

冷暴露对中缅树鼩褐色脂肪组织中解偶联蛋白 1 含量的影响

谢静 王政昆* 张武先 朱莉萍

(云南师范大学生命科学院 教育部生物能源持续开发利用工程研究中心 昆明 650092)

摘要: 自备抗血清采用酶联免疫法测定了中缅树鼩 (*Tupaia belangeri*) 在 (5 ± 1) 冷暴露 0 d、7 d、14 d、21 d、28 d 时,褐色脂肪组织 (BAT) 中解偶联蛋白 1 (UCPI) 的含量。结果表明,随着冷暴露时间的延长,中缅树鼩的体重、褐色脂肪组织重量均表现出了增加的趋势,BAT 线粒体总蛋白和 UCPI 的含量也呈增加的趋势,其中 UCPI 的含量在 28 d 时达到极显著水平,比对照组增加了 55.9%。说明冷暴露能够诱导中缅树鼩 UCPI 表达增加,从而使其适应性产热增加。

关键词: 中缅树鼩; 冷暴露; 解偶联蛋白-1; 酶联免疫

中图分类号: Q955 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263(2008)04-34-07

The Effects of Cold Exposure on the Content of Uncoupling Protein of BAT in *Tupaia belangeri*

XIE Jing WANG Zheng-Kun* ZHANG Wu-Xian ZHU Li-Ping

(School of Life Science of Yunnan Normal University, Engineering Research Center of Sustainable Development and Utilization of Biomass Energy Ministry of Education, Kunming 650092, China)

Abstract: Uncoupling proteins (UCPs) increase proton leakage across the inner mitochondrial membrane. UCPI in brown adipose tissue dissipates proton motive force as heat. This mechanism of nonshivering thermogenesis is considered as a monophyletic trait of endothermic placental mammals and provided a crucial advantage for life in the cold. Thereby, UCPI is thus the only protein capable of mediating cold-acclimation-recruited adaptive adrenergic nonshivering thermogenesis. In this study, the content of UCPI in BAT in Tree Shrews (*Tupaia belangeri*) was measured during cold exposure for 0 day, 7 days, 21 days and 28 days by enzyme-linked immunosorbent assay. The body weight, BAT weight, mitochondrial protein contents and UCPI contents greatly increased with the cold exposure. The UCPI content increased by 55.9% ($P < 0.01$) significantly after 28 days cold acclimation. The changes in BAT thermogenic properties are important for the survival under cold stress in *T. belangeri*.

Key words: *Tupaia belangeri*; Cold acclimation; Uncoupling protein-1; Enzyme-linked immunosorbent assay

褐色脂肪组织 (brown adipose tissue, BAT) 是小型哺乳动物非颤抖性产热 (nonshivering thermogenesis, NST) 发生的主要部位, NST 能力的变化与 BAT 的产热功能密切相关^[1]。BAT 产热的功能基础是位于线粒体内膜上的特异性质子转导蛋白即解偶联蛋白 1 (uncoupling protein one, UCPI)。UCPI 是一种仅在哺乳动物

BAT 线粒体内膜上存在的产热蛋白,也是机体

基金项目 国家自然科学基金项目 (No. 30560026), 云南省科技强省研究重点项目 (No. 2007C000Z1);

*通讯作者, E-mail: wzk-930@yahoo.com.cn;

第一作者介绍 谢静, 女, 硕士研究生; 研究方向: 动物生理生态学; E-mail: xiejing_1219@163.com。

收稿日期: 2007-12-26, 修回日期: 2008-04-28

组织特异表达的线粒体内膜蛋白,分子量为 32 000 u,它通过增加内膜的质子通透性,降低由呼吸链所产生的质子梯度,使氧化磷酸化过程解偶联^[2]。冷暴露过程中,在交感神经支配下,通过 BAT 细胞膜上的 肾上腺能受体(其中主要是 β_3 型受体)的激活而诱导 UCP1 基因表达^[3],进而使 UCP1 合成增加。UCP1 的含量和活性决定了 BAT 的产热能力。

小型哺乳动物的适应性产热机理研究主要集中在实验啮齿动物^[4]和室内驯化动物如黑线毛足鼠(*Phodopus sungorus*)^[5],而对野生动物的研究则相对较少,且结论较不一致,如 Klaus 等^[6]发现欧鼯(*Clethrionomys glareolus*)BAT 线粒体蛋白和 UCP1 表达在冬季分别比夏季增加了 70%和 30%,而在室外气候驯化条件下,布氏田鼠(*Lasiopodomys brandtii*)BAT 中的 UCP1 含量并没有表现出季节性差异^[7];短光照能促进布氏田鼠^[8]和非洲刺毛鼠(*Acomys cahirinus*)BAT 中 UCP1 含量的增加,但对长爪沙鼠(*Meriones unguiculatus*)^[9]和金黄刺毛鼠(*A. russatus*)^[10]则无影响。

中缅树鼯(*Tupaia belangeri*)属攀鼯目(Scandentia)树鼯科(Tupaiaidae),主要分布于东南亚、印度、锡金、尼泊尔、缅甸、我国广西南部及海南岛等,为东洋界特有小型哺乳动物。中缅树鼯是该科中分布最广和分布纬度最高的一个种^[11],因此其生理适应上可能会显示出与东洋界其他小型哺乳动物的不同。已有的实验研究表明,分布于该过渡地带的中缅树鼯,其生理适应特征显示出某些过渡特征,同时又表现出一定的差异性^[12~14]。在本研究中,测定了冷暴露 0 d、7 d、14 d、21 d、28 d 中缅树鼯 BAT 中 UCP1 蛋白的含量,旨在从细胞和分子水平上对其产热机理进行探讨,从而对中缅树鼯的生存适应对策有进一步的理解。

1 材料与方 法

1.1 实验动物 实验动物于 2006 年 7 月捕自云南省昆明市禄劝县屏山镇(北纬 25°25'~26°22',东经 102°13'~102°57')附近灌丛中(海拔

1 679 m)。动物捕回后单笼饲养,22~25 室温条件下适应 3 d,光照 12L 12D,此为 0 d 对照组。冷暴露 7 d、14 d、21 d、28 d 共 4 组,每组 8 只动物,在环境温度(5±1)、无巢材、光照 12L 12D 条件下单笼饲养。

每天上午定点喂以由玉米面、奶粉、白糖以适当比例混合制得的熟食,添加少许水,每隔一天加喂苹果、梨等水果适量。

实验动物均为非繁殖期成年个体,实验组与对照组中尽量雌雄各半,饲养地点为云南师范大学生命科学学院动物学实验室。

1.2 BAT 中线粒体分离及线粒体蛋白含量的测定 实验动物处死后,迅速取出 BAT 组织。按照 Cannon 等^[15]介绍的方法,将 BAT 在冰浴中剪碎,加 5 倍体积(w/v)BAT 提取液(5 mmol/L Tris,250 mmol/L 蔗糖,0.5 mmol/L EDTA,1 mmol/L MgCl₂·6H₂O,0.5 mg/ml 牛血清蛋白),手动匀浆;2 000 g 4 离心 7 min,弃沉淀;取上清于 10 000 g 4 离心 10 min,弃上清;将沉淀用适量提取液悬浮,于 10 000 g 4 离心 10 min,弃上清;所得沉淀即为线粒体,加适量提取液溶解,即可用于线粒体蛋白含量的测定。

蛋白质定量采用 Folin-酚法,以牛血清白蛋白为标准,采用紫外分光光度计测定线粒体蛋白含量。

1.3 BAT 中 UCP1 的分离和纯化 将实验动物处死,迅速分离肩胛间及颈部两侧的褐色脂肪组织,用提取液 A(10 mmol/L Tris,250 mmol/L 蔗糖,2 mmol/L EDTA)清洗组织,在冰上剪碎组织,以 BAT 提取液 A=1:5(w/v)加入提取液 A,匀浆;然后 1 500 g 4 条件下离心 10 min,用移液器去掉上层脂肪,500 g 4 离心 5 min,去掉沉淀;进一步在 10 000 g 4 条件下离心 10 min,去掉上清液,所得的沉淀用提取液 B(20 mmol/L MOPS,20 mmol/L Na₂SO₄,2 mmol/L EDTA)悬浮(w/v=1:5)。

用超声波仪在 20 kHz 条件下超声两次,每次 25 s。超声后的溶液在 10 000 g 4 条件下离心 20 min,去掉上清液,用相同体积的溶液悬浮,同时加入等体积 5%的 Triton X-100,20 kHz

条件下超声两次,每次 20 s。将超声后的溶液于 10 000 g 4 条件下离心 30 min,保留上清液,此上清液为 BAT 中线粒体粗蛋白。

取适量的羟磷灰石溶于双蒸水中,装层析柱^[16],静置 20 min,将上述上清液粗蛋白上样(上样量为 1~1.5 ml),用提取液 B 进行洗脱,用 DBS-100 电脑全自动部分收集器(上海康华生化仪器制造厂)收集柱不吸附成分,每管收集时间为 100 s(大约 0.4 ml),根据 HD97-1 紫外检测仪(上海康华生化仪器制造厂)和 LM17 型记录仪(永青示波器厂)记录柱不吸附成分的洗脱峰线,(吸收波长为 280 nm,蛋白质在此波长下均有吸收),根据吸收峰线来确定 UCPI 蛋白所在管号及含量最高管。

将确定含量最高管内的蛋白样品进行聚丙烯酰胺凝胶电泳,分离胶、浓缩胶的浓度分别为 12%和 5%,先恒流 10 mA,样品进入分离胶后调至恒流 20 mA,直到溴酚蓝指示剂走至前沿为止,银染后,将蛋白样品与标准蛋白比较,根据其分子量是否在 32 000 u 处,进一步确定是否纯化出 UCPI 蛋白。

1.4 抗血清的制备 (1) 选择刚性成熟,健康、生活力强的雄性家兔 3 只,体重 2~3 kg,在室温及自然光照条件下适应 3 d。实验当日,每只动物先采取对照血清 3~5 ml, -20 保存备用。血清制备方法为,采血前动物禁食 24 h,在近耳根处除毛,用甲苯刺激耳缘静脉扩张,纵切开口 0.2~0.3 cm,采血后静脉自行止血。新鲜血液室温静置 2 h,然后 4 静置过夜,4 条件下 2 500 g 离心 10 min,于 -20 保存上层血清。对照血清用于对照免疫后的血清效价及是否存在交叉反应。(2) 免疫动物,纯化 UCPI (购自北京达科为生物技术有限公司)约 15 μg,用水补足至 1.0 ml,加福氏佐剂(complete Freund's adjuvant, CFA) 0.5 ml,乳化混匀,分别于动物背部皮下和两后肢肌肉 3 点注射,每点 0.5 ml。实验动物中,两只家兔注射抗原/CFA 乳剂,另一只作对照,只注射 CFA,用双蒸水补足体积。(3) 于两周后加强免疫一次,方法同上,但佐剂用不完全福氏佐剂(incomplete

Freund's adjuvant, IFA)。 (4) 再过一周,采取适量血清通过试管沉淀法及双向免疫扩散法测试效价,达到 1:32 以上时,就可每周采取血清 30~50 ml,采血方法同上。此后每 6 周记忆免疫一次。

1.5 间接酶联免疫法定量测定 UCPI 含量

(1) 去离子水冲洗酶标板(8×12 孔),室温晾干。每孔加入含 0.05% Tween 20 和 5 mmol/L 巯基乙醇及定量的梯度抗原(纯化 UCPI,购自北京达科为生物技术有限公司,每孔约含 37 ng)的包被液 0.2 ml 于微孔中,再加入适量上述分离出的 UCPI 蛋白样品,室温静置 3 h 或 4 过夜。(2) 除去包被液,用去离子水冲洗孔 3×3 min/次,晾干后加满孔封闭液(含 1% BSA 的包被液),37 静置 3 h 或 4 过夜。(3) 除去包被液,用去离子水冲洗孔 3×3 min/次,晾干后加入最佳稀释浓度的上述自制兔抗 UCPI 血清 0.2 ml,37 静置 3 h 或 4 过夜。(4) 用去离子水冲洗孔 3×3 min/次,晾干后每孔加入 0.1 ml 稀释 500~1 000 倍的碱性磷酸酶标记的羊抗兔抗体,37 静置 1 h。(5) 用去离子水冲洗孔 3×3 min/次,晾干后每孔加入底物试剂 P-硝基苯磷酸(P-nitrophenylphosphate, NPP) 0.2 ml,37 静置 15 min。(6) 每孔加 NaOH 0.1 ml,终止反应。

在酶联免疫分析仪(DG5031 型,国营华东电子管厂制造)上,于波长 405 nm 测量 OD 值,根据梯度浓度 UCPI 标准品测得的剂量反应曲线,计算样品 UCPI 含量*。

1.6 数据处理 实验数据用 SPSS 15.0 统计软件包进行分析处理,采用单因子方差分析(One-way ANOVA)多重比较。结果均以 Mean ±SE 表示。

2 结果

2.1 体重及褐色脂肪组织重量的变化 中缅树鼯体重随着冷暴露时间的延长逐渐增加,与

* 朱莉萍. 中缅树鼯 UCPI 的分子生物学研究. 云南师范大学硕士学位论文, 2003, 14~15.

0 d 比较,到 21 d 时达到显著水平 ($P < 0.05$), 28 d 后,体重增加了 9.1% (表 1)。

表 1 冷暴露对中缅树鼯体重的影响 (Mean \pm SE)

Table 1 The effects of cold exposure on body weight in *Tupaia belangeri*

冷暴露时间 Cold-exposed (d)	体重 Body weight (g)		P 值 P value
	初始 Control	驯化后 Acclimation	
0	111.7 \pm 2.1	111.7 \pm 2.1	>0.05
7	110.3 \pm 4.1	108.3 \pm 2.4	>0.05
14	112.4 \pm 3.7	114.6 \pm 2.9	>0.05
21	108.9 \pm 2.9	119.7 \pm 3.6	<0.05
28	112.8 \pm 3.5	121.9 \pm 3.5	<0.05

与 0 d 比较,从冷暴露 7 d 开始,中缅树鼯 BAT 重量就有了极显著的增加 ($P < 0.01$),分别在 7 d、14 d、21 d、28 d 时增加了 118.2%、169.4%、191.4%、196.0% ($P < 0.01$) (图 1)。

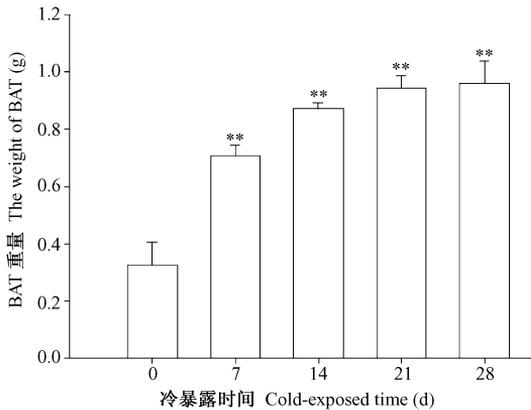


图 1 低温处理对中缅树鼯 BAT 重量的影响

Fig. 1 The effects of cold exposure on the weight of

BAT in *Tupaia belangeri*

与对照组比较 ** $P < 0.01$ 。

** $P < 0.01$, compared with control.

2.2 体温的变化 中缅树鼯体温随着冷暴露时间的延长显著降低,体温与冷驯化时间呈显著负相关 ($P < 0.01$),与 0 d 比较,7 d 即达到显著水平,28 d 后比对照组下降了 3.66% (表 2)。

2.3 BAT 中线粒体总蛋白含量变化 中缅树鼯 BAT 线粒体蛋白含量,与 0 d 比较,在 7 d 时开始显著增加 ($P < 0.05$),14 d 时达到了极显著增加 ($P < 0.01$),与 0 d 相比,在 7 d、14 d、21

d、28 d 分别增加 9.1%、13.9%、17.0% 及 19.3% (图 2)。

表 2 冷暴露对中缅树鼯体温的影响 (Mean \pm SE)

Table 2 The effects of cold exposure on body temperature in *Tupaia belangeri*

冷暴露时间 Cold-exposed (d)	体温 Body Temperature (°C)		P 值 P value
	初始 Control	驯化后 Acclimation	
0	38.2 \pm 0.1	38.2 \pm 0.1	>0.05
7	38.2 \pm 0.2	37.6 \pm 0.1	<0.05
14	38.1 \pm 0.4	37.1 \pm 0.3	<0.01
21	37.9 \pm 0.3	37.2 \pm 0.3	<0.01
28	38.2 \pm 0.2	36.8 \pm 0.1	<0.01

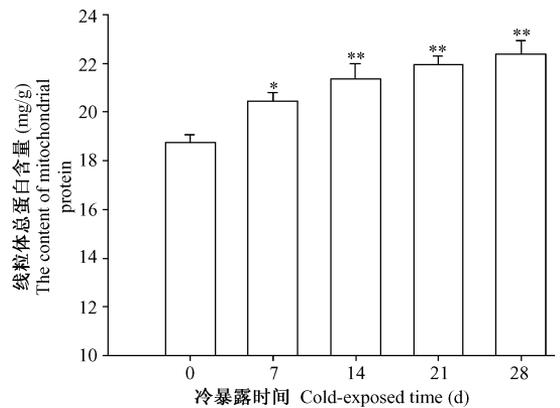


图 2 冷暴露对中缅树鼯 BAT 线粒体蛋白含量的影响

Fig. 2 The effects of cold exposure on the content of mitochondrial protein of BAT in *Tupaia belangeri*

与对照组比较 * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, compared with control.

2.4 BAT 中 UCP1 蛋白含量变化 纯化出的 UCP1 经过 SDS-PAGE 电泳,银染法染色后,条带位于 32 000 u 位置,由于 UCP1 的分子量即为 32 000 u,因此进一步确认纯化出的是 UCP1 (图 3)。

经过间接酶联免疫测定,与 0 d 比较,UCP1 含量在 7 d 时开始显著增加 ($P < 0.05$),14 d 时达到了极显著增加。与 0 d 相比,在 7 d、14 d、21 d、28 d 分别增加 25.7%、39.7%、52.4% 及 55.9% (图 4)。

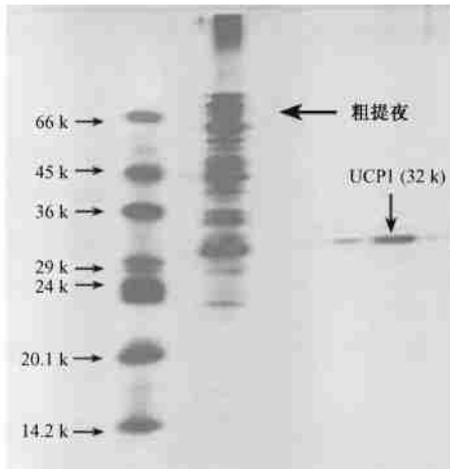


图3 中缅树鼯褐色脂肪组织UCPI纯化的SDS-PAGE图

Fig. 3 SDS-PAGE of purified UCPI from BAT in *Tupaia belangeri*

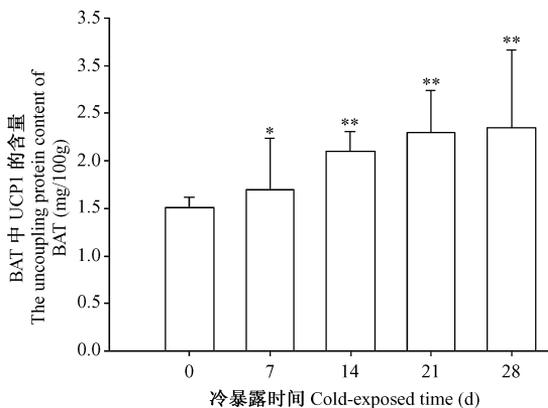


图4 冷暴露对中缅树鼯BAT中解耦联蛋白-1含量的影响

Fig. 4 The effects of cold exposure on the content of the uncoupling protein one of BAT in *Tupaia belangeri*

与对照组比较 * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, compared with control.

3 讨论

中缅树鼯体温随冷暴露时间的延长而逐渐下降,这与体温季节性变化结果相似^[12],也与之前的研究结果一致^[14]。有研究显示,中缅树鼯的体温还具有明显的昼夜变化节律,其变化幅度达到5以上,这一特征对其抵抗夜间低温也具有重要的适应意义^[17]。因此,在低温胁迫下,

中缅树鼯可以通过降低体温来调节能量分配,减少产热;同时,增加体重可减少相对体表面积,降低热传导,进一步增强低温适应能力。

中缅树鼯BAT的重量随着冷暴露时间的延长而显著增加,这与其他小型哺乳动物的研究结果相似,如草原田鼠(*Microtus pennsylvanicus*)^[18]、白足鼠(*Peromyscus leucopus*)^[19]、黄喉姬鼠(*Apodemus flavicollis*)、欧鼯^[6]、高原鼠兔(*Ochotona curzoniae*)和根田鼠(*M. oeconomus*)^[20-22]等。BAT线粒体总蛋白含量和细胞色素C氧化酶(cytochrome C oxidase, COX)活力增加是BAT产热能力增加的重要特征^[23,24],冷驯化条件下,长爪沙鼠^[25]、布氏田鼠和达乌尔黄鼠(*Spermophilus dauricus*)^[26]BAT线粒体蛋白含量明显增加,COX活力也显著增强,同样的现象在青藏高原的根田鼠和高原鼠兔^[23]中也有过报道。

在啮齿动物中UCPI在BAT发挥调节机体产热和总体能量消耗的生理功能方面起关键作用。UCPI作为脂肪酸阴离子转运载体,将不能透过线粒体内膜的脂肪酸阴离子转运到线粒体外,然后不与 H^+ 结合重新进入线粒体,在线粒体内被重新氧化成脂肪酸阴离子,如此重复造成物质氧化使线粒体内膜两侧 H^+ 浓度梯度被消除,ADP因缺乏 H^+ 不能磷酸化生成ATP,使物质氧化与ATP生成脱偶联而产热^[27],帮助动物在冷环境维持体温。

Soppela等人^[28]验证了BAT中UCPI的非颤抖性产热功能,以北方的驯鹿(*Rangifer tarandus*)进行试验,利用兔抗鼠UCPI抗血清检测了多种组织的UCPI含量,结果表明冷刺激促使UCPI的含量增加。Cannon等^[29]在冷驯化仓鼠(*Cricetulus*)BAT中检测到UCPI含量占线粒体蛋白质的5%~10%。Florez^[30]用抗大鼠(*Rattus norvegicus*)UCPI抗血清分析了冷驯化对F344大鼠BAT中UCPI含量的影响,结果表明,在10冷暴露5d后,UCPI含量也发生显著变化,6月龄和12月龄大鼠UCPI分别比对照组增加了156%和171%,说明BAT的增加与

UCP1 的增加一致。本研究结果显示,冷暴露能够极大地促进中缅树鼯 UCP1 含量的增加,这与许多小型哺乳动物的研究结果类似,如冷暴露能使大鼠和豚鼠 (*Cavia porcellus*)^[4]、黑线毛足鼠^[5]、布氏田鼠和长爪沙鼠 BAT 中的 UCP1 与 UCP mRNA 含量明显升高^[24]。研究发现长爪沙鼠 UCP1 含量在冬季约为夏季的 2~3 倍,欧纤、黄喉姬鼠和大林姬鼠 (*A. speciosus*)^[6],以及高原鼠兔和根田鼠^[22,23] BAT 产热特征的季节变化也与此一致。

因此,UCP1 含量增加可能是中缅树鼯在冷胁迫条件下,BAT 细胞和分子水平产热特征的适应性改变,这也可能与其栖息生境及生活习性有关,在食物充足和活动量明显减少的冬季,温度可能是影响其产热能力的主要因素,在细胞和分子水平上的生理调节策略,即主要通过调整线粒体总蛋白含量及 UCP1 的含量来提高产热能力,这有助于提高对环境的适应能力以应对寒冷胁迫。

参 考 文 献

- [1] Trayhurn P, Duncan J S. Rapid chemiluminescent detection of the mRNA for uncoupling protein in brown adipose tissue by Northern hybridization with a 32-mer oligonucleotide end-labelled with digoxigenin. *Int J Obes*, 1994, **18**: 449 ~ 452.
- [2] Cannon B, Nedergaard J. Brown adipose tissue: function and physiological significance. *Physiol Rev*, 2004, **84**: 277 ~ 359.
- [3] Palou A, Pico C, Bonet M L, et al. The uncoupling protein, thermogenin. *Int J Biochem Cell Biol*, 1998, **30**(1): 7 ~ 11.
- [4] Abelenda M, Ledesma A, Rial E, et al. Leptin administration to cold-acclimated rats reduces both food intake and brown adipose tissue thermogenesis. *J Therm Biol*, 2003, **28**: 525 ~ 530.
- [5] Praun C V, Burkert M, Gessner M, et al. Tissue-specific expression and cold-induced mRNA levels of uncoupling proteins in the Djungarian hamster. *Physiol Biochem Zool*, 2001, **74**(2): 203 ~ 211.
- [6] Klaus S, Heidmaier G, Ricquier D. Seasonal acclimation of bank voles and wood mice: nonshivering thermogenesis and thermogenic properties of brown adipose tissue mitochondria. *J Comp Physiol B*, 1988, **158**: 157 ~ 164.
- [7] Li X S, Wang D H. Regulation of body weight and thermogenesis in seasonally acclimatized Brandt's voles *Microtus brandti*. *Hum Behav*, 2005, **48**: 321 ~ 328.
- [8] Zhao Z J, Wang D H. Short photoperiod enhances thermogenic capacity in Brandt's voles. *Physiol Behav*, 2005, **85**(2): 143 ~ 149.
- [9] Zhao Z J, Wang D H. Effects of photoperiod on energy budgets and thermogenesis in Mongolian gerbils *Meriones unguiculatus*. *J Therm Biol*, 2006, **31**: 323 ~ 331.
- [10] Kronfeld-Schor N, Haim A, Dayan T, et al. Seasonal thermogenic acclimation of diurnally and nocturnally active desert spiny mice. *Physiol Biochem Zool*, 2000, **73**: 37 ~ 44.
- [11] 王应祥, 李崇云, 马世来. 树鼯的分类与生态. 见: 彭燕章编著. 树鼯生物学. 昆明: 云南科技出版社,
- [12] 王政昆, 李庆芬, 孙儒泳. 光周期和温度对中缅树鼯产热能力的影响. *动物学报*, 1999, **45**(3): 287 ~ 293.
- [13] 王政昆, 李庆芬, 孙儒泳. 外源性褪黑激素对中缅树鼯适应性产热特征的影响. *动物学报*, 2000, **46**(2): 154 ~ 159.
- [14] 张武先, 王政昆, 徐伟江等. 冷驯化对中缅树鼯能量代谢的影响. *兽类学报*, 2002, **22**(2): 123 ~ 129.
- [15] Cannon B, Lindberg O. Mitochondria from brown adipose tissue: isolation and properties. In: Fleischer S, Packer L eds. *Methods in Enzymology*. Vol. LV. New York: Academic Press, 1979, 65 ~ 78.
- [16] Lin C S, Klingenberg M. Isolation of the uncoupling protein from brown adipose tissue mitochondria. *FEBS Lett*, 1980, **611**: 103 ~ 110.
- [17] Refinetti R. Comparison of the body temperature rhythms of diurnal and nocturnal rodents. *The Journal of Experimental Zoology*, 1996, **275**: 67 ~ 70.
- [18] Prieto-Anderson M J, Rauch J C. Seasonal changes in white and brown adipose tissue in *Clethrionomys gapperi* (red backed vole) and in *Microtus pennsylvanicus* (meadow vole). *Comp Biochem Physiol A*, 1984, **79**: 305 ~ 310.
- [19] Lynch G R. Seasonal changes in thermogenesis, organ weights, and body composition in the white-footed mouse *Peromyscus leucopus*. *Oecologia*, 1973, **13**: 363 ~ 376.
- [20] 王德华, 王祖望. 小哺乳动物在高寒环境中的生存对策. 高原鼠兔和根田鼠褐色脂肪组织 (BAT) 重量和显微结构的季节性变化. *兽类学报*, 1989, **9**: 176 ~ 185.
- [21] Wang J M, Zhang Y M, Wang D H. Seasonal thermogenesis and body mass regulation in plateau pikas *Ochotona curzoniae*. *Oecologia*, 2006, **149**: 373 ~ 382.
- [22] Wang J M, Zhang Y M, Wang D H. Seasonal regulations of energetics, serum concentrations of leptin, and uncoupling protein 1 content of brown adipose tissue in root voles *Microtus oeconomicus* from the Qinghai-Tibetan plateau. *J Comp Physiol B*, 2006, **176**: 663 ~ 671.

- [23] 王德华,孙儒泳,王祖望等. 根田鼠冷驯化过程中的适应性产热特征. *动物学报*,1996, **42**:369~376.
- [24] 李庆芬,刘小团,黄晨西等. 长爪沙鼠冷驯化中褐色脂肪组织产热活性及解偶联蛋白基因表达. *动物学报*,2001, **47**:388~393.
- [25] 张志强,刘全生,李纪元等. 长爪沙鼠褐色脂肪组织和肝脏产热特征的季节性变化. *动物学报*,2006, **52**(6):1034~1041.
- [26] Li Q F, Sun R Y, Huang C X, *et al.* Cold adaptive thermogenesis in small mammals from different geographical zones of China. *Comp Biochem Physiol A*,2001, **129**:949~961.
- [27] Enrique J, Kotz C M, Levine A S, *et al.* Regulation of the uncoupling protein gene expression. *European Journal of Endocrinology*,1997, **136**:251~258.
- [28] Soppela P, Nieminen M, Saarela S, *et al.* Brown fat-specific mitochondrial uncoupling protein in adipose tissues of newborn reindeer. *American Journal of Physiology*,1991, **260**(6):1229~1234.
- [29] Cannon B, Hedin A, Nedergaard J. Exclusive occurrence of thermogenin antigen in brown adipose tissue. *FEBS Lett*,1982, **150**(1):129~132.
- [30] Florez-duquet M, McDonald R B. Cold-induced thermoregulation and biological aging. *Physiol Rev*,1998, **78**(2):339~358.