

不同经济类型猪种脂肪细胞的发育 及其脂肪合成能力的比较研究^{*}

孙金梅 路兴中 杨公社 唐文花
(西北农业大学动物科技学院, 杨陵 712100)

摘 要 通过脂肪组织固定技术, 将脂肪组织分离为体积不同的脂肪细胞, 发现不同经济类型的猪种在不同年龄阶段其脂肪细胞的生长发育过程存在明显的差异。肥胖型香猪的脂肪沉积, 在 5~8 月龄期间是由脂肪细胞的肥大作用引起的; 瘦肉型长白猪的脂肪细胞明显小于香猪, 单位组织重的脂肪细胞数极显著地高于香猪。同时研究表明, 体积不同的脂肪细胞合成脂肪的能力差异极显著, 表现为细胞体积越大, 其合成脂肪的能力越强, 不受品种和年龄的影响。

关键词 脂肪细胞, 生长发育, 品种, 年龄

我国地方猪种以早熟易肥、抗逆性强、肉质香嫩等特性而闻名于世。然而我国地方猪种的脂肪沉积能力极强, 严重地影响了出口贸易。同时由于缺乏对猪脂肪组织发育及成熟机理的深入了解, 长期片面追求瘦肉率, 忽视了猪的体质健康、外部形态及内在机能的协调, 从而导致现代瘦肉型猪种以异常高的频率出现 PSE 肉及 DFD 肉等劣质肉。因此揭示猪体脂肪沉积的机理, 已成为当务之急。只有对猪体脂肪沉积过程的深入探讨, 才是提高瘦肉率, 改善肉质的根本途径。本研究旨在揭示我国地方猪种与国外瘦肉型猪种脂肪细胞生长发育及其脂肪合成能力的差异, 不仅对于认识我国地方猪种的种质特性及发挥其优良种性具有重要意义, 也必将为猪体脂肪沉积调控技术的创建提供重要的理论依据。

1 材料与方法

1.1 样品的采集

选择日龄相近的香猪及长白猪各 3 头, 分别于 5、6.5、8 月龄, 采用活组织取样技术, 于试猪颈部第一肋骨处距背中线 2cm 取皮下脂肪组织一块, 采得的样品放入 37℃消毒过的 0.9% 生理盐水中尽快运回实验室。

1.2 脂肪细胞体积及数目的确定^[1]

用活组织切片将脂肪组织切成 400 μ m 厚的均匀的薄片, 取 50~100mg 的脂肪组织薄片在 37℃ 0.15 mol/L 的 NaCl 溶液中漂洗 2 次, 以减少在切片过程中脂肪细胞破裂释放出来的游离脂肪的量, 有利于以后固定过程中四氧化锇(O_3O_4)及脲素的穿透。将组织薄片置于盛有 3ml 50 mmol/L 可力丁 HCl 溶液的试管中(配制此溶液时, 将 25ml 0.5mol/L 的可力丁和 22.5ml 0.1mol/L 的 HCl 混合, 然后加 0.15 mol/L 的 NaCl 至 100ml 即可)。然后加入 5ml 含

* 国家自然科学基金资助项目, 编号 39370503。

** 收稿日期 1998-08-25。

O_3O_4 的可力丁缓冲液置于通风橱中于室温下固定 72~96h, 移去 $O_3O_4^-$ 可力丁溶液, 加入 10ml 0.15mol/L NaCl 溶液, 室温放置 24h, 吸出 10ml 0.15mol/L NaCl, 加入 10ml 含 8mol/L 豚素的 0.15mol/L NaCl, 24~48h 后, 脂肪细胞即从脂肪组织中游离出来。固定了的脂肪细胞通过一系列孔径不同的分样筛, 可将其分为体积不同的细胞组分。分样筛孔径分别为 154、105、60、38 μ m, 相应地将脂肪细胞分为 >154 μ m、154~105 μ m、105~60 μ m、60~38 μ m、<38 μ m 5 个部分, 由于此时分离出来的细胞彼此之间互相粘连形成一个个的大细胞团, 难以精确计数, 用含 0.01% TritonX-100 的蒸馏水冲洗、分离及收集细胞可使细胞分散, 分别收集滞留在筛网上的细胞, 低倍光镜下计数。

O_3O_4 固定的脂肪细胞是黑色的, 在计数放射活性的有机溶剂系统中, 会发生严重的颜色淬灭, 故本实验用 H_2O_2 对放射活性样本进行脱色, 增加计数效率。不同体积的脂肪细胞分别计数后, 将各部分的细胞均收集到小试管中, 将水蒸至剩 1ml 时, 加入 1ml H_2O_2 (30%), 在通风橱中加热以挥发掉脂肪细胞中的 O_3O_4 , 若需要, 可第 2 次、第 3 次加入 H_2O_2 , 直至将 O_3O_4 完全挥发掉, 试管中的样品变为白色的脂肪残余。

1.3 脂肪细胞合成脂肪速率的测定^[2]

将试管中的脂肪细胞转移至 2.5cm × 9.0cm 的大试管中, 用 19ml 氯仿: 甲醇: 水 = 1: 2: 0.8 (V/V/V) 抽提, 再加入 5ml 氯仿, 5ml 水, 产生一相混合物, 平衡 24h 以使提取完全, 用滴管小心吸取下层有机相, 放入另外试管中, 并用无水 Na_2SO_4 吸去残留水分, 至溶液澄清透明, 此溶液于 70℃ 烘箱中蒸干, 再加入 4ml 三氯甲烷 (CH_2Cl_2), 其中 2ml 蒸干, 加入 5ml 闪烁液 (4g PPO, 0.5g POPOP 溶于 1000ml 甲苯), 液闪计数, 此部分代表 D[U- ^{14}C] 葡萄糖掺入总脂的量。另 2ml 部分进行转酯化反应, 以测定组成总脂的甘油和脂肪酸分别掺入 D[U- ^{14}C] 葡萄糖的量, 滴加 1.25 mol/L 含 0.01% 酚酞的甲醇钠溶液, 使反应混合物保持碱性, 30min 后向反应混合物中加入含 10% HCl 的甲醇至滴定终点, 此时总脂中甘油已游离出来, 脂肪酸以甲酯的形式存在, 向混合液中加入 2ml 蒸馏水, 于是混合液又分为两相, 上层为含有甘油的水相, 下层为含有脂肪酸的三氯甲烷相, 分别将两相蒸干, 加入闪烁液, 液闪计数。脂肪酸的闪烁液与总脂的相同。甘油的闪烁液为: 每升闪烁液含 4 体积甲苯: 1 体积 Triton-X-100, 4g PPO, 0.5g POPOP。

2 结果与分析

2.1 脂肪细胞数目的变化

本研究采用 Etherton (1977) 的方法将脂肪细胞筛分为体积不同的细胞组分, 并对这些细胞组分进行精确计数。香猪及长白猪在不同年龄阶段脂肪细胞数目的变化见表 1。结果表明, 任何年龄阶段, 香猪的脂肪细胞均大于长白猪, 表现为 5 月龄阶段香猪几乎没有 <38 μ m 脂肪细胞存在, 而长白猪 <38 μ m 的脂肪细胞尚占一定的比例。随着年龄的增长, 香猪单位组织重的脂肪细胞数目明显下降, 这与其脂肪细胞体积明显增大的规律是相吻合的。且其 38 μ m 以下的脂肪细胞随着年龄的增长明显减少, 而 105 μ m 以上的脂肪细胞显著增加。

长白猪 6.5 月龄 38~60 μ m 的脂肪细胞数明显少于 5 月龄, 而至 8 月龄又有所增加, 表明其细胞增殖过程在持续地进行。这可能由于细胞肥大至一定程度, 细胞数量的增殖又成为沉

积脂肪所必需。

表 1 不同年龄阶段脂肪细胞数目的变化($\times 10^4$ 个/100mg 组织)

Table 1 The Variation of adipocyte number during different age period

月龄 (Month)	香猪 Xiang pig				长白猪 Landrace		
	细胞大小 Cell size						
	38~ 60 μ m	60~ 105 μ m	105~ 154 μ m	< 38 μ m	38~ 60 μ m	60~ 105 μ m	105~ 154 μ m
5	22.3	78.2	13.8	54.5	104.3	128.7	9.5
6.5	10.8	57.3	28.6		70.0	190.0	11.7
8		40.7	41.8		90.5	210.7	12.5

2.2 体积不同的脂肪细胞合成脂肪速率的比较

采用 O_2O_4 固定脂肪细胞技术将猪的脂肪细胞分成五部分: < 38 μ m, 38~ 60 μ m, 60~ 105 μ m, 105~ 154 μ m, > 154 μ m。因为< 38 μ m 及> 154 μ m 的脂肪细胞极少, 很难测出其合成脂肪的量, 因此本研究只测 38~ 60 μ m, 60~ 105 μ m, 105~ 154 μ m 三种不同体积细胞合成脂肪的速率(见表 2、表 3)。方差分析结果表明: 香猪的脂肪细胞合成总脂、脂肪酸、甘油的速率在月龄间和体积不同的脂肪细胞间均存在显著的差异($P > 0.05$), 不同月龄脂肪酸及总脂合成速率的高低表现为 8> 6.5> 5 月龄, 而甘油的合成速率则表现为 5> 6.5> 8 月龄。不同体积的脂肪细胞掺入总脂、甘油、脂肪酸的量均表现为 105~ 154 μ m> 60~ 105 μ m> 38~ 60 μ m。长白猪的脂肪细胞合成脂肪酸、甘油及总脂的能力在月龄间及体积不同的细胞间均存在显著的差异($P > 0.01$)。进一步 q 检验表明: 长白猪 6.5 月龄的总脂、脂肪酸及甘油的合成速率均显著高于 5 月龄及 8 月龄, 而不同体积的脂肪细胞合成脂肪的能力则表现为 105~ 154 μ m> 60~ 105 μ m> 38~ 60 μ m, 即脂肪细胞体积越大, 其掺入总脂、脂肪酸及甘油的量越多。Holm(1975)^[3] 及 Etherton(1981)^[4] 分别利用鼠及猪的不同体积的脂肪细胞比较其葡萄糖的代谢率亦表明: 大的脂肪细胞每个细胞掺入更多的底物, 而不受动物年龄的影响, 与本研究所得结论一致。

表 2 长白猪脂肪细胞合成总脂、脂肪酸、甘油能力的比较(cpm/细胞)

Table 2 Incorporation of glucose into total lipid, fatty acid and glycerol by adipocyte from Landrace (cpm/cell)

月龄(Month)	5			6.5			8		
	细胞大小								
	38~ 60	60~ 105	105~ 154	38~ 60	60~ 105	105~ 154	38~ 60	60~ 105	105~ 154
Cell size	μ m	μ m	μ m	μ m	μ m	μ m	μ m	μ m	μ m
脂肪酸 Fatty acid	3.33	3.62	9.05	5.64	11.7	23.63	5.11	5.77	13.78
	1.25	2.73	12.44	7.39	4.56	15.64	4.51	6.85	13.12
	3.41	3.82	13.31	9.14	9.63	29.50	5.94	4.38	16.87
甘油 Glycerol	1.43	1.89	13.48	2.26	4.73	21.04	2.04	4.40	18.6
	1.88	2.31	10.24	1.93	7.06	12.71	1.29	2.13	24.04
	1.07	1.78	9.65	2.62	9.21	28.3	1.17	1.44	12.25
总脂 Total lipid	2.82	4.37	13.15	9.07	7.09	23.12	6.27	6.85	26.58
	3.47	4.39	15.28	6.12	9.65	33.0	5.71	5.82	16.68
	3.54	4.66	9.08	10.13	12.20	38.80	6.83	8.18	36.48

表 3 香猪脂肪细胞合成总脂、脂肪酸、甘油能力的比较(cpm/细胞)

Table 3 Incorporation of glucose into total lipid fatty acid and glycerol by adipocytes from Xiang Pig(cpm/cell)

月龄 Month	5			6.5			8		
	38~ 60 μm	60~ 105 μm	105~ 154 μm	38~ 60 μm	60~ 105 μm	105~ 154 μm	38~ 60 μm	60~ 105 μm	105~ 154 μm
总脂 Total Lipid	13.53	21.65	25.38	12.50	19.45	30.50		30.46	37.38
	12.96	16.48	23.67	16.90	23.00	37.00		36.52	32.01
	14.12	24.82	21.96	20.80	24.67	23.06		24.75	41.8
脂肪酸 Fatty acid	12.07	16.00	21.67	10.70	21.20	28.33		30.49	31.25
	14.89	18.40	17.35	13.20	15.90	19.50		20.21	24.5
	9.20	20.80	24.50	19.10	26.30	32.40		38.20	39.03
甘油 Glycerol	12.41	8.80	17.67	7.10	9.30	13.20		11.42	9.78
	5.13	11.56	8.95	4.30	3.20	6.80		8.08	13.64
	11.84	16.65	28.50	9.90	15.40	21.30		4.72	5.96

体积不同的细胞组分中,以单位细胞数为基础表达代谢活性,难以反映特定细胞组分在总合成量中所占的比例。将三部分细胞各包含的放射活性占总放射活性的百分比(表4)做一比较后可以发现:长白猪在任一年龄阶段 60~ 105μm 的脂肪细胞将¹⁴C-葡萄糖转化为脂肪的量,均可占到总合成量的 50% 以上,且随着年龄的增长所占比例增加,这与此部分所提供的大量的脂肪细胞数是密不可分的。其余两部分所占合成量的比例则逐渐下降,且 38μm 的脂肪细胞合成脂肪的量高于 105μm 的脂肪细胞。香猪 5 月龄和 6.5 月龄时,60~ 105μm 的脂肪细胞合成的脂肪的量占绝大部分,且在这两个阶段,105μm 以上的脂肪细胞合成脂肪的量均明显高于 38μm 的脂肪细胞。随着年龄的增长,105μm 以上的脂肪细胞在将¹⁴C-葡萄糖转化为脂肪的过程中发挥着越来越重要的作用,至 8 月龄时,则一半以上的脂肪合成量均是由 105μm 的脂肪细胞提供的。可见品种间细胞学的差异是导致脂肪合成差异的原因之一。

表 4 不同年龄阶段各细胞组分合成脂肪的量占总合成量的百分比

Table 4 The percentage of incorporation of glucose into total lipid of different cell size from pigs of different age

月龄 Month	香猪 Xiang pig			长白猪 Landrace		
	38~ 60μm	60~ 105μm	105~ 154μm	38~ 60μm	60~ 105μm	105~ 154μm
5	13.3%	55.4%	35.3%	33.7%	50%	16.3%
6.5	7%	50%	43%	27.3%	59.5%	13.2%
8		48.8%	51.2%	28.8%	63%	8.2%

3 讨 论

3.1 脂肪组织生长发育过程的探讨 Anderson and kauffman(1973)^[5]认为,1~ 2 月龄猪脂肪组织的生长主要是脂肪细胞数目的增加,5~ 6.5 月龄时脂肪组织的增加则主要表现为脂肪细胞体积的增大。Hood and Allen(1974)^[6]证明脂肪细胞数目在 5~ 6.5 月龄期间达到峰值(一

般的小型猪)。本研究结果亦表明: 香猪的脂肪细胞数目在 5 月龄达最高。而长白猪的脂肪细胞数目以 8 月龄为最高。只是在这三个年龄阶段中增殖所起的作用较小, 而以脂肪细胞的肥大过程占主导地位。长白猪脂肪细胞的肥大突出地表现在 60~ 105 μm 的脂肪细胞, 此部分的脂肪细胞增长极快。但长白猪的脂肪细胞似乎很难突破 105 μm 的增长界限。表现在随着年龄的增长, 105~ 154 μm 的脂肪细胞数虽略有增加, 但差异不显著。8 月龄时脂肪的沉积则不仅由于脂肪细胞的肥大(表现为 60 μm 以上的脂肪细胞进一步增加), 可能又开始了新的脂肪细胞的增殖(表现为 38 μm 的脂肪细胞数高于 6.5 月龄)。香猪脂肪细胞的生长明显与长白猪不同, 其细胞的肥大突出地表现为 105~ 154 μm 的脂肪细胞数目的持续增加。可以认为香猪的脂肪细胞从 5 月龄起几乎没有增殖过程的存在, 因为其 60 μm 及 38 μm 的脂肪细胞数持续下降, 至 8 月龄时 38 μm 的脂肪细胞几乎不存在。

可见猪的品种不同, 脂肪细胞生长发育的主要过程也是不同的。

3.2 香猪及长白猪脂肪沉积的特性 本研究结果显示, 脂肪型香猪的脂肪沉积受品种、年龄、脂肪细胞数目及脂肪细胞体积多方面的影响。香猪随着年龄增长其体积较大的脂肪细胞数目急剧增加, 而体积较大的脂肪细胞又能大量利用放射活性底物合成其脂肪, 因此年龄越大, 其脂肪合成能力应该越强。利用放射活性底物掺入产物的速率亦表明: 香猪的脂肪合成速率在 8 月龄时最高。香猪是我国独特的小型猪种, 主要分布于黔、桂接壤的榕江、荔波、融水等县的北部及雷山、丹寨县等地, 当地封闭的饲养环境及低能饲养, 加之农民素有宰食仔猪的习惯, 形成了香猪体小、易肥、肉质香嫩等特性。为了进一步研究香猪的种质特性, 全国各地掀起了研究香猪的热潮, 本研究表明香猪的脂肪生长能力极强, 一直到 8 月龄尚处于脂肪合成的高峰, 有必要对其进行进一步的后续研究。

对瘦肉型的长白猪而言, 其脂肪沉积亦受品种、年龄、脂肪细胞的数目及体积的影响。以往的研究多以测定细胞直径及体积来说明脂肪细胞的肥大, 很少进行过精确的细胞计数, 且研究多以 6 月龄前的猪为主。本研究首次表明: 老龄猪在脂肪细胞肥大到一定限度, 细胞增殖又成为沉积脂肪所必需。体积不同的脂肪细胞合成脂肪的能力依然表现为细胞体积越大, 合成脂肪的能力越强。而脂肪细胞体积一定时, 年龄对脂肪合成的效应表现为: 长白猪在 6.5 月龄合成脂肪的能力最强, 这由此期大的脂肪细胞数(60+ 105 μm) 占细胞总数的百分比(74%) 最大可以得到说明。而此后 8 月龄阶段脂肪的继续沉积可能部分归功于小脂肪细胞的增殖。

参 考 文 献

- 1 Etherton T D, Thompson E H, Allen C E. Improved techniques for studies of adipocyte cellularity and metabolism. *Journal of lipid research*, 1977, 18: 552~ 557
- 2 Therton T E, Elton Aberle D, et al. Effects of cell size and animal age on glucose metabolism in pig adipose tissue. *Journal of lipid research*, 1981, 22: 72~ 80
- 3 Holm G, Jacobsson B, et al. Effects of age and cell size on rat adipose tissue metabolism. *Journal of lipid research*, 1975, 16: 461~ 464
- 4 Etherton T D, Allen C E. Metabolic responsiveness of different size adipocyte to fasting and refeeding in the pig. *J Nurt*, 1980, 10: 1169

- 5 Anderson D B, Kanffman R G. Cellular and enzymatic changes in porcine adipose tissue during growth. *Journal of lipid research*, 1973, 14: 160~ 168
- 6 Hood R L, Allen C E. Cellularity of porcine adipose tissue: effects of growth and adiposity. *J Lipid Res*, 1972, 4: 39~ 45

THE COMPARISON RESEARCH ON THE DEVELOPMENT OF ADIPOCYTE AND ITS LIPID SYNTHESIS FROM DIFFERENT ECONOMICAL PIGS

Sun Jinmei, Lu Xingzhong, Yang Gongshe, Tang Wenhua
(*Institute of Animal Science and Technology,
Northwest Agricultural University, Yangling 712100*)

Abstract

The adipocyte was separated into different size ranges from O_4 -fixed adipose tissue. There was significant difference in the development of adipocyte between species and ages. The fat accumulation in Xiang pig was mainly caused by the hypertrophy during the age of 5~ 8 month. That is: the adipocyte of 105~ 154 μ m was continuously increased with age, therefore the adipocytes of 38 μ m and 60 μ m was continuously decreased with age, and the adipocytes of 38 μ m was not exist at the age of 8 month. In contrast, The hypertrophy of adipocytes of Landrace was dominated by the adipocytes of 60~ 105 μ m. Those cells increased sharply with age, the adipocytes of 105~ 154 μ m was increased marginly. The fat accumulation at the age of 8 month was not only caused by hypertrophy but also by the hyperplasia. That means to the limit of the adipocyte hypertrophy, the hyperplasia was the necessary to the fat accumulation. The adipocyte of Landrace was significantly smaller than that of Xiang pig, therefore the adipocyte number per unit weight was higher than Xiang pig.

There was significant difference between adipocytes of different size incorporate substrates into triglyceride. The larger the adipocyte size, the more it synthesis its fat, and not affected by species and ages.

Key words Adipocyte, Development, Species, Age