪细胞明显缩小,一个视野内脂肪细胞数增多,说明 FGF-21 有减少肥胖大鼠脂肪组织的作用,尤其是腹部脂肪.这一结果证明 FGF-21 具有显著减少脂肪堆积的效果,其减少腹部脂肪堆积的作用尤为突出,可以有效降低因腹部脂肪堆积而带来的心血管等其他危险因素.同时,FGF-21 能显著降低 MSG 肥胖大鼠血清中 TG、TC 和 LDL-C 浓度,升高 HDL-C 浓度,提示 FGF-21 可以有效改善肥胖大鼠的脂代谢环境.

除脂肪外,肝脏也是 FGF-21 在机体内重要的靶器官^[17].肝脏细胞中的脂肪累积是形成脂肪肝的主要原因^[18].从肝细胞形态可以看出,与正常组相比,MSG 模型对照组大量肝细胞发生脂肪变性,肝细胞肿胀明显,伴有肝细胞水样变化及炎症细胞浸润,细胞质着色变淡,胞质充满微小脂泡.而经过 FGF-21 治疗后,肝细胞几乎无脂肪变性,细胞结构清晰,细胞质丰富,和正常组无明显差异.我们还对 MSG 肥胖大鼠的肝代谢环境做了研究.因肥胖引起的肝脏病变导致 MSG 模型组肥胖大鼠的肝重、ALT、AST、ALP 显著高于正常组($P < 0.05$),经 FGF-21 治疗后均显著下降($P < 0.05$),提示 FGF-21 可以显著改善内脏脂肪引起的肝细胞炎症水平.同时发现不管是模型组还是正常组,其肝脏均普遍受到损害,表现为 AST 数值高于理论数据.在排除测量误差外,认为可能是在长期饲养过程中,外界环境对大鼠造成的损害.

瘦素是一种脂源性激素,具有减少摄食和增加能量消耗的作用,肥胖患者普遍存在瘦素抵抗而非缺失瘦素.本研究结果表明,MSG 肥胖大鼠脂肪中的 Leptin mRNA 表达水平显著升高,但经过 FGF-21 治疗后其表达水平显著下降,而进食量未发生改变,提示 FGF-21 减少 MSG 肥胖大鼠脂肪组织可能没有通过 Leptin 的调节.下丘脑肥胖模型伴有的显著特征为胰岛素抵抗、高胰岛素血症^[19-20].实验证实 MSG 肥胖大鼠的血糖较高,而葡萄糖的不耐受直接反应出其胰岛素敏感性的降低.经过 FGF-21 的治疗后,其血糖恢复正常,葡萄糖耐受、胰岛素敏感性提高.提示 FGF-21 可以有效降低 MSG 肥胖大鼠的血糖并且促进其胰岛素敏感性的提高. Glut-1 是公认的 FGF-21 发挥生物活性的生物标志物.荧光定量 PCR 结果显示,FGF-21 可显著上调靶器官中 Glut-1 的水平,可见本研究中所获得的生物学变化与 FGF-21 直接相关.

PPAR α 通路在脂质代谢中的作用一直是近年来国际上研究的热点,其主要在肝细胞中表达.在本研究结果中,MSG 模型对照组肝脏中 PPAR α mRNA 表达水平显著下降($P < 0.05$),PPAR α 表达的减弱,使脂肪酸在肝脏中的氧化能力下降,增加了脂质在肝脏中的沉积^[21].经过 FGF-21 治疗后其表达量略有降低但并无统计学差异,提示 FGF-21 在改善肝脏代谢环境时可能没有通过 PPAR α 的调节.值得注意的是,PPAR α 被认为是肝脏 FGF-21 表达调控位点^[22],在以往的研究中,发现外源注射 FGF-21 后能够显著降低机体自身 FGF-21 表达水平^[7],PPAR α 表达降低可能是机体自身对 FGF-21 血清浓度提高的生理反应.

PPAR γ 的作用广泛,其目的基因可直接参与脂肪细胞的分化成熟,并影响体内脂肪的合成及蓄积,目前普遍认为 PPAR γ 在脂肪细胞系统调节中有至关重要的作用.但也有报道称非酒精性脂肪肝的形成可能与肝脏组织中 PPAR γ 的高表达,促进了肝细胞的成脂性改变有关^[23].本研究中,MSG 模型对照组肝脏中 PPAR γ mRNA 表达水平显著升高($P < 0.01$),进而证明,肝脏中 PPAR γ 表达升高可以诱导成脂性基因转录增多从而促进脂肪在肝细胞中合成^[24].经 FGF-21 治疗后其表达量显著下降($P < 0.01$),这一结果进一步证明 FGF-21 能够有效治疗因肥胖引起的脂肪肝.

综上,FGF-21 可以有效治疗由高进食量引起的肥胖、糖代谢紊乱,有效减少脂肪堆积,促进脂肪(尤其是腹部脂肪)的燃烧,恢复脂肪肝,平衡其肝脂代谢,有望成为治疗肥胖及其引起的脂肪肝,预防

心血管疾病的新基因药物.

参考文献

[1] 王从容,杨锡让. 肥胖发生机制的生理学分析[J]. 北京体育大学学报,1994,17(1):39-43.

[2] SAITO Y, KOBAYASHI J, SEIMIYA K, et al. Contribution of visceral fat accumulation to post prandial hyperlipidemia in human obesity[C]// Eighth International Congress on Obesity. Paris:[s.n.], 1998: 496.

[3] 郑洪来,周俊,冯征. 腹部脂肪分布与冠心病的相关性研究[J]. 中国医学影像学杂志,2003,11(3):210-212.

[4] 王文飞,李校堃,李德山. 糖尿病治疗的新视点——成纤维细胞生长因子[J]. 中国药理学通报,2009,25(4):433-435.

[5] ZHANG Jun, LI Yang. Fibroblast growth factor 21, the endocrine FGF pathway and novel treatments for metabolic syndrome[J]. Drug Discov Today, 2014, 5(19): 579-589.

[6] 姜媛媛,刘铭瑶,任桂萍,等. 鼠源成纤维生长因子-21 对脂肪细胞糖代谢的作用[J]. 生物化学与生物物理进展,2009,36(2):157-164.

[7] COSKUN T, BINA H A, SCHNEIDER M A, et al. Fibroblast growth factor-21 corrects obesity in mice[J]. Endocrinology, 2008, 149(12): 6018-6027.

[8] NAKAQAWA T, UKAI K, OHYAMA T, et al. Effects of chronic administration of sibutramine on body weight, food intake and motor activity in neonatally monosodium glutamate-treated obese female rats: relationship of antiobesity effect with monoamines[J]. Exp Anim, 2000, 49(4): 239-249.

[9] BUNYAN J, MURRELL E A, SHAH P P. The induction of obesity in rodents by means of monosodium glutamate[J]. Br J Nutr, 1976, 35(1): 25-39.

[10] 郭淑芳,韩国柱,李卫平,等. 长期应用重组人睫状神经因子(rhCNTF)对谷氨酸钠肥胖大鼠血脂的影响[J]. 实验动物科学,2009,26(1):7-10.

[11] NAKANISHI Y, TSUNEYAMA K, FUJIMOTO M, et al. Monosodium glutamate (MSG): a villain and promoter of liver inflammation and dysplasia[J]. J Autoimmun, 2008, 149(12): 6018-6027.

[12] 谭正怀,莫正纪,陈岷. 西布曲明对谷氨酸钠诱导的肥胖动物模型的影响[J]. 中国药理学通报,2001,17(6): 675-678.

[13] CHANDLER P C, VIANA J B, OSWALD K D, et al. Feeding response to melanocortin agonist predicts

preference for and obesity from a high-fat diet[J]. Physiol Behav, 2005, 85(2): 221-230.

[14] XU Jing, LLOYD D J, HALE C, et al. FGF21 reverses hepatic steatosis, increases energy expenditure and improves insulin sensitivity in diet-induced obese mice[J]. Diabetes, 2009, 58(1): 250-259.

[15] FISHER F M, CHUI P C, ANTONELLIS P J, et al. Obesity is an FGF21 resistant state[J]. Diabetes, 2010, 59(11): 2781-2789.

[16] 陈静,田志强,罗志丹,等. 腹部脂肪分布与代谢综合征组分关系的研究[J]. 解放军医学杂志,2005,30(8): 683-686.

[17] LIU Wenyue, HUANG Sha, SHI Keqing, et al. The role of fibroblast growth factor 21 in the pathogenesis of liver disease: a novel predictor and therapeutic target [J]. Expert Opin Ther Targets, 2014, 18(11): 1305-1313.

[18] 周砚,陆伦根. 肥胖症与非酒精性脂肪性肝病的关系及其治疗进展[J]. 胃肠病学,2007,12(8):502-505.

[19] HERNANDEZ-BAUTISTA R J, ALARCON-AGUILAR F J, DEL C ESCOBAR-VILLANUEVA M, et al. Biochemical alterations during the obese-aging process in female and male monosodium glutamate (MSG)-treated mice[J]. Int J Mol Sci, 2014, 15(7): 11473-11494.

[20] MIRANDA R A, AGOSTINHO A R, TREVENZOLI I H, et al. Insulin oversecretion in MSG-obese rats is related to alterations in cholinergic muscarinic receptor subtypes in pancreatic islets[J]. Cell Physiol Biochem, 2014, 33(4): 1075-1086.

[21] 李玉中,王朝晖,应力. 复方甘正浸膏对非酒精性脂肪性肝炎 CYP2E1 和 PPAR α 表达的影响[J]. 中国中医急诊,2008,17(8):1118-1120.

[22] VERNIA S, CAVANAGH-KYROS J, GARCIA-HARO L, et al. The PPAR α -FGF21 hormone axis contributes to metabolic regulation by the hepatic JNK signaling pathway [J]. Cell Metab, 2014, 20(3): 512-525.

[23] 李晓翠,孙丹莉,张子蜀,等. 非酒精性脂肪性肝病大鼠肝脏 PPAR- γ 的表达[J]. 现代生物医学进展, 2011, 11(14):2620-2623.

[24] YU S, MATSUSUE K, KASHIREDDY P, et al. Adipocyte-specific gene expression and adipogenic steatosis in the mouse liver due to PPAR γ overexpression [J]. J Biol Chem, 2003, 27(8): 498-505.

(编辑 刘 彤)