

结合亚油酸对胰岛素抵抗模型 MSG 肥胖小鼠的影响

孙素娟, 申竹芳*, 陈跃腾, 唐玲, 丁世英, 谢明智

(中国医学科学院, 中国协和医科大学 药物研究所, 北京 100050)

摘要: 目的 研究结合亚油酸对胰岛素抵抗模型 MSG 肥胖小鼠的胰岛素抵抗是否有改善作用。方法 建立胰岛素抵抗模型后分为模型 结合亚油酸和罗格列酮组, 观察结合亚油酸对 MSG 小鼠肥胖、葡萄糖代谢、胰岛素抗性、血及脂肪组织中 TNF- α 含量等的影响。结果 结合亚油酸使 MSG 小鼠体重增长减少, 体型明显改变, 但对 MSG 小鼠异常的胰岛素和葡萄糖耐量、高胰岛素血症及脂肪组织中 TNF- α 含量升高均无改善, 使胰岛素敏感指数明显降低。结论 结合亚油酸对 MSG 小鼠有一定减肥作用, 对 MSG 小鼠的胰岛素抵抗无改善作用。

关键词: 结合亚油酸; MSG 小鼠; 胰岛素抵抗; 2 型糖尿病

中图分类号: R965 文献标识码: A 文章编号: 0513 - 4870(2003)12 - 0904 - 04

Effects of conjugated linoleic acid on obese MSG mice with insulin resistance

SUN Su-juan, SHEN Zhu-fang*, CHEN Yue-teng, TANG Ling, DING Shi-ying, XIE Ming-zhi

(Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100050, China)

Abstract: **Aim** To study the effect of conjugated linoleic acid (CLA) on obese MSG mice with insulin resistance. **Methods** About four months old, obese MSG mice with insulin resistance were divided into control, CLA and rosiglitazone groups and drugs were administrated ig once a day. Body weights were recorded regularly, insulin and glucose tolerance were tested. In addition, serum insulin and TNF- α concentrations in serum and fat tissues were determined. **Results** CLA was shown to reduce the body weight and fat weight in MSG mice, but can not improve the abnormal insulin and glucose tolerance in these mice. Indeed, the serum insulin and TNF- α concentrations in the fat tissues of the group treated with CLA were higher than those in the models and the insulin sensitivity index was significantly lower than that in the model mice. **Conclusion** CLA can reduce the body weight of MSG mice, but can not improve the insulin resistance in these mice.

Key words: conjugated linoleic acid; MSG mice; insulin resistance; type 2 diabetes

结合亚油酸(conjugated linoleic acid, CLA)是亚油酸的一组共轭衍生物异构体。CLA 主要来源于牛肉、牛奶及奶制品^[1]。已有研究^[2-4]证明 CLA 有抗肿瘤和抗动脉粥样硬化及减肥作用,能够减轻动物的体重及脂肪重量。也有文献^[5]报道 CLA 能够改善 Zucker(fa/fa) 肥胖大鼠糖耐量的异常,将 CLA 列为潜在的胰岛素增敏剂。肥胖是诱发胰岛素抵抗(insulin resistance, IR)的重要因素,IR 也是公认的引起 2 型糖尿病发病的主要病理基础。推测 CLA 有

可能通过减轻体重及脂肪重量而改善 IR,从而预防和治疗 2 型糖尿病。因此,本实验室用已建立的谷氨酸钠(MSG) IR 肥胖小鼠模型^[6],以验证 CLA 对 MSG 小鼠的 IR 特征的影响。

材料与方 法

动物 新生 ICR 小鼠。孕鼠由北京维通利华实验动物有限公司提供。

药品与试剂 L-谷氨酸钠(MSG)分析纯,北京华源科技开发中心产品;葡萄糖氧化酶,中国科学院微生物研究所产品;胰岛素放射免疫分析测定试剂盒,中国科学院原子能所产品;TNF- α 放射免疫分析

测定试剂盒,军事医学科学院东亚免疫技术研究所产品。CLA 为上海华拓新药研究中心产品,罗格列酮马来酸盐为葛兰素史克(中国)有限公司产品。

主要仪器 752Z 光栅分光光度计,北京光学仪器厂;EBR 12R 微型高速低温离心机,德国 Hettich 公司;S.500P 半自动生化分析仪,法国 SECOMAN 公司;HZQ-C 空气浴震荡器,哈尔滨东明医疗仪器厂;Wallac 1470 WINZARDy 记数仪,Perkin Elmer 公司;U-Quant 酶标仪,美国 BIO-TEK 公司。

MSG 胰岛素抵抗肥胖小鼠模型的形成 新生小鼠于出生 d 2 起,sc L-谷氨酸钠 $4 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$,连续 7 d。21 d 后断乳,按 ♀ ♂ 分笼饲养。定期记录体重,观察体型变化^[6]。

动物分组及给药 选用 4 月龄 ♂MSG 小鼠进行胰岛素($0.4 \text{ U} \cdot \text{kg}^{-1}$,sc)耐量实验。根据其结果,选择具有明显胰岛素抵抗动物,并参考体重分为 3 组,一组以水 ig 作为 MSG 模型组,一组以 CLA($500 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) ig,一组以罗格列酮(rosiglitazone, $1.25 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) ig,每天 1 次,连续给药。

观察指标 实验中定期记录体重,于给药 d 12 进行胰岛素耐量实验;给药 d 31 进行口服葡萄糖($2.0 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)耐量实验;d 33 断头处死动物,称腹腔内脂肪重量,计算脂肪与体重比值;测量体长(鼻尖至尾根)、腹围,计算 Lee's 指数;分离血清,测定空腹血糖(fast blood glucose, FBG,葡萄糖氧化酶法)、血胰岛素含量(insulin, Ins, 放免法),计算胰岛素敏感指数(insulin sensitivity index, ISI);测定血及脂肪组织中 TNF- α 含量(放免法)。

统计学处理 计数资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用两组间均数比较 *t* 检验。

结果

1 结合亚油酸(CLA)对 MSG 小鼠体重及体型的影响

与模型组相比,给予 CLA 后 MSG 小鼠体重的增长明显减少,说明 CLA 减缓 MSG 小鼠体重的增长。CLA 使 MSG 小鼠的体重 Lee's 指数显著地低于模型组,CLA 对 MSG 小鼠的腹腔脂肪有一定的降低作用,但对腹围及腹脂与体重比值无影响,CLA 使 MSG 小鼠的肝重明显增加,肝脏指数显著地高于模型组(表 1)。

2 结合亚油酸(CLA)对 MSG 小鼠胰岛素耐量的影响

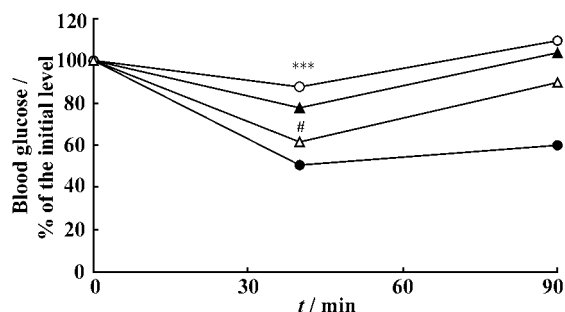
结果表明,MSG 模型组 40 min 血糖下降百分数

显著低于正常对照组,表明 MSG 模型小鼠具有明显的胰岛素抵抗特征,胰岛素增敏剂罗格列酮使 MSG 小鼠胰岛素耐量明显改善,而 CLA 组 40 min 血糖下降百分数虽稍大于模型组,但无统计学差异,提示 CLA 对 MSG 小鼠的胰岛素耐量异常无明显改善作用(图 1)。

Table 1 Effect of conjugated linoleic acid (CLA) on the body weight and shape in MSG mice

Item	Normal	Control	CLA	Rosiglitazone
Body weight/g	34 ± 4	51 ± 5 ^{***}	46 ± 5	46 ± 8
Body length/cm	10.2 ± 0.6	8.9 ± 0.4 ^{***}	9.3 ± 0.4 [#]	9.1 ± 0.5
Lee's index	314 ± 12	410 ± 17 ^{***}	380 ± 18 ^{##}	386 ± 20 [#]
Adipose weight/g	0.60 ± 0.20	6.8 ± 1.0 ^{***}	5.7 ± 1.1	5.8 ± 1.2
Aw/bw × 100	1.7 ± 0.4	13.4 ± 1.5 ^{***}	12.4 ± 1.6	12.6 ± 0.9
Belly perimeter/cm	8.8 ± 0.5	11.7 ± 0.7 ^{***}	11.5 ± 1.1	10.8 ± 0.8 [#]
Liver weight/g	1.40 ± 0.20	1.60 ± 0.20	2.0 ± 0.4 [#]	1.4 ± 0.4
Lw/bw × 100	4.0 ± 0.5	3.1 ± 0.3 ^{***}	4.3 ± 0.5 ^{##}	3.1 ± 0.5
Body weight change/g	7.9 ± 2.9	1.2 ± 1.5 ^{***}	-2.7 ± 2.7 ^{##}	1.6 ± 1.5

Lee's index = $BW^{0.33} / BL \times 1000$; aw/bw = adipose weight / body weight; lw/bw = liver weight / body weight; $n = 7 - 9$, $\bar{x} \pm s$.
^{***} $P < 0.001$ vs normal; [#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$,
^{###} $P < 0.001$ vs control



●—● Normal; ○—○ Control; ▲—▲ CLA $500 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$;
 △—△ Rosiglitazone $1.25 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$

Figure 1 Effect of conjugated linoleic acid (CLA) on insulin tolerance in MSG mice ($n = 9$). ^{***} $P < 0.001$ vs normal, [#] $P < 0.05$ vs control

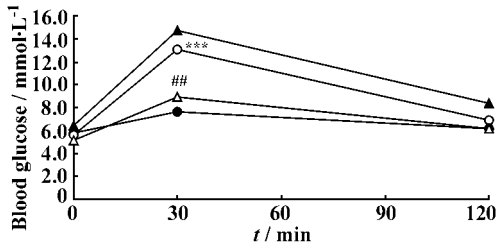
3 结合亚油酸(CLA)对 MSG 小鼠葡萄糖耐量的影响

如图 2 所示,MSG 模型组小鼠的糖耐量显著高于正常对照组,罗格列酮使 MSG 小鼠糖耐量异常明显改善,而 CLA 组对 MSG 小鼠的糖耐量异常无改善作用,反而使其有恶化趋势。

4 结合亚油酸(CLA)对 MSG 小鼠血胰岛素及胰岛素敏感指数的影响

结果表明,MSG 模型组小鼠具有明显的高胰岛

素血症,CLA对MSG小鼠高胰岛素血症无改善作用,血胰岛素含量反而有增高趋势,胰岛素敏感指数明显低于模型组,提示CLA加剧了MSG小鼠的胰岛素抵抗(表2)。



●—● Normal; ○—○ Control; ▲—▲ CLA 500 mg·kg⁻¹; △—△ Rosiglitazone 1.25 mg·kg⁻¹

Figure 2 Effect of conjugated linoleic acid (CLA) on glucose tolerance in MSG mice (n = 7 - 9). *** P < 0.001 vs normal, ## P < 0.05 vs control

Table 2 Effect of conjugated linoleic acid (CLA) on serum insulin, FBG and ISI in MSG mice

Group (mg·kg ⁻¹)	Serum insulin / mU·L ⁻¹	FBG / mmol·L ⁻¹	ISI (× 10 ⁻³)
Normal	32.1 ± 2.0	6.9 ± 0.6	4.6 ± 0.6
Control	45 ± 12*	6.1 ± 0.3**	3.9 ± 0.9
CLA (500)	59 ± 28	8 ± 4	2.7 ± 1.2#
Rosiglitazone (1.25)	37 ± 16	6.1 ± 0.9	5.3 ± 2.5

* P < 0.05, ** P < 0.01 vs normal; # P < 0.05 vs control. n = 7 - 9, $\bar{x} \pm s$. FBG: Fasting blood glucose; ISI: Insulin sensitivity index

5 结合亚油酸(CLA)对MSG小鼠血及脂肪组织中TNF-α含量的影响

如表3所示,MSG模型小鼠脂肪组织中TNF-α含量明显高于正常对照组,胰岛素增敏剂罗格列酮使MSG小鼠脂肪组织中TNF-α含量明显降低,而CLA使血及脂肪组织中TNF-α含量有所升高,提示CLA使MSG小鼠胰岛素敏感性降低,可能与TNF-α含量升高有一定关系。

Table 3 Effect of conjugated linoleic acid (CLA) on TNF-α level in serum and adipose tissue in MSG mice

Group (mg·kg ⁻¹)	Serum TNF-α / μg·L ⁻¹	TNF-α in adipose tissue / μg·g ⁻¹ (protein)
Normal	2.2 ± 0.8	0.33 ± 0.15
Control	1.9 ± 0.8	0.77 ± 0.29**
CLA (500)	2.3 ± 1.5	1.1 ± 1.0*
Rosiglitazone (1.25)	1.8 ± 0.6	0.42 ± 0.17#

n = 7 - 9, $\bar{x} \pm s$. * P < 0.05, ** P < 0.01 vs normal; # P < 0.05 vs control

讨论

胰岛素抵抗(IR)与2型糖尿病、高血压和冠心病等多种疾病密切相关,是这些疾病共同的病理生理基础。因此改善胰岛素抵抗,就能降低2型糖尿病、高血压和冠心病等疾病发生的风险。

本研究结果表明,CLA对胰岛素抵抗特征的MSG小鼠有一定的减肥作用,但不能改善它的胰岛素抵抗,反而使其加剧:如使葡萄糖耐量恶化,胰岛素敏感指数明显降低及脂肪组织中TNF-α含量升高,肝脏重量及指数明显高于模型组,肉眼观察显示肝脏有脂肪堆积。这与前面文献^[5]有矛盾之处,Karen等^[5]认为CLA能够改善Zucker糖尿病fa/fa肥胖大鼠的糖耐量异常,但作者发现该文的实验设计存在不妥之处,其对照组饲以含5%玉米油和1.5%猪油的饲料,而CLA组的饲料中只含5%玉米油和1.5%CLA,却未含1.5%猪油,因此其实验结论说服力不强。而Nobuyo等^[7]报道:给雌性C57BL/6J小鼠饲以含有1%(wt/wt)CLA的饲料后,小鼠脂肪重量明显减少,肝脏重量明显增加,病理及免疫组化实验证实肝脏脂肪增加,脂肪代谢产生紊乱,导致脂肪细胞凋亡;脂肪细胞中TNF-α及解偶联蛋白2(UCP-2)mRNA的表达分别增加了12倍和6倍,认为CLA使脂肪细胞凋亡,导致了脂质代谢紊乱及胰岛素抵抗。其实验结果与本研究结果相一致。

TNF-α是一种具有多种生物功能的细胞因子,近年来研究发现TNF-α在IR发生的病理机制中起非常重要的作用,与血清胰岛素水平、葡萄糖代谢及脂质代谢密切相关。在IR的肥胖动物模型(C57BL/6(ob/ob),C57BLKS(db/db),tub/tub, KKAY鼠和Zucker fa/fa鼠)脂肪组织中广泛存在TNF-α过度表达,TNF-α mRNA比对照组高2~3倍^[8]。在人类,肥胖者(BMI > 30 kg·m²)腹部脂肪组织及细胞中TNF-α的mRNA是正常人(BMI < 25 kg·m²)的2.5倍^[9]。TNF-α与细胞表面的相应受体结合后,通过影响胰岛素受体磷酸化和激酶活性水平,干扰胰岛素受体后信号传导;抑制脂肪细胞摄取葡萄糖;使糖代谢和脂代谢异常。

本实验结果提示,虽然肥胖与IR密切相关,但减肥并不一定能够减轻IR,某些减肥药物虽然使体重减轻,但使IR加剧,对身体健康更加不利,要谨慎对待,权衡利弊。CLA增加脂肪组织中TNF-α含量可能是使MSG小鼠胰岛素抵抗加剧的原因之一,其进一步机制值得探讨。

References :

- [1] Lin H, Boylston TD, Chang MJ, *et al.* Survey of the conjugated linoleic acid contents of dairy products [J]. *J Dairy Sci*, 1995, **78**(11) :2358 - 2365 .
- [2] Ostrowska E, Muralitharan M, Cross RF, *et al.* Dietary conjugated linoleic acids increase lean tissue and decrease fat deposition in growing pigs [J]. *J Nutr*, 1999, **129**(11) :2037 - 2042 .
- [3] Park Y, Albright KJ, Liu W, *et al.* Effect of conjugated linoleic acid on body composition in mice [J]. *Lipids*, 1997, **32**(8) :853 - 858 .
- [4] Deckere EAM, Amelsvoort JMM, McNeil GP, *et al.* Effect of conjugated linoleic acid (CLA) isomers on lipid levels and peroxisome proliferation in the hamster [J]. *Br J Nutr*, 1999, **82**(4) :309 - 317 .
- [5] Karen LH, John PVH, Silvia YMC, *et al.* Dietary conjugated linoleic acid normalizes impaired glucose tolerance in the Zucker diabetic fatty fa/fa rat [J]. *Biochem Biophys Research Commun*, 1998, **244**(3) :678 - 682 .
- [6] Song GM, Tang L, Sun SJ, *et al.* Partial characterization of insulin resistance in monosodium L-glutamate (MSG)-treated obese mice [J]. *Diabetes, Obes Metab*, (in press) .
- [7] Nobuyo TK, Mayumi T, Kentaro T, *et al.* Conjugated linoleic acid supplementation reduces adipose tissue by apoptosis and develops lipodystrophy in mice [J]. *Diabetes*, 2000, **49**(9) ,1534 - 1542 .
- [8] Hotamisligil GS, Shargill NS, Spiegelman BM. Adipose expression of tumor necrosis factor- α : direct role in obesity-linked insulin resistance [J]. *Science*, 1993, **259**(1) :87 - 91 .
- [9] Kern PA, Saghizadeh M, Ong JM, *et al.* The expression of tumor necrosis factor- α in human adipose tissue [J]. *J Clin Invest*, 1995, **95**(5) :2111 - 2115 .