

外源褪黑激素通过调节摄食和产热降低大绒鼠的体重

陈辉宝^① 贾婷^② 张浩^① 王政昆^① 朱万龙^{①③④*}

① 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;

② 云南经济管理学院 昆明 650106; ③ 生物能源持续开发利用教育部工程研究中心 昆明 650500;

④ 云南省生物质能与环境生物技术重点实验室 昆明 650500

摘要: 褪黑激素 (MEL) 是一种向动物传递光周期信息的分子, 也参与能量稳态的调节。为探讨外源褪黑激素对大绒鼠 (*Eothenomys miletus*) 体重、能量代谢及体温调节的影响, 将大绒鼠置于 (25 ± 1) °C, 光周期 12 L : 12 D (白昼与黑夜各 12 h) 的环境中, 每日腹腔注射褪黑激素 (20 µg/kg), 共 28 d。结果发现, 注射外源性褪黑激素后, 大绒鼠的体重和摄食量显著降低, 摄水量增加; 核心体温和肩胛间皮肤温度显著升高; 静止代谢率 (RMR) 和非颤抖性产热 (NST) 显著升高; 肝和褐色脂肪组织 (BAT) 中的线粒体蛋白含量、细胞色素 c 氧化酶 (COX) 活性升高; 褐色脂肪组织中的总蛋白、解偶联蛋白 1 (UCP1)、 α -磷酸甘油氧化酶 (α -PGO)、T₄5'-脱碘酶 (T₄5'-DII) 活性显著升高, 但对肝总蛋白和 α -PGO 无显著影响; 血清中瘦素、三碘甲腺原氨酸 (T₃) 浓度显著上升, 甲状腺素 (T₄) 浓度显著降低。此外, 注射褪黑激素后大绒鼠睾丸重量显著降低, 表明其导致大绒鼠性腺退化。相关分析表明, 解偶联蛋白 1 含量和三碘甲腺原氨酸浓度呈正相关, T₄5'-脱碘酶活性和三碘甲腺原氨酸含量呈正相关, 暗示 T₄5'-脱碘酶可能在褪黑激素诱导褐色脂肪组织产热中起重要作用。总之, 外源褪黑激素可能通过抑制摄食和增加产热降低了大绒鼠的体重。

关键词: 大绒鼠; 褪黑激素; 瘦素; 褐色脂肪组织; 产热; 体重

中图分类号: Q954 文献标识码: A 文章编号: 0250-3263 (2022) 06-880-17

Exogenous Melatonin Can Reduce Body Mass in *Eothenomys miletus* by Regulating Food Intake and Thermogenesis

CHEN Hui-Bao^① JIA Ting^② ZHANG Hao^① WANG Zheng-Kun^① ZHU Wan-Long^{①③④*}

① Key Laboratory of Ecological Adaptive Evolution and Conservation on Animals-Plants in Southwest Mountain Ecosystem of Yunnan Province

Higher Institutes College, School of Life Sciences, Yunnan Normal University, Kunming 650500; ② Yunnan College of Business Management,

Kunming 650106; ③ Engineering Research Center of Sustainable Development and Utilization of Biomass Energy Ministry of Education,

Kunming 650500; ④ Key Laboratory of Yunnan Province for Biomass Energy and Environment Biotechnology, Kunming 650500, China

基金项目 国家自然科学基金项目 (No. 32160254), 云南省中青年学术和技术带头人后备人才项目 (No. 2019HB013), 云南省万人计划青年拔尖人才项目 (No. YNWR-QNRC-2019-047);

* 通讯作者, E-mail: zwl_8307@163.com;

第一作者介绍 陈辉宝, 男, 硕士研究生; 研究方向: 动物生理生态学; E-mail: chb_9511@163.com。

收稿日期: 2022-04-11, 修回日期: 2022-08-16 DOI: 10.13859/j.cjz.202206008

Abstract: [Objectives] Melatonin (MEL) is a molecule that conveys photoperiodic information in animals, which is also involved in the regulation of energy homeostasis. The present study aims to investigate the effects of exogenous melatonin on body mass, energy metabolism and thermoregulation in *Eothenomys miletus*. **[Methods]** *E. miletus* were placed at 25 ± 1 °C with a photoperiod of 12 L : 12 D (day and night 12 hours each) and received intraperitoneal injection of melatonin (20 $\mu\text{g}/\text{kg}$) daily for 28 days. Body mass, body temperature, food intake, water intake, thermogenic capacity and hormone concentrations were measured. Continuous changes in body temperature, food intake, water intake, resting metabolic rate (RMR) and nonshivering thermogenesis (NST) were measured by repeated measures covariance analysis (with body mass as a covariate). Body mass changes during acclimation were analyzed by repeated measurements, and body mass differences between groups were analyzed by independent sample *t* test. Differences of serum hormone contents, protein content in liver and brown adipose tissue (BAT), enzyme activity and other indicators between groups were analyzed by covariance analysis (with body mass as a covariate). The relationship between uncoupling protein 1 (UCP1) content, thyroxine 5'-deiodinase (T_4 5'-DII) activity and serum triiodothyronine (T_3) content was analyzed by Pearson correlation analysis. **[Results]** The results showed that exogenous melatonin injection significantly reduced body mass and food intake (Fig. 1a, Fig. 3a), while water intake increased (Fig. 3b). Core body temperature and interscapular skin temperature increased significantly (Fig. 1b, Fig. 2), resting metabolic rate and nonshivering thermogenesis also increased significantly (Fig. 4a, Fig. 4b). Mitochondrial protein content and cytochrome c oxidase (COX) activity in liver and brown adipose tissue increased, there were also significant increases in total protein in brown adipose tissue, uncoupling protein 1, α -glycerophosphate oxidase (α -PGO) and thyroxine 5'-deiodinase activities, but there were no significant effects on total liver protein or α -glycerophosphate oxidase in liver. Serum concentrations of leptin and triiodothyronine were significantly increased, while thyroxine (T_4) was significantly decreased. Moreover, testicular mass was significantly reduced after melatonin injection (Table 2), suggesting that melatonin caused gonadal degeneration in *E. miletus*. Correlation analysis showed a positive correlation between uncoupling protein 1 content and triiodothyronine concentration (Fig. 5a), and a positive correlation between thyroxine 5'-deiodinase activity and triiodothyronine content (Fig. 5b), suggesting that thyroxine 5'-deiodinase may play an important role in the melatonin-induced thermogenesis of brown adipose tissue. **[Conclusion]** In conclusion, exogenous melatonin may reduce body mass in *E. miletus* by inhibiting feeding and increasing thermogenesis.

Key words: *Eothenomys miletus*; Melatonin; Leptin; Brown adipose tissue; Thermogenesis; Body mass

对于许多动物来说, 其在季节性变化的环境中成功繁殖和生存取决于预测环境条件变化并对生理和行为因素进行预期调整的能力 (Barrett et al. 2012)。这些调整包括体重、能量代谢以及体温调节的季节变化, 并且这些变化很大程度上是由光周期的变化引起的, 并由褪黑激素(melatonin, MEL)介导 (Bartness et al. 1993, Fenn et al. 2011, Boratyński et al. 2017,

Shor et al. 2020)。褪黑激素又称为松果体素、褪黑素、美拉酮宁, 是一种在生物体中广泛存在的多功能分子, 在动物、植物和微生物中均具有功能活性 (Pandi-Perumal et al. 2006, Tan et al. 2016)。在哺乳动物中, 褪黑激素主要由松果体合成和分泌 (Amaral et al. 2018), 也可以在其他细胞中产生, 如淋巴细胞、睾丸、卵巢等 (Stefulj et al. 2001)。褪黑激素除调节生

物的昼夜节律外,在体重(Karamitri et al. 2019, Genario et al. 2021, Guan et al. 2021, Tamura et al. 2021, Pivonello et al. 2022)、生殖(Barrett et al. 2012, Lv et al. 2019)、能量代谢(Falcón et al. 2007, Cipolla-Neto et al. 2014, Owino et al. 2019)、产热(Heldmaier et al. 1981, Hall et al. 1985, Tan et al. 2011, Halpern et al. 2020, Agil et al. 2021)和体温调节(Binkley et al. 1971, Heldmaier et al. 1986, Saarela et al. 1994, Cipolla-Neto et al. 2018, Mendes et al. 2021)中也起着重要的作用。

研究表明,不同物种体重、能量代谢和产热的变化对褪黑激素的反应不同,如褪黑激素注射会减少黑线毛足鼠(*Phodopus sungorus*)的食物摄入量,同时降低其体重(Bartness et al. 2002, Ryu et al. 2018);叙利亚仓鼠(*Mesocricetus auratus*)在褪黑激素处理时食物摄入量和体重增加(Bartness et al. 1984);而中缅树鼩(*Tupaia belangeri*) (王政昆等 2000)和布氏田鼠(*Microtus brandti*) (侯建军等 1998)注射褪黑激素后体重未发生变化。此外,褪黑激素也可以通过影响动物的产热能力来影响体重调节,研究表明褪黑激素可以招募(recruitment)褐色脂肪组织(brown adipose tissue, BAT)并增强其产热能力(Tan et al. 2011, Fernández Vázquez et al. 2018, Halpern et al. 2020, Genario et al. 2021)。Heldmaier 和 Hoffman (1974)首先报道了褪黑激素刺激黑线毛足鼠体内褐色脂肪组织的重量增加,后续关于该物种(Heldmaier et al. 1981, Holtorf et al. 1985)和其他啮齿类动物的研究也证实了这一结果(Viswanathan et al. 1986, Fernández Vázquez et al. 2018, Xu et al. 2020)。外源注射褪黑激素不仅能诱导褐色脂肪组织增生,还影响其产热活性(Fernández Vázquez et al. 2018, de Souza et al. 2019)。如褪黑激素注射不会影响老龄小鼠(*Mus musculus*) (Tamura et al. 2021)、Sprague Dawley 大鼠(*Rattus norvegicus*) (Wolden-Hanson et al. 2000)、Zucker 大鼠

(Agil et al. 2011)的食物摄入,主要通过增加褐色脂肪组织能量消耗来降低动物的体重(Tan et al. 2011, Jiménez-Aranda et al. 2013, Cipolla-Neto et al. 2014)。越来越多的研究表明,褪黑激素可通过激活褐色脂肪组织内非颤抖性产热(nonshivering thermogenesis, NST)而增加能量消耗(Heldmaier et al. 1981, Hall et al. 1985, Puig-Domingo et al. 1988, 1989, Halpern et al. 2020, Mendes et al. 2021)。如长光照条件下给雌性白足鼠(*Peromyscus leucopus*)每天注射 10 μg 、50 μg 、100 μg 褪黑激素均能增强非颤抖性产热,并且与注射时间无关(Hall et al. 1985),黑线毛足鼠、Zucker 大鼠施加褪黑激素后褐色脂肪组织中线粒体蛋白含量、解偶联蛋白 1(uncoupling protein 1, UCP1)含量和细胞色素 c 氧化酶(cytochrome c oxidase, COX)活性升高(Heldmaier et al. 1981, Fernández Vázquez et al. 2018)。补充外源褪黑激素也能显著增强中缅树鼩和布氏田鼠褐色脂肪组织中 α -磷酸甘油氧化酶(α -glycerophosphate oxidase, α -PGO)和 T_4 5'-脱碘酶(thyroxin 5'-deiodinase, T_4 5'-DII)活性,并提高静止代谢率(rest metabolic rate, RMR)和非颤抖性产热,增加血清中三碘甲腺原氨酸(triiodothyronine, T_3)浓度(侯建军等 1998, 王政昆等 2000)。在人体研究中也发现,因松果体肿瘤切除松果体并接受褪黑激素治疗的患者显示出褐色脂肪组织体积和产热活性增加(Halpern et al. 2019)。但是,也有一些动物注射褪黑激素不影响其非颤抖性产热的变化,如阿拉斯加红背鼯(*Clethrionomys rutilus*) (Feist et al. 1986)。这些结果表明,褪黑激素对动物的体重、产热调控可能具有种属特异性。

瘦素(leptin)是由 *OB* 基因编码的由 167 个氨基酸组成的产物,主要由白色脂肪细胞分泌(Zhang et al. 1994),是一种重要的体重调节激素,在能量平衡中起着重要作用(Friedman et al. 1998)。研究发现褪黑激素和瘦素相互作用,以调节能量平衡(Szewczyk-Golec et al.

2015, Buonfiglio et al. 2018), 如褪黑激素缺乏会导致 Wistar 大鼠发生瘦素抵抗, 摄食量增加和超重 (Buonfiglio et al. 2018), 表明褪黑激素在瘦素信号中起着至关重要的作用 (Buonfiglio et al. 2019)。

横断山脉位于古北界与东洋界两大区系交汇处, 生态系统复杂多样, 具有地形多样性和气候多样性的特点, 是哺乳动物种类最为丰富的地区之一。大绒鼠 (*Eothenomys miletus*) 隶属于啮齿目 (Rodentia) 仓鼠科 (Cricetidae) 田鼠亚科 (Arvicolinae) 绒鼠属, 是中国特有种, 主要分布于横断山脉地区及其附近地区, 为横断山区固有种, 在我国云南、四川、贵州和湖北的一些地区都有分布, 在云南省主要分布于昆明、大理、丽江、香格里拉、哀牢山地区。大绒鼠主要栖息于高原山林区, 多在夜间活动, 营地表浅层洞道生活, 穴内至少有两种以上的草窝, 以鲜嫩的浆汁植物、草的根茎和种子为主要食物 (罗泽珣等 2000), 是滇西纵谷型鼠疫的主要野外宿主和传播媒介之一。迄今为止, 关于大绒鼠的生理生态学研究已有许多报道, 如大绒鼠的体温调节和产热特征 (王海等 2006, Zhu et al. 2014), 蒸发失水 (Zhu et al. 2008), 产热能力的季节性变化 (朱万龙等 2010), 冷驯化对体重、血清瘦素含量和能量代谢的影响 (Zhu et al. 2010)。此外, 短光照条件下大绒鼠体重和体脂降低, 产热能力增强 (Zhu et al. 2011), 说明光周期的变化对大绒鼠生理特征会产生影响, 也可能暗示褪黑激素可能在其体重调节中具有重要的作用。因此, 本文在上述研究的基础上, 以外源褪黑激素作为影响因子, 从机体不同水平上探讨褪黑激素对大绒鼠体重、能量代谢和体温调节的作用, 并以此探讨褪黑激素对大绒鼠生存适应的影响。

1 材料与方法

1.1 实验动物

实验用大绒鼠于 2021 年 7 月捕自云南省大

理下关青光山 (海拔 2 098 m, 东经 100°14', 北纬 25°35')。该地区位于横断山脉下段, 干湿季节分明, 常冬无夏, 表现出明显的温带季风气候特征。大绒鼠经消毒灭蚤后带回云南师范大学 (呈贡校区) 实验室, 单只饲养于动物饲养房内的透明塑料盒内 (长 260 mm、宽 160 mm、高 150 mm), 不铺设巢材, 饲养温度为 $(25 \pm 1) ^\circ\text{C}$, 自然光照, 每日喂以清水浸泡过的玉米和少量绿色新鲜蔬菜, 食物和饮水可自取。选择体重相近的健康成年个体 14 只, 单笼适应 1 周后用于实验。

实验分两组, 每组 7 只动物, 室温均为 $(25 \pm 1) ^\circ\text{C}$, 光周期设定为 12 L: 12 D (即白昼和夜晚各 12 h, 8:00 时开灯), 每日在光照 10 h 后, 于腹腔注射。褪黑激素组 (2♀、5♂), 注射含 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 褪黑激素 (M5250; Sigma Aldrich, St. Louis, mo, USA) 的 1% 酒精生理盐水 0.1 ml, 在昏暗的红光下进行, 对照组 (3♀、4♂), 注射 0.1 ml 1% 的酒精生理盐水。褪黑激素的注射时间 (熄灯前 2 h) 基于之前的研究发现, 即各种啮齿动物对此时给予的褪黑激素最敏感 (Margolis et al. 1981, Bartness et al. 1993), 褪黑激素的注射剂量参照王政昆等 (2000) 的研究。实验于 2021 年 8 月进行, 为期 28 d。实验期间每隔 2 d 测定一次动物体重、体温、摄水量和摄食量, 静止代谢率和非颤抖性产热在 1 d、7 d、14 d、21 d、28 d 测定。并在 1 d、14 d 和 28 d 采用的红外热成像仪 (Czech Republic, WIC-640-SUW 型) 对大绒鼠进行热成像。

1.2 体温、体重、摄食量、摄水量的测定

体温采用数字测温仪 (北京业之恒科技有限公司, XGN-1000T 型) 测定 (温度传感器直径 2 mm, 精度为 0.1 $^\circ\text{C}$)。将传感器探头涂少量凡士林润滑后插入动物直肠约 2 cm 处, 待温度计示数稳定后记录其体温。采用红外热成像仪测定大绒鼠肩胛间皮肤温度。采用小型哺乳动物代谢笼监测系统 (PRO-MRMR-8 Sable Systems, International Inc, USA) 记录体重、摄食量及摄水量。

1.3 代谢率测定

采用小型哺乳动物代谢笼监测系统测量动物的静止代谢率和非颤抖性产热。静止代谢率测定温度采用人工气候箱（上海博迅医疗设厂，SPX-300 型）控制（温度波动 ± 0.5 °C），实验温度控制在 25.0 ± 0.5 °C，使温度处于大绒鼠的热中性区内（Zhu et al. 2008）。测定前动物禁食 3~4 h，动物在代谢室适应 30 min，待动物稳定后，每隔 5 min 记录 1 次数据，连续测定 60 min。实验结束后，导出实验数据，选取 2 个最低耗氧量来计算静止代谢率，单位为 ml/(g·h)。

在静止代谢率测定结束后，迅速取出动物，肩胛皮下注射去甲肾上腺素（norepinephrine, NE），测量动物在 25 °C 下的最大非颤抖性产热。去甲肾上腺素注射剂量为体重的 0.8 mg/kg（Zhu et al. 2010），非颤抖性产热连续测定 60 min，每 5 min 记录 1 次数据，选取最大代谢反应作为非颤抖性产热（朱万龙等 2010）。

1.4 血清激素含量的测定

28 d 实验结束后，处死动物，取血，取出的血液在 4 °C 冰箱静置 1 h，4 °C 4 000 r/min 离心 30 min，吸取血清于 2 ml 离心管中，置于 -80 °C 冰箱中贮存，备用。待所有样品收集完毕，采用小鼠 ELISA 试剂盒测定血清中瘦素、三碘甲腺原氨酸、甲状腺素（thyroxine, T₄）的含量。瘦素检测试剂盒（产品编号：YX-E20015M）、三碘甲腺原氨酸检测试剂盒（产品编号：YX-E20366M）和甲状腺素检测试剂盒（产品编号：YX-E20363M）均购自上海优选生物科技有限公司。

1.5 肝和褐色脂肪组织中蛋白含量、酶活性的测定

快速解剖动物，仔细分离肝和肩胛间褐色脂肪组织，去除结缔组织和白色脂肪组织，用分析天平（Switzerland, AB204-S 型）称重（精确至 0.001 g）后分别放入 5 ml、2 ml 离心管，置于液氮中，后转移至 -80 °C 低温冰箱贮存，备用。全部样品收集完毕后，采用组织线粒体

分离试剂盒（上海碧云天生物技术有限公司，产品编号：C3606）提取肝和褐色脂肪组织中线粒体。采用 BCA 蛋白浓度测定试剂盒（上海优选生物科技有限公司，产品编号：YX-E20015M）测定肝和褐色脂肪组织中总蛋白、线粒体蛋白含量。解偶联蛋白 1 含量、细胞色素 c 氧化酶、 α -磷酸甘油氧化酶、T₄5'-脱碘酶的活性采用小鼠 ELISA 试剂盒测定。解偶联蛋白 1 检测试剂盒（产品编号：YX-E22121M）、细胞色素 c 氧化酶检测试剂盒（产品编号：YX-E22118M）、 α -磷酸甘油氧化酶检测试剂盒（产品编号：YX-E22123M）、T₄5'-脱碘酶检测试剂盒（产品编号：YX-E22129M），均购自上海优选生物科技有限公司，实验操作按照说明书进行。

1.6 身体成分和消化器官的测定

仔细分离心、肺、脾、肾和性腺，剔除部分器官附着的结缔组织和脂肪，用滤纸吸干器官表面上的血液，用分析天平称量各器官的鲜重（精确至 1 mg）后包于锡箔纸内，置于烘箱中，60 °C 烘至恒重，称重（精确至 1 mg），作为器官干重。取出动物的消化道，分离出胃、小肠、结肠和盲肠，小心剔除各器官肠系膜及结缔组织和脂肪后称量含内容物重，滴上生理盐水，使其保持自然状态，伸直但不要拉伸，用直尺测定其长度（精确至 0.1 cm）。然后将其纵向剖开，用生理盐水洗去内容物，置滤纸上吸干表面水分后称重，作为器官鲜重。将称重后各器官分别用锡箔纸包上，置入烘箱中，在 60 °C 烘干至恒重，称重即为器官干重。去除内脏各器官和消化道后称量记录动物胴体鲜重。

1.7 统计分析

数据统计采用 SPSS22.0 软件包进行统计分析。数据经正态分布和方差齐性检验，符合参数检验条件。不同性别大绒鼠的生理指标差异均不显著，故合并统计所有数据。体温、摄食、摄水、静止代谢率和非颤抖性产热的连续变化采用重复测量协方差分析检测（以体重为协变量）。采用重复测量法分析实验过程中的体

重变化, 组间体重差异采用独立样本 t 检验分析。血清激素含量、肝和褐色脂肪组织中蛋白含量、酶活性、身体组成和消化道形态等指标的组间差异采用以体重为协变量的协方差分析。解偶联蛋白 1 含量、 T_4 5'-脱碘酶活性与血清三碘甲腺原氨酸含量的关系采用 Pearson 相关分析。数据均以平均值 \pm 标准误 (Mean \pm SE) 表示, $P < 0.05$ 表示差异显著, $P < 0.01$ 表示差异极显著。

2 结果

2.1 体重、体温、摄食和饮水

2.1.1 体重和体温 实验前对照组和褪黑激素组大绒鼠体重差异不显著 ($t = 0.642$, $P = 0.533$)。随着实验时间的延长, 对照组大绒鼠体重没有明显变化 ($F_{9,54} = 0.519$, $P = 0.854$), 褪黑激素组体重表现出显著变化 ($F_{9,54} = 3.194$, $P = 0.004$)。从 16 d 开始时两组动物的体重差异显著 (16 d, $t = 2.339$, $P = 0.037$; 25 d, $t = 2.780$, $P = 0.017$, 图 1 a), 第 28 天时对照组和褪黑激素组体重分别为 (42.16 ± 0.33) g 和 (39.94 ± 0.55) g, 褪黑激素组较对照组降低了 5.558% ($t = 3.432$, $P = 0.003$)。实验前对照组和褪黑激素组的体温分别为 (36.27 ± 0.18) $^{\circ}\text{C}$ 和 (36.50 ± 0.13) $^{\circ}\text{C}$, 两者无显著差

异 ($F_{1,12} = 0.982$, $P = 0.341$)。从实验第 16 ~ 28 天里, 褪黑激素组的体温分别极显著高于对照组 0.80 $^{\circ}\text{C}$ 、0.57 $^{\circ}\text{C}$ 、0.70 $^{\circ}\text{C}$ 、0.62 $^{\circ}\text{C}$ 和 0.80 $^{\circ}\text{C}$ (16 d, $F_{1,12} = 13.938$, $P = 0.003$; 19 d, $F_{1,12} = 11.321$, $P = 0.006$; 22 d, $F_{1,12} = 19.843$, $P = 0.001$; 25 d, $F_{1,12} = 10.234$, $P = 0.008$; 28 d, $F_{1,12} = 19.083$, $P = 0.001$), 且组内差异显著, 呈显著增加 (体温, $F_{9,54} = 3.865$, $P = 0.001$), 其中 28 d 时较第 1 d 高 0.77 $^{\circ}\text{C}$; 而对照组体温组内差异不显著 ($F_{9,54} = 0.409$, $P = 0.925$) (图 1 b)。采用热成像仪分析表明, 实验前两组间肩胛间皮肤温度没有差异 ($F_{1,12} = 2.842$, $P = 0.118$), 在 14 d 和 28 d 时两组间肩胛间皮肤温度差异显著 (14 d, $F_{1,12} = 9.566$, $P = 0.009$; 28 d, $F_{1,12} = 413.444$, $P < 0.001$), 在 28 d 时褪黑激素组较对照组高 0.87 $^{\circ}\text{C}$, 且褪黑激素组内肩胛间皮肤温度差异显著 ($F_{2,12} = 193.765$, $P < 0.001$), 对照组大绒鼠肩胛间皮肤温度实验期间无显著差异 ($F_{2,12} = 0.500$, $P = 0.619$) (图 2)。

2.1.2 摄食量、摄水量 实验前, 对照组和褪黑激素组大绒鼠摄食量和摄水量无显著差异 (摄食量, $F_{1,12} = 0.180$, $P = 0.679$; 摄水量, $F_{1,12} = 0.130$, $P = 0.724$)。从第 19 天开始, 褪黑素组摄食量开始显著低于对照组 (19 d,

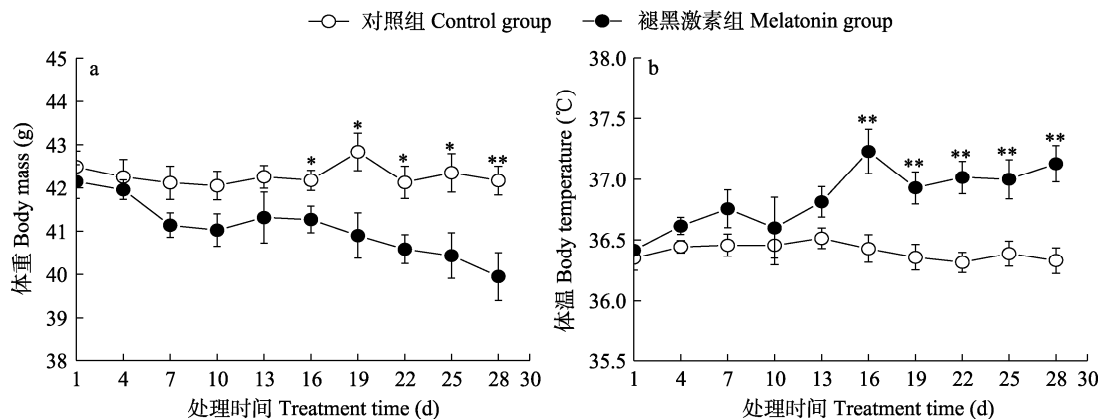


图 1 褪黑激素对大绒鼠体重 (a) 和体温 (b) 的影响

Fig. 1 Effects of melatonin on body mass (a) and body temperature (b) in *Eothenomys miletus*

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

$F_{1,12} = 8.328, P = 0.014$; 22 d, $F_{1,12} = 5.978, P = 0.031$; 25 d, $F_{1,12} = 9.067, P = 0.011$; 28 d, $F_{1,12} = 7.180, P = 0.020$, 图 3 a); 两组间摄水量在 13 d 时具有显著差异 (13 d, $F_{1,12} = 5.886, P = 0.032$), 到 28 d 时褪黑激素组较对照组升

高 19.571% ($F_{1,12} = 13.036, P = 0.004$) (图 3 b)。褪黑激素组内摄食量随着时间的延长而减少, 但组内差异不显著 ($F_{9,54} = 1.259, P = 0.280$); 褪黑激素组内摄水量随着时间的延长而增加 ($F_{9,54} = 3.436, P = 0.002$)。对照组在整个实

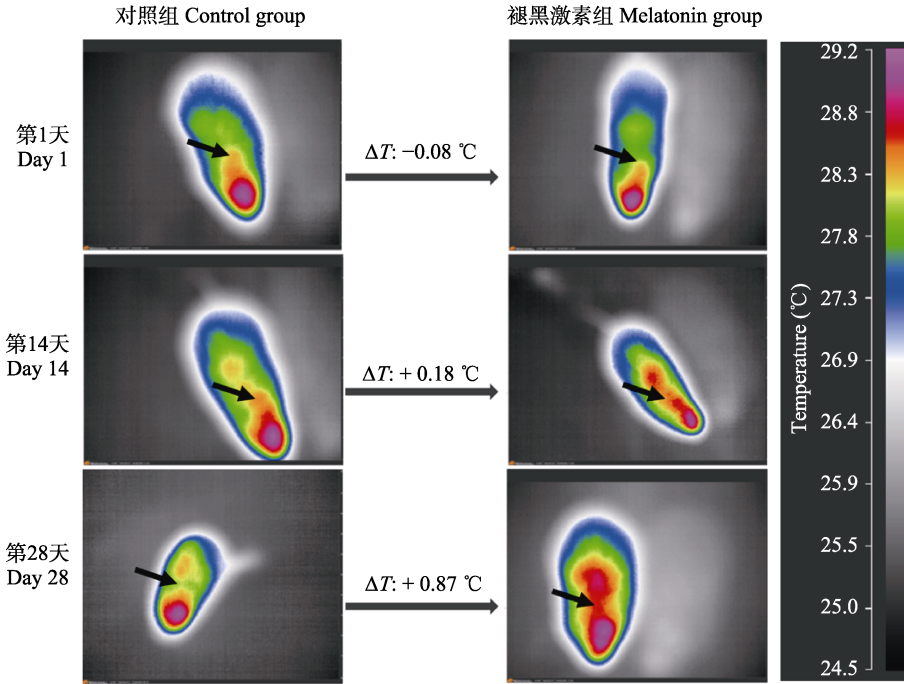


图 2 褪黑激素对大绒鼠肩胛间皮肤温度的影响

Fig. 2 Effect of melatonin on interscapular skin temperature in *Eothenomys miletus*

图中箭头指示的是动物的肩胛位置。The arrows indicate the position of the animal's shoulder blades.

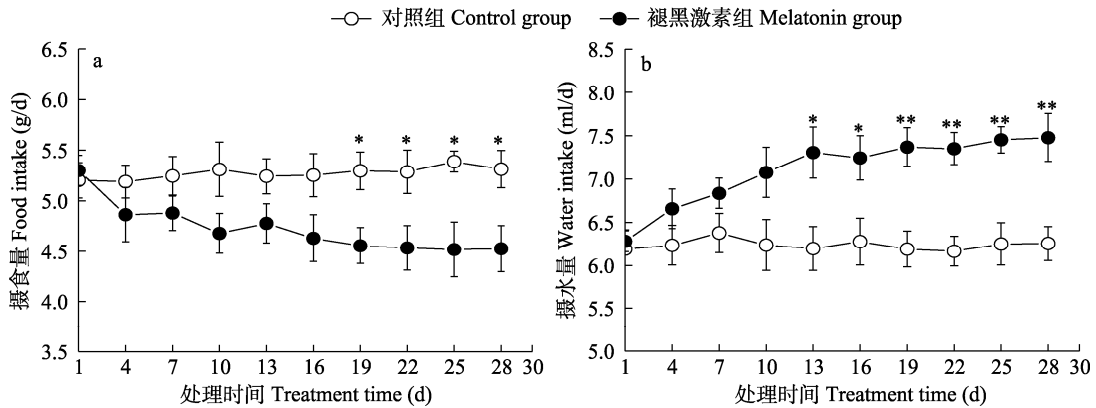


图 3 褪黑激素对大绒鼠摄食量 (a) 和摄水量 (b) 的影响

Fig. 3 Effects of melatonin on food intake (a) and water intake (b) in *Eothenomys miletus*

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

验期间摄食量、摄水量均无显著性差异 (摄食量, $F_{9,54} = 0.097$, $P = 0.979$; 摄水量, $F_{9,54} = 0.088$, $P = 0.974$)。

2.2 代谢率

实验前, 对照组和褪黑激素组大绒鼠静止代谢率和非颤抖性产热无差异 (静止代谢率, $F_{1,12} = 0.015$, $P = 0.905$; 非颤抖性产热, $F_{1,12} = 0.013$, $P = 0.910$)。在 21 d 时两组动物的静止代谢率和非颤抖性产热均差异显著 (静止代谢率, $F_{1,12} = 6.488$, $P = 0.026$; 非颤抖性产热, $F_{1,12} = 7.333$, $P = 0.019$)。褪黑激素组静止代谢率和非颤抖性产热比对照组分别升高了 15.610% 和 16.415%; 在 28 d 时两组动物的静止代谢率差异极显著 ($F_{1,12} = 10.517$, $P = 0.007$), 非颤抖性产热差异显著 ($F_{1,12} = 9.278$, $P = 0.010$), 褪黑激素组静止代谢率和非颤抖性产热比对照组分别升高了 18.610% 和 17.652%。随实验时间的延长, 对照组动物的静止代谢率和非颤抖性产热无显著变化 (静止代谢率, $F_{4,24} = 0.430$, $P = 0.780$; 非颤抖性产热, $F_{4,24} = 0.188$, $P = 0.942$); 褪黑激素组动物的静止代谢率和非颤抖性产热随实验时间的延长均显著增加 (静止代谢率, $F_{4,24} = 4.017$, $P = 0.012$; 非颤抖性产热, $F_{4,24} = 2.900$, $P = 0.043$), 在

21 d 时静止代谢率和非颤抖性产热分别比 1 d 时增加了 19.468% 和 15.330%, 在 28 d 时静止代谢率和非颤抖性产热分别比 1 d 增加了 21.323% 和 16.855% (图 4 a, b)。

2.3 肝和褐色脂肪组织中蛋白含量、酶活性的变化

注射褪黑激素 28 d 后, 对照组和褪黑激素组大绒鼠肝重量、总蛋白及 α -磷酸甘油氧化酶活性差异不显著。但肝线粒体蛋白含量和细胞色素 c 氧化酶活性显著高于对照组 (表 1)。注射褪黑激素组的大绒鼠与对照组动物比较, 褐色脂肪组织重量的变化不显著, 但褐色脂肪组织中总蛋白、线粒体蛋白和解偶联蛋白 1 含量显著增加, 细胞色素 c 氧化酶、 α -磷酸甘油氧化酶和 T_45' -脱碘酶活性显著升高 (表 1)。

2.4 血清激素含量

注射褪黑激素后, 大绒鼠血清瘦素和血清三碘甲腺原氨酸含量显著高于对照组。血清甲状腺素含量显著低于对照组, 而两组间三碘甲腺原氨酸与甲状腺素的比值差异不显著 (表 1)。相关分析表明: 血清三碘甲腺原氨酸浓度与解偶联蛋白 1 含量呈显著正相关 ($R^2 = 0.357$, $P = 0.024$; 图 5a), T_45' -脱碘酶的活性与三碘甲腺原氨酸含量呈正相关 ($R^2 =$

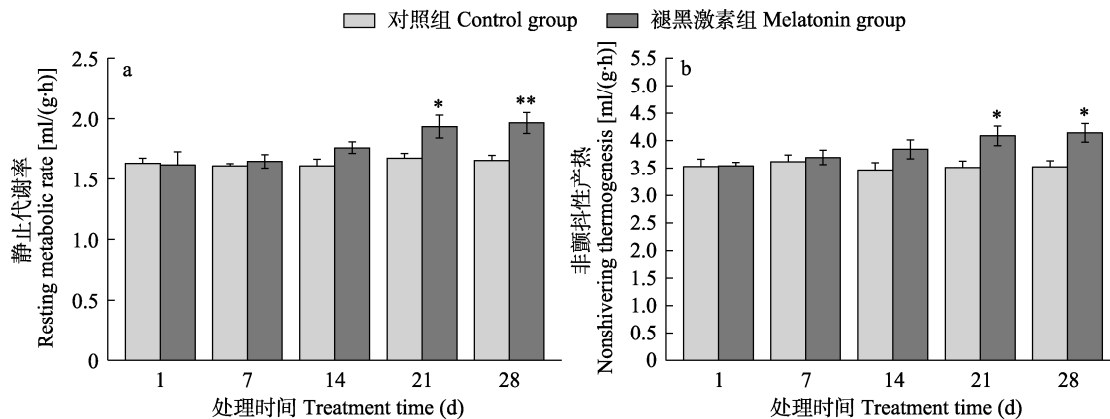


图 4 褪黑激素对大绒鼠静止代谢率 (a) 和非颤抖性产热 (b) 的影响

Fig. 4 Effects of melatonin on resting metabolic rate (a) and nonshivering thermogenesis (b) in *Eothenomys miletus*

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

表 1 褪黑激素对大绒鼠肝和褐色脂肪组织中蛋白含量、酶活性及血清激素含量的影响
 Table 1 Effects of melatonin on protein content, enzyme activity and serum hormone content in liver and brown adipose tissue in *Eothenomys miletus*

参数 Parameters	对照组 Control group	褪黑激素组 Melatonin group	F	P
肝 Liver				
肝重量 Liver mass (g)	2.042 ± 0.114	1.909 ± 0.081	0.901	0.361
总蛋白 Total protein (mg/g)	45.728 ± 4.386	49.856 ± 2.581	0.657	0.433
线粒体蛋白 Mitochondrial protein (mg/g)	15.570 ± 0.858	19.275 ± 0.714	11.028	0.006
细胞色素 c 氧化酶 Cytochrome c oxidase [nmol/(min·g)]	34.663 ± 0.875	51.902 ± 1.526	96.065	< 0.001
α-磷酸甘油氧化酶 α-glycerophosphate oxidase [(μmol/(min·g))]	38.750 ± 1.741	42.693 ± 1.735	2.574	0.135
褐色脂肪组织 Brown adipose tissue				
褐色脂肪组织重量 Brown adipose tissue mass (g)	0.202 ± 0.013	0.229 ± 0.012	1.635	0.225
总蛋白 Total protein (mg/g)	4.757 ± 0.351	5.828 ± 0.269	5.852	0.032
线粒体蛋白 Mitochondrial protein (mg/g)	11.511 ± 0.305	13.889 ± 0.577	13.260	0.003
解偶联蛋白 1 Uncoupling protein 1 (nmol/g)	453.095 ± 10.870	520.619 ± 18.534	9.876	0.008
细胞色素 c 氧化酶 Cytochrome c oxidase [nmol/(min·g)]	432.937 ± 26.559	533.560 ± 12.231	11.842	0.005
α-磷酸甘油氧化酶 α-glycerophosphate oxidase [(μmol/(min·g))]	124.166 ± 3.201	139.823 ± 4.427	8.214	0.014
T ₄ 5'-脱碘酶 T ₄ 5'-DII (nmol/min·g)	13.377 ± 0.526	18.497 ± 0.474	52.294	< 0.001
血清激素含量 Serum hormone content				
三碘甲腺原氨酸 Triiodothyronine (μg/L)	1.156 ± 0.055	1.472 ± 0.078	10.839	0.006
甲状腺素 Thyroxine (μg/L)	42.508 ± 0.962	37.657 ± 0.724	16.237	0.002
三碘甲腺原氨酸 Triiodothyronine/甲状腺素 Thyroxine	0.033 ± 0.002	0.036 ± 0.001	1.316	0.274
瘦素 Leptin (μg/L)	1.395 ± 0.052	1.591 ± 0.050	7.265	0.019

数据为平均值 ± 标准误，用单因素协方差进行分析（以体重为协变量），P < 0.05 表示差异显著。

Data are mean ± SE. Values are significantly different at P < 0.05, determined by One-Way ANOVA, with body mass as a covariate.

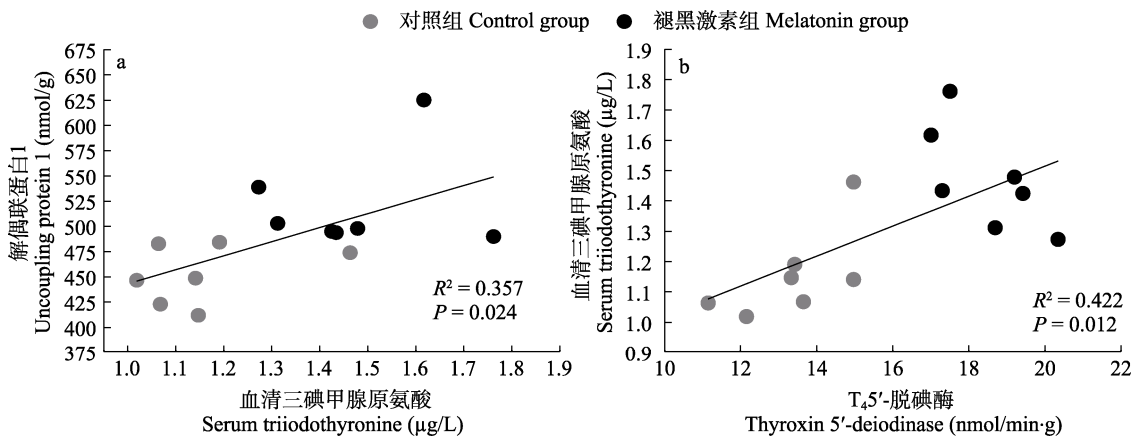


图 5 大绒鼠血清三碘甲腺原氨酸与解偶联蛋白 1 (a) 及 T₄5'-脱碘酶活性 (b) 的相关性

Fig. 5 Correlations between serum triiodothyronine and uncoupling protein 1 (a), and thyroxine 5'-deiodinase (b) in *Eothenomys miletus*

0.422, $P = 0.012$; 图 5b)。

2.5 身体组成和消化道形态

褪黑激素注射使大绒鼠的胴体湿重、睾丸湿重和睾丸干重显著低于对照组, 其余身体组成受褪黑激素影响不明显(表 2)。注射褪黑激素后, 大绒鼠的胃含内容物重、小肠含内容物重、盲肠长度、盲肠含内容物重和大肠含内容物重显著低于对照组, 其余消化道形态受褪黑激素影响不显著(表 3)。

3 讨论

3.1 体重、摄食量、体温和摄水量

褪黑激素是脊椎动物中枢神经系统光周期信息的激素介质, 通过在能量摄入和能量消耗之间建立适当的平衡来调节能量稳态(Falcón et al. 2007, Cipolla-Neto et al. 2014, Buonfiglio et al. 2018)。褪黑激素通过降低能量摄入(Buonfiglio et al. 2018)和增加热量消耗(de Souza et al. 2019, Farias et al. 2019)来降低动物的体重。外源性褪黑激素还可以显著降低动

物的食物摄入量 and 腹内脂肪(Bartness et al. 2002, Ryu et al. 2018)。相反, 褪黑激素缺乏会导致动物能量储存增加, 从而增加体重(Cipolla-Neto et al. 2014, 2018, Buonfiglio et al. 2018)。但外源褪黑激素对动物的摄食量和体重调节具有物种特异性, 这与短光照的效应一致。褪黑激素处理能够降低黑线毛足鼠(Bartness et al. 2002, Ryu et al. 2018)和肥胖 Boscawen 白兔(Hussein et al. 2007)的体重和食物摄入量, 叙利亚仓鼠则在注射褪黑激素后体重和摄食量升高(Bartness et al. 1984), 肥胖大鼠(Fernández Vázquez et al. 2018)、中年雄性大鼠(Wolden-Hanson et al. 2000)和老龄小鼠(Tamura et al. 2021)在褪黑激素给药后体重减轻与食物摄入无关, 褪黑激素对中缅树鼩(王政昆等 2000)、布氏田鼠(侯建军等 1998)、小鼠(Song et al. 2009)的体重也没有影响。在本研究中, 褪黑激素显著降低了大绒鼠的体重、消化道内容物重和摄食量, 说明褪黑激素抑制摄食可能是减低大绒鼠体重的因素之一。此外,

表 2 褪黑激素对大绒鼠身体组成的影响

Table 2 Effects of melatonin on body composition in *Eothenomys miletus*

身体组成 Body compositions	对照组 Control group	褪黑激素组 Melatonin group	<i>F</i>	<i>P</i>
样本量 Sample size (ind)	7 (3♀, 4♂)	7 (2♀, 5♂)		
体长 Body length (cm)	12.071 ± 0.1643	11.900 ± 0.160	0.557	0.470
尾长 Tail length (cm)	4.300 ± 0.141	4.486 ± 0.059	1.465	0.249
胴体湿重 Carcass wet mass (g)	30.057 ± 0.431	27.689 ± 0.678	8.689	0.012
心湿重 Heart wet mass (g)	0.299 8 ± 0.025	0.239 ± 0.026	2.779	0.121
心干重 Heart dry mass (g)	0.072 ± 0.007	0.055 ± 0.005	3.760	0.076
脾湿重 Spleen wet mass (g)	0.092 ± 0.013	0.094 ± 0.009	0.026	0.874
脾干重 Spleen dry mass (g)	0.021 ± 0.003	0.022 ± 0.002	0.068	0.799
肺湿重 Lung wet mass (g)	0.248 ± 0.012	0.276 ± 0.025	1.070	0.321
肺干重 Lung dry mass (g)	0.060 ± 0.002	0.067 ± 0.007	0.782	0.394
肾湿重 Kidneys wet mass (g)	0.398 ± 0.018	0.364 ± 0.007	3.092	0.104
肾干重 Kidneys dry mass (g)	0.123 ± 0.007	0.111 ± 0.004	2.201	0.164
睾丸湿重 Testis wet mass (g)	0.511 ± 0.061	0.348 ± 0.009	8.807	0.021
睾丸干重 Testis dry mass (g)	0.088 ± 0.010	0.058 ± 0.003	11.704	0.011

数据为平均值 ± 标准误, 用单因素协方差进行分析(以体重为协变量), $P < 0.05$ 表示差异显著。

Data are mean ± SE. Values are significantly different at $P < 0.05$, determined by One-Way ANOVA, with body mass as a covariate.

表 3 褪黑激素对大绒鼠消化道形态的影响

Table 3 Effects of melatonin on the morphology of digestive tract in *Eothenomys miletus*

消化道形态 Digestive tract morphology	对照组 Control group	褪黑激素组 Melatonin group	<i>F</i>	<i>P</i>
胃 Stomach				
长度 Length (cm)	2.229 ± 0.097	2.243 ± 0.191	0.004	0.948
含内容物重 Mass with content (g)	1.593 ± 0.023	1.008 ± 0.100	32.290	< 0.001
鲜重 Wet mass (g)	0.358 ± 0.033	0.410 ± 0.036	1.111	0.313
干重 Dry mass (g)	0.088 ± 0.009	0.094 ± 0.009	0.211	0.654
小肠 Small intestine				
长度 Length (cm)	31.357 ± 1.491	27.914 ± 1.032	3.605	0.082
含内容物重 Mass with content (g)	2.057 ± 0.657	1.791 ± 0.937	5.458	0.038
鲜重 Wet mass (g)	0.821 ± 0.047	1.110 ± 0.136	4.023	0.068
干重 Dry mass (g)	0.168 ± 0.011	0.195 ± 0.031	0.690	0.422
盲肠 Caecum				
长度 Length (cm)	9.786 ± 1.112	7.186 ± 0.213	5.274	0.040
含内容物重 Mass with content (g)	3.170 ± 0.208	2.295 ± 0.341	4.809	0.049
鲜重 Wet mass (g)	0.577 ± 0.056	0.840 ± 0.144	2.907	0.114
干重 Dry mass (g)	0.115 ± 0.008	0.126 ± 0.015	0.460	0.511
大肠 Large intestine				
长度 Length (cm)	19.957 ± 0.554	19.614 ± 0.774	0.130	0.725
含内容物重 Mass with content (g)	1.178 ± 0.154	0.736 ± 0.056	7.224	0.020
鲜重 Wet mass (g)	0.496 ± 0.063	0.402 ± 0.034	1.720	0.214
干重 Dry mass (g)	0.110 ± 0.015	0.074 ± 0.006	4.610	0.053

数据为平均值 ± 标准误, 用单因素协方差进行分析 (以体重为协变量), $P < 0.05$ 表示差异显著。

Data are mean ± SE. Values are significantly different at $P < 0.05$, determined by One-Way ANOVA, with body mass as a covariate.

褪黑激素会导致小型啮齿类如白足鼠 (Hall et al. 1985)、黑线毛足鼠 (Bilbo et al. 2002, Ryu et al. 2018)、红背鼯 (Feist et al. 1986) 等性腺的退化。本研究中, 褪黑激素显著降低大绒鼠的睾丸重量, 这表明注射褪黑激素对雄性大绒鼠的生殖具有抑制作用, 暗示抑制繁殖可能是大绒鼠在严冬中节约能量的重要适应策略之一。

褪黑激素可以影响动物的体温调节 (Binkley et al. 1971, Heldmaier et al. 1986, Saarela et al. 1994, Cipolla-Neto et al. 2018, Mendes et al. 2021)。研究表明, 在啮齿动物中褪黑激素可以使动物的体温升高, 主要是因为褪黑激素可以增强非颤抖性产热 (Haim et al. 1982) 或甲状腺的功能 (Padmavathamma et al.

1994)。本研究结果表明, 大绒鼠在连续注射 28 d 褪黑激素后, 核心体温平均升高了 0.8 °C。这一结果与黑线毛足鼠 (Heldmaier et al. 1986)、中年雄性大鼠 (Wolden-Hansonet et al. 2000)、肥胖大鼠 (Fernández Vázquez et al. 2018) 在褪黑激素处理后的结果类似。其他啮齿动物如纹鼠 (*Rhabdomys pumilio*) 和多乳鼠 (*Praomys natalensis*) 中也观察到褪黑激素作用后体温升高 (Haim et al. 1982)。但与草原鹿鼠 (*Peromyscus maniculatus*) (Andrews et al. 1993)、中缅树鼩 (王政昆等 2000)、智利八齿鼠 (*Octodon degus*) (Vivanco et al. 2007) 以及鸟类 (Binkley et al. 1971) 的结果相反, 这些物种在褪黑激素处理后体温降低, 人类摄入褪黑激素后体温也降低 (Dawson et al. 1996,

Harris et al. 2001)。这些不一致的结果可能是由于动物的年龄、性别、物种以及褪黑激素处理的剂量、给药方式或时间的差异造成的 (Cipolla-Neto et al. 2014)。

研究已表明，褪黑激素在小型哺乳动物水代谢和肾功能中起着重要作用，褪黑激素可以显著改变叙利亚仓鼠的水分代谢，其在褪黑激素处理的第 8 天，水消耗和尿液产生表现出褪黑激素诱导的显著变化，并且显著降低血浆抗利尿激素 (Richardson et al. 1992)。给小鼠添加褪黑激素也增加了摄水量 (Song et al. 2009)。本研究结果也表明，褪黑激素显著增加大绒鼠的摄水量，但作用机制还有待进一步研究。

3.2 产热活性

褪黑激素可以通过增加能量消耗来调节动物的体重 (Fernández Vázquez et al. 2018)。肝和褐色脂肪组织是动物体内产热的重要组织 (侯建军等 1998, Tan et al. 2011)。肝产热特性可以用来阐明静止代谢率的变化规律，在静止状态下，肝代谢产热可达产热总量的 25% 左右 (侯建军等 1998)。研究表明，中缅树鼩和布氏田鼠在褪黑激素处理后肝总蛋白和线粒体蛋白含量显著升高，细胞色素 c 氧化酶活力增强 (侯建军等 1998, 王政昆等 2000)。而在本研究中，褪黑激素未能显著增加大绒鼠肝总蛋白含量和 α -磷酸甘油氧化酶活性，但肝线粒体蛋白含量、细胞色素 c 氧化酶活性显著升高，导致肝产热能力显著增加，静止代谢率增强。

褐色脂肪组织是哺乳动物特有的器官，其产热能力能确保哺乳动物适应显著的环境温度变化，尤其是寒冷天气。在冬季，褐色脂肪组织激活可以提高动物的生存能力 (Tan et al. 2011)。注射褪黑激素能显著增强白足鼠的非颤抖性产热 (Hall et al. 1985)。褪黑激素处理能促进黑线毛足鼠非颤抖性产热能力，增加褐色脂肪组织中线粒体蛋白含量、细胞色素 c 氧化酶活性，提高动物耐寒能力 (Heldmaier et al. 1981)。解偶联蛋白 1 含量被认为是褐色脂肪组织产热能力的一个指标 (Cannon et al. 2004)。

研究表明，松果体切除 (pinealectomized, PINX) 会导致 Wistar 大鼠解偶联蛋白 1 含量或解偶联蛋白 1 mRNA 表达降低，降低其褐色脂肪组织产热能力 (Buonfiglio et al. 2018, Halpern et al. 2020)。在本研究中大绒鼠注射褪黑激素后褐色脂肪组织产热活性增加，褪黑激素组的解偶联蛋白 1 含量显著增加，有利于增强非颤抖性产热。大绒鼠褐色脂肪组织中细胞色素 c 氧化酶、 α -磷酸甘油氧化酶活性在注射褪黑激素后显著升高，这表明褪黑激素激活了呼吸酶活性并提高了褐色脂肪组织脂肪代谢水平。因此，褪黑激素通过提高褐色脂肪组织氧化能力可能是褪黑激素增强大绒鼠非颤抖性产热能力的原因之一。

3.3 激素浓度

褪黑激素也在激素调节中起着重要作用，包括甲状腺激素、瘦素分泌以及瘦素信号调节 (Vaughan et al. 1983, Szewczyk-Golec et al. 2015, Buonfiglio et al. 2018, Suriagandhi et al. 2022)。甲状腺激素、瘦素等其他激素参与动物的能量代谢 (Rios-Lugo et al. 2010, Yau et al. 2019)。甲状腺激素可以促进褐色脂肪组织的产热 (Yau et al. 2019)。褪黑激素、甲状腺激素和褐色脂肪组织的关系已经被研究，夜晚给叙利亚仓鼠注射褪黑激素显著降低其甲状腺素水平，而褐色脂肪组织重量增加 (Vaughan et al. 1983)。褪黑激素也可以通过调节机体褐色脂肪组织细胞内 T_4 5'-脱碘酶的活性来增加三碘甲状腺原氨酸水平，从而促进褐色脂肪组织产热 (Puig-Domingo et al. 1988)，如褪黑激素注射使地松鼠 (*Spermophilus tridecemlineatus*) 褐色脂肪组织中 T_4 5'-脱碘酶的活性提高了 7 倍，从而使褐色脂肪组织中的甲状腺素脱碘转化为产热活性更高的三碘甲状腺原氨酸 (Puig-Domingo et al. 1988)；褪黑激素也激活叙利亚仓鼠褐色脂肪组织中的 T_4 5'-脱碘酶的活性，且具有组织特异性，即褪黑激素仅在褐色脂肪组织中特异性地增强 T_4 5'-脱碘酶活性，而在其他器官和组织中则没有影响 (Puig-Domingo et al. 1989)；

Wistar 大鼠在松果体切除后, T₄5'-脱碘酶的表达量低于对照组和松果体切除加褪黑激素组动物 (de Souza et al. 2019)。本研究结果显示, 褪黑激素组褐色脂肪组织中 T₄5'-脱碘酶被褪黑激素显著激活, 与对照组相比活性增强 38.275%。且在本研究中, 褪黑激素注射增加了大绒鼠血清中三碘甲腺原氨酸的含量, 但使甲状腺素含量降低, 这可能是在褪黑激素的作用下, 通过刺激褐色脂肪组织细胞中 T₄5'-脱碘酶活性增强, 导致细胞内甲状腺素的利用率升高, 进一步增加三碘甲腺原氨酸生成, 从而提高血清中三碘甲腺原氨酸浓度。褐色脂肪组织中解偶联蛋白 1 的表达和脂肪生成需要三碘甲腺原氨酸的参与 (Bianco et al. 1987)。本研究表明, 血清三碘甲腺原氨酸浓度与解偶联蛋白 1 含量呈正相关, T₄5'-脱碘酶的活性与三碘甲腺原氨酸含量也呈正相关, 表明在褪黑激素刺激大绒鼠产热增加过程中, 甲状腺激素起着十分重要的作用。

褪黑激素与瘦素相互作用调节能量平衡 (Buonfiglio et al. 2018)。研究发现, 口服褪黑激素可增加瘦素水平 (Song et al. 2009, Lv et al. 2019, Suriagandhi et al. 2022), 如在雄性 C57BL/6 成年小鼠中补充褪黑激素会导致血浆瘦素浓度显著升高 (Song et al. 2009)。其他研究也发现, 褪黑激素可增强胰岛素诱导的瘦素合成和分泌 (Alonso-Vale et al. 2006), 如大鼠松果体切除后因为缺乏褪黑激素导致瘦素抵抗和能量摄入增加, 褐色脂肪组织产热活性降低, 最终体重增加, 而在给松果体切除大鼠施加褪黑激素后, 瘦素敏感性恢复 (Buonfiglio et al. 2018)。研究证明褪黑激素及其受体在瘦素信号传导中的作用, 发现下丘脑弓状核区域缺乏褪黑激素受体 1 (lacking melatonin receptor 1, MT1KO) 降低了瘦素受体的表达, 并导致瘦素信号缺陷, 导致瘦素抵抗, 最终导致缺乏褪黑激素受体 1 的小鼠体重增加, 累积食物摄入量增加, 禁食后更贪食 (Buonfiglio et al. 2019)。此外, Ríos-Lugo 等 (2015) 发现, 每日褪黑

激素治疗 10 周后, 促食类神经肽 Y 的 mRNA 表达降低, 而抑食类神经肽阿片促黑色素原增加。在本研究中, 大绒鼠在注射褪黑激素 28 d 后, 血清中瘦素含量显著高于对照组, 说明褪黑激素注射可以增加大绒鼠的瘦素含量, 提示褪黑激素可能与瘦素相互作用调节大绒鼠的摄食、产热和体重。

综上所述, 注射褪黑激素后大绒鼠的摄食量和体重显著降低, 但摄水量、体温、静止代谢率和非颤抖性产热升高。并且褪黑激素导致了大绒鼠性腺退化。褪黑激素增强了肝和褐色脂肪组织的产热活性。甲状腺激素和瘦素在大绒鼠的体重、能量代谢和产热中可能具有重要作用。总之, 褪黑激素可能通过降低大绒鼠的摄食量和增强大绒鼠肝和褐色脂肪组织的产热活性来降低大绒鼠的体重。

致谢 感谢云南师范大学生命科学学院动物生理生态研究室所有成员在实验中给予的帮助。

参 考 文 献

- Agil A, Navarro-Alarcon M, Ali F A Z, et al. 2021. Melatonin enhances the mitochondrial functionality of brown adipose tissue in obese-diabetic rats. *Antioxidants (Basel)*, 10(9): 1482.
- Agil A, Navarro-Alarcón M, Ruiz R, et al. 2011. Beneficial effects of melatonin on obesity and lipid profile in young Zucker diabetic fatty rats. *Journal of Pineal Research*, 50(2): 207–212.
- Alonso-Vale M I C, Andreotti S, Borges-Silva C D N, et al. 2006. Intermittent and rhythmic exposure to melatonin in primary cultured adipocytes enhances the insulin and dexamethasone effects on leptin expression. *Journal of Pineal Research*, 41(1): 28–34.
- Amaral F G D, Cipolla-Neto J. 2018. A brief review about melatonin, a pineal hormone. *Archives of Endocrinology and Metabolism*, 62(4): 472–479.
- Andrews R V, Belknap R W. 1993. Seasonal acclimation of prairie deer mice. *International Journal of Biometeorology*, 37(4): 190–193.
- Barrett P, Bolborea M. 2012. Molecular pathways involved in

- seasonal body weight and reproductive responses governed by melatonin. *Journal of Pineal Research*, 52(4): 376–388.
- Bartness T J, Demas G E, Song C K. 2002. Seasonal changes in adiposity: the roles of the photoperiod, melatonin and other hormones, and sympathetic nervous system. *Experimental Biology and Medicine (Maywood)*, 227(6): 363–376.
- Bartness T J, Powers J B, Hastings M H, et al. 1993. The timed infusion paradigm for melatonin delivery: what has it taught us about the melatonin signal, its reception, and the photoperiodic control of seasonal responses? *Journal of Pineal Research*, 15(4): 161–90.
- Bartness T J, Wade G N. 1984. Photoperiodic control of body weight and energy metabolism in Syrian hamsters (*Mesocricetus auratus*): role of pineal gland, melatonin, gonads, and diet. *Endocrinology*, 114(2): 492–498.
- Bianco A C, Silva J E. 1987. Intracellular conversion of thyroxine to triiodothyronine is required for the optimal thermogenic function of brown adipose tissue. *Journal of Clinical Investigation*, 79(1):295–300.
- Bilbo S D, Nelson R J. 2002. Melatonin regulates energy balance and attenuates fever in Siberian hamsters. *Endocrinology*, 143(7): 2527–33.
- Binkley S, Kluth E, Menaker M. 1971. Pineal function in sparrows: circadian rhythms and body temperature. *Science*, 174(4006): 311–314.
- Boratynski J S, Jefimow M, Wojciechowski M S. 2017. Melatonin attenuates phenotypic flexibility of energy metabolism in a photoresponsive mammal, the Siberian hamster. *The Journal of Experimental Biology*, 220(17): 3154–3161.
- Buonfiglio D, Parthimos R, Dantas R, et al. 2018. Melatonin absence leads to long-term leptin resistance and overweight in rats. *Frontiers in Endocrinology*, 9: 122.
- Buonfiglio D, Tchio C, Furigo I, et al. 2019. Removing melatonin receptor type 1 signaling leads to selective leptin resistance in the arcuate nucleus. *Journal of Pineal Research*, 67(2): e12580.
- Cannon B, Nedergaard J. 2004. Brown adipose tissue: function and physiological significance. *Physiological Reviews*, 84(1): 277–359.
- Cipolla-Neto J, Amaral F G D. 2018. Melatonin as a hormone: new physiological and clinical insights. *Endocrine Reviews*, 39(6): 990–1028.
- Cipolla-Neto J, Amaral F G, Afeche S C, et al. 2014. Melatonin, energy metabolism, and obesity: a review. *Journal of Pineal Research*, 56(4): 371–381.
- Dawson D, Gibbon S, Singh P. 1996. The hypothermic effect of melatonin on core body temperature: is more better? *Journal of Pineal Research*, 20(4): 192–197.
- de Souza C A P, Gallo C C, de Camargo L S, et al. 2019. Melatonin multiple effects on brown adipose tissue molecular machinery. *Journal of Pineal Research*, 66(2): e12549.
- Falcón J, Besseau L, Sauzet S, et al. 2007. Melatonin effect on the hypothalamopituitary axis in fish. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 18(2): 81–88.
- Farias T D S M, Paixao R I D, Cruz M M, et al. 2019. Melatonin supplementation attenuates the pro-inflammatory adipokines expression in visceral fat from obese mice induced by a high-fat diet. *Cells*, 8(9): 1041.
- Feist D D, Feist C F. 1986. Effects of cold, short day and melatonin on thermogenesis, body weight and reproductive organs in Alaskan red-backed voles. *Journal of Comparative Physiology B-biochemical Systemic & Environmental Physiology*, 156(5): 741–746.
- Fenn A M, Fonken L K, Nelson R J. 2011. Sustained melatonin treatment blocks body mass, pelage, reproductive, and fever responses to short day lengths in female Siberian hamsters. *Journal of Pineal Research*, 51(2): 180–1866.
- Fernández Vázquez G, Reiter R J, Agil A. 2018. Melatonin increases brown adipose tissue mass and function in Zucker diabetic fatty rats: implications for obesity control. *Journal of Pineal Research*, 64(4): e12472.
- Friedman J M, Halaas J L. 1998. Leptin and the regulation of body weight in mammals. *Nature*, 395(6704): 793–770.
- Genario R, Cipolla-Neto J, Bueno A A, et al. 2021. Melatonin supplementation in the management of obesity and obesity-associated disorders: a review of physiological mechanisms and clinical applications. *Pharmacological Research*, 163(1): 105254.
- Guan Q, Wang Z, Cao J, et al. 2021. Mechanisms of melatonin in obesity: a review. *International Journal of Molecular Sciences*,

- 23(1): 218.
- Haim A, Fourie F L. 1982. Effects of melatonin on heat production and enzymatic activity in diurnal and in nocturnal rodents. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 71(3): 473–475.
- Hall E S, Lynch G R. 1985. Two daily melatonin injections differentially induce nonshivering thermogenesis and gonadal regression in the mouse (*Peromyscus leucopus*). *Life Sciences*, 37(8): 783–788.
- Halpern B, Mancini M C, Bueno C, et al. 2019. Melatonin increases brown adipose tissue volume and activity in patients with melatonin deficiency: a proof-of-concept study. *Diabetes*, 68(5): 947–952.
- Halpern B, Mancini M C, Mendes C, et al. 2020. Melatonin deficiency decreases brown adipose tissue acute thermogenic capacity of in rats measured by ¹⁸F-FDG PET. *Diabetology Metabolic Syndrome*, 12(1): 82.
- Harris A S, Burgess H J, Dawson D. 2001. The effects of day-time exogenous melatonin administration on cardiac autonomic activity. *Journal of Pineal Research*, 31(3): 199–205.
- Heldmaier G, Hoffmann K. 1974. Melatonin stimulates growth of brown adipose tissue. *Nature*, 247(5348): 224–225.
- Heldmaier G, Lynch G R. 1986. Pineal involvement in thermoregulation and acclimatization. *Pineal Research Reviews*, 4: 97–139.
- Heldmaier G, Steinlechner S, Rafael J, et al. 1981. Photoperiod control and effects of melatonin on nonshivering thermogenesis and brown adipose tissue. *Science*, 212(4497): 917–919.
- Holtorf A P, Heldmaier G, Thiele G, et al. 1985. Diurnal changes in sensitivity to melatonin in intact and pinealectomized Djungarian hamsters: effects on thermogenesis, cold tolerance, and gonads. *Journal of Pineal Research*, 2(4): 393–403.
- Hussein M R, Ahmed O G, Hassan A F, et al. 2007. Intake of melatonin is associated with amelioration of physiological changes, both metabolic and morphological pathologies associated with obesity: an animal model. *International Journal of Experimental Pathology*, 88(1): 19–29.
- Jiménez-Aranda A, Fernández-Vázquez G, Campos D, et al. 2013. Melatonin induces browning of inguinal white adipose tissue in Zucker diabetic fatty rats. *Journal of Pineal Research*, 55(4): 416–423.
- Karamitri A, Jockers R. 2019. Melatonin in type 2 diabetes mellitus and obesity. *Nature Reviews Endocrinology*, 15(2): 105–125.
- Lv D, Tan T, Zhu T, et al. 2019. Leptin mediates the effects of melatonin on female reproduction in mammals. *Journal of Pineal Research*, 66(3): e12559.
- Margolis D J, Lynch G R. 1981. Effects of daily melatonin injections on female reproduction in the white-footed mouse, *Peromyscus leucopus*. *General & Comparative Endocrinology*, 44(4): 530–537.
- Mendes C, Gomes G, Belpiede L T, et al. 2021. The effects of melatonin daily supplementation to aged rats on the ability to withstand cold, thermoregulation and body weight. *Life Sciences*, 265(1): 118769.
- Owino S, Buonfiglio D D C, Tchio C, et al. 2019. Melatonin signaling a key regulator of glucose homeostasis and energy metabolism. *Frontiers in Endocrinology (Lausanne)*, 10: 488.
- Padmavathamma K, Joshi B N. 1994. Thermotrophic effect of melatonin in adrenalectomized and thyroidectomized rats. *Biological Signals*, 3(1): 53–58.
- Pandi-Perumal S R, Srinivasan V, Maestroni G J, et al. 2006. Melatonin: Nature's most versatile biological signal? *Febs Journal*, 273(13): 2813–2838.
- Pivonello C, Negri M, Patalano R, et al. 2022. The role of melatonin in the molecular mechanisms underlying metaflammation and infections in obesity: A narrative review. *Obes Reviews*, 23(3): e13390.
- Puig-Domingo M, Guerrero J M, Menéndez-Pelaez A, et al. 1989. Melatonin specifically stimulates type-II thyroxine 5'-deiodination in brown adipose tissue of Syrian hamsters. *Journal of Endocrinology*, 122(2): 553–556.
- Puig-Domingo M, Guerrero J M, Reiter R J, et al. 1988. Thyroxine 5'-deiodination in brown adipose tissue and pineal gland: implications for thermogenic regulation and role of melatonin. *Endocrinology*, 123(2): 677–680.
- Richardson B A, Studier E H, Stallone J N, et al. 1992. Effects of melatonin on water metabolism and renal function in male Syrian hamsters (*Mesocricetus auratus*). *Journal of Pineal*

- Research, 13(2):49–59.
- Ríos-Lugo M J, Cano P, Jiménez-Ortega V, et al. 2010. Melatonin effect on plasma adiponectin, leptin, insulin, glucose, triglycerides and cholesterol in normal and high fat-fed rats. *Journal of Pineal Research*, 49(4): 342–348.
- Ríos-Lugo M J, Jiménez-Ortega V, Cano-Barquilla P, et al. 2015. Melatonin counteracts changes in hypothalamic gene expression of signals regulating feeding behavior in high-fat fed rats. *Hormone Molecular Biology and Clinical Investigation*, 21(3): 175–183.
- Ryu V, Zarebidaki E, Albers H E, et al. 2018. Short photoperiod reverses obesity in Siberian hamsters via sympathetically induced lipolysis and Browning in adipose tissue. *Physiology & Behavior*, 190(6): 11–20.
- Saarela S, Reiter R J. 1994. Function of melatonin in thermoregulatory processes. *Life Sciences*, 54(5): 295–311.
- Shor E K, Brown S P, Freeman D A. 2020. A novel role for the pineal gland: Regulating seasonal shifts in the gut microbiota of Siberian hamsters. *Journal of Pineal Research*, 69(4): e12696.
- Song Y M, Chen M D. 2009. Effects of melatonin administration on plasma leptin concentration and adipose tissue leptin secretion in mice. *Acta Biologica Hungarica*, 60(4): 399–407.
- Stefulj J, Hörtner M, Ghosh M, et al. 2001. Gene expression of the key enzymes of melatonin synthesis in extrapineal tissues of the rat. *Journal of Pineal Research*, 30(4): 243–247.
- Suriagandhi V, Nachiappan V. 2022. Protective effects of melatonin against obesity-induced by leptin resistance. *Behavioural Brain Research*, 417(1): 113598.
- Szewezyk-Golec K, Woźniak A, Reiter R J. 2015. Inter-relationships of the chronobiotic, melatonin, with leptin and adiponectin: implications for obesity. *Journal of Pineal Research*, 59(3): 277–291.
- Tamura I, Tamura H, Kawamoto-Jozaki M, et al. 2021. Long-term melatonin treatment attenuates body weight gain with aging in female mice. *Journal of Endocrinology*, 251(1): 15–25.
- Tan D X, Hardeland R, Back K, et al. 2016. On the significance of an alternate pathway of melatonin synthesis via 5-methoxytryptamine: comparisons across species. *Journal of Pineal Research*, 61(1): 27–40.
- Tan D X, Manchester L C, Fuentes-Broto L, et al. 2011. Significance and application of melatonin in the regulation of brown adipose tissue metabolism: relation to human obesity. *Obesity Reviews*, 12(3): 167–188.
- Vaughan M K, Richardson B A, Johnson L Y, et al. 1983. Natural and synthetic analogues of melatonin and related compounds. II. Effects on plasma thyroid hormones and cholesterol levels in male Syrian hamsters. *Journal of Neural Transmission*, 56(4): 279–291.
- Viswanathan M, Hissa R, George J C. 1986. Effects of short photoperiod and melatonin treatment on thermogenesis in the Syrian hamster. *Journal of Pineal Research*, 3(4): 311–21.
- Vivanco P, Ortiz V, Rol M A, et al. 2007. Looking for the keys to diurnality downstream from the circadian clock: role of melatonin in a dual-phasing rodent, *Octodon degus*. *Journal of Pineal Research*, 42(3): 280–290.
- Wolden-Hanson T, Mitton D R, McCants R L, Yet al. 2000. Daily melatonin administration to middle-aged male rats suppresses body weight, intraabdominal adiposity, and plasma leptin and insulin independent of food intake and total body fat. *Endocrinology*, 141(2): 487–497.
- Xu Z, You W, Liu J, et al. 2020. Elucidating the regulatory role of melatonin in brown, white, and beige adipocytes. *Advances in Nutrition*, 11(2): 447–460.
- Yau W W, Singh B K, Lesmana R, et al. 2019. Thyroid hormone (T₃) stimulates brown adipose tissue activation via mitochondrial biogenesis and MTOR-mediated mitophagy. *Autophagy*, 15(1): 131–150.
- Zhang Y, Proenca R, Mafei M, et al. 1994. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature*, 372(6505): 425–432.
- Zhu W L, Jia T, Xiao L, 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(1): 41–46.
- Zhu W L, Zhang H, Zhang L, et al. 2014. Thermogenic properties of Yunnan red-backed voles (*Eothenomys miletus*) from the Hengduan mountain region. *Animal Biology*, 64(1): 59–73.
- Zhu W L, Cai J H, Lian X, et al. 2011. Effects of photoperiod on

- energy intake, thermogenesis and body mass in *Eothenomys miletus* in Hengduan Mountain region. *Journal of Thermal Biology*, 36(7): 380–385.
- Zhu W L, Jia T, Xiao L, et al. 2008. Evaporative water loss and energy metabolic in two small mammals, voles (*Eothenomys miletus*) and mice (*Apodemus chevrieri*), in Hengduan mountains region. *Journal of Thermal Biology*, 33(6): 324–331.
- 侯建军, 黄晨西, 李庆芬. 1998. 褪黑激素对布氏田鼠适应性产热的诱导作用. *动物学报*, 44(1): 21–27.
- 罗泽珣, 陈卫, 高武. 2000. 中国动物志. 北京: 科学出版社, 89–95.
- 王海, 杨晓密, 刘春燕, 等. 2006. 大绒鼠和高山姬鼠的体温调节和产热特征. *兽类学报*, 26(2): 144–151.
- 王政昆, 李庆芬, 孙儒泳. 2000. 外源性褪黑激素对中缅树鼩适应性产热特征的影响. *动物学报*, 46(2): 154–159.
- 朱万龙, 贾婷, 练硝, 等. 2010. 横断山脉大绒鼠最大代谢率的季节性差异. *生态学报*, 30(5): 1133–1139.