

DOI:10.7499/j.issn.1008-8830.2013.01.018

论著 · 实验研究

肥胖幼鼠脂肪组织 vaspin 与 胰岛素敏感性的关系

高芳芳 刘戈力 郑荣秀 姜丽红 鲍鹏丽

(天津医科大学总医院儿科,天津 300052)

[摘要] 目的 探讨幼年肥胖 Sprague-Dawley (SD) 大鼠脂肪组织 vaspin 含量与胰岛素敏感性的关系。方法 断乳3周SD大鼠24只,随机分为高脂饮食组和普通饮食组,每组12只。成功建模后,测定各组体重、腹围。禁食12 h后取内眦静脉血测定空腹血糖(FPG)、空腹胰岛素(FINS);再腹腔注射50%葡萄糖(2 g/kg),于注射后60 min、120 min再次取内眦静脉血测定各时间点血糖(BG)及胰岛素(INS)。幼鼠处死后将内脏脂肪组织称重。酶联免疫吸附法测定各组幼鼠内脏脂肪组织中 vaspin 的含量,并对 vaspin 表达量与各体格测量指标及胰岛素敏感性评价指标进行相关性分析。结果 高脂饮食组大鼠的体重、腹围、内脏脂肪重量、FPG、FINS、120 min INS、vaspin、胰岛素抵抗指数(HOMA-IR)、胰岛素分泌指数(HOMA-β)均高于普通饮食组($P < 0.05$),高脂饮食组胰岛素敏感指数(ISI)明显低于普通饮食组($P < 0.01$)。Vaspin 含量与肝脏重量、内脏脂肪重量、腹围、120 min INS、FPG、FINS、HOMA-IR、HOMA-β呈正相关($P < 0.05$),而与 ISI 呈负相关($P < 0.05$)。结论 幼年肥胖 SD 大鼠胰岛素抵抗状态与 vaspin 高水平表达有关,推测 vaspin 是一种增加胰岛素敏感性、促进胰岛β细胞分泌胰岛素和改善糖耐量的脂肪细胞因子,可能参与了胰岛素抵抗、糖代谢紊乱状态的形成。

[中国当代儿科杂志,2013,15(1):71-74]

[关键词] 肥胖;脂肪组织特异性丝氨酸蛋白酶抑制剂;胰岛素敏感性;大鼠

Correlation between vaspin concentration and insulin sensitivity in the visceral adipose tissue of young obese rats

GAO Fang-Fang, LIU Ge-Li, ZHENG Rong-Xiu, JIANG Li-Hong, BAO Peng-Li. Department of Pediatrics, General Hospital of Tianjin Medical University, Tianjin 300052, China (LIU G-L, Email: liugeli 2001@163.com)

Abstract: Objective To investigate the correlation between visceral adipose tissue-derived serine protease inhibitor (vaspin) concentration and insulin sensitivity in the visceral adipose tissue of young obese Sprague-Dawley (SD) rats. **Methods** Twenty-four SD rats which had been weaned 3 weeks before were randomly divided into two groups ($n = 12$ each) to receive a high-fat and normal diet. The weight and abdominal circumference (AC) of each rat were measured, the fasting plasma glucose (FPG) and fasting insulin (FINS) in blood from the angular vein were measured after 12 hours of fasting and blood glucose (BG) and insulin (INS) levels in blood from the angular vein were measured at 60 and 120 minutes after intraperitoneal injection of 50% glucose (2 g/kg). The rats were sacrificed, and their liver and visceral adipose tissue were weighed. The vaspin concentration of the visceral adipose tissue in each rat was measured using ELISA. Correlation analysis was performed on the vaspin concentration and other indices. **Results** Compared with the normal diet group, the high-fat diet group showed significantly higher weight, AC, weight of visceral adipose tissue, FPG, FINS, 120 minute INS level, vaspin concentration, homeostasis model assessment for insulin resistance (HOMA-IR) and homeostasis model assessment of β cell function (HOMA-β) ($P < 0.05$). Insulin sensitivity index (ISI) was significantly lower ($P < 0.01$). Vaspin concentration was positively correlated with visceral adipose tissue and liver weight, AC, 120 minute INS level, FPG, FINS, HOMA-IR and HOMA-β ($P < 0.05$), and negatively correlated with ISI ($P < 0.05$). **Conclusions** High expression of vaspin is associated with insulin resistance in young obese SD rats. Vaspin is presumably an adipocytokine that can increase insulin sensitivity, promote insulin secretion by islet β-cells and improve glucose tolerance, and it may be involved in insulin resistance and the disturbance of carbohydrate metabolism.

[Chin J Contemp Pediatr, 2013, 15(1):71-74]

Key words: Obesity; Visceral adipose tissue-derived serine protease inhibitor; Insulin sensitivity; Rats

[收稿日期]2012-06-30;[修回日期]2012-08-16
[作者简介]高芳芳,女,硕士,住院医师。
[通信作者]刘戈力,教授。

近年来,随着社会经济的快速发展、生活水平的稳步提高和生活方式的不断改变,肥胖、糖尿病(diabetes mellitus, DM)等代谢性疾病的发病率在全世界范围内呈急剧增长的趋势,已成为继心脑血管疾病、肿瘤之后严重威胁人类健康的第三大慢性非传染性疾病^[1-2]。肥胖能够引起胰岛素抵抗(insulin resistance, IR),其机制主要为肥胖症患者脂肪组织内分泌失调和脂肪的异位沉积。研究表明,脂肪组织不仅是储存和释放能量的场所,而且是全身较为重要的内分泌器官^[3]。与皮下脂肪组织相比,内脏脂肪组织具有更为活跃的内分泌功能^[4],它可分泌多种脂肪细胞因子。而内脏脂肪组织特异性丝氨酸蛋白酶抑制剂(visceral adipose tissue-derived serine protease inhibitor, vaspin)则是 Hida 等^[5] 2005 年发现的一种由脂肪组织分泌的具有胰岛素增敏作用的脂肪细胞因子,vaspin 的生物学作用仍未完全阐明。大量动物研究发现,vaspin 具有调节糖代谢、增加胰岛素敏感性的作用,vaspin 参与腹内脂肪聚集引起的各种代谢紊乱,是一种肥胖及胰岛素抵抗的新型生物标记物^[6-8]。本课题旨在探讨幼年肥胖 Sprague-Dawley (SD) 大鼠脂肪组织 vaspin 水平与胰岛素敏感性的关系。

1 材料与方法

1.1 实验动物与分组

1.1.1 肥胖动物模型的建立 断乳 3 周 SD 大鼠 24 只,雌雄各 12 只。按体重分层后随机分成 2 组,其中普通饮食组 12 只,雌雄各 6 只,给予普通饲料连续喂养 4 周;高脂饮食组 12 只,雌雄各 6 只,给予高脂饲料连续喂养 4 周。本实验所用动物由天津医科大学动物中心提供并饲养,分笼喂养,自由摄食饮水;每日换水,早晚添食;每日明暗时间均为 12 h,室温 23 ~ 26℃,湿度 50% 左右,饲养环境清洁,通风良好,膳食的热量组成由天津医科大学实验动物中心的营养师指导选定。

1.1.2 大鼠肥胖判断标准 凡经高脂饲料连续喂养 4 周后,SD 大鼠的体重超过普通饲料喂养大鼠体重的 20% 作为实验肥胖大鼠^[9]。

1.2 方法

1.2.1 体格测量指标 两组大鼠饲养至 7 周,禁食、水 12 h 后测量体重、腹围。腹围为麻醉状态下绕过腹部肚脐的周长。

1.2.2 空腹血糖及空腹胰岛素浓度测定 两组大鼠于实验 7 周末,禁食、水 12 h 后取内眦静脉血测量空腹血糖(FPG)、空腹胰岛素(FINS)。血糖测定采用葡萄糖氧化酶法,胰岛素浓度测定采用放射免疫法。

1.2.3 口服葡萄糖耐量(OGTT)试验 两组大鼠在完成空腹血糖及胰岛素测定后,腹腔注射 50% 葡萄糖(2 g/kg),分别在注射后 60、120 min 采集内眦静脉血测定血糖及胰岛素浓度(INS)。计算胰岛素抵抗指数(HOMA-IR) = FINS × FPG/22.5、胰岛素分泌指数(HOMA-β) = 20 × FINS/(FPG-3.5)及胰岛素敏感指数(ISI) = In[1/(FPG × FINS)]。

1.2.4 大鼠内脏脂肪组织 vaspin 含量测定 采用酶联免疫吸附法(ELISA)测定大鼠脂肪组织匀浆上清液中 vaspin 含量。所用试剂盒与其他可溶性结构类似物无交叉反应;标准品线性回归与预期浓度相关系数 $R \geq 0.99$;批内、批间变异系数均小于 15%;敏感度为 0.1 ng/mL。

1.3 统计学分析

应用 SPSS 16.0 统计软件对数据进行统计学分析,正态分布计量资料以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两组大鼠各指标差异性分析采用 t 检验,vaspin 与各指标相关性比较则采用 Pearson 相关性分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组大鼠体格测量参数比较

高脂饮食组的体重、腹围、内脏脂肪重量均高于普通饮食组($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 两组体格测量参数比较 ($\bar{x} \pm s$)				
分组	鼠数	体重(g)	腹围(cm)	内脏脂肪重量(g)
普通饮食组	12	162 ± 15	12.4 ± 0.5	1.6 ± 0.4
高脂饮食组	12	195 ± 33	14.0 ± 0.9	2.4 ± 1.0
t 值		2.680	5.298	4.019
P 值		0.015	<0.001	0.001

2.2 两组大鼠 OGTT 试验结果比较

在 OGTT 试验中,高脂饮食组幼鼠 FPG 高于普通饮食组($P < 0.05$),但 60 min、120 min 血糖与普通饮食组相比差异无统计学意义($P > 0.05$);高脂饮食组幼鼠 FINS、120 min 胰岛素水平明显高于普通饮食组($P < 0.05$),而 60 min 胰岛素水平在两组间比较差异无统计学意义。见表 2 ~ 3。

表 2 两组不同时间点血糖比较 ($\bar{x} \pm s$, mmol/L)				
分组	例数	血糖		
		FPG	60 min	120 min
普通饮食组	12	5.2 $\pm$ 0.3	6.9 $\pm$ 0.7	7.9 $\pm$ 0.5
高脂饮食组	12	5.6 $\pm$ 0.3	6.5 $\pm$ 0.5	7.7 $\pm$ 1.2
<i>t</i> 值		2.731	0.595	1.369
<i>P</i> 值		0.014	0.502	0.163

2.3 两组大鼠 vaspin、HOMA-IR、HOMA-β 及 ISI 比较

高脂饮食组 vaspin 水平、HOMA-IR 和 HOMA-β

表 4 两组大鼠 vaspin 及胰岛素敏感性评价指标比较 ($\bar{x} \pm s$)					
分组	例数	vaspin(ng/mL)	ISI	HOMA-IR	HOMA-β
普通饮食组	12	3.0 $\pm$ 0.6	-4.81 $\pm$ 0.29	5.6 $\pm$ 1.3	5.54 $\pm$ 0.25
高脂饮食组	12	4.7 $\pm$ 0.4	-5.29 $\pm$ 0.23	9.0 $\pm$ 2.2	5.81 $\pm$ 0.21
<i>t</i> 值		7.198	4.094	3.927	2.619
<i>P</i> 值		<0.001	0.001	0.001	0.013

2.4 幼年 SD 大鼠脂肪组织 vaspin 与各指标相关性分析

Vaspin 与内脏脂肪重量、腹围、FPG、FINS、120 min

表 5 幼年大鼠脂肪组织 vaspin 与各指标相关性分析					
指标	内脏脂肪重量	腹围	FPG	60 min 血糖	120 min 血糖
<i>r</i> 值	0.74	0.75	0.50	0.32	0.04
<i>P</i> 值	<0.01	<0.01	0.03	0.17	0.88

续表 5

指标	FINS	60 min INS	120 min INS	HOMA-IR	ISI	HOMA-β
<i>r</i> 值	0.49	0.24	0.75	0.55	-0.52	0.45
<i>P</i> 值	0.03	0.30	<0.01	0.01	0.02	0.04

3 讨论

Vaspin 是日本学者 Hida 等^[5]于 2005 年首次在肥胖 OIETF 大鼠内脏脂肪组织分离到的一种新的脂肪细胞因子,蛋白质结构的同源建模显示,vaspin 具有丝氨酸蛋白酶抑制剂家族的典型特征,故将其命名为内脏脂肪组织来源的丝氨酸蛋白酶抑制剂,简称 vaspin,也称为 serpin A12,是一种分泌性蛋白。

在 2 型糖尿病大鼠模型中 vaspin 主要由脂肪细胞分泌,在肥胖大鼠的脂肪组织中高表达,低或不表达于消瘦大鼠、小鼠的非脂肪组织。vaspin 在白色脂肪组织特异性表达,免疫组化证实其定位在胞质中,也分布到血循环。Hida 等^[5]的研究发现,6 周龄肥胖 OLETF 大鼠的内脏脂肪组织检测不到 vaspin mRNA,而 OLETF 大鼠 30 周龄体重、脂肪质量和血

表 3 两组不同时间点胰岛素释放指标比较 ($\bar{x} \pm s$, mmol/L)				
分组	例数	胰岛素		
		FINS	60 min	120 min
普通饮食组	12	24 $\pm$ 6	31 $\pm$ 8	45 $\pm$ 5
高脂饮食组	12	36 $\pm$ 8	38 $\pm$ 12	59 $\pm$ 9
<i>t</i> 值		2.73	0.601	4.132
<i>P</i> 值		<0.001	0.135	0.001

高于普通饮食组(均 $P < 0.05$),而 ISI 明显低于普通饮食组($P < 0.01$)。见表 4。

INS、HOMA-IR、HOMA-β 呈正相关($P < 0.05$),而与 ISI 呈负相关($P < 0.05$),与 60 min 血糖、120 min 血糖、60 min INS 无明显相关性($P > 0.05$)。见表 5。

浆胰岛素水平达到高峰时,vaspin 表达最多,同时免疫组化显示,vaspin 在基质内皮细胞或血管细胞没有表达,但可能对基质内皮细胞有旁分泌作用。不同种属大鼠 vaspin 表达可能不同,王文平等^[10]研究显示不仅高脂诱导肥胖 SD 大鼠附睾、皮下脂肪组织中均能检测到 vaspin 蛋白,正常 SD 大鼠附睾、皮下脂肪组织也可以检测到少量 vaspin 蛋白表达。

本研究显示高脂饮食诱导的肥胖 SD 大鼠脂肪组织 vaspin 浓度高于普通饮食组 SD 大鼠,与 Hida 等^[5]的研究结果一致。相关性分析显示大鼠内脏脂肪组织 vaspin 水平与腹围、内脏脂肪组织重量呈明显正相关,提示 vaspin 与肥胖具有密切的关系。Hida 等^[5]开展了一系列动物实验研究来探讨 vaspin 在胰岛素抵抗发生、发展中的作用,其研究结果显示 rh-vaspin 使高脂高盐饮食诱导的肥胖小鼠对胰岛素的敏感性改善。本研究显示高脂饮食诱导的肥胖 SD 大鼠胰岛素

释放试验中 FINS、120 min INS 水平、HOMA-IR、HOMA-β 高于普通饮食组,vaspin 与 FINS、120 min INS、HOMA-IR、HOMA-β 呈正相关,与 ISI 呈负相关。Hida 等^[5]的研究发现,OLETF 大鼠在 50 周龄进展为严重糖尿病时,脂肪组织 vaspin 的表达及血清 vaspin 水平反而显著下降。以上结果提示 vaspin 的水平升高可能是对胰岛素抵抗状态的代偿或提高胰岛 β 细胞的分泌功能,即 vaspin 水平的升高是胰岛素抵抗状态的防御性措施,当 vaspin 的水平足以代偿胰岛素抵抗状态或者能够促进胰岛 β 细胞分泌足够的胰岛素时就会使血糖维持在正常水平。综上所述,vaspin 除了具有增加胰岛素敏感性、改善糖耐量的作用,可能还具有促进胰岛 β 细胞分泌胰岛素的作用。

Vaspin 的胰岛素增敏的作用机制尚不清楚。研究发现肥胖状态下 vaspin 发挥了靶向增加白色脂肪胰岛素敏感性的功能,可能抑制某种来源于脂肪组织或其他组织的未知的蛋白酶,而这种蛋白酶在体内可能具有削弱胰岛素敏感性的作用^[5]。因此,vaspin 改善胰岛素抵抗的作用可能需在其靶蛋白酶存在的条件下才能奏效,但 vaspin 的靶蛋白酶迄今尚未知晓,有待进一步研究证实。

[参 考 文 献]

[1] 颜伟健,吴静,莫娟,黄超文,彭烈武,徐丽. 肥胖儿童血浆脂联

素与肿瘤坏死因子 α 的变化及意义[J]. 中国当代儿科杂志, 2009, 11(1):47-50.

[2] 关玉明,桂永浩,罗飞宏,沈水仙,杨毅. 脂蛋白酶基因突变与肥胖儿童心血管疾病危险的研究[J]. 中国当代儿科杂志, 2010, 12(3):161-164.

[3] Miner JL. The adipocyte as an endocrine cell[J]. J Anim Sci, 2004, 82(3): 935-941.

[4] Lefebvre AM, Laville M, Vega N, Riou JP, van Gaal L, Auwerx J, et al. Depot-specific differences in adipose tissue gene expression in lean and obese subjects[J]. Diabetes, 1998, 47(1): 98-103.

[5] Hida K, Wada J, Eguchi J, Zhang H, Baba M, Seida A, et al. Visceral adipose tissue-derived serine protease inhibitor: a unique insulin-sensitizing adipocytokine in obesity[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2005, 102(30): 10610-10615.

[6] Klötting N, Berndt J, Kralisch S, Kovacs P, Fasshauer M, Schon MR, et al. Vaspin gene expression in human adipose tissue: association with obesity and type 2 diabetes[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2006, 339(1):430-436.

[7] Blüher M. Vaspin in obesity and diabetes: pathophysiological and clinical significance[J]. Endocrine, 2012, 41(2):176-182.

[8] Tan BK, Heutling D, Chen J, Farhatullah S, Adya R, Keay SD, et al. Metformin decreases the adipokine vaspin in overweight women with polycystic ovary syndrome concomitant with improvement in insulin sensitivity and a decrease in insulin resistance[J]. Diabetes, 2008, 57(6):1501-1507.

[9] Chandler PC, Viana JB, Oswald KD, Wauford PK, Boggiano MM. Feeding response to melanocortin agonist predicts preference for and obesity from a high-fat diet[J]. Physiol Behav, 2005, 85(2): 221-230.

[10] 王文平. 非诺贝特、吡格列酮对 3T3-L1 脂肪细胞和高脂诱导肥胖大鼠 vaspin 表达的影响[D]. 安徽医科大学,2008.

(本文编辑:万静)