

# 根田鼠冷驯化过程中的适应性产热特征\*

王德华 孙儒泳\*\* 王祖望 柳劲松\*\* 陈 志\*\*\*

(中国科学院动物研究所, 北京 100080)

## 内 容 提 要

对栖居于青海高原的根田鼠 (*Microtus oeconomus*) 于冷驯化 (5℃) 1、7 和 21 天的非颤抖性产热 (NST)、褐色脂肪组织 (BAT) 和肝脏的组织蛋白和线粒体蛋白含量、心脏和肌肉的线粒体蛋白含量、四种组织线粒体的细胞色素氧化酶活力及肝脏线粒体的状态 IV 呼吸能力等指标进行了测定。结果表明: 冷驯化过程中 NST 趋于增加, 有一个逐渐发展的过程; BAT 线粒体蛋白含量对低温的反应比组织蛋白的反应剧烈, 肝脏、心脏和肌肉组织的线粒体蛋白含量变化较温和, 但各种组织的细胞色素氧化酶活力随冷驯化而急剧增加, 肝脏线粒体的状态 IV 呼吸能力加强。结果说明 NST 在低温下的热能调节过程中占十分重要的地位, 肌肉、心脏、肝脏等组织也参与了体温调节过程。在自然生境中, 低温是一重要的刺激调节因子。

**关键词:** 根田鼠, 非颤抖性产热, 线粒体蛋白, 细胞色素氧化酶。

非颤抖性产热 (nonshivering thermogenesis, NST) 对于小哺乳动物适应严寒环境具有重要的意义。大量研究表明, 低温驯化可使褐色脂肪组织 (brown adipose tissue, BAT) 重量增加、NST 能力加强 (Heldmaier *et al.*, 1985), 寒冷已被认为是刺激 NST 发展的强有力的因素 (Smith and Horwitz, 1969; Jansky, 1973; Heldmaier *et al.*, 1989)。迄今为至, 多数研究限于实验室驯化动物。根田鼠 (*Microtus oeconomus*) 是青藏高原高寒草甸金露梅灌丛中的优势种, NST 具显著的季节性变化 (王德华和王祖望, 1990)。本文着重观察根田鼠在低温驯化过程中, 其 NST 变化是否有一个逐渐发展的过程? BAT 线粒体的适应性变化是否与其相一致? 肝脏、肌肉、心脏的产热特征有何变化? 主要从细胞产热及酶学水平上进行了研究。

## 材 料 和 方 法

**一、实验动物** 根田鼠于 1991 年 3~6 月捕自位于青海省门源县境内的中科院海北高寒草甸生态系统定位站地区的金露梅 (*Potentilla fruticosa*) 灌丛中 (海拔 3 100~3 200m)。动物捕获后运回西宁, 于实验室内饲养, 温度为 20±1℃, 光照为 12L:12D, 喂以北京朝阳曙光颗粒饲料厂生产的兔饲料块 (粗蛋白 19.4%, 粗纤维 14.7%, 粗脂肪 3.3%), 添加青菜及胡萝卜等。室内驯化实验于动物饲养 2 周后进行, 根田鼠从 20℃ 饲养室置于 5±1℃ 驯化室内, 每笼 2 只, 加棉花作巢材, 驯化时间为 1、7 和 21 天, 23±1℃ 作为对照, 饲喂条件同上。

本文于 1995 年 2 月 10 日收到, 1995 年 11 月 25 日修回。

\* 中国科学院“八五”项目部分基金和国家自然科学基金资助。

\*\* 北京师范大学生物系, 北京 100875

\*\*\* 中国科学院西北高原生物研究所

**二、代谢测定** 动物的耗氧量用开放式系统 Beckman OM-14 氧气分析仪测定。根田鼠放入 500 毫升的呼吸室内, 进入呼吸室的气体流量为 400ml/min, 预先用干燥变色硅胶吸收水分, 流出呼吸室气体进入氧气分析仪前用 KOH 吸收 CO<sub>2</sub>, 用硅胶吸收水分。实验前后均校正分析仪, 共设四个呼吸室, 三个用以测定, 一个作为对照, 以实验组与对照组呼吸室的氧含量差计算耗氧量(四个呼吸室条件完全一致), 动物静止后, 至少持续稳定 5~10 分钟, 取三个值进行平均。耗氧量计算按 Depocas 和 Hart (1957) 及 Hill (1972) 介绍的方法。温度误差控制在 ±0.5℃ 以内, 实验进行 1~1.5 小时, 实验前后均称体重、测肛温; 动物饥饿 2~4 小时后进行实验。非颤抖性产热 (NST) 用皮下注射与体重相当剂量的去甲肾上腺素诱导, 剂量计算按 Heldmaier (1971), 以最大代谢反应作为 NST<sub>max</sub>, 详细描述见王德华和王祖望 (1990) 的介绍。测定温度为 29℃。

**三、线粒体制备** 代谢实验结束后, 于次日将动物断颈杀死, 迅速而小心取出肩胛部 BAT, 肝脏、心脏及后肢肌肉, 按照 Sundin 等 (1987) 介绍的方法, 将 BAT 和肝脏置于 0.25mol/L 蔗糖溶液中清洗(冰浴), 然后将剪碎的组织放入玻璃-Teflon 匀浆器内, 加入一定体积的匀浆液匀浆, 于 2 000 转/分离心 7 分钟, 取上清液于 10 000 转/分离心 10 分钟, 清洗一次, 再于 10 000 转/分离心 10 分钟以获得线粒体, 取沉淀线粒体加提取液悬浮, 然后进行有关测定, 心脏和肌肉线粒体的制备参照 Oufara 等 (1988) 的方法进行, 离心同上。

**四、酶活力测定** 用中国科学院上海植物生理研究所研制的铂氧电极-溶氧测定仪测定组织的细胞色素氧化酶活性, 反应温度 30℃。反应杯内总体积 3ml。

**五、氧化磷酸化测定** 用电极法测定肝脏线粒体状态 IV 呼吸, 琥珀酸为底物 (Estabrook, 1967)。

**六、蛋白质含量测定** 以牛血清蛋白作为标准, 采用 Lowry 等人 (1951) 的方法, 测定 BAT、肝脏、心脏、肌肉组织的蛋白质含量。

**七、数据处理** 采用单因子方差分析、t 测验等统计方法统计有关数据; 方差分析在 PC 计算机上用 SPSS 统计软件包进行分析, 文内数据均以平均值 ± 标准误表示,  $P < 0.05$  被认为差异显著。

## 结 果

### 一、非颤抖性产热 (NST) 的变化

由于体重对各种生理参数影响较大, 本文采用 Heusner (1985) 建议的以体重的<sup>2/3</sup>次幂对结果进行校正。因驯化前后动物的体重变化不大, 取平均体重进行校正。根田鼠的 NST<sub>max</sub> 随冷驯化时间而增加, 冷驯化 1 天与 23℃ 对照组间差异不显著 ( $P > 0.05$ ), NST<sub>max</sub> 在 7 天时为 31.30mlO<sub>2</sub>/g<sup>2/3</sup>·h, 21 天为 34.74mlO<sub>2</sub>/g<sup>2/3</sup>·h ( $P < 0.01$ ), 分别比 23℃ 时增加了 19% 和 32% (表 1), 明显高于 Heldmaier (1971) 的期望值。

冷驯化对根田鼠的体温没有显著影响, 但注射去甲肾上腺素后均明显增加 ( $P < 0.01$ ), 增加幅度为 3.8℃~5.5℃ (表 1)。

### 二、BAT 和肝脏蛋白质的变化

**BAT:** 低温驯化时 BAT 总蛋白含量趋于增加, 但与 23℃ 无显著性差异 ( $P > 0.05$ ), 各低温处理组间亦无显著差异 ( $P > 0.05$ ) (表 2)。BAT 线粒体蛋白含量的变化趋势与总蛋白的变化相似, 但只有 7 天组与 23℃ 差异达到显著水平 ( $P < 0.01$ ), 线粒体蛋白占总蛋白含量的比率也表明, 冷驯化时, 线粒体蛋白增加 (表 2)。

**肝脏:** 肝脏组织蛋白和线粒体蛋白含量, 各低温处理组间及与 23℃ 组均无显著差异 ( $P > 0.05$ ), 线粒体蛋白占总蛋白的比率也表明, 线粒体蛋白含量在冷驯化过程中基本维持恒定, 21 天时稍降 (表 2)。

表1 冷驯化过程中根田鼠 NST 的变化

(Tab. 1 Nonshivering thermogenesis in root voles during cold exposure) (Mean±SE)

参数 (Parameters)	23℃	5℃		
		1天(1 day)	7天(7 days)	21天(21 days)
样本含量 N	4	4	4	7
体重(g) (Body weight)	28.0±3.78	22.0±2.15	30.0±2.84	24.1±1.52
NST <sub>max</sub>				
mlO <sub>2</sub> /g·h	8.8933±0.7937	10.1318±0.8067	10.2524±0.7661	12.2430±0.5479**
mlO <sub>2</sub> /g <sup>2/3</sup> ·h	26.3005±1.8808	27.7811±1.0090	31.2977±0.3464*	34.7365±1.0636**
%期望值 <sup>a</sup> (% expected)	134.6	137.4	160.1	173.1
体温(Tb,℃)				
实验前 (Before experiment)	36.5±0.3	36.6±0.3	36.0±0.3	37.2±0.2
实验后 (After experiment)	40.7±0.1	40.4±0.5	41.5±0.3	41.4±0.1

a % expected = (NST<sub>max</sub>/30W<sup>-0.454</sup>) × 100

\* P&lt;0.05, \*\* P&lt;0.01, Compared with 23℃.

表2 冷驯化过程中根田鼠 BAT 和肝脏组织蛋白和线粒体蛋白含量的变化

[Tab. 2 Contents of total protein (TP) and mitochondrial protein (MP) in BAT and liver during cold exposure in root voles] (Mean±SE)

参数 (Parameters)	23℃	5℃		
		1天(1 day)	7天(7 days)	21天(21 days)
样本含量 N	4	4	4	4
BAT				
总蛋白(TP) (mg/g. BAT)	202.75±28.40	220.50±13.80	241.33±14.84	210.75±22.98
线粒体蛋白(MP) (mg/g. BAT)	15.50±2.42	19.05±1.90	27.80±1.40**	20.85±1.73
线粒体蛋白占总蛋白 百分率(MP/TP,%)	7.6	8.6	11.4	9.7
肝脏(Liver)				
总蛋白(TP) (mg/g. Liver)	271.50±11.15	276.00±14.82	263.33±12.99	266.75±14.16
线粒体蛋白(MP) (mg/g. Liver)	17.78±2.36	18.98±2.24	19.60±2.47	15.70±1.29
线粒体蛋白占总蛋白 百分率(MP/TP,%)	6.5	6.9	7.4	5.9

\*\* P&lt;0.01 Compared with 23℃.

### 三、BAT 和肝脏线粒体细胞色素氧化酶活性的变化

酶的比活力是每毫克酶蛋白所具有的酶活力, 但从生理生态学的角度, 应考虑每克组织酶的活力, 酶的总活力及在有机体水平上酶的活力, 这样更能说明一些变化规律。因为组织及器官的重量占体重的比例不是均等的, 因此本文采用酶的总活力、比活力、每克组织酶活力及每克体重酶活力 4 个指标进行分析。

BAT: BAT 总酶活力随冷驯化时间的延长而逐渐增加, 7 天以后显著高于对照组 ( $P < 0.01$ ), 7 天时比 23℃ 时增加了 184%; 酶的比活力 21 天显著高于 23℃ 组, 增加 165.6%; 每克 BAT 组织酶的活性随冷驯化时间的延长而急剧增加 ( $P < 0.01$ ), 冷驯化 1 天时比 23℃ 时增加 44%, 7 天时增加 119%, 21 天时增加 145%; 每克体重酶的活力冷驯化 1 天增加不显著, 冷驯化 7 天和 21 天时显著增加 ( $P < 0.01$ ), 分别比 23℃ 增加了 131% 和 194% (表 3)。

表 3 根田鼠冷驯化过程中 BAT 和肝脏的细胞色素氧化酶活性变化

[Tab. 3 Cytochrome oxidase activity of BAT and liver during cold exposure in root vole] (Mean ± SE)

参 数 (Parameters)	23℃	5℃		
		1 天(1 day)	7 天(7 days)	21 天(21 days)
样本含量 N	4	4	4	4
BAT				
总活力 (Total activity)	271.13 ± 26.22	287.52 ± 59.96	769.69 ± 58.48**	763.12 ± 60.11**
比活力 (Specific activity)	98.10 ± 11.43	111.93 ± 10.68	113.19 ± 12.77	260.51 ± 29.11
每克组织活力 (Per g tissue)	1434.35 ± 122.44	2066.63 ± 122.52*	3141.59 ± 251.36**	3519.90 ± 278.24**
每克体重活力 (Per g body weight)	10.21 ± 1.42	12.69 ± 2.52	23.55 ± 2.76**	30.02 ± 2.81**
肝脏(Liver)				
总活力 (Total activity)	906.14 ± 89.85	997.74 ± 69.34*	1356.67 ± 211.35**	2086.90 ± 364.55**
比活力 (Specific activity)	38.54 ± 4.24	43.38 ± 1.39	46.09 ± 5.23	118.36 ± 12.26**
每克组织活力 (Per g tissue)	682.14 ± 116.94	834.58 ± 69.53	903.98 ± 129.65	1889.74 ± 261.20*
每克体重活力 (Per g body weight)	35.34 ± 7.81	39.91 ± 2.28	40.61 ± 8.81	82.26 ± 14.95*

单位(Unit) 总活力(Total): nmol O<sub>2</sub>/min. organ; 比活力(Specific): nmol O<sub>2</sub>/min. mg protin; 每克组织活力(Per g tissue): nmol O<sub>2</sub>/min. g BAT or nmol O<sub>2</sub>/min. g Liver; 每克体重活力(Per g body weight): nmol O<sub>2</sub>/min. g BW

\*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$  Compared with 23℃.

肝脏: 肝脏线粒体细胞色素氧化酶总酶活性冷驯化 7 天后明显增加 ( $P < 0.01$ ), 7 和 21 天冷驯化分别是 23℃ 时的 1.5 和 2.3 倍; 酶的比活力只有 21 天时显著高于 23℃ ( $P < 0.01$ ), 提高了 207%; 每克肝组织酶活力及每克体重酶活力变化与之相似, 21 天时显著高于 23℃, 分别是 23℃ 的 2.8 和 2.3 倍 (表 3)。

#### 四、心脏和肌肉的线粒体蛋白和酶活力变化

低温驯化对根田鼠的心脏重量没有太大的影响 ( $P>0.05$ ) (表 4)。心脏线粒体蛋白含量低温驯化时虽趋向于增加,但差异不显著 ( $P>0.05$ ),而细胞色素氧化酶活力于 21 天显著增加 ( $P<0.01$ ),比 23℃ 增加了 144% (表 4)。

肌肉线粒体蛋白含量低温驯化时趋于降低,但差异不显著 ( $P>0.05$ ),而细胞色素氧化酶活性则趋于增加,于 21 天时显著高于 23℃ ( $P<0.01$ ),提高了 523% (表 4)。此表明低温驯化条件下,根田鼠心脏和肌肉的线粒体蛋白含量的改变不占主要地位,而细胞色素氧化酶活性则对低温反应较强烈。

表 4 根田鼠冷驯化过程心脏和后肢肌内的线粒体蛋白含量及细胞色素氧化酶活性变化

(Tab. 4 Mitochondrial protein contents and cytochrome oxidase activities in heart and hind-limb muscle during cold exposure in root vole) (Mean±SE)

参 数 (Parameters)	23℃	5℃		
		1 天(1 day)	7 天(7 days)	21 天(21 days)
样本含量 N	4	4	4	4
心脏(Heart)				
重量(Mass, g)	0.118±0.01	0.107±0.01	0.146±0.017	0.137±0.009
线粒体蛋白(Mit. protein) (mg/g. Heart)	15.15±3.05	16.35±2.29	17.60±3.36	19.75±3.85
细胞色素氧化酶活性 (Cyt. oxidase activity) (nmol O <sub>2</sub> /min · mg protein)	63.0±8.99	70.47±8.63	71.33±9.56	154.01±11.78**
肌肉(Hind-limb muscle)				
线粒体蛋白(Mit. protein) (mg/g. Muscle)	7.65±2.38	5.05±0.64	5.17±1.26	4.40±1.00
细胞色素氧化酶活性 (Cyt. oxidase activity) (nmol O <sub>2</sub> /min · mg protein)	24.05±7.82	27.93±6.23	29.23±3.54	149.81±29.94**

\*\*  $P<0.01$  Compared with 23℃.

#### 五、肝脏线粒体状态 IV 呼吸的变化

肝脏线粒体状态 IV 呼吸低温处理组显著高于 23℃ ( $P<0.05$ ), 23℃ 时 16.62±0.39nmol O<sub>2</sub>/min · mg 蛋白, 冷驯化 1、7 和 21 天分别为: 24.39±2.39, 24.70±4.76 和 24.89±2.75 (n=4), 低温驯化时比 23℃ 增加了 48%, 表明低温下根田鼠肝脏线粒体的呼吸能力增加, 但低温处理组间无差异 ( $P>0.05$ )。

## 讨 论

#### 一、代谢产热的适应变化

非颤抖性产热 (NST) 是小哺乳类适应严寒环境的有效而经济的产热方式 (Jansky, 1973), 许多小哺乳动物在低温驯化时显示 NST 增加 (Himmis-Hagen, 1986)。

根田鼠去甲肾上腺素诱导的最大 NST, 低温驯化时趋于增加, 随着驯化时间延长而逐渐加强, 有一个发展过程, 7 天时是 23℃ 时的 1.2 倍, 21 天时提高到 1.3 倍, 验证了

我们在野外测定的结果和结论 (王德华等, 1990), 23℃时  $NST_{max}$  与夏季值 (24.36 ml  $O_2/g^{0.75} \cdot h$ ) 相似, 冷驯化 1 天与秋季 (27.37) 和春季 (28.73) 相近, 冷驯化 7 天已达冬季 (30.44) 水平, 冷驯化 21 天已高于冬季水平。在自然环境中, 动物冬季的行为热能调节方式起重要的作用, 使动物并非驯化于严酷环境中。从 Heldmaier (1971) 期望值看, 无论野外测定还是室内驯化测定结果, 根田鼠的  $NST_{max}$  远高于温带的其它种类。

黑线毛足鼠 (*Phodopus sungorus*) 在低温驯化时,  $NST_{max}$  增加 36% (Rafael *et al.*, 1985), 同样, 黄腹田鼠 (*Microtus ochrogaster*) (Wunder, 1984)、白足鼠 (*Peromyscus leucopus*) (Lynch, 1973) 等啮齿类于低温环境中主要依赖 NST 增加, 提高抗寒能力, 而沙鼠 (*Gerbillus campestris*) 在低温驯化过程中 NST 和颤抖性产热增加是等价的 (Bourhim *et al.*, 1990); Heldmaier (1990) 通过研究黑线毛足鼠、欧鼯 (*Clethrionomys glareolus*) 和林姬鼠 (*Apodemus sylvaticus*) 的产热特征后发现, 三种鼠的 NST 严冬季节显著增加, 而 BMR 和颤抖性产热则基本恒定, 并结合其它研究结果指出, 在小哺乳动物中 NST 在季节性产热驯化过程中是一主要因素, 而 BMR 和颤抖性产热对总产热的贡献相对较小, 且在严冬并不增加; 根田鼠在自然环境中冬季 NST 明显增加 (王德华等, 1990), 结合本文的结果可以认为, NST 在根田鼠产热能力的季节驯化过程中起了主要作用, 并且寒冷是一重要的调节和刺激因子。

## 二、线粒体的适应性变化

BAT: BAT 产生的 NST 主要用于体温调节。影响和控制 BAT 功能活性的因素, 同样导致 NST 的变化, BAT 的功能成分及其呼吸酶系是其产热的物质和生化基础。

根田鼠冷驯化过程中 BAT 组织总蛋白含量与线粒体蛋白含量的增加是平行的, 冷驯化 1 天组织蛋白增加幅度 (8.8%) 高于线粒体蛋白增加幅度 (2.3%), 但 7 天和 21 天时, 线粒体蛋白增加幅度远高于组织蛋白增加幅度, 分别为 79.4%, 34.5% 和 19.0%, 3.9%; 表明线粒体蛋白对低温的反应较大, 冷驯化过程中线粒体蛋白含量的增加在组织蛋白中占十分重要的地位。

Rafael 等 (1985) 认为黑线毛足鼠在冷驯化过程中, BAT 总蛋白的增加主要是由于线粒体的合成增加, 冷驯化 24 小时线粒体蛋白加倍, 4 天时是 23℃ 的 3 倍; 沙鼠冷驯化 (4℃) 时线粒体蛋白是对照组 (30℃) 的 18 倍, 而小白鼠则只是对照组 (26℃) 的 2.8 倍 (Oufara *et al.*, 1988), 可见栖于不同生境的不同鼠种, BAT 线粒体蛋白对低温的反应程度是不同的, 从而导致了产热程度的差异。

从专性 NST (Obligatory NST) 即 BMR (Jansky, 1973) 的地理差异可以部分解释这种差异性, 沙鼠栖于沙漠地带, 尽管昼夜温差大, 但面临的主要压力是高温, 因而拥有较低的 BMR, 但对低温较为敏感, 发展高水平的 NST 以利于夜间低温时热能调节所需。黑线毛足鼠原产于西伯利亚, 面临的主要压力是严冬的低温, 因而在季节驯化过程中发展了主要以 NST 为主的产热方式, BMR 及颤抖产热占的地位很小; 而栖于青海高原的根田鼠, 面临昼夜温差大, 年温差小的环境条件, 常年暴露于低温环境中, 因而表现为高 BMR 水平的适应方式, 但在季节驯化过程中也主要以 NST 的发展为主, 其 BMR 远远高于上述两种鼠, 对低温的敏感性相对而言弱一些。

细胞色素氧化酶的活力可以指示组织的最大氧化水平, 一般作为测定组织之氧化能

力的指标。低温驯化时,根田鼠BAT线粒体细胞色素氧化酶活性急剧增加,总酶活性冷驯化24小时增加6%,21天时增加182%,酶的比活力分别增加14%和166%,若从整个动物分析,每克体重的酶活力分别增加2%和194%,可见BAT线粒体细胞色素氧化酶的活性对低温的反应较敏感,比NST本身的变化程度要剧烈得多;类似的研究有,小白鼠从33℃~-2℃驯化时,细胞色素氧化酶活力增加9倍(Ashwell *et al.*, 1983);金仓鼠从30℃~-4℃驯化时,BAT酶活性增加5倍(Trayhurn *et al.*, 1983),沙鼠从30℃~-4℃驯化时,BAT线粒体总酶活力增加18倍,酶的比活力增加43%,而小白鼠BAT线粒体总酶活力只是对照组的3倍,酶的比活力则没有改变(Oufara *et al.*, 1988)。与上述变化不同的报道见于Rafael等(1985)对黑线毛足鼠的研究,他的发现与以前对该鼠的报道不同,即冷驯化过程中酶的比活力并无太大变化,线粒体呼吸能力在冷适应过程中也保持不变。

肝脏:根田鼠肝脏的组织总蛋白含量基本维持恒定,而线粒体蛋白含量在低温驯化时趋于增加但不显著;并且,低温驯化过程中,肝脏线粒体蛋白占总蛋白的比例并不明显改变,这与沙鼠和小白鼠等(Oufara *et al.*, 1988)对低温的反应相同。

根田鼠肝脏线粒体的细胞色素氧化酶活性则呈不同的反应,随冷驯化过程而增加,总酶活性7天时比23℃时增加50%,酶的比活力、每克肝组织酶活力及每克体重肝组织的酶活力分别比23℃时增加20%,33%和15%,冷驯化21天时,四个指标分别增加130%,207%,177%和133%;栖居于沙漠地带的沙鼠冷驯化时,酶的比活力增加48%,总酶活性增加53%,而小白鼠则不受温度驯化的影响(Oufara *et al.*, 1988)。

Oufara等(1988)在沙鼠和小白鼠的冷驯化实验中还发现,肝脏线粒体状态IV呼吸当以琥珀酸为底物时,沙鼠无论单位呼吸能力还是总呼吸能力,冷驯化组明显增加,但小白鼠基本维持恒定,而根田鼠的状态IV呼吸5℃驯化组均明显高于23℃对照组,表明低温刺激了肝脏的呼吸能力,但随驯化时间延长,并没有进一步促进其增加,表明NST的剧烈反应起了重要作用。

在一个较长时期内,肝脏一直被认为是NST的一个重要热源(Jansky, 1973),但Foster和Frydman(1978)通过用标记微环测定动物的血流量及动静脉氧分压,否定了此假设,认为NST的产生部位主要是BAT;而Bourhim等(1990)的研究表明,在沙鼠中肝脏很可能参与了NST的产生;Heldmaier等(1985)在黑线毛足鼠中也证明,除BAT以外,NST的确还产生于其它器官,并发现一些器官产生NST时受BAT产热的调控,一些器官则不受BAT产热的束缚。在根田鼠,肝脏对NST的贡献尚不能定论,但肝脏确实参与了热能调节。

肌肉和心脏:根田鼠骨骼肌的线粒体蛋白低温驯化时呈下降趋势,但线粒体细胞色素氧化酶活性则趋于增加。冷驯化21天比23℃增加523%;因此尽管冷驯化时线粒体蛋白下降,但根田鼠肌肉的产热能力是增加的。沙漠地带的沙鼠在冷驯化时,肌肉的线粒体蛋白基本保持恒定,但酶活性则下降(Oufara *et al.*, 1988),Bourhim等(1990)对肌肉匀浆液的酶活力测定表明,冷驯化4周后,沙鼠酶的比活力增加,但只是肌膜下纤维(subsarcolemmal, SS)线粒体的酶活性增加,肌原纤维间纤维(intermyo-fibrillar, IMF)线粒体的酶活性则下降,因而总肌肉的酶活性无明显变化,由于IMF线粒体直接参与能量

供应和收缩-舒张环中  $Ca^{2+}$  的调节, 而 SS 线粒体则参与活化离子, 转送穿跃肌纤膜, 所以骨骼肌能耗增加的发展与颤抖收缩无关, NST 替代了颤抖性产热, 可见沙鼠肌肉酶活性的变化与 NST 有关, 很可能参与了 NST 产热; 根田鼠在冷驯化过程中肌肉产热能力增加, 是其参与了 NST 的产生, 抑或是根田鼠于低温条件下颤抖性产热增加, 尚不清楚。

心脏肌肉的线粒体蛋白也不受低温的影响, 但线粒体细胞色素氧化酶活性对低温反应强烈, 冷驯化 21 天时是  $23^{\circ}C$  时的 2.4 倍, 表明低温环境下, 根田鼠心脏的能耗加大, 工作加快, 可能与身体各部分血流量增加, 心脏负荷加大有关, 因为有证据表明 BAT 产热时, 心脏的血流量增加 (Heldmaier *et al.*, 1989)。

因此, 在冷驯化过程中, 根田鼠 BAT 线粒体的适应变化是 NST 能力提高的生化基础, NST 在体温调节中占主要地位; 肝脏、心脏、肌肉等器官参与了热能调节; 可以在季节性产热驯化过程中, 寒冷是一重要调节和刺激因子。

### 参 考 文 献

- 王德华、王祖望 1990 小哺乳动物在高寒环境中的生存对策: I. 高原鼠兔和根田鼠非颤抖性产热(NST)的季节性变化. 兽类学报 10(1):40~53.
- Ashwell, M., G. Jennings, D. Richard, D. M. Stirling and P. Trayhurn 1983 Effect of acclimation temperature on the concentration of the mitochondrial uncoupling protein measured by radio immunoassay in mouse brown adipose tissue. *FEBS Lett.* 161: 108~112.
- Bourhim, M., H. Barre, S. Oufara, Y. Minaire, J. Chatonnet, F. Cohen Adad and J. L. Rouanet 1990 Increase in cytochrome oxidase capacity of BAT and other tissues in cold-acclimated gerbils. *Amer. J. Physiol.* 258: R1291~1298.
- Depocas, F. and H. S. Hart 1957 Use of the pauling analyzer for measurement of oxygen consumption of animal in open circuit system and in a short lag closed circuit apparatus. *J. Appl. Physiol.* 10: 388~392.
- Eastabrook, R. W. 1967 Mitochondrial respiratory control and the polarographic measurements of ADP/ATP ratios. *In: Methods in Enzymology* Vol. X p. 41~47; Academic Press, New York.
- Foster, D. O. and M. L. Frydman 1978 Nonshivering thermogenesis in the rat: I Measurements of blood flow with microspheres point to brown adipose tissue as the dominant site of the calorogenesis induced by noradrenaline. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 56: 110~122.
- Heldmaier, G. 1971 Zitterfreie warmebildung und korpergrobe saugetieren. *Zeitschrift fur Vergleichende Physiologie* 73: 222~248.
- Heldmaier, G. and A. Buchberger 1985 Sources of heat during nonshivering thermogenesis in Djungarian hamsters; a dominant role of brown adipose tissue during cold adaptation. *J. Comp. Physiol. B* 156: 237~245.
- Heldmaier, G., S. Klaus, and H. Wiesinger 1990 Seasonal adaptation of thermoregulatory heat production in small mammals. *In: Thermoreceptors and temperature regulation* (J. Bligh and K. Voigy, eds), P. 235~243, USA.
- Heldmaier, G., S. Klaus, H. Wiesinger, U. Friedrichs and M. Wenzel 1989 Cold acclimation and thermogenesis. p. 347~357, *In: A. Malan ed. Living in the cold I.* John Libbey Eurotext Ltd.
- Heusner, A. A. 1985 Body size and energy metabolism. *Annu Rev Nutr* 5: 267~293.
- Hill, R. W. 1972 Determination of oxygen consumption by use of the paramagnetic oxygen analyzer. *J. Appl. Physiol.* 33: 261~263.
- Himms-Hagen J. 1986 Brown adipose tissue and cold-acclimation. *In: Trayhurn, P. and Nicholls, D. G. eds, Brown Adipose Tissue.* Arnold, Baltimore, M. D., p. 214~268.
- Jansky, L. 1973 Nonshivering thermogenesis and its thermoregulatory significance. *Biol Rev* 48: 85~132.
- Lowry, O. H., N. J. Rosebrough, A. L. Farr and R. J. Randall 1951 Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193: 265~275.



- Oufara, S., H. Barre, J.L. Rouanet, Y. Minaire 1988 Great adaptability of brown adipose tissue mitochondria to extreme ambient temperatures in control and cold-acclimated gerbils as compared with mice. *Comp. Biochem. Physiol.* **90B**: 209~214.
- Rafael, J., P. Vsiansky and G. Heldmaier 1985 Increased contribution of brown adipose tissue to nonshivering thermogenesis in the Djungarian hamster during cold-adaptation. *J. Comp. Physiol. B.* **155**: 717~722.
- Smith, R.E. and B.A. Horwitz 1969 Brown fat and thermogenesis. *Physiol. Rev.* **49**: 330~425.
- Sundin, U., G. Moore, J. Nedergaard and B. Cannon 1987 Thermogenin amount and activity in hamster brown fat mitochondria; effect of cold acclimation. *Amer. J. Physiol.* **252**: R822~R832.
- Trayhurn, P., D. Richard, G. Jennings and M. Ashwell 1983 Adaptive changes in the concentration of the mitochondrial uncoupling protein in brown adipose tissue of hamsters acclimated at different temperatures. *Biosci. Rep.* **3**: 1077~1084.
- Wunder, B.A. 1984 Strategies for, and environmental cueing mechanisms of, seasonal changes in thermoregulatory parameters of small mammals. pages 165~172, In: J.F. Merritt, ed. Winter ecology of small mammals. Carnegie Museum of Natural History Special Publication No. 10, Pittsburgh.

### 外 文 摘 要 (Abstract)

#### ADAPTIVE THERMOGENIC PROPERTIES DURING COLD EXPOSURE IN ROOT VOLES (*MICROTUS OECONOMUS*)

WANG DE-HUA    SUN RU-YONG    WANG ZU-WANG    LIU JIN-SONG    CHEN ZHI  
(Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100080)

The nonshivering thermogenesis (NST), tissue and mitochondrial protein contents of brown adipose tissue (BAT) and liver, mitochondrial protein contents of heart and limb-muscle, cytochrome oxidase activities of the above four tissues, and the state IV respiratory ability of liver mitochondria in root vole (*Microtus oeconomus*), which live in the cold alpine meadow of Qinghai-Tibetan Plateau, during cold exposure for 1 day, 7 days and 21 days, were determined. The results showed that NST tend to increase with a gradual developing process, and the content of BAT mitochondrial protein showed a stronger response to cold than that of tissue protein. The variation of mitochondrial protein contents of liver, heart and limb-muscle showed moderate responses, while the cytochrome oxidase activities of all the tissues increased markedly with cold exposure. The state IV respiratory ability of liver mitochondria enhanced during cold exposure. These results suggest that NST play an important role in the process of thermoregulation, and muscle, heart and liver are also involved in the thermoregulation under cold exposure for the voles. Thus, under natural environment, low temperature is an important stimulatory and adjustmental factor for thermogenesis.

**Key words:** *Microtus oeconomus*, Nonshivering thermogenesis, Mitochondrial protein, Cytochrome oxidase.