

刺猬冬眠过程中褐色脂肪 和非颤抖性产热研究*

孙金生 曾缙祥

(天津师范大学生物系, 天津, 300074)

摘 要

Q959.831

A 本文对刺猬 (*Erinaceus europaeus*) 在冬眠过程中褐色脂肪 (BAT) 的相对重量、超微结构和非颤抖性产热 (NST) 的变化进行了测定, 探讨了 BAT 产热在冬眠刺猬睡眠过程中的作用。结果表明, 夏季 (7 月份) 刺猬的 BAT 相对重量最低, 为 0.23%。秋季迅速增加, 至入眠前达到最高, 为 0.46%。冬眠期中缓慢减少, 冬眠后显著下降 (0.32%), 这与醒眠时需要快速产热密切相关。冬眠前和冬眠中刺猬的 BAT 脂滴和线粒体嵴数量明显高于冬眠后, 表明冬眠刺猬 BAT 具备快速产热能力。在冬眠室温为 5℃ 时的静止代谢率最低, 为 0.064 毫升氧/克/小时, 活动期, 即在 0℃ 至下临界温度范围内, 其静止代谢率与环境温度呈负相关, 并具线性回归。冬眠期的 NE-NST_{max} 明显低于活动期, 而相对增加耗氧量显著高于活动期, 证明 NE-NST 是冬眠刺猬醒眠时的主要热源。

关键词 刺猬; 褐色脂肪; 非颤抖性产热; 静止代谢率

褐色脂肪 (BAT) 最早发现于冬眠动物, 被认为是“冬眠腺” (Rasmussen, 1923), 并一直受到动物生态生理学家的重视。直至本世纪 60 年代才确定了 BAT 的产热作用 (Smith 等, 1969), 并证明其是非颤抖性产热 (NST) 的主要场所 (Heldmaier 等, 1985; Foster 等, 1978)。但 BAT 并非是所有冬眠动物醒眠时的主要热源 (Haywood 等, 1965), 尤其是在热环境中的醒眠过程 (Smalley 等, 1963)。BAT 产热在全部 NST 中所占的比例一般为 10%—100% (Jansky, 1973; Heldmaier 等, 1985)。近年来, 一些学者认为 BAT 是作为“醒眠腺”参与动物自发醒眠时的供热 (Lyman 等, 1982; Nedergaard 等, 1984)。

刺猬 (*Erinaceus europaeus*) 是一种典型的冬眠动物, 在天津市郊区于 11 月初开始冬眠, 至翌年 3 月下旬出蛰, 整个冬眠过程可分为冬眠前、冬眠和冬眠后三个时期 (陈达维, 1986)。关于刺猬冬眠生理生态的研究, 国内外已有一些报道 (赵以丙等, 1950, 1951, 1956, 1958; Suomalainen 等, 1964; Hanna 等, 1975; Tahti, 1978), 但活动期与冬眠期刺猬 NST 的比较研究、刺猬种群 BAT 的年周期变化及其超微结构变化的研究尚乏报道。

* 承蒙孙儒泳、王祖望、张洁教授指导并提出宝贵意见; 天津师范大学邵淑斌副教授和孙建华、宇克莉、夏文同志在超微结构方面给予协助, 谨此致谢。

本文于 1992 年 11 月 23 日收到, 1993 年 11 月 12 日收到修改稿

材料和方法

实验动物于 1988 年 3 月至 1989 年 2 月捕自天津市静海县肖民庄农田,经消毒后携回饲养房内单笼饲养。冬眠期室温为 $5 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 。其它时间对饲养房的温度、光周期、湿度不加以控制。每日定时喂饲料与肉的混合物,饮水量不限,饲养两周后,选用健康的非妊娠、非哺乳个体做实验。

静止代谢率采用 $\text{Cs}-4$ 型补氧式呼吸强度自动记录仪测定。动物在呼吸室内适应 30 分钟后,再记录 30 分钟耗氧量。活动期在 $0-35^{\circ}\text{C}$ 内,每隔 5°C 测定一次耗氧量,在出现最低耗氧量的温度区进一步测定中性温度区;冬眠期在 $5-15^{\circ}\text{C}$ 内分别测定耗氧量。水浴控制呼吸室温度,温差为 $\pm 1^{\circ}\text{C}$ 。每次实验前后用 7151 型半导体点温度计插入动物肛门内 1 厘米处测动物体温。用 Hart (1971) 提出的 $W^{0.73}$ 矫正体重差异对实验的影响。测定 NST 采用 NE 诱导,NE 的剂量是在预备实验的基础上参照 Jansky (1969) 确定 (0.8 毫克/公斤体重)。

将逐月捕获的刺猬称重后杀死,摘取肩胛下褐色脂肪,分别置 10% 福尔马林溶液中固定 15 天后,剔除表面结缔组织,称重。再用 2.5% 戊二醛及 1% 锇酸固定,用于测定 BAT 年周期变化和电镜观察。超薄切片制作采用丙酮系列脱水, Epon812 包埋,日立 H600 型透射电镜观察。

结果和讨论

1. BAT 相对重量的年周期变化

刺猬的 BAT 主要分布在肩胛间、肩胛下、腋下和脊柱背部,以肩胛部最多,且全年积存。我们采用 BAT 相对重量 (BAT 占体重的百分比) 作为其功能变化的指标,对逐月在野外捕获体重为 530—670 克的刺猬肩胛下 BAT 进行测定。结果表明,BAT 相对重量在刺猬冬眠周期中有明显变化 (图 1)。7 月份,刺猬褐色脂肪相对重量最低,为 0.23%,随着气温的降低,褐色脂肪相对重量逐渐升高,至入眠前 (11 月份) 达到峰值 (0.46%),为动物越冬贮存能源;冬眠期 (12、1、2 月) 褐色脂肪相对重量无明显变化;醒眠后 (3 月下旬) 褐色脂肪显著降低 (0.32)。Edwards 等 (1969) 测定夏季实验种群刺猬的褐色脂肪含量为 0.85%,至入眠前达到 1.43%。对其它一些冬眠动物如达乌尔黄鼠 (*Citellus dauricus*) 的褐色脂肪在入眠前达到 3.5%,醒眠后消耗殆尽, Nedergaard (1984) 测定金黄地鼠 (*Mesocricetus auratus*) 在醒眠过程中消耗 255 毫克褐色脂肪, Tidemann (1982) 对蝙蝠 (*Eptesicus vulturinus*) 的研究也得到了类似的结果。可见褐色脂肪是非颤抖性产热的主要场所,这些变化与冬眠动物醒眠时的快速产热需要有关。

2. 冬眠过程中褐色脂肪变化的电镜观察

电镜观察表明,刺猬褐色脂肪是一种多空泡型脂肪组织,具有丰富的毛细血管和线粒体 (图版 I),其超微结构在冬眠前 (10 月)、冬眠 (12 月) 和冬眠后 (4 月) 均发生明显变化。

冬眠前脂滴数量多、体积大,近似圆形 (图版 I—1),为动物醒眠时快速产热贮存能源;冬眠期脂滴数量多、饱满,以椭圆形为主,体积大小不等 (图版 I—2);冬眠后脂滴数量减少,因受线粒体挤压而呈不规则形状,体积大小相差显著 (图版 I—3),说明动物醒眠时消耗了大量能量。

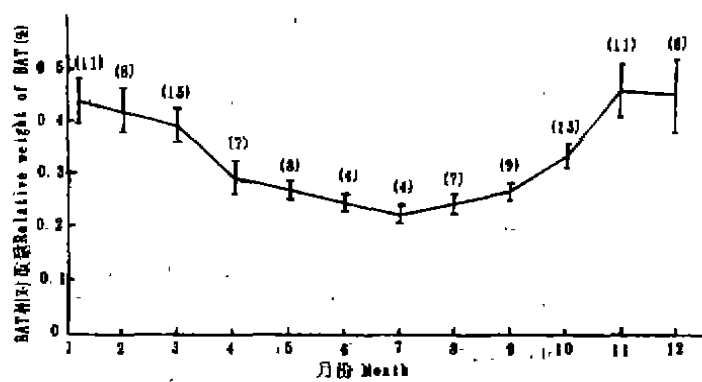


图1 刺猬褐色脂肪相对重量的年周期变化
(括弧内数字为样本数; 竖线表示标准误)

Fig. 1 Annual changes of the relative weight of BAT for *Erinaceus europaeus*
(Vertical lines represent \pm SE. Sample sizes showing in parenthesis)

冬眠前和冬眠期褐色脂肪线粒体数量多, 部分被挤压变形, 嵴密集, 电子密度高 (图版 I—4、5), 冬眠后线粒体数量减少, 电子密度显著下降, 嵴较疏松, (图版 I—6)。由于氧化磷酸化过程在线粒体嵴上进行, 线粒体和嵴的数量反映了褐色脂肪的产热能力, 在冬眠前和冬眠期, 线粒体数量多、嵴密集, 为动物醒眠时的快速产热提供能量。

冬眠过程中褐色脂肪毛细血管也发生明显变化, 冬眠前和冬眠后毛细血管内皮细胞较厚, 胞浆中以及与血管相邻的细胞中皆可见有许多小泡, 显示血管和细胞的物质交换活跃 (图版 I—7、9)。冬眠期毛细血管的内皮细胞厚度较小, 小泡结构也较少, 示功能较低 (图版 I—8)。

3. 静止代谢率与非颤抖性产热

在 0—35℃静止代谢率的测定结果见表 1。活动期的中性温度区为 25—27℃, 与 Tahti (1978) 的结果一致。从 0℃开始, 静止代谢率随环境温度的升高而逐渐降低, 至下临界温度达到最低水平, 并在中性温度区保持稳定。当环境温度超过上临界温度时, RMR 开始随着环境温度的升高而较快地增长。从相关和回归分析的结果看出, 活动期

表 1 活动期和冬眠期刺猬静止代谢率和体温的变化 (样本 6 个)

Table 1 The variations of RMR and Tb. in awaking and hibernating of hedgehogs (n=6)

	活动期 awaking phase			冬眠期 hibernating phase		
体重 (g) Body weight	533.200 \pm 40.900			550.470 \pm 33.740		
环境温度 (°C) Ambiant temperature	静止代谢率 毫升氧/克/小时 RMR mlO ₂ /g/h	实验后体温和 体温变化 (°C) Tb. and variation of Tb. after test		静止代谢率 毫升氧/克/小时 RMR mlO ₂ /g/h	实验后体温和 体温变化 (°C) Tb. and variation of Tb. after test	
0	3.054 \pm 1.773	32.900 \pm 1.068	-0.600			
5	6.118 \pm 1.264	33.410 \pm 1.017	-0.606	0.064 \pm 0.016	6.891 \pm 0.953	0
10	4.566 \pm 1.056	33.400 \pm 0.900	-0.433	0.101 \pm 0.068	9.650 \pm 1.323	3.297
15	3.735 \pm 0.591	33.000 \pm 0.949	-0.400	0.446 \pm 0.068	13.330 \pm 1.652	5.599
20	2.963 \pm 0.472	33.166 \pm 0.687	0.066			
25	2.557 \pm 0.654	33.800 \pm 0.517	0			
30	3.067 \pm 0.788	33.450 \pm 0.577	0.520			
35	3.629 \pm 1.768	34.530 \pm 0.752	0.780			

RMR—Resting metabolic rate; Tb—Temperature of body

RMR 与环境温度呈显著负相关 (图 2)。Tucker (1965)、Hock (1969) 和宋晓崴 (1990) 分别报道过加利福尼亚囊鼠 (*Geomys californicus*)、金背黄鼠 (*Spermophilus lateralis*) 和达乌尔黄鼠的 RMR 与环境温度亦呈显著负相关。在 0—35℃ 实验温度下, 刺猬的体温保持恒定, 变化范围 $\pm 1^\circ\text{C}$ 。

冬眠刺猬的 RMR 明显下降, 在 5℃ 环境温度下最低达 0.064 毫升氧/克/小时, 为活动期的 2.553%, 符合各种冬眠动物的普遍情况 (Lyman 等, 1982)。但环境温度影响的方式不同, 在 5—15℃ 内, 二者显著正相关, 并呈直线回归关系 (图 2), 但相关程度有所下降 ($r=0.8948$)。随着环境温度升高, 刺猬体温也逐渐升高, 同时 RMR 上升幅度加大。Edwards 等 (1969) 将冬眠刺猬从 $6.5 \pm 2^\circ\text{C}$ 移到 $22.5 \pm 0.9^\circ\text{C}$ 环境中, 成功地诱发了动物的醒眠过程。说明动物的代谢调节机制与体内组织温度密切相关。

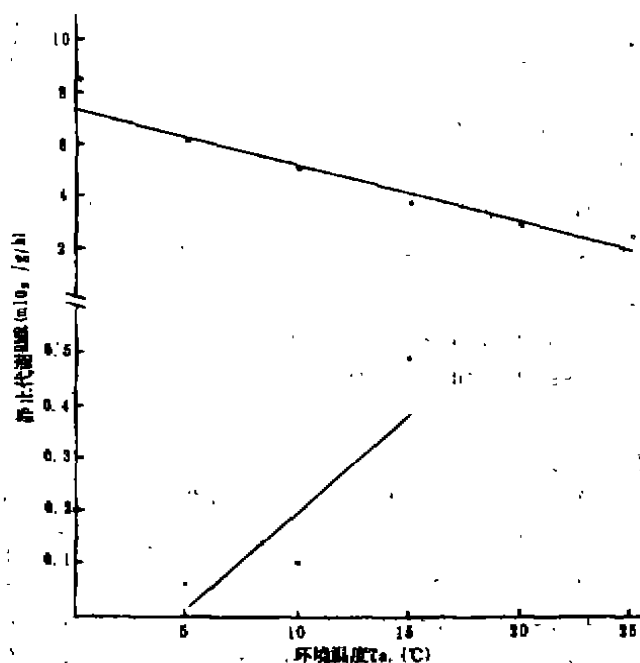


图 2 刺猬静止代谢率与环境温度回归

Fig. 2 Regression of RMR and ambient temperature for hedgehogs

活动期 (awaking phase) $\text{RMR} = 7.364 - 0.216T_a$, $r = 0.9669$

冬眠期 (hibernating phase) $\text{RMR} = -0.103 + 0.038T_a$, $r = 0.8948$

经 0.8 毫克/公斤剂量 NE 皮下注射后, 活动期和冬眠期的刺猬绝对耗氧量 (NE—NSTmax) 均明显增加 (表 2), 并随环境温度的降低而逐渐升高, 与冷驯化动物一致。NE—NSTmax 反映了动物的最大产热能力, 在 15℃ 环境温度下, 活动期 NE—NSTmax 明显高于冬眠期, 进一步表明体内组织温度对冬眠刺猬代谢的抑制作用。人工注射 NE 产热应为超出 RMR 部分, 因此用相对增加耗氧量 (NSTmax—RMR)/RMR 表示 NE—NST 较准确。测定结果表明, 环境温度对活动期 NE—NST 无明显影响。冬眠 NE—NST 随环境温度降低而逐渐升高, 在 15℃ 环境温度下显著高于活动期, 表明冬眠刺猬具备快速产热能力。Jansky (1969) 认为, 刺猬 NE—NST 机制不同于豚鼠等哺乳动物 (低温驯化增加 NE 诱导的非颤抖性产热的发生), 但他只测定了活动期刺猬。我们对冬眠刺猬 NE—NST 的测定表明, 环境温度越低, NE—NST 越高, 可见低温增加了 NE 诱导的非颤抖性

产热,由此活动期与冬眠期 NE 诱导非颤抖性产热机制明显不同。同时表明 NE-NST 主要用于醒眠初期(低体温)的升温过程。注射 NE 对冬眠产生重大影响,实验前后冬眠刺猬的体温平均升高 14°C ,实验结束后体温继续升高,甚至完全醒眠,证明 NE-NST 是冬眠刺猬醒眠时的主要热源,并足以诱发冬眠刺猬醒眠。Edwards 等(1969)报道刺猬醒眠时 BAT 内 NE 含量下降 78%,表明 BAT 是 NE-NST 的主要场所,进一步证明 BAT 是冬眠刺猬醒眠初期的主要热源。

表 2 刺猬活动期与冬眠期非颤抖性产热(NST)的比较
Table 2 Comparison of NST in awaking and hibernating for hedgehogs

环境温度 ($^{\circ}\text{C}$) Ta.	活动期 awaking state		冬眠期 hibernating state	
	绝对增加耗氧量 $\text{mlO}_2/\text{g} \cdot 73/\text{h}$ NE-NSTmax	相对增加耗氧量 (NSTmax-RMR) /RMR %	绝对增加耗氧量 $\text{mlO}_2/\text{g} \cdot 73/\text{h}$ NE-NSTmax	相对增加耗氧量 (NETmax-RMR) /RMR %
5			3.820 ± 0.840 (6)	5889.000
10			3.045 ± 0.389 (6)	2287.000
15	5.866 ± 0.163 (4)	56.830	2.485 ± 0.583 (6)	455.200
20	3.868 ± 0.485 (6)	30.570		
25	3.834 ± 0.638 (6)	40.950		
体重(g) Body weight	533.200		550.470	

* 平均值 \pm SE Values are means \pm SE

** 括号内数字为样本数 Values in parethese are sample sizes

综合冬眠过程中 BAT 含量、超微结构及其 NST 的变化,其间存在密切联系。入眠阶段 BAT 毛细血管和细胞的物质交换活跃,脂滴迅速增殖,充盈饱满,BAT 在体内的贮存达到最高水平,为动物的顺利越冬贮存大量能量,同时线粒体嵴排列紧密,间质电子密度高,具备快速产热能力。冬眠期 BAT 毛细血管与细胞的物质交换少,线粒体嵴和脂滴与冬眠前无显著变化。在出眠阶段 BAT 毛细血管与细胞物质交换活跃,BAT 细胞内出现大量小的脂滴,充盈度显著下降,BAT 在体内的含量也随之下降。同时线粒体间质电子密度下降,说明 BAT 在动物醒眠过程中大量产热。醒眠后刺猬通过增加 RMR 来维持体温恒定,BAT 线粒体嵴密度显著下降。从 BAT 细胞脂滴的变化看,BAT 在体内含量的变化主要是脂肪含量的变化,从线粒体产热的能力变化看,BAT 的功能主要是醒眠过程中的快速产热以升高体温。关于 BAT 产热在动物醒眠过程中的作用,Hayward 等(1966)对蝙蝠(*Eptesicus fuscus*)研究时,发出 BAT 产热只占醒眠产热需要的 5.7%,并认为测定方法还需改进。Nedergaard 等(1984)对仓鼠(*Mesocricetus auratus*)醒眠过程的 BAT 变化进行测定,估算出醒眠过程所需要热量的 90%—100%由 BAT 氧化而得。本文结果表明 BAT 以冬眠刺猬醒眠初期产热为主。

参 考 文 献

- 宋晓敏,曾继祥. 1990. 黄鼠基础代谢率、静止代谢率、化学热调节强度的季节性变化研究. 兽类学报, 11 (1): 48—55.
- 陈达维. 1986. 哺乳动物的冬眠. 生物学通报, 1986 (6): 4.
- 赵以丙, 叶甲壬. 1950. 刺猬的冬眠. Chin J Physiol, 17: 343—378.
- 赵以丙, 叶甲壬. 1951. 刺猬的冬眠(三). 循环的变化. Chin J Physiol, 18: 1—16.
- 赵以丙, 叶甲壬. 1956. 自然冬眠、人工冬眠与禁食状态下血液有形成份的变化. 北京大学学报(自然科学版), (4): 503—516.

- 赵以丙, 叶甲壬. 1958. 刺猬冬眠时与禁食时体重及器官重量的变化. 北京大学学报(自然科学版), 1958 (1): 109—117.
- Edwards B A, Munday K A. 1969. The function of brown adipose tissue in the hedgehog. *Comp Biochem Physiol*, 30: 1029—1036.
- Foster D O, Frydman M L. 1978. Nonshivering thermogenesis in rat I. Measurements of blood flow with microsphere point to brown adipose tissue as the dominant site of the calorogenesis induced by nonadrenaline. *Can J Pharmacol*, 56: 110—122.
- Hanna T, Sivio A. 1975. Respiratory and circulatory differences between induced and spontaneous arousals in hibernating hedgehog (*E. europaeus*). *Am Zool Fenn*, 14: 198—203.
- Hart J S. 1971. Rodents. In: *Comp Physiol of Thermoregulation I*. Academic Press: 1—49.
- Hayward J S, Ball E G. 1966. Quantitative aspects of brown tissue (BAT) lipids during arousal from hibernation in hamsters. *Biol Bull*, 131: 94—103.
- Haywood J S, Lyman C P. 1965. The possible role of brown fat as a source of heat during arousal from hibernation. *Ann N Y Acad Sci*, 131: 441—446.
- Heldmaier G, Buchberger A. 1985. Source of heat during nonshivering thermogenesis in Djungarian hamsters: a dominant role of brown adipose tissue during cold adaptation. *J Comp Physiol*, 156: 237—245.
- Hock R J. 1969. Thermoregulatory variations of high-altitude hibernators in relation to ambient temperature, season and hibernation. *Fedn Proc*, 28: 1047—1052.
- Jansky L. 1969. Interspecies in cold adaptation and nonshivering thermogenesis. *Fedn Proc*, 1053—1058.
- Jansky L. 1973. Nonshivering thermogenesis and its thermoregulatory significance. *Biol Rev*, 48: 85—152.
- Lyman C P, Willis J S, Malan A, Wang L C H. 1982. Hibernation and torpor in mammals and birds. Acad Press.
- Nedergaard J, Cannon B. 1984. Preferential utilization of brown fat during arousal from hibernation in hamster. *Am J Physiol*, 247: R506—R512.
- Rasmussen A T. 1923. The so-called hibernating gland. *J Morph*, 38: 147—205.
- Smalley R L, Dryer L R. 1963. Brown fat: thermogenic effect during arousal from hibernation in the bat. *Science*, 140: 1333—1334.
- Smith R E, Horwitz B A. 1969. Brown fat and thermogenesis. *Physiol Rev*, 49: 330—425.
- Suomalainen P, Suomalainen E. 1964. Studies in the physiology of the hibernating hedgehog. *Ann Acad Sci A*, IV80: 1—22.
- Tahti H. 1978. Seasonal differences in O_2 consumption and respiratory quotient in a hibernator (*E. europaeus*). *Ann Zool Fennici*, 15: 69—75.
- Tidemann C R. 1982. Sex difference in seasonal changes of brown adipose tissue and activity of the Australian vespertilionid bat (*Eptesicus vulturinus*). *Aust J Zool*, 30: 15—22.
- Tucker V A. 1965. Oxygen consumption, thermal conductance and torpor in the California pocket mouse (*Perognathus californicus*). *J Cell Comp Physiol*, 65: 393—404.

STUDIES ON THE VARIATIONS OF BROWN ADIPOSE TISSUE AND NONSHIVERING THERMOGENESIS IN A HIBERNATOR (*ERINACEUS EUROPAEUS*)

SUN Jinsheng ZENG Jinxiang

(Department of Biology, Tianjin Normal University, Tianjin, 300074)

Abstract

The variations of nonshivering thermogenesis (NST) and brown adipose tissue (BAT) in weight and ultrastructure were studied in the hedgehogs (*Erinaceus europaeus*), so as to deal with the function of BAT during arousal from hibernation.

The results showed that, the relative weight of BAT in hedgehogs was the lowest (0.23%) in summer (July), and increased rapidly in autumn, the highest value of relative weight was observed in the prehibernation (November); no variations were observed in the hibernating hedgehogs, but decreased rapidly during arousal from hibernation (0.32%). The variation of BAT were related to the heat production during arousal. The numbers and sites of fat droplets and mitochondria cristae of BAT in the prehibernating and hibernating hedgehogs were higher than that in the posthibernating hedgehogs, and show the hibernating hedgehogs could be able to produce heat rapidly during arousal from hibernation.

The results also showed that the thermoneutral zone was the ranges 25°C to 27°C and the lowest RMR ($\text{mlO}_2/\text{g/h}$) was 2.577 ± 0.654 in the awaking hedgehogs, over the T_a ranges 0°C to the low artical temperature, a significantly negative correlation and a regression was observed between the T_a and the RMR; The lowest RMR was 0.064 at the T_a of 5°C in the hibernating hedgehogs, and the T_a also affected RMR.

The NE—NST was expressed in two forms; the maximum metabolic response to NE (NSTmax), and the absolute increase in oxygen consumption ($(\text{NSTmax} - \text{RMR})/\text{RMR}\%$). NSTmax in the awaking hedgehogs was higher than that in the hibernating hedgehogs, and show the body temperature of hibernating hedgehogs inhibited the metabolic rate; The absolute increase in oxygen consumption in the awaking hedgehogs was lower than that in the hibernating hedgehogs, and show the NE—NST was the main heat source during arousal from hibernation.

Key words Hedgehog (*Erinaceus europaeus*); Brown adipose tissue (BAT); Non-shivering thermogenesis (NST); Resty metabolic rate (RMR).