

# PRDM16 和 BMP7 基因表达量在中缅树鼩体重调节中的作用

高文荣<sup>1,2</sup> 王政昆<sup>1</sup> 侯东敏<sup>1</sup> 朱万龙<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup>云南省高校西南山地生态系统动植物生态适应进化及保护重点实验室, 云南师范大学生命科学学院, 昆明 650500; <sup>2</sup>云南师范大学能源与环境科学学院, 昆明 650500)

**摘要** 为探讨季节性环境变化下中缅树鼩 PRDM16 (PR domain-containing 16) 和 BMP7 (bone morphogenetic proteins 7) 基因表达量对其生理适应性调节的作用, 本研究测定了野外不同季节和实验室冷驯化条件下中缅树鼩的体重、静止代谢率 (resting metabolic rate, RMR)、非颤抖性产热 (nonshivering thermogenesis, NST)、摄食量、PRDM16 和 BMP7 基因表达量的变化。结果表明: 季节性变化过程中中缅树鼩的体重、RMR、NST、褐色脂肪组织 (brown adipose tissue, BAT) 重、白色脂肪组织 (white adipose tissue, WAT) 重和摄食量均是冬季显著高于夏季; 中缅树鼩不同季节的 PRDM16 和 BMP7 基因表达量差异极显著, PRDM16 表达量的季节变化趋势为: 冬季>秋季>春季>夏季; BMP7 表达量的季节变化趋势为: 冬季>秋季>夏季>春季。冷驯化条件下, 中缅树鼩的体重、RMR、NST、摄食量、BAT 含量、大网膜 WAT 含量显著增加, PRDM16 和 BMP7 基因表达量也显著增加。以上结果表明, 中缅树鼩褐色脂肪细胞存在 PRDM16 和 BMP7 肌源性起源, 即冬季或者低温条件下中缅树鼩 PRDM16 和 BMP7 表达量上调, 促进褐色脂肪细胞形成, 增加 NST 来弥补产热的不足, 以适应冬季寒冷的环境。PRDM16 和 BMP7 在中缅树鼩季节性产热调节和能量代谢中起着重要的作用。

**关键词** 中缅树鼩; 能量代谢; 褐色脂肪组织

**Roles of PRDM16 and BMP7 gene expressions in body mass regulation in *Tupaia belangeri*.** GAO Wen-rong<sup>1,2</sup>, WANG Zheng-kun<sup>1</sup>, HOU Dong-min<sup>1</sup>, ZHU Wan-long<sup>1\*</sup> (<sup>1</sup>Key Laboratory of Ecological Adaptive Evolution and Conservation on Animals-Plants in Southwest Mountain Ecosystem of University in Yunnan Province, School of Life Science, Yunnan Normal University, Kunming 650500, China; <sup>2</sup>School of Energy and Environmental Science, Yunnan Normal University, Kunming 650500, China).

**Abstract:** In order to clarify the adjustment roles of PR domain-containing 16 (PRDM16) and bone morphogenetic proteins 7 (BMP7) genes expressions in the physiological adaptation of tree shrew (*Tupaia belangeri*) to seasonal environment changes, the indexes of tree shrew's body mass, resting metabolic rate (RMR), nonshivering thermogenesis (NST), food intake, brown adipose tissue (BAT) mass, white adipose tissue (WAT) mass, PRDM16 and BMP7 genes expressions were measured under different seasons and cold acclimatization. The results showed that, with the seasonal changes, tree shrew's body mass, BAT mass, WAT mass, RMR, NST and food intake in winter were significantly higher than that in summer; its PRDM16 and BMP7 genes expressions showed significant differences in different seasons. Seasonal variation tendency of PRDM16 gene expression was in order of winter>autumn>spring> summer, and the seasonal

国家国际科技合作专项项目 (2014DFR31040)、国家自然科学基金项目 (31660121)、云南省应用基础研究计划重点项目 (2016FA045) 和云南省博士研究生学术新人奖资助。

收稿日期: 2016-03-28 接受日期: 2016-9-20

\* 通讯作者 E-mail: zwl\_8307@163.com

variation tendency of BMP7 gene expression was in order of winter>autumn>summer>spring. Cold acclimatization increased its body mass, BAT mass, WAT mass, RMR, NST and food intake. PRDM16 and BMP7 genes expressions were also increased under cold acclimation. The results suggested that the gene expression levels of PRDM16 and BMP7 of the tree shrews were increased in winter or with cold exposure, which promoted the formation of brown fat cells to increase the thermogenesis to adapt to the cold condition in winter. Moreover, PRDM16 and BMP7 genes play important roles in the seasonal thermogenic regulation and energy metabolism in the tree shrews.

**Key words:** *Tupaia belangeri*; energy metabolism; brown adipose tissue.

自然环境中,食物质量、环境温度和光周期的季节性变化对动物的繁殖、生存和能量代谢等生理生态特征有着重要的影响(Heldmaier *et al.*, 1989; Zhu *et al.*, 2015; Gao *et al.*, 2016a)。由于气候条件的变化,环境因素与生物相互作用,共同影响着动物对能量的分配、获取、处理及消耗(Corp *et al.*, 1999; Zhao *et al.*, 2013)。面临持续变化的环境时,生物有机体不断调整自身的生理生态特征以维持能量稳态(Johnston *et al.*, 1996; Gao *et al.*, 2016b)。脂肪组织在动物的能量稳态调节过程中发挥着极为重要的作用(Wunder, 1984; Tews *et al.*, 2011)。哺乳动物主要包含两种类型的脂肪组织:褐色脂肪组织(brown adipose tissue, BAT)和白色脂肪组织(white adipose tissue, WAT),两者形态、生物学功能截然不同。WAT主要负责以三酰甘油为主的化学能的储库,当机体需要能量时输出化学能,从而满足机体对能量的需要;而BAT是一种特化的产热组织,是非颤抖性产热(nonshivering thermogenesis, NST)的主要发生部位,对于小型哺乳动物抵抗低温环境具有重要作用(Nicholls *et al.*, 1984; Seale *et al.*, 2008)。

目前认为,褐色脂肪细胞的肌源性起源途径主要包括PRDM16(PR domain-containing 16)和BMP7(bone morphogenetic proteins 7)两条途径,PRDM16和BMP7是促进褐色脂肪细胞分化的重要因子(Seale *et al.*, 2008)。PRDM16是Spiegelman研究组在筛选小鼠的转录物时发现的相对分子质量为140 kDa的锌指蛋白(Seale *et al.*, 2007; Frühbeck *et al.*, 2009),在BAT中特异性表达,可触发BAT细胞中解偶联蛋白1(uncoupling protein 1, UCP1)等基因的表达,是促进褐色脂肪细胞形成的关键调控因子(Kajimura *et al.*, 2008)。BMP7是转录生长因子 $\beta$ (transforming growth factor- $\beta$ , TGF- $\beta$ )超家族中的成员,可调控PRDM16等基因的表达,刺激BAT细胞分化及产热增强(Balint *et al.*, 2003; Canalis *et al.*, 2003)。BMP7敲除的小鼠仅含少量不表达UCP1

的BAT,而BMP7过表达小鼠的BAT含量明显增加(Tseng *et al.*, 2008)。由此可见,PRDM16和BMP7在维持体温和能量稳态中具有重要作用。它可以通过调节BAT的产热能力来影响能量摄入和消耗之间的平衡,进而影响动物对环境的适应对策和体重调节。

中缅树鼩(*Tupaia belangeri*)属攀鼩目(Scandentia)树鼩科(Tupaiaidae),是树鼩中分布最北的一个种,为东洋界特有的小型哺乳动物,主要分布于东南亚及我国云南、四川西南部、广西南部、海南岛等地(王应祥等, 1991)。中缅树鼩的栖息地多为温湿的阔叶林和针阔混交林等过渡地带,故其生理适应特征即显示出某些过渡特征,又表现出一定的差异性(王政昆等, 1995, 1999)。树鼩与灵长类动物亲缘关系较为接近,具有特殊的进化地位,因此在生物医学上被广泛采用为实验动物(Abbott, 2011; Bremer, 2011)。本文为了研究PRDM16和BMP7基因在中缅树鼩体重调节中的作用,测定了季节性和冷驯化条件下其体重、静止代谢率(resting metabolic rate, RMR)、NST、摄食量、PRDM16和BMP7基因表达量的变化,为该地区小型哺乳动物对滇中高原季节性变化环境的适应对策提供一些实验依据;同时,验证中缅树鼩褐色脂肪细胞是否存在肌源性起源。

## 1 材料与方法

### 1.1 动物来源

季节性实验所用中缅树鼩于2013年捕自昆明市禄劝县(25°26'N—25°62'N, 102°13'E—102°56'E),海拔1650~1700 m的农田和灌丛中。冷驯化实验所用中缅树鼩为实验室繁殖种群。

### 1.2 动物处理

**1.2.1 实验一:**PRDM16和BMP7基因表达量的季节性变化。季节性实验所用中缅树鼩于2013年3月( $n=10$ ; 5♂, 5♀), 6月( $n=10$ ; 6♂, 4♀), 9月( $n=10$ ; 3♂, 7♀), 12月( $n=10$ ; 4♂, 6♀), 捕自昆

明市禄劝县。实验动物捕回后于云南师范大学生命科学学院实验动物房(昆明)单笼室温饲养(饲养笼规格为:120 mm×200 mm×300 mm);光照条件 12L:12D;以标准雏鸡饲料(昆明生产的产蛋雏鸡饲料,69.1%)、全脂奶粉(2.7%)、白糖(6.9%)以及精面粉(21.3%)熟喂动物,每隔 1 天,加喂少许水果(苹果、梨等)。使动物适应 3 天,于第 4 天测定摄食量,间隔 2 天再测定 1 次;第 5 天测定耗氧量,所有实验在一个星期内完成。上述实验结束后处死动物并进行解剖,测定其身体组成各项指标。取出皮下脂肪组织置于-80℃低温冰箱中保存,用于 PRDM16 和 BMP7 基因表达量测定。实验动物均为成年非繁殖期个体。

**1.2.2 实验二:冷驯化对 PRDM16 和 BMP7 基因表达量的影响。**将 20 只中缅树鼩随机分成两组,对照组(0 d)、冷驯化组(28 d),每组 10 只(5♂,5♀),实验前所有实验动物体重无显著差异。实验组动物置于(5±1)℃,12L:12D 条件下,驯化 28 d;对照组动物置于(25±1)℃,12L:12D 条件下,驯化 28 d。在 0 和 28 d 测定两组动物的体重、RMR、NST 和摄食量。组动物于 28 d 后断颈处死,取出皮下脂肪组织放于-80℃保存,用于 PRDM16 和 BMP7 基因表达量测定。实验动物均为成年非繁殖期个体。

**1.3 代谢率测定**

用澳大利亚生产的 ADML870 型开放式呼吸仪测定耗氧量,代谢率的计算方法按照 Hill(1972)所述。在 RMR 测定后,皮下注射去甲肾上腺素(NE),用 ADML870 型开放式呼吸仪测定动物在 30℃下的 NST。NE 注射剂量的确定用浓度梯度法进行预备实验。参考预备实验结果,最终 NE 注射剂量确定为 0.8 mg·kg<sup>-1</sup> BW,NST 测定 30 min,选取最大持续耗氧量作为动物的 NST(王政昆等,1999)。

**1.4 摄食量测定**

采用食物平衡法测定动物的摄食量(Klingenspor *et al.*,1996)。测定前,清理干净饲养笼,在底部垫两层卫生纸和一层报纸,放上带网的不锈钢垫片。然后放入充足定量的食物,动物自由取食和饮水。3 天后收集剩余食物,置于恒温干燥箱 70℃烘至恒重,手工仔细分离食物残渣。摄食量=投喂食物干重-剩余食物干重。

**1.5 PRDM16 和 BMP7 基因表达量的测定**

**1.5.1 RNA 提取及纯度鉴定:**皮下脂肪组织总 RNA 的提取与纯化按照 RNeasy 高纯总 RNA 快速

抽提试剂盒(BioTeke Co.)提供方法进行。采用琼脂糖凝胶电泳进行 RNA 纯度和完整性检验。提取的总 RNA 于-80℃保存。

**1.5.2 cDNA 第一链合成:**cDNA 第一链的合成以皮下脂肪组织总 RNA 为模板,按照 FastQuant RT Kit(With gDNase)试剂盒提供方法进行。按表 1 基因组 DNA 的去除体系配制混合液,彻底混匀。简短离心,并置于 42℃,孵育 3 min。然后置于冰上放置。按照表 2 的反转录反应体系配制混合液。将反转录反应中的混合体系(mix)加到 gDNA 去除步骤的反应液中,充分混匀。42℃,孵育 15 min,95℃,孵育 3 min 之后放于冰上,得到的 cDNA 在-20℃下保存。

**1.5.3 PRDM16 和 BMP7 基因 cDNA 序列的扩增**

根据已知脊椎动物 PRDM16 和 BMP7 基因氨基酸保守序列设计引物(表 3)。以上述 cDNA 第一链为模板进行 RT-PCR,扩增条件均为:95℃变性 4 min,95℃ 30 s,54~56℃ 1 min,72℃ 40 s,共 37 个循环,72℃延伸 10 min。扩增体系为 50 μL:其中含有 1 μL Template(10 ng·μL<sup>-1</sup>),1 μL 上游引物(10 pmol·μL<sup>-1</sup>),1 μL 下游引物(10 pmol·μL<sup>-1</sup>),4 μL dNTP Mixture(10 mmol·L<sup>-1</sup>,pH 8.0),1 μL

表 1 gDNA 去除反应体系  
Table 1 Reaction system with gNase

试剂	配制体积(μL)
5×gDNA buffer	2
Total RNA	4
Rnase-free ddH <sub>2</sub> O	4

表 2 反转录反应体系  
Table 2 Reaction system of reverse transcription

试剂	配制体积(μL)
10×Fast RT buffer	2
RT Enzyme mix	1
FQ-RT Primer mix	2
Rnase-free ddH <sub>2</sub> O	5

表 3 扩增中缅树鼩 PRDM16 和 BMP7 基因所用引物  
Table 3 Primers used for amplifying PRDM16 and BMP7 genes of *Tupaia belangeri*

引物	序列
PRDM16F	5'-CTGTCACAGCCTGGAGCAGCACAT-3'
PRDM16R	5'-GGTAGGGTGTCTGTGCACGTTACC-3'
BMP7F	5'-ACATCACAGCCACCAGCAA-3'
BMP7R	5'-CACCATCCAGCGTCTCCA-3'

Taq enzyme (4 U · μL<sup>-1</sup>), 5 μL 10 × PCR Buffer (Mg<sup>2+</sup>), 37 μL ddH<sub>2</sub>O。RT-PCR 产物送至昆明硕阳科技有限公司进行正反向测序。

**1.5.4 实时荧光定量 PCR (FQ-PCR):**模板 cDNA 用 ABI-7000™实时荧光 PCR 仪进行扩增,并检测荧光信号。FQ-PCR 反应体系依照 SYBR Green real-mastermix Mix 试剂盒说明进行配制。反应体系为 20 μL:9 μL SYBR Green realmastermix Mix,0.5 μL F Primer (12.5 μmol · L<sup>-1</sup>),0.5 μL R Primer (12.5 μmol · L<sup>-1</sup>),0.5 μL cDNA 模板,9.5 μL RNase ddH<sub>2</sub>O。扩增条件为第一步 94 ℃ 2 min,第二步 94 ℃ 15 s,第三步 60 ℃ 35 s,第二步到第三步重复 37 个循环。一个基因的每个样本均进行 3 次平行重复,采用的数据为 3 次平行测定结果的平均值。内参基因引物 F:5'-GAGAGGGAAATCGTGCGTGAC-3';R:5'-CATCTGCTGGAAGGTGGACA-3'。

**1.5.5 2<sup>-ΔΔCT</sup> 相对定量法:**目的基因的转录表达水平采用 2<sup>-ΔΔCT</sup> 公式法定量法进行计算。对于对照样本,ΔΔCT = 0,2<sup>-ΔΔCT</sup> = 1,而对于处理组样本,若 2<sup>-ΔΔCT</sup> > 1,说明该基因表达上调,若 2<sup>-ΔΔCT</sup> < 1,则说明该基因表达下调。

1.6 数据处理

利用 SPSS 16.0 统计软件包进行相关统计处理。季节性体重采用单因素方差(one-way ANOVA)分析;季节性 RMR、NST、身体组成、摄食量、UCP1 含量及 PRDM16 和 BMP7 的表达量采用单因素协方差(one-way ANCOVA)分析,以体重为协变量,组间差异性用多重比较(Duncan)分析;冷驯化条件下的指标差异采用独立样本 t 检验分析。结果均以平均值±标准误表示(Mean±SE),P<0.05 为差异显著,P<0.01 为差异极显著。

2 结果与分析

2.1 体重的季节性变化

不同季节间,中缅树鼩的体重( $F_{3,36} = 6.446, P < 0.01$ )和摄食量( $F_{3,35} = 6.471, P < 0.01$ )差异极显著。体重和摄食量的变化趋势一致,都表现为:冬季最高,夏季最低,秋季较高,春季较低(图 1)。

2.2 RMR 和 NST 的季节性变化

不同季节间,中缅树鼩的 RMR 差异极显著( $F_{3,35} = 8.741, P < 0.01$ ),NST 差异显著( $F_{3,35} = 4.125, P < 0.05$ ),且都是冬季最高,夏季最低(图 2)。冬季比夏季 RMR 增加了 41.80%,冬季比夏季 NST

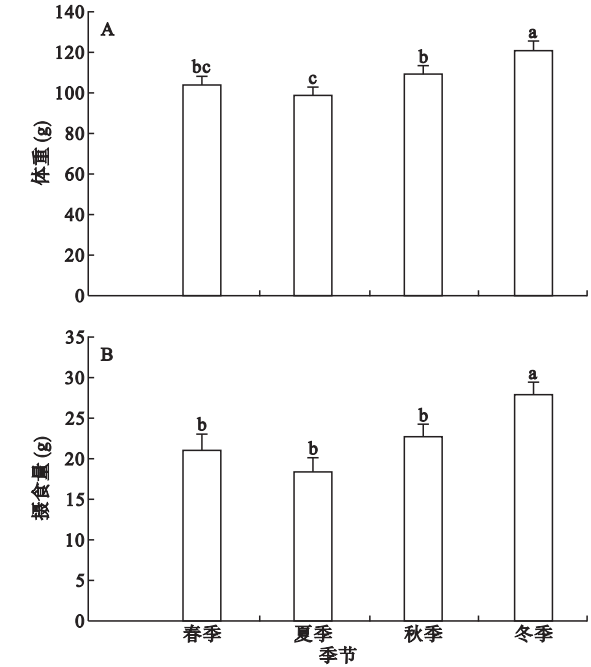


图 1 中缅树鼩体重 (A) 和摄食量 (B) 的季节性变化  
Fig.1 Seasonal variation of body mass (A) and food intake (B) in *Tupaia belangeri*  
柱上不同字母表示组间差异显著 ( $P < 0.05$ )。

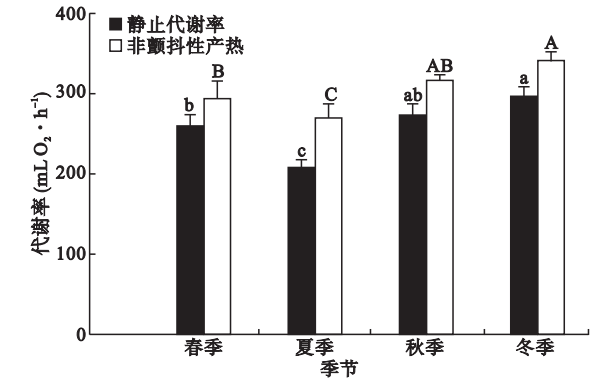


图 2 中缅树鼩 RMR 和 NST 的季节性变化  
Fig.2 The seasonal variation of RMR and NST in *Tupaia belangeri*  
柱上不同字母表示组间差异显著 ( $P < 0.05$ )。

增加了 26.71%。

2.3 BAT 和 WAT 重量及含量的季节性变化

不同季节间,中缅树鼩 BAT 含量( $F_{3,35} = 29.499, P < 0.01$ )和 WAT 含量( $F_{3,35} = 8.821, P < 0.01$ )差异极显著。冬季中缅树鼩脂肪含量和重量显著高于夏季(图 3 和图 4)。BAT 含量冬季比夏季增加 53.85%,WAT 含量冬季比夏季增加 8.9%。

2.4 PRDM16 和 BMP7 表达量的季节性变化

中缅树鼩脂肪组织 PRDM16 mRNA ( $F_{3,35} = 6.432, P < 0.01$ )和 BMP7 mRNA ( $F_{3,35} = 2.754, P <$



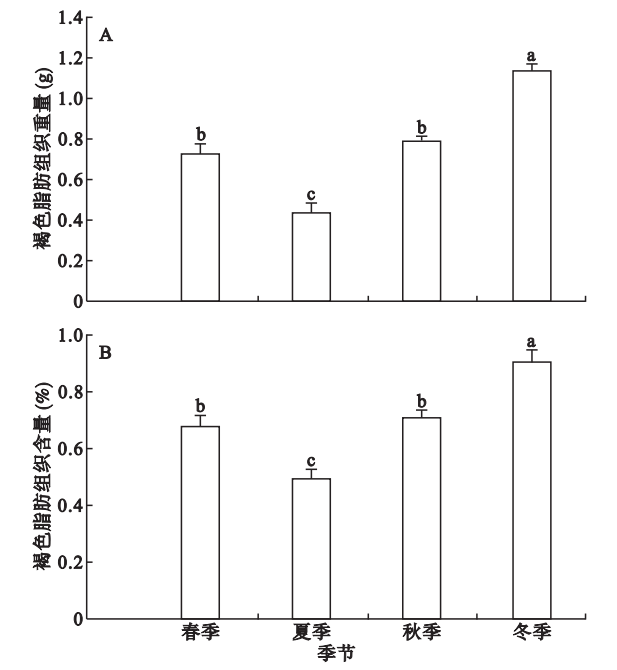


图3 中缅树鼩 BAT 重量(A)和 BAT 含量(B)的季节性变化  
Fig.3 Seasonal variation of BAT mass ( A) and BAT content ( B) in *Tupaia belangeri*  
柱上不同字母表示组间差异显著 ( $P<0.05$ )。

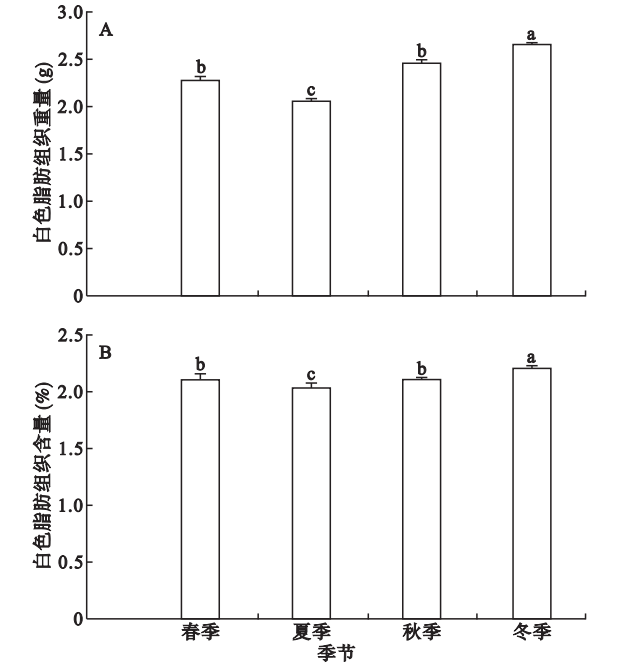


图4 中缅树鼩 WAT 重量(A)和 WAT 含量(B)的季节性变化  
Fig.4 Seasonal variation of WAT mass ( A) and WAT content ( B) in *Tupaia belangeri*  
柱上不同字母表示组间差异显著 ( $P<0.05$ )。

0.01)表达量季节性差异显著,均表现为冬季显著高

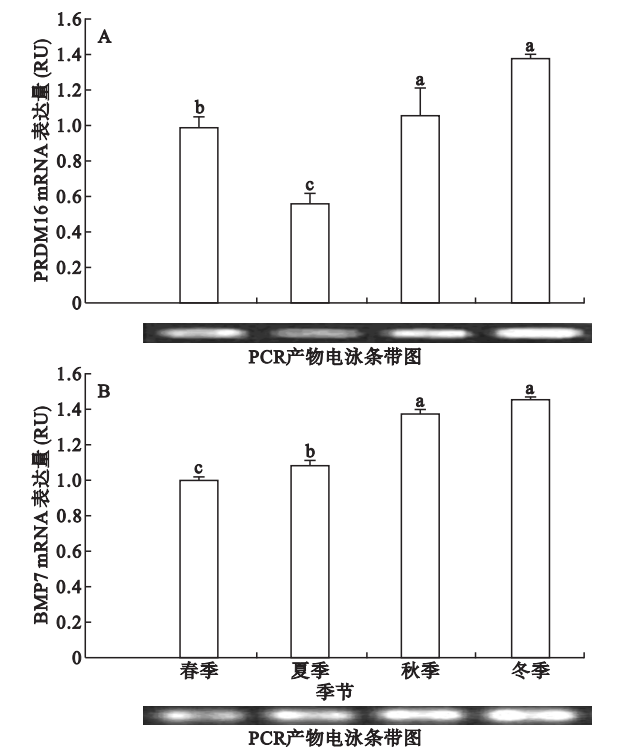


图5 中缅树鼩 PRDM16 和 BMP7 基因表达量的季节性变化  
Fig.5 Seasonal variation on the expression levels of the PRDM16 ( A) and BMP7 ( B) of adipose tissue in *Tupaia belangeri*  
柱上不同字母表示组间差异显著 ( $P<0.05$ ),PCR 产物电泳条带图中,条带亮度表示表达量的高低,条带越亮表示表达量越高。

于夏季(图5)。

2.5 冷驯化条件下中缅树鼩体重等指标的变化

中缅树鼩冷驯化 28 d 的体重与对照组差异极显著( $t=-10.268, P<0.01$ ,表 4)。冷驯化 28 d 后,中缅树鼩的摄食量与对照组差异极显著( $t=-8.482, P<0.01$ ,表 4)。冷驯化过程中,中缅树鼩的 RMR 和 NST 逐渐升高,第 28 天中缅树鼩的 RMR 和 NST 与对照组差异极显著(RMR: $t=-30.593, P<0.01$ ;NST: $t=-17.676, P<0.01$ ,表 4)。冷驯化条件下,对照组和驯化组中缅树鼩的 BAT 重量与大网膜 WAT 重量差异极显著(BAT: $t=-6.921, P<0.01$ ;WAT: $t=-5.561, P<0.01$ ,表 4)。冷驯化 28 d 后,中缅树鼩的 BAT 含量和腹部大网膜 WAT 含量比对照组分别增加 35.71%和 8.02%。冷驯化 28 d 后,中缅树鼩 PRDM16 mRNA 的表达量极显著高于对照组( $t=-3.335, P<0.01$ ,表 4)。中缅树鼩 BMP7 mRNA 的表达量冷驯化组与对照组差异极显著( $t=-5.519, P<0.01$ ,表 4)。

表 4 冷驯化对中缅树鼩体重、RMR、NST 和摄食量的影响  
Table 4 Effect of cold acclimatization on body mass, RMR, NST and food intake in *Tupaia belangeri*

	对照组	冷驯化组
实验前		
体重 (g)	105.38±1.38	106.21±1.54
静止代谢率 RMR (mL O <sub>2</sub> · g <sup>-1</sup> · h <sup>-1</sup> )	1.57±0.13	1.54±0.16
非颤抖性产热 NST (mL O <sub>2</sub> · g <sup>-1</sup> · h <sup>-1</sup> )	2.72±0.22	2.69±0.21
摄食量 (g · d <sup>-1</sup> )	14.98±0.65	15.04±0.72
实验后		
体重 (g)	106.57±1.52	127.79±1.66
静止代谢率 RMR (mL O <sub>2</sub> · g <sup>-1</sup> · h <sup>-1</sup> )	1.58±0.15	2.78±0.23
非颤抖性产热 NST (mL O <sub>2</sub> · g <sup>-1</sup> · h <sup>-1</sup> )	2.67±0.23	3.34±0.28
摄食量 (g · d <sup>-1</sup> )	15.12±0.71	20.02±0.85
BAT 重量 (g)	0.45±0.02	0.73±0.05
BAT 含量 (%)	0.42±0.01	0.57±0.04
WAT 重量 (g)	1.99±0.05	2.59±0.07
WAT 含量 (%)	1.87±0.03	2.02±0.05
PRDM16 mRNA 表达量 (RU)	1.00±0.02	4.35±0.39
BMP7 mRNA 表达量 (RU)	1.00±0.03	5.87±0.63

3 讨 论

面对外界环境的不断变化,动物会出现生理生态特征的表型可塑性,从而使能量摄入与能量消耗之间达到一个动态平衡 (Johnston *et al.*, 1996; Zhao *et al.*, 2014)。能量摄入与体重和消化等因素有关,体重是反映动物营养状态的一个重要因子,这也取决于能量摄入和能量消耗之间的平衡。许多小型哺乳动物在缺乏食物和冷胁迫的环境中,通过减少总能量需求来降低体重,从而适应环境,如长爪沙鼠 (*Meriones unguiculatus*) (Li *et al.*, 2005),高山姬鼠 (*Apodemus chevrieri*) (Zhu *et al.*, 2012a) 和大绒鼠 (*Eothenomys miletus*) (Zhu *et al.*, 2010) 等。而中缅树鼩的体重变化特征与它们不同,随着环境温度的降低,体重不断的增加,这与金黄仓鼠 (*Mesocricetus auratus*) 和潘帕斯鼠 (*Akodon azarze*) 等情况相似 (Nagy *et al.*, 1995)。这很可能与中缅树鼩的生存环境有关,中缅树鼩分布于热带亚热带地区,冬季没有冰雪覆盖,食物资源相对比较充足。因此,可能通过增加摄食量来满足能量消耗增加的需求,从而导致体重增加。同时,中缅树鼩 WAT 含量的变化趋势与体重变化趋势一致,冬季显著高于夏季,冷驯化组显著高于对照组,暗示中缅树鼩在冬季通过增加脂肪储存弥补能量的消耗。

非冬眠小型哺乳动物在冬天会面临食物短缺和能量需求增加所产生的威胁 (Jackson *et al.*, 2001;

Zhu *et al.*, 2012b)。食物供给和能量需求增加之间的平衡使动物在冬天产生一系列的生理和行为适应 (Zhao *et al.*, 2013)。小型哺乳动物在应对寒冬时最重要的一个能量对策是产热能力的增加,特别是主要发生在 BAT 部位的 NST。有研究表明,寒冷环境中产热能力增加是由于 NST 能力增加所致 (Merritt *et al.*, 2001)。随着温度的降低,中缅树鼩的 RMR 和 NST 增加,在冬季最高;NST 所占产热比例冬季小于夏季,降低了 8%,冬季比夏季 RMR 增加了 41.80%,冬季比夏季 NST 增加了 26.71%;NST 对中缅树鼩产热的贡献存在季节性差异,冬季比夏季降低了 13.75%,而春季和秋季差异不显著。冷驯化的结果和冬季的结果相似,低温可以刺激 RMR 和 NST 增加,这与早先在冷驯化条件下的研究结果一致 (王政昆等, 1999),也与寒冷地区的其他种类相似 (Heldmaier *et al.*, 1982)。中缅树鼩分布于低纬度,高海拔地区,光周期的年变化较小,RMR 和 NST 都表现出了季节性变化,中缅树鼩通过生理变化来适应外界环境的变化,这是适应寒冷环境的一种机制。中缅树鼩是热带种类,所受到的冷胁迫相对较小,故增加代谢率来增加产热,从而适应云南高原比热带地区冷的这种环境。中缅树鼩的摄食量夏季最低,冬季最高;代谢率也是夏季最低,冬季最高。相应的,动物在冬季的产热增加,散热也增加;而夏季产热减少,散热减少,这支持了热散失假说 (Duarte *et al.*, 2010)。

褐色脂肪细胞是小型哺乳动物 NST 的主要发生部位。目前认为褐色脂肪细胞的肌源性起源途径主要包括 PRDM16 和 BMP7 两条途径,PRDM16 和 BMP7 是促进褐色脂肪细胞分化的重要因子 (Seale *et al.*, 2008)。对小鼠的研究发现,异位表达 PRDM16 基因能提高生脂基因和褐色脂肪标志基因 (如 PGC-1 $\alpha$  和 UCP1 基因) 的表达,并激活褐色脂肪细胞分化形成 (Seale *et al.*, 2008)。BMP 是一类功能广泛的生长因子,Tseng 等 (2008) 的研究发现,BMP7 能促进褐色脂肪细胞分化过程中褐色脂肪标志基因 UCP1 的表达。BMP7 基因敲除后的小鼠,胚胎褐色脂肪缺乏,且 UCP1 完全不表达,而由腺病毒介导 BMP7 的过表达则使小鼠体内褐色脂肪重量显著增加 (Farmer, 2008; Tran *et al.*, 2010)。本研究中,中缅树鼩脂肪组织 PRDM16 mRNA 和 BMP7 mRNA 的表达水平测定结果表明:PRDM16 和 BMP7 基因表达量具有季节性变化,冬季显著高于夏季;冷

驯化组的 PRDM16 和 BMP7 基因表达量显著高于对照组。这就暗示着中缅树鼩褐色脂肪细胞存在 PRDM16 和 BMP7 肌源性起源,即冬季或低温条件下中缅树鼩 PRDM16 和 BMP7 表达量上调,促进褐色脂肪细胞的形成,增加 NST,来弥补产热的不足,以适应冬季寒冷的环境。

综上所述,中缅树鼩通过增加体重、产热和摄食量等来适应冬季的寒冷环境,并表现出了季节性变化。在此过程中,中缅树鼩通过增加 PRDM16 和 BMP7 基因表达量以提高 BAT 产热活性,最终导致产热能力增强来调节中缅树鼩的体重。同时,本研究结果支持褐色脂肪细胞存在肌源性起源学说。

## 参考文献

- 王应祥,李崇云,马世来. 1991. 树鼩的分类与生态. 昆明: 云南科技出版社.
- 王政昆,李庆芬,孙儒泳. 1999. 光周期和温度对中缅树鼩产热能力的影响. *动物学报*, **45**(3): 287-293.
- 王政昆,李庆芬,孙儒泳. 1995. 中缅树鼩的非颤抖性产热及细胞呼吸特征. *动物学研究*, **16**(3): 408-414.
- Abbott CJ. 2011. Retinal thinning in tree shrews with induced high myopia: Optical coherence tomography and histological assessment. *Vision Research*, **51**: 376-385.
- Balint E, Lapointe D, Drissi H. 2003. Phenotype discovery by gene expression profiling: Mapping of biological processes linked to BMP-2-mediated osteoblast differentiation. *Journal of Cellular Biochemistry*, **89**: 401-426.
- Bremer CM. 2011. N-terminal myristoylation-dependent masking of neutralizing epitopes in the preS1 attachment site of hepatitis B virus. *Journal of Hepatology*, **55**: 29-37.
- Canalis E, Economides AN, Gazzero E. 2003. Bone morphogenetic proteins, their antagonists, and the skeleton. *Endocrine Reviews*, **24**: 218-235.
- Duarte LC, Vaanholt LM, Sinclair RE, et al. 2010. Limits to sustained energy intake. XII: Is the poor relation between resting metabolic rate and reproductive performance because resting metabolism is not a repeatable trait? *The Journal of Experimental Biology*, **213**: 278-287.
- Farmer SR. 2008. Molecular determinants of brown adipocyte formation and function. *Genes & Development*, **22**: 1269-1275.
- Frühbeck G, Sesma P, Burrell MA. 2009. PRDM16: The interconvertible adipo-myocyte switch. *Cell Biology*, **19**: 141-146.
- Gao WR, Zhu WL, Wang ZK. 2016a. The role of dietary fiber content on energy metabolism, thermogenesis, and leptin in Chevrier's field mouse (*Apodemus chevrieri*). *Canadian Journal of Zoology*, **94**: 395-404.
- Gao WR, Zhu WL, Ye FY, et al. 2016b. Plasticity in food intake, thermogenesis and body mass in the tree shrew (*Tupaia belangeri*) is affected by food restriction and refeeding. *Animal Biology*, **66**: 201-217.
- Corp N, Gorman ML, Speakman JR. 1999. Daily energy expenditure of free-living male wood mice in different habitats and seasons. *Functional Ecology*, **13**: 585-593.
- Heldmaier G, Steinlechner S, Rafael J. 1982. Nonshivering thermogenesis and cold resistance during seasonal acclimatization in the Djungarian hamster. *Journal of Comparative Physiology*, **149**: 1-9.
- Heldmaier G. 1989. Seasonal acclimatization of energy requirements in mammals: Functional significance of body weight control, hypothermia, torpor and hibernation// Wieser W, Gnaiger E, eds. *Energy Transformations in Cells and Organism*. Stuttgart: Georg Thieme: 130-139.
- Hill RW. 1972. Determination of oxygen consumption by use of the paramagnetic oxygen analyzer. *Journal of Applied Physiology*, **33**: 261-263.
- Jackson DM, Trayhurn P, Speakman RJ. 2001. Associations between energetics and over-winter survival in the short-tailed field vole *Microtus agrestis*. *Journal of Animal Ecology*, **70**: 633-640.
- Johnston IA, Bennett AF. 1996. *Animals and temperature: Phenotypic and evolutionary adaptation*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Kajimura S, Seale P, Tomaru T. 2008. Regulation of the brown and white fat gene programs through a PRDM16/CtBP transcriptional complex. *Gene & Development*, **22**: 1397-1409.
- Klingenspor M, Ivemeyer M, Wiesinger H. 1996. Biogenesis of thermogenic mitochondria in brown adipose tissue of *Djungarian hamsters* during cold adaptation. *Biochemical Journal*, **316**: 607-613.
- Li XS, Wang DH. 2005. Regulation of body weight and thermogenesis in seasonally acclimatized Brandt's voles (*Microtus brandti*). *Hormones Behavior*, **48**: 321-328.
- Merritt JF, Zegers DA, Rose LR. 2001. Seasonal thermogenesis of southern flying squirrels (*Glaucomys volans*). *Journal of Mammalogy*, **82**: 51-64.
- Nagy TR, Gower BA, Stetson MH. 1995. Endocrine correlates of seasonal body mass dynamics in the collared lemming. *Integrative and Comparative Biology*, **35**: 246-258.
- Nicholls DG, Locke RM. 1984. Thermogenic mechanisms in brown fat. *Physiological Reviews*, **64**: 1-64.
- Seale P, Kajimura S, Yang W. 2007. Transcriptional control of brown fat determination by PRDM16. *Cell Metabolism*, **6**: 38-54.
- Seale P, Bjork B, Yang W. 2008. PRDM16 controls a brown fat/skeletal muscle switch. *Nature*, **454**: 961-967.
- Tews D, Wabitsch M. 2011. Renaissance of brown adipose tissue. *Hormone Research in Paediatrics*, **75**: 231-239.
- Tseng YH, Kokkotou E, Schulz TJ. 2008. New role of bone morphogenetic protein 7 in brown adipogenesis and energy expenditure. *Nature*, **454**: 1000-1004.
- Tran TT, Kahn CR. 2010. Transplantation of adipose tissue and stem cells: Role in metabolism and disease. *Nature Reviews*

- Endocrinology*, **6**: 195–213.
- Wunder BA. 1984. Strategies form, and environmental cueing mechanisms of, seasonal changes in thermoregulatory parameters of small mammals// Merritt JF ed. Winter Ecology of Small Mammals. Special Publication of Carnegie Museum of Natural History: 165–172.
- Zhao ZJ, Zhu QX, Chen X, *et al.* 2013. Energy Budget, behavior and leptin in striped hamsters subjected to food restriction and refeeding. *PLoS ONE*, **8**: e54244.
- Zhao ZJ, Chi QS, Cao J, *et al.* 2014. Seasonal Changes of body mass and energy budget in striped hamsters: The role of leptin. *Physiological and Biochemical Zoology*, **87**: 245–256.
- Zhu WL, Jia T, Lian X, *et al.* 2010. Effects of cold acclimation on body mass, serum leptin level, energy metabolism and thermogenesis in *Eothenomys miletus* in Hengduan Mountains region. *Journal of Thermal Biology*, **35**: 41–46.
- Zhu WL, Yang SC, Zhang L, *et al.* 2012a. Seasonal variations of body mass, thermogenesis and digestive tract morphology in *Apodemus chevrieri* in Hengduan mountain region. *Animal Biology*, **62**: 463–478.
- Zhu WL, Zhang H, Wang ZK. 2012b. Seasonal changes in body mass and thermogenesis in tree shrews (*Tupaia belangeri*) the roles of photoperiod and cold. *Journal of Thermal Biology*, **37**: 479–484.
- Zhu WL, Wang ZK. 2015. Seasonal changes in body mass, serum leptin levels and hypothalamic neuropeptide gene expression in male *Eothenomys olitor*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A*, **184**: 83–89.
- 
- 作者简介 高文荣,男,1987 年生,博士研究生,从事动物生理生态学研究。E-mail: gaowenrong2012@163.com
- 责任编辑 张 敏
-