

# 急性冷刺激后巴马猪背膘和腹股沟皮下脂肪组织的脂质组比较

潘建飞<sup>1</sup>, 郑千涛<sup>2</sup>, 陶 聪<sup>1</sup>, 赵建国<sup>2</sup>, 王彦芳<sup>1\*</sup>

(1. 中国农业科学院北京畜牧兽医研究所, 北京 100193;

2. 中国科学院动物研究所, 北京 100101)

**摘要:** 本研究旨在获得巴马猪皮下脂肪组织(包括背膘(backfat)和腹股沟皮下脂肪组织(inguinal subcutaneous white adipose tissue, iWAT))在急性冷刺激(4 °C、4 h)后其脂质组成应答的差异。正常饲养的6月龄巴马公猪在急性冷刺激处理后进行屠宰,收集背膘和腹股沟皮下脂肪组织,利用液相二级质谱(LC-MS/MS)高通量脂质组学检测技术分析其脂质组成。结果表明,在巴马猪皮下脂肪组织中,中性脂类、游离脂肪酸、磷脂类和鞘脂类4大类脂质含量差异巨大,其中含量最高的为中性脂类,在腹股沟皮下脂肪组织和背膘中分别占4大脂类总和的97.43%和98.53%;含量最低的为鞘脂类,在腹股沟皮下脂肪组织和背膘中所占比例分别为0.10%和0.07%。在16亚类脂质组成中含量最高的脂质为甘油三酯,在腹股沟皮下脂肪组织和背膘分别占16亚类脂质总和的95.97%和97.33%;含量最低的脂质为磷脂酸,在腹股沟皮下脂肪组织和背膘中所占比例分别为3.98E-04%和1.13E-04%。主成分分析表明,背膘和腹股沟皮下脂肪组织在急性冷刺激后脂质组成存在差异。以差异倍数 >1.5 和  $P < 0.05$  为标准筛选,共获得18种差异显著的脂类,其中16种脂类在背膘中含量显著低于腹股沟皮下脂肪组织,其中包括14种甘油三酯、DAG32:1(16:1/16:0)和PE40:6p;只有2种脂质(CL74:8(18:2)和TAG54:3(16:0))在背膘中的含量显著高于腹股沟皮下。巴马猪皮下脂肪主要脂质组成为甘油三酯;急性冷刺激后,背膘和腹股沟皮下脂肪组织对急性冷刺激存在不同的应答。

**关键词:** 脂质组;背膘;腹股沟皮下脂肪组织;急性冷刺激;巴马猪

中图分类号: S858.28

文献标识码: A

Doi: 10.16431/j.cnki.1671-7236.2020.09.008

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



## Comparison of Lipid Profiles of Backfat and Inguinal Subcutaneous White Adipose Tissue from Acute Cold-treated Bama Pigs

PAN Jianfei<sup>1</sup>, ZHENG Qiantao<sup>2</sup>, TAO Cong<sup>1</sup>, ZHAO Jianguo<sup>2</sup>, WANG Yanfang<sup>1\*</sup>

(1. Institute of Animal Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China; 2. Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China)

**Abstract:** This experiment aimed to study the difference of lipid metabolism between backfat and inguinal subcutaneous white adipose tissue (iWAT) after acute cold exposure (4 °C for 4 h). The LC-MS/MS based lipidomics of backfat and iWAT from chow diet-fed and cold-treated six-month-old male Bama pigs were profiled. The results showed that the content of 4 lipids classes, including neutral lipids, free fatty acids, phospholipids and sphingolipids were varies greatly in iWAT of Bama pigs. The highest lipid class in both iWAT and backfat was neutral lipids, which

收稿日期: 2020-02-20

基金项目: 国家自然科学基金(31672387); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金(2020-YWF-YB-04); 中国农业科学院科技创新工程(ASTIP-IAS05)

作者简介: 潘建飞(1988-), 男, 甘肃张掖人, 博士生, 研究方向: 动物基因与细胞工程, E-mail: pjf124@126.com

\* 通信作者: 王彦芳(1975-), 女, 山西太原人, 研究员, 研究方向: 猪功能基因组学, E-mail: wangyanfang@caas.cn

accounted for 97.43% and 98.53% respectively; The lowest lipid class was sphingolipids, which accounted for 0.10% and 0.07% in iWAT and backfat, respectively. Among 16 subclass lipids, the highest content in iWAT and backfat was TAG, which accounted for 95.97% and 97.33%, respectively, while the lowest content was PA, which accounted for 3.98E-04% and 1.13E-04% in iWAT and backfat, respectively. PCA analysis showed that backfat and iWAT could be separated clearly, which indicated the distinct changes in lipid composition of both fat tissues. And 18 different lipid species were determined using a criteria of fold change > 1.5 and  $P < 0.05$ , the results showed that 16 lipid species were significantly downregulated in backfat, including 14 TAGs, DAG32:1 (16:1/16:0) and PE40:6p. Two lipid species, including CL74:8 (18:2) and TAG54:3 (16:0), were observed to be upregulated in backfat. The above results indicated that TAG was the main content of iWAT in Bama pigs, the backfat and iWAT had different physiological responses for acute cold stimulation.

**Key words:** lipidomics; backfat; inguinal subcutaneous adipose tissue; acute cold exposure; Bama pigs

中国是养猪与猪肉消费大国<sup>[1]</sup>,而猪是产肉动物中肥胖度最高的动物,具有极强的脂肪沉积能力。猪体内过多的脂肪沉积不仅降低饲料转化率,影响生产效率,而且也影响动物产品的品质,如背膘与瘦肉率和脂肪率等胴体性状相关<sup>[2]</sup>,而肌内脂肪会影响肉的嫩度、风味和多汁性等指标,从而直接影响肉品质<sup>[3]</sup>,因此猪脂肪性状的遗传与改良一直是本领域的研究热点之一<sup>[4]</sup>。目前,动物中鉴定出了白色脂肪组织、褐色脂肪组织和米色脂肪组织 3 种脂肪组织,它们在来源、分布和组织学形态都有显著差异<sup>[5]</sup>。猪脂肪组织分为皮下脂肪、内脏脂肪、肌内脂肪和肌间脂肪<sup>[6]</sup>,其中皮下脂肪主要包含背膘和腹股沟皮下脂肪<sup>[7]</sup>,这些脂肪组织均被认为是经典的白色脂肪组织。猪肉中是否有棕色脂肪组织一直是一个有争议的科学问题,但是越来越多的证据表明猪肉中不存在棕色脂肪组织。近来,有研究表明猪的脂肪细胞在急性冷刺激条件下能够诱导成为米色脂肪细胞<sup>[8]</sup>。猪不同部位的脂肪组织在组成、细胞形态、功能以及基因表达模式上都具有明显的差异,猪的皮下脂肪细胞直径、面积均显著大于内脏脂肪细胞<sup>[9]</sup>,而内脏脂肪中饱和脂肪酸含量显著高于皮下脂肪,而不饱和脂肪酸含量较低;硬脂酰辅酶 A 去饱和酶 1(SCD1)、乳酸脱氢酶(LDHA)和解偶联蛋白 2(UCP2)等基因在皮下脂肪高表达,而在内脏脂肪低表达,而脂肪酸去饱和酶 2(FADS2)、视黄醇结合蛋白 4(RBP4)和锌指蛋白 36(ZFP36)等基因在皮下脂肪低表达,而在内脏脂肪高表达<sup>[10]</sup>。

脂质是细胞内重要的组成成分和信号分子,参与细胞各个生命活动,机体在生理或病理条件下能

改变细胞内脂质组成。高灵敏度的脂质组学技术能准确、高通量地测出细胞内脂质含量,为生理过程或疾病状态筛选一些标记脂质,辅助疾病诊断治疗<sup>[11]</sup>。已有报道证明,冷刺激能够诱导抗寒猪种白色脂肪重编程,形成具有产热功能的米色脂肪<sup>[8]</sup>。但是在急性冷刺激条件下,巴马猪不同部位的皮下脂肪组织(背膘与腹股沟皮下脂肪)的脂质组成尚未明确。

本研究利用脂质组学研究方法,获得了巴马猪皮下脂肪脂质组成谱,并分析了急性冷刺激后巴马猪背膘和腹股沟皮下脂肪组织脂质组成的差异,为研究猪不同部位脂肪组织对冷应激在脂质水平的应答提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 样品采集

本试验选用的 3 头 6 月龄雄性巴马猪来自于中国科学院动物研究所实验基地。将猪标号后依次放入 4℃ 冷库,冷刺激 4 h 后,按放入顺序依次取出屠宰,采集胸腰结合部的背膘和腹股沟部位的皮下脂肪,放入液氮中储存,运回实验室后在 -80℃ 保存备用。所有动物试验操作均经中国科学院动物研究所动物伦理委员会批准。

### 1.2 脂质提取和质谱分析

脂质提取参照布莱和戴尔的方法<sup>[12]</sup>,基本流程如下:取 100 mg 组织,加入 900  $\mu\text{L}$  氯仿-甲醇混合液(V/V=1:2)和 100  $\mu\text{L}$  去离子水,使组织灭活。将组织匀浆后,4℃、1 500 r/min 离心 1 h,加入 400  $\mu\text{L}$  去离子水和 300  $\mu\text{L}$  氯仿对脂质进行抽提。收集下

层有机液体到新的离心管中,加入 500  $\mu\text{L}$  氯仿进行二次抽提。利用真空离心蒸发浓缩器(赛默飞世尔科技, SpeedVac)将样品烘干,然后在  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  储存。利用 Exion UPLC 系统和 Sciex QTRAP 6500 Plus 对脂质进行分析。

### 1.3 主成分和热图分析

主成分分析由 R 软件中的 gmodels 函数完成。热图由 R 软件中的 pheatmap 函数完成。主成分分析和热图所用数据均为背膘和腹股沟皮下脂肪组织两组间不同种类脂质  $z$ -score 校正后获得的数据,消除了由于不同脂类含量差异巨大而对结果造成的干扰。

### 1.4 数据统计分析

利用 Microsoft Excel 软件中  $t$  检验对背膘和腹股沟皮下脂肪组织两组间不同种类脂质的含量进行差异显著性分析。试验结果以平均值  $\pm$  标准误表示。 $P < 0.05$  表示差异显著,  $P < 0.01$  表示差异极显著。

## 2 结果

### 2.1 巴马猪背膘和腹股沟皮下脂肪组织脂质组测定

对急性冷刺激后的巴马猪背膘和腹股沟皮下脂肪组织进行脂质组测定,共获得了中性脂类(neutral lipids)、游离脂肪酸(free fatty acids, FFA)、磷脂类(phospholipids)和鞘脂类(sphingolipids) 4 大类、16 大亚类的 300 种脂质。其中,中性脂类包括胆固醇酯(CE)、游离胆固醇(Cho)、甘油三酯(TAG)、甘油二酯(DAG);磷脂类包括卵磷脂(PC)、磷脂酰乙醇胺(PE)、磷脂酸(PA)、磷脂酰肌醇(PI)、磷脂酰丝氨酸(PS)、心磷脂(CL)、溶血卵磷脂(LPC)、溶血磷脂酰丝氨酸(LPS);鞘脂类(sphingolipids)包括鞘

磷脂(SM)、神经酰胺(Cer)和葡糖苷酰鞘氨醇类(GluCer)。

### 2.2 巴马猪皮下脂肪组织中脂质含量分析

由表 1 可知,6 月龄巴马猪急性冷刺激后,腹股沟皮下脂肪组织和背膘的脂质中,中性脂类的含量占了绝对比例,在腹股沟皮下脂肪组织和背膘中分别占 4 大脂类总和的 97.43%和 98.53%;其次为游离脂肪酸,在腹股沟皮下脂肪组织和背膘中所占比例分别为 2.07%和 1.08%;磷脂类与鞘脂类在腹股沟皮下脂肪组织和背膘中所占比例非常小。分析腹股沟皮下脂肪组织和背膘中 16 亚类脂质的组成发现,含量最高的脂质为 TAG,在腹股沟皮下脂肪组织和背膘中分别占 16 亚类脂质总和的 95.97%和 97.33%;其次为游离脂肪酸,在腹股沟皮下脂肪组织和背膘中所占比例分别为 2.07%和 1.08%;其它亚类脂质的含量均低于 1%,而含量最低的脂质为磷脂酸,在腹股沟皮下脂肪组织和背膘中所占比例分别为  $3.98\text{E-}04\%$ 和  $1.13\text{E-}04\%$ 。急性冷刺激后,腹股沟皮下脂肪的 TAG 含量低于皮下脂肪组织的含量,游离脂肪酸的含量在腹股沟皮下脂肪中高于背膘,这 2 组差异没有达到显著水平(表 2,  $P > 0.05$ )。

### 2.3 腹股沟皮下脂肪组织和背膘脂质组成主成分分析

由图 1 可知,背膘和腹股沟皮下脂肪组织的 300 种脂类主成分分析结果显示,背膘和腹股沟皮下脂肪组织样品能够显著分离,说明这两种脂肪组织的脂质组成存在差异。其中背膘的 3 个样品聚集较为紧密,说明其组内样品间脂质组成差异较小,而腹股沟皮下脂肪组织的 3 个样品聚集较分散,说明其组内样品间脂质组成差异较大,但总体结果显示腹股沟皮下脂肪组织和背膘的差异大于其组内差异。

表 1 巴马猪背膘和腹股沟皮下脂肪组织 4 大类脂质组成

Table 1 Four lipids classes composition of iWAT and backfat in Bama pigs

| 种类<br>Species          | 腹股沟皮下脂肪组织<br>iWAT/ $(\mu\text{mol/g})$ | 腹股沟皮下脂肪组织占比<br>iWAT rate/% | 背膘<br>Backfat/ $(\mu\text{mol/g})$ | 背膘占比<br>Backfat rate/% |
|------------------------|--|----------------------------|------------------------------------|------------------------|
| 中性脂质 Neutral lipid     | 519.09 $\pm$ 47.68                     | 97.43 $\pm$ 0.92           | 532.82 $\pm$ 42.84                 | 98.53 $\pm$ 0.12       |
| 游离脂肪酸 Free fatty acids | 10.41 $\pm$ 2.81                       | 2.07 $\pm$ 0.75            | 5.74 $\pm$ 0.16                    | 1.08 $\pm$ 0.10        |
| 磷脂类 Phospholipid       | 1.88 $\pm$ 0.49                        | 0.37 $\pm$ 0.13            | 1.64 $\pm$ 0.08                    | 0.31 $\pm$ 0.04        |
| 鞘脂类 Sphingolipid       | 0.49 $\pm$ 0.19                        | 0.10 $\pm$ 0.05            | 0.36 $\pm$ 0.02                    | 0.07 $\pm$ 0.01        |

表 2 巴马猪背膘和腹股沟皮下脂肪组织脂质亚类组成  
Table 2 Lipid subclasses composition of iWAT and backfat in Bama pigs

| 种类<br>Species             | 亚类<br>Subclasses | 腹股沟皮下脂肪组织<br>iWAT/( $\mu\text{mol/g}$ ) | 腹股沟皮下脂肪组织占比<br>iWAT rate/% | 背膘<br>Backfat/( $\mu\text{mol/g}$ ) | 背膘占比<br>Backfat rate/%  |
|---------------------------|------------------|---|----------------------------|-------------------------------------|-------------------------|
| 中性脂质<br>Neutral lipid     | 胆固醇 CE           | 1.01 $\pm$ 0.32                         | 0.20 $\pm$ 0.08            | 0.42 $\pm$ 0.02                     | 7.77E-02 $\pm$ 2.82E-03 |
|                           | 游离胆固醇 Cho        | 2.17 $\pm$ 0.51                         | 0.43 $\pm$ 0.14            | 1.58 $\pm$ 0.02                     | 0.30 $\pm$ 0.03         |
|                           | 甘油三酯 TAG         | 511.37 $\pm$ 48.04                      | 95.97 $\pm$ 1.20           | 526.32 $\pm$ 42.51                  | 97.33 $\pm$ 0.17        |
|                           | 甘油二酯 DAG         | 4.53 $\pm$ 0.49                         | 0.86 $\pm$ 0.08            | 4.50 $\pm$ 0.38                     | 0.83 $\pm$ 0.03         |
| 游离脂肪酸<br>Free fatty acids | 游离脂肪酸 FFA        | 10.41 $\pm$ 2.81                        | 2.07 $\pm$ 0.75            | 5.74 $\pm$ 0.16                     | 1.08 $\pm$ 0.10         |
|                           | 卵磷脂 PC           | 1.05 $\pm$ 0.24                         | 0.21 $\pm$ 0.06            | 1.08 $\pm$ 0.07                     | 0.21 $\pm$ 0.03         |
| 磷脂类<br>Phospholipid       | 磷脂酰乙醇胺 PE        | 0.22 $\pm$ 0.05                         | 0.04 $\pm$ 0.01            | 0.18 $\pm$ 0.02                     | 3.39E-02 $\pm$ 6.64E-04 |
|                           | 磷脂酸 PA           | 1.99E-03 $\pm$ 7.60E-04                 | 3.98E-04 $\pm$ 1.83E-04    | 5.90E-04 $\pm$ 8.00E-05             | 1.13E-04 $\pm$ 2.56E-05 |
|                           | 磷脂酰肌醇 PI         | 4.99E-02 $\pm$ 1.22E-02                 | 9.79E-03 $\pm$ 3.11E-03    | 3.96E-02 $\pm$ 7.66E-03             | 7.54E-03 $\pm$ 1.83E-03 |
|                           | 磷脂酰丝氨酸 PS        | 0.28 $\pm$ 0.09                         | 0.06 $\pm$ 0.02            | 0.14 $\pm$ 0.02                     | 2.55E-02 $\pm$ 1.73E-03 |
|                           | 心磷脂 CL           | 1.42E-02 $\pm$ 7.38E-03                 | 2.96E-03 $\pm$ 1.76E-03    | 0.04 $\pm$ 0.01                     | 7.25E-03 $\pm$ 2.63E-03 |
|                           | 溶血卵磷脂 LPC        | 0.21 $\pm$ 0.06                         | 0.04 $\pm$ 0.02            | 0.14 $\pm$ 0.02                     | 0.03 $\pm$ 0.01         |
|                           | 溶血磷脂酰丝氨酸 LPS     | 0.05 $\pm$ 0.02                         | 9.59E-03 $\pm$ 4.13E-03    | 1.82E-02 $\pm$ 9.30E-04             | 3.41E-03 $\pm$ 3.53E-04 |
|                           | 鞘磷脂 SM           | 0.44 $\pm$ 0.18                         | 0.09 $\pm$ 0.04            | 0.32 $\pm$ 0.01                     | 0.06 $\pm$ 0.01         |
|                           | 神经酰胺 Cer         | 0.04 $\pm$ 0.01                         | 7.90E-03 $\pm$ 2.99E-03    | 2.86E-02 $\pm$ 2.54E-03             | 5.37E-03 $\pm$ 6.84E-04 |
|                           | 葡萄糖苷酰鞘氨醇类 GluCer | 3.86E-03 $\pm$ 2.25E-03                 | 8.07E-04 $\pm$ 5.28E-04    | 4.70E-03 $\pm$ 3.06E-03             | 8.17E-04 $\pm$ 4.97E-04 |

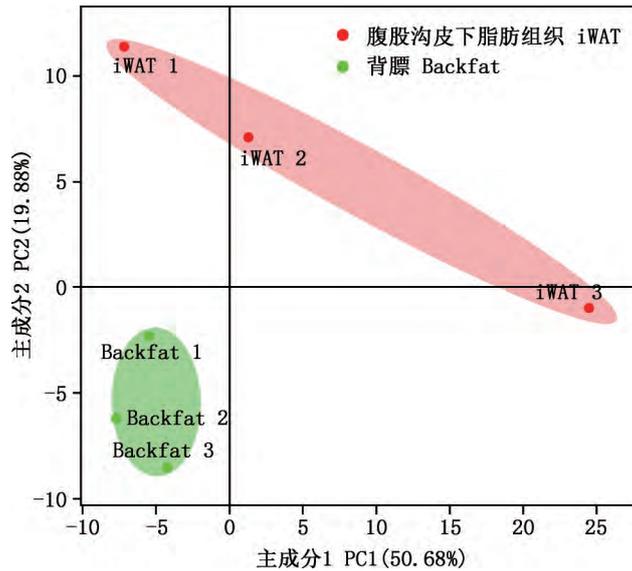


图 1 腹股沟皮下脂肪组织和背膘 300 种脂质主成分分析  
 Fig. 1 The principal component analysis plot of 300 lipid species from iWAT and backfat

2.3 急性冷刺激对背膘中脂类含量的影响

由图 2 可知,对腹股沟皮下脂肪组织和背膘皮下脂肪组织的 300 种脂质分析发现,与腹股沟皮下脂肪组织相比,背膘中的脂质下调要明显得多。以差异倍数 (fold change, FC) > 1.5 且  $P < 0.05$  的标准筛选发现 18 种脂类呈现显著差异。从图 2 可以看出,18 种脂类在背膘和腹股沟皮下脂肪组织中差异显著,其中 16 种脂质在背膘中的含量显著低于腹股沟皮下脂肪组织,而在这 16 种脂质中,14 种

为 TAG,其余 2 种分别为 DAG32:1 (16:1/16:0) 和 PE40:6p;只有 2 种脂质在背膘中的含量显著高于腹股沟皮下脂肪组织,分别为 CL74:8(18:2)和 TAG54:3(16:0),图中蓝色的点表示在背膘中显著下调的脂质,红色则表示在背膘中显著上调的脂质。进一步利用每个个体的脂质含量对 18 种脂质做了热图分析(表 3 和图 3),结果表明 14 种在背膘中显著降低的为 TAG,其脂肪酸碳链组成多为中长链(16~18 C)。

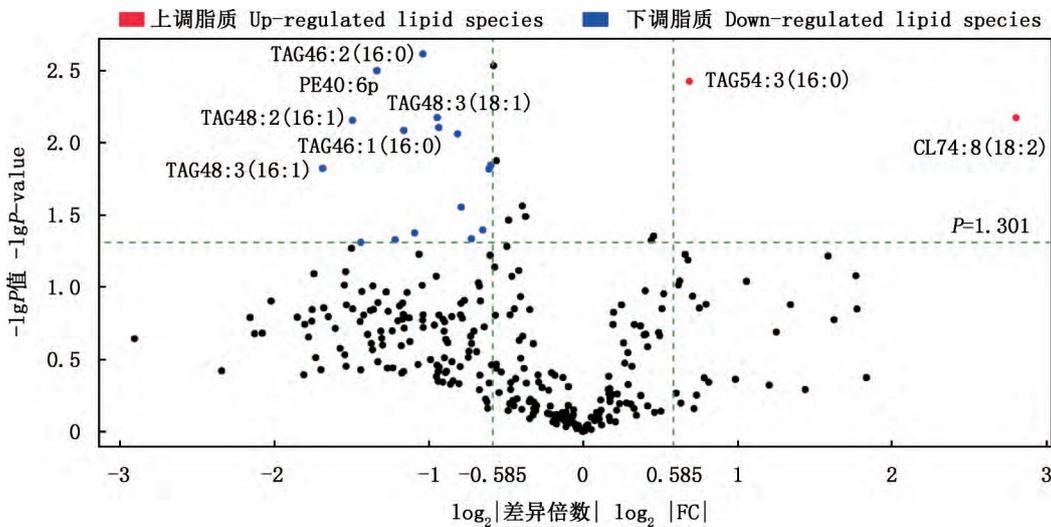
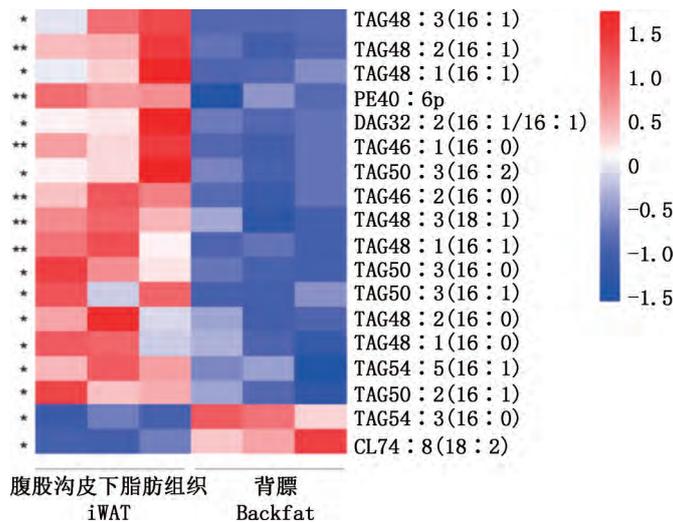


图 2 300 种脂类火山图  
 Fig. 2 Volcano plot of 300 lipid species

表 3 巴马猪背膘和腹股沟皮下脂肪组织差异脂质

**Table 3 Different lipid species of iWAT and backfat in Bama pigs**  $\mu\text{mol/g}$

| 种类<br>Species             | 腹股沟皮下脂肪组织 |          |          | 背膘        |           |           | $\log_2$   差异倍数 | $-\lg$ P 值     |
|---------------------------|-----------|----------|----------|-----------|-----------|-----------|-----------------|----------------|
|                           | iWAT 1    | iWAT 2   | iWAT 3   | Backfat 1 | Backfat 2 | Backfat 3 | $\log_2$ FC     | $-\lg$ P-value |
| TAG48 : 3 (16 : 1)        | 0.38      | 0.61     | 0.69     | 0.17      | 0.17      | 0.18      | -1.68           | 1.82           |
| TAG48 : 2 (16 : 1)        | 0.61      | 0.63     | 0.88     | 0.28      | 0.21      | 0.26      | -1.49           | 2.15           |
| TAG46 : 1 (16 : 1)        | 0.15      | 0.17     | 0.29     | 0.06      | 0.07      | 0.09      | -1.44           | 1.31           |
| PE40 : 6p                 | 3.07E-03  | 2.72E-03 | 2.82E-03 | 6.70E-04  | 1.54E-03  | 1.20E-03  | -1.33           | 2.50           |
| DAG32 : 2 (16 : 1/16 : 1) | 0.02      | 0.02     | 0.03     | 0.01      | 0.01      | 0.01      | -1.22           | 1.33           |
| TAG46 : 1 (16 : 0)        | 0.31      | 0.27     | 0.39     | 0.15      | 0.13      | 0.16      | -1.16           | 2.08           |
| TAG50 : 3 (16 : 2)        | 0.09      | 0.10     | 0.16     | 0.06      | 0.05      | 0.06      | -1.09           | 1.37           |
| TAG46 : 2 (16 : 0)        | 0.13      | 0.17     | 0.15     | 0.08      | 0.06      | 0.08      | -1.04           | 2.61           |
| TAG48 : 3 (18 : 1)        | 0.55      | 0.60     | 0.50     | 0.37      | 0.22      | 0.27      | -0.94           | 2.17           |
| TAG48 : 1 (16 : 1)        | 0.69      | 0.75     | 0.54     | 0.35      | 0.37      | 0.32      | -0.93           | 2.10           |
| TAG50 : 3 (16 : 0)        | 1.56      | 1.34     | 1.15     | 0.82      | 0.76      | 0.73      | -0.81           | 2.06           |
| TAG50 : 3 (16 : 1)        | 1.76      | 1.18     | 1.70     | 0.84      | 0.83      | 1.02      | -0.79           | 1.55           |
| TAG48 : 2 (16 : 0)        | 0.78      | 0.98     | 0.63     | 0.56      | 0.43      | 0.46      | -0.72           | 1.33           |
| TAG48 : 1 (16 : 0)        | 2.18      | 2.15     | 1.55     | 1.48      | 1.20      | 1.07      | -0.65           | 1.40           |
| TAG54 : 5 (16 : 1)        | 0.11      | 0.13     | 0.12     | 0.09      | 0.09      | 0.06      | -0.61           | 1.82           |
| TAG50 : 2 (16 : 1)        | 3.38      | 2.77     | 2.87     | 2.26      | 1.99      | 1.72      | -0.60           | 1.84           |
| TAG54 : 3 (16 : 0)        | 1.53      | 1.78     | 1.62     | 2.84      | 2.73      | 2.35      | 0.69            | 2.42           |
| CL74 : 8 (18 : 2)         | 3.60E-04  | 2.80E-04 | 9.00E-04 | 2.81E-03  | 3.20E-03  | 4.64E-03  | 2.80            | 2.17           |



腹股沟皮下脂肪组织与背膘相比, \*, 差异显著 ( $P < 0.05$ ); \*\*, 差异极显著 ( $P < 0.01$ )

iWAT compared with backfat, \*, Significant difference ( $P < 0.05$ ); \*\*, Extremely significant difference ( $P < 0.01$ )

图 3 差异脂质热图

Fig. 3 The heat map of different lipid species

### 3 讨 论

目前, 有关猪脂肪组织的脂质组成和不同部位

皮下脂肪的脂质组成差异研究较少。随着组学技术的快速发展, 脂质组学分析能够灵敏准确地测定脂

肪组织中的脂质组成,为精确比较不同脂肪组织的脂质代谢变化提供了技术手段<sup>[13]</sup>。本研究利用脂质组学技术,测定了急性冷刺激后巴马猪腹股沟皮下脂肪组织和背膘中脂质组成,获得了猪皮下脂肪组织脂质组图谱,进一步比较了这两种不同的皮下脂肪组织在急性冷刺激后脂质应答的差异。

研究结果表明,巴马猪皮下脂肪组织中最主要的脂质种类为中性脂类,其中 TAG 在腹股沟皮下脂肪组织和背膘中的含量分别为 95.97%和 97.33%,与报道的小鼠皮下脂肪组织和内脏脂肪组织 TAG 含量(93.97%和 96.64%)结果一致<sup>[14]</sup>,这与前期对白色脂肪组织作为以 TAG 的形式储存能量的认知是一致的<sup>[15]</sup>。其他脂类,如磷脂类和鞘脂类,主要是细胞膜的组成成分<sup>[16]</sup>,在巴马猪皮下脂肪中的含量都很低,与小鼠皮下脂肪组织和内脏脂肪组织含量相似<sup>[14]</sup>,但是磷脂类的磷脂酰肌醇、磷脂酰乙醇胺、磷脂酰丝氨酸、卵磷脂、溶血卵磷脂和鞘脂类的鞘磷脂含量显著低于猪大脑、心脏、肾脏、肝脏、脾脏和胃等其它组织中的含量<sup>[14]</sup>,说明不同物种相同类型组织脂质组成存在保守性,而同一物种不同组织脂质组成差异较大。

虽然脂肪组织主要功能是储存能量,但是不同部位的脂肪组织在细胞形态、基因表达以及脂质组成上均存在差异<sup>[14,17]</sup>。前期的研究表明,UCP1 基因敲入猪(白色脂肪特异性表达 UCP1 基因的巴马猪)急性冷刺激后,背膘和腹股沟皮下脂肪组织对急性冷刺激具有不同的应答,背膘对急性冷刺激的应答比腹股沟皮下脂肪组织更加温和<sup>[7]</sup>。本研究中,主成分分析结果显示,巴马猪急性冷刺激后腹股沟皮下脂肪组织和背膘组间显著分离,再一次显示这 2 种脂肪组织的脂质存在差异。腹股沟皮下脂肪组织和背膘虽然都属于皮下脂肪组织,但研究表明来自于猪腹股沟皮下脂肪组织的前体脂肪细胞比其它部位的脂肪组织分化的前体脂肪细胞更易分化成脂<sup>[18]</sup>。另外,不同部位脂肪组织的脂质组成存在差异,也意味着它们在调节机体脂代谢方面有着不同的功能,如人的内脏脂肪比皮下脂肪具有更强的代谢活性和脂解活性,对儿茶酚胺诱导的脂质水解更敏感<sup>[18]</sup>。

有文献报道小鼠的腹股沟皮下脂肪组织(iWAT)在急性冷刺激后可以诱导产生米色脂肪进行额外的产热<sup>[19]</sup>。米色脂肪细胞有不同于白色脂肪细胞的脂质组成,如 PC、PE 和 CL 在米色脂肪组织中含量要高于白色脂肪组织,但是 PS 和 PE/p 低于白色脂

肪组织<sup>[20]</sup>。前期的研究发现 UCP1 基因敲入的巴马猪在急性冷刺激后,腹股沟皮下脂肪中与线粒体功能相关的心磷脂含量升高,表明线粒体功能显著增强<sup>[7]</sup>。本研究中虽然发现一种心磷脂 CL74:8(18:2)在背膘中显著升高,但是总的 CL 量在背膘和腹股沟皮下脂肪组织中无显著差异,也没有发现总 PC、PE 和 PS 在这 2 种脂肪组织中存在显著差异,因此说明急性冷刺激后巴马猪的腹股沟皮下脂肪和背膘的线粒体功能并没有变化,也无米色脂肪形成,这与前期研究巴马猪急性冷刺激后没有米色脂肪形成的结果一致<sup>[8]</sup>。急性冷刺激后会促进 TAG 水解为游离脂肪酸和甘油,因此 TAG 和游离脂肪酸含量的变化在一定程度上反映了脂肪的水解水平<sup>[21-22]</sup>。虽然 14 种 TAG 在背膘中显著下调,但组织内总甘油三酯的含量在背膘中要高于腹股沟皮下脂肪组织,与此一致的是其游离脂肪酸的含量低于腹股沟皮下脂肪组织;虽然统计结果差异不显著,但是脂质变化趋势依然可以说明在急性冷刺激后腹股沟皮下脂肪组织的水解能力要高于背膘,这也与前期在 UCP1 基因敲入猪中所得到的结果一致<sup>[7]</sup>。因此,需要进一步加大样本量,在分子水平检测水解相关基因的表达变化来证实此推测。

## 4 结 论

本研究揭示了急性冷刺激以后,巴马猪背膘和腹股沟皮下脂肪组织的脂质组成存在差异,这两种脂肪组织对急性冷刺激存在不同的脂质组水平的应答。

## 参考文献(References):

- [1] 杨公社. 猪生产学[M]. 北京:中国农业出版社,2012. YANG G S. Swine Production[M]. Beijing: China Agriculture Press,2012. (in Chinese)
- [2] 陈海燕,李江波,徐燕云,等. 杂种猪胴体性状的通径分析[J]. 上海交通大学学报(农业科学版),2003,21(1):51-53. CHENG H Y, LI J B, XU Y Y, et al. Path analysis for the carcass traits of crossbreeding pigs[J]. *Journal of Shanghai Jiaotong University (Agricultural Science)*, 2003,21(1):51-53. (in Chinese)
- [3] 汪秀星,陈 杰,刘红林. 猪肌肉脂肪沉积相关基因的差异显示反转录 PCR 鉴定[A]. 第十五次全国动物遗传育种学术讨论会[C]. 2009. WANG X X, CHEN J, LIU H L. Differences in genes associated with fat deposition in porcine muscle

- revealed reverse transcription PCR identification[A]. The 15th Chinese National Conference on Animal Genetics and Breeding[C], 2009. (in Chinese)
- [4] PATIENCE J F, ROSSONI-SERAIO M C, GUTIERREZ N A, et al. A review of feed efficiency in swine: Biology and application[J]. *Journal of Animal Husbandry and Biotechnology*, 2015, 6(4): 369-377.
- [5] WANG W, SEALE P. Control of brown and beige fat development[J]. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2016, 17: 691-702.
- [6] 江书忠. 猪脂肪沉积关键基因的筛选及锌指蛋白 KLF13 的功能研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2014. JIANG S Z. Screening of key genes related to porcine fat deposition and functional study of zinc finger protein KLF13 [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2014. (in Chinese)
- [7] PAN J, TAO C, AO C, et al. Adipose lipidomics and RNA-Seq analysis revealed the enhanced mitochondrial function in UCP1 knock-in pigs[J]. *Biochimica et Biophysica Acta. Molecular and Cell Biology of Lipids*, 2019, 1864(10): 1375.
- [8] LIN J, CAO C, TAO C, et al. Cold adaptation in pigs depends on UCP3 in beige adipocytes[J]. *Journal of Molecular Cell Biology*, 2017, 9(5): 364-375.
- [9] 周 丽, 陈宏权. 皖南花猪的背膘厚度与胴体组成之相关分析[J]. *畜牧与兽医*, 2009, 1: 59-61. ZHOU L, CHENG H Q. Correlation analysis of backfat thickness and carcass composition in Wannan hua pigs[J]. *Animal Husbandry and Veterinary Medicine*, 2009, 1: 59-61. (in Chinese)
- [10] 李青芝, 王 滔, 李明洲, 等. 猪皮下与内脏脂肪组织 mRNA 转录组的构建与差异分析[J]. *四川农业大学学报*, 2013, 31(1): 65-70. LI Q Z, WANG T, LI M Z, et al. Identification of differential expressed transcripts between porcine subcutaneous and visceral adipose tissues[J]. *Journal of Sichuan Agricultural University*, 2013, 31(1): 65-70. (in Chinese)
- [11] HAN X L. Lipidomics for studying metabolism[J]. *Nature Reviews Endocrinology*, 2016, 12(11): 668-679.
- [12] LAMS M, WANGZ H, LI J, et al. Sequestration of polyunsaturated fatty acids in membrane phospholipids of *Caenorhabditis elegans* dauer larva attenuates eicosanoid biosynthesis for prolonged survival[J]. *Redox Biology*, 2017, 12: 967-977.
- [13] WENK M R. The emerging field of lipidomics[J]. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2005, 4(7): 594-610.
- [14] EVA C, MICHAL H, MIROSLAV L. Nontargeted lipidomic characterization of porcine organs using hydrophilic interaction liquid chromatography and off-line two-dimensional liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry[J]. *Lipids*, 2013, 48(9): 915-928.
- [15] JAMESON J L, KOPP P. Chapter 4: Application of genetics in endocrinology[J]. *Endocrinology: Adult and Pediatric (Seventh Edition)*, 2016, 41-68. e8.
- [16] MORITA S Y, TSKUJI T, TERADA T. Protocols for enzymatic fluorometric assays to quantify phospholipid classes[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 21(3): 1032.
- [17] UMANO G R, PISTONE C, TONDINA E, et al. Pediatric obesity and the immune system[J]. *Frontiers in Pediatrics*, 2019, 7: 487.
- [18] IBRAHIM M M. Subcutaneous and visceral adipose tissue: Structural and functional differences[J]. *Obesity Reviews*, 2010, 11(1): 11-18.
- [19] ROSENWALD M, PERDIKARI A, RULICKE T, et al. Bidirectional interconversion of brite and white adipocytes[J]. *Nature Cell Biology*, 2013, 15(6): 659-667.
- [20] SCHWEIZER S, LIEBISCH G, OECKL J, et al. The lipidome of primary murine white, brite, and brown adipocytes-Impact of beta-adrenergic stimulation[J]. *PLoS Biology*, 2019, 17(8): e3000412.
- [21] ZHENG Q T, LIN J, HUANG J, et al. Reconstitution of UCP1 using CRISPR/Cas9 in the white adipose tissue of pigs decreases fat deposition and improves thermogenic capacity[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2017, 114(45): E9474-E9482.
- [22] LIANG X J, PAN J F, CAO C W, et al. Transcriptional response of subcutaneous white adipose tissue to acute cold exposure in mice[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, 20(16): 3968.

(责任编辑 田秀芝)