

· 烧伤后早期损害 ·

# 大鼠烫伤后不同时间切痂骨骼肌解偶联蛋白 2、3 mRNA 表达水平的改变

李峰 郭振荣 柴家科 盛志勇

**【摘要】** 目的 观察烫伤大鼠伤后不同时间切痂其骨骼肌解偶联蛋白(UCP)2、UCP3 mRNA 表达水平的异同。方法 选用 120 只雄性 Wistar 大鼠,其中 8 只作为正常对照组;余下 112 只造成 30% TBSA Ⅲ度烫伤后分成 4 组:A 组不切痂,分别于伤后 8、24、96、120、168 h 处死;B 组伤后 8 h 切痂,于伤后 24、96、120、168 h 处死;C 组伤后 24 h 切痂,伤后 96、120、168 h 处死;D 组伤后 96 h 切痂,伤后 120、168 h 处死。测定各组大鼠各时相点的血清瘦素、肿瘤坏死因子(TNF) $\alpha$  含量以及腓肠肌 UCP2、UCP3 mRNA 表达水平。结果 (1)血清瘦素水平:A 组大鼠伤后 24~168 h 均低于正常对照组( $P < 0.01$ ),B、C、D 组伤后 120 h 和(或)168 h 均高于 A 组( $P < 0.01$ )。 (2)血清 TNF- $\alpha$  水平:A 组伤后各时相点均高于正常对照组( $P < 0.01$ ),B 组伤后各时相点均低于 A 组( $P < 0.05$  或  $0.01$ )。C 组伤后 168 h 低于 A 组( $P < 0.05$ )。 (3)腓肠肌 UCP2 mRNA 的表达量:A 组大鼠在烫伤后 8 h 即已明显升高( $P < 0.01$ ),24 h 到达高峰,以后逐渐下降。B、C 组伤后 168 h 时分别为  $0.32 \pm 0.20$ 、 $0.35 \pm 0.15$ ,明显低于同时相点 A 组  $0.71 \pm 0.12$  ( $P < 0.05$ )。各组腓肠肌 UCP3 mRNA 表达的变化趋势与 UCP2 类似。结论 大鼠严重烫伤后 UCP2、UCP3 mRNA 表达上调可能是代谢率升高的重要因素之一,休克期切痂可降低这一表达,降低代谢率。

**【关键词】** 烧伤; 能量代谢; 解偶联蛋白; 切痂

**Changes in uncoupling protein-2, 3 mRNA expression in the scalded rats after escharectomy at different post scalding stages** LI Feng, GUO Zhen-rong, CHAI Jia-ke, SHENG Zhi-yong. Burn Institute, The 304th Hospital of PLA, Beijing 100037, P. R. China

**【Abstract】** Objective To investigate the expression of uncoupling protein (UCP)-2, 3 mRNA in skeletal muscle of the scalded rats after escharectomy at different post scalding stages. Methods One hundred and twenty Wistar rats were employed in the study, in which 8 served as normal control (C) and 112 were subjected to 30% TBSA 3rd degree scalding and then again, divided into 4 groups. The rats in A group were sacrificed on 8th, 24th, 96th, 120th and 168th post scalding hours (PSHs) without escharectomy. The rats in B group underwent escharectomy at 8 PSH, and those in C group underwent escharectomy at 24 PSH. All the rats in both groups were sacrificed on 96, 120 and 168 PSHs after escharectomy, Escharectomy was performed at 96 PSH in rats of D group, and they were sacrificed on 120 and 168 PSHs after escharectomy. The serum levels of leptin and TNF $\alpha$ , and the expression level of UCP2 mRNA were determined at all time points in all groups of rats. Results (1) The serum levels of leptin in A group were obviously lower than that in C group ( $P < 0.01$ ) during 24~168 PSHs, while those in B, C and D groups were much higher than those in A group ( $P < 0.01$ ) during 24~168 PSH. (2) The serum TNF $\alpha$  levels in A group at all time points were higher than that in control group, while that in B group at all time points were lower than that in A group ( $P < 0.05$  or  $0.01$ ), and that in C group at 168 PSH was lower than that in A group ( $P < 0.05$ ). (3) The UCP2 mRNA expression in skeletal muscle in A group was increased evidently since 8 PSH ( $P < 0.01$ ), peaking at 24 PSH and lowering thereafter, while that in B and C groups at 168PSH was significantly lower than that in A group at the same time points ( $0.32$  and  $0.35$  vs  $0.71$ ,  $P < 0.05$ ). The trend of the change in UCP3 mRNA expression in skeletal muscle was similar to that of UCP2. Conclusion

The postburn up-regulation of UCP mRNA expression might play important roles in the increase of metabolic rate. Escharectomy during shock stage could lower down the expression of UCP2 and UCP3 mRNA expression, and it could be beneficial by lowering metabolic rate.

**【Key words】** Burns; Energy metabolism; Uncoupling protein; Escharectomy

代谢率升高是机体严重烧伤后最明显的病理生理变化之一。目前尚未找到可将代谢率控制在适当水平的特效药物,而动物实验和临床实践均已经证

明,及早切痂并封闭创面是抑制高代谢的有效手段<sup>[1,2]</sup>。解偶联蛋白(uncoupling protein, UCP)是近年发现的对机体能量代谢具有重要影响的线粒体蛋白,可使氧化过程释放的能量不储存在高能磷酸键中,而以热能形式释放,从而增加能耗<sup>[3]</sup>。目前已有

基金项目:首都医学发展科研基金资助项目(20023001)

作者单位:100037 北京,解放军第三〇四医院全军烧伤研究所

在创伤<sup>[4]</sup>、感染<sup>[5]</sup>条件下 UCP 表达变化规律的报道,而烧伤后其表达水平的改变尚未明了。本研究观察大鼠烫伤后不同时间切痂对 UCP 表达的影响,以探讨伤后、术后能量代谢改变的机制。

### 材 料 与 方 法

1. 动物模型与分组:120 只健康雄性 Wistar 大鼠(北京大学医学部),体重(200 ± 20)g。其中 8 只不作任何处理,作为正常对照组。余下 112 只用 100 °C 水浸烫背部 12 s,造成 30% TBSA Ⅲ度烫伤(经病理切片证实)。伤后立即腹腔注射等渗盐水(50 ml/kg)复苏,随后分成 4 组:A 组 40 只大鼠,不切痂;B 组 32 只,伤后 8 h 切痂;C 组 24 只,伤后 24 h 切痂;D 组 16 只,伤后 96 h 切痂。B、C、D 组切痂后植以大张异体皮,予邮包式包扎。

2. 标本采集与处理:A 组大鼠于分别于伤后 8、24、96、120、168 h 处死;B 组于伤后 24、96、120、168 h 处死;C 组于伤后 96、120、168 h 处死;D 组于伤后 120、168 h 处死。每组每时相点 8 只。大鼠处死前用乙醚麻醉,取下腔静脉血 5 ml,置抗凝管中 1500 × g 离心 10 min,收集上清保存于 -70 °C 待检。大鼠处死后取其腓肠肌,液氮冻存。

3. 血清瘦素、肿瘤坏死因子(TNF)α 含量的检测:均采用放射免疫法进行,试剂盒分别由东亚免疫研究所、中国原子能科学研究院同位素研究所提供。

4. UCP2 mRNA、UCP3 mRNA 表达的检测:取冻存的腓肠肌约 80 mg,以 Trizol 试剂(鼎国生物技术公司)提取细胞总 RNA。采用半定量逆转录聚合酶

链反应(RT-PCR)技术对逆转录产物进行扩增,扩增仪(4800 型)购自美国 Perkin-Elmer 公司,以 β 肌动蛋白(β-actin)作为内参照。扩增产物经琼脂糖凝胶电泳后照相,以日本柯达公司 DZ120 型图像分析处理系统进行分析,以目的基因与内参照的积分光密度比值表示 mRNA 的相对表达量。

5. 统计学分析:数据均以  $\bar{x} \pm s$  表示,应用 Stata 4.0 统计软件包进行处理并行方差分析。

### 结 果

1. 血清瘦素水平:A 组大鼠伤后 24、96、120、168 h 血清瘦素水平均低于正常对照组( $P < 0.01$ )。B、C、D 组瘦素水平随着时间的延长逐渐回升,其中 B、C 组伤后 120、168 h 均高于 A 组( $P < 0.05$  或  $0.01$ ),D 组伤后 168 h 高于 A 组( $P < 0.01$ )。见表 1。

2. 血清 TNF-α 水平:A 组大鼠伤后各时相点血清 TNF-α 水平均高于正常对照组( $P < 0.01$ ),其中伤后 8 h 为最高点。B 组伤后各时相点 TNF-α 水平均低于 A 组( $P < 0.05$  或  $0.01$ )。伤后 168 h C 组低于 A 组( $P < 0.05$ )。D 组伤后各时相点均低于 A 组,但差异无显著性意义( $P > 0.05$ )。见表 2。

3. 腓肠肌 UCP2 mRNA、UCP3 mRNA 表达水平:  
(1)A 组大鼠骨骼肌 UCP2 mRNA 表达量在烫伤后 8 h 即已明显升高,24 h 到达高峰( $P < 0.01$ ),以后逐渐下降。B、C 组各时相点的 UCP2 mRNA 表达量低于 A 组,其中伤后 168 h 与 A 组比较,差异有显著性意义( $P < 0.05$ )。D 组在各时相点下略低于 A 组而高于

表 1 各组烫伤大鼠血清瘦素水平的比较(mg/L,  $\bar{x} \pm s$ )  
Tab 1 Comparison of serum level of leptin in each group(mg/L,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	鼠数 (只)	伤后时间(h)				
		8	24	96	120	168
A 组	40	9.2 ± 2.8	6.5 ± 2.3 <sup>#</sup>	5.1 ± 0.7 <sup>#</sup>	3.1 ± 1.5 <sup>#</sup>	3.2 ± 1.8 <sup>#</sup>
B 组	32	—	7.2 ± 1.9	8.5 ± 2.2	10.9 ± 2.7 <sup>**</sup>	11.1 ± 3.1 <sup>**</sup>
C 组	24	—	—	8.9 ± 3.4	8.0 ± 2.6 <sup>*</sup>	12.4 ± 4.6 <sup>**</sup>
D 组	16	—	—	—	5.6 ± 1.4	9.6 ± 1.9 <sup>**</sup>

注:A 组不切痂,B、C、D 组分别于伤后 8、24、96 h 切痂;正常对照组 8 只大鼠,血清瘦素水平为(14.2 ± 3.4)mg/L;与 A 组比较,\*  $P < 0.05$ ,\*\*  $P < 0.01$ ;与正常对照组比较,#  $P < 0.01$ ;"—"表示未检测

表 2 各组烫伤大鼠血清 TNF-α 水平的比较(mg/L,  $\bar{x} \pm s$ )  
Tab 2 Comparison of serum level of TNF-α in each group(mg/L,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	鼠数 (只)	伤后时间(h)				
		8	24	96	120	168
A 组	40	2.41 ± 0.33 <sup>#</sup>	2.08 ± 0.46 <sup>#</sup>	1.47 ± 0.24 <sup>#</sup>	1.38 ± 0.19 <sup>#</sup>	1.52 ± 0.20 <sup>#</sup>
B 组	32	—	0.95 ± 0.37 <sup>**</sup>	0.87 ± 0.13 <sup>*</sup>	0.92 ± 0.11 <sup>*</sup>	0.90 ± 0.08 <sup>*</sup>
C 组	24	—	—	1.06 ± 0.18	0.95 ± 0.27	0.85 ± 0.28 <sup>*</sup>
D 组	16	—	—	—	1.16 ± 0.13	1.09 ± 0.24

注:A 组不切痂,B、C、D 组分别于伤后 8、24、96 h 切痂;正常对照组 8 只大鼠,血清 TNF-α 水平为(0.66 ± 0.17)mg/L;与 A 组比较,\*  $P < 0.05$ ,\*\*  $P < 0.01$ ;与正常对照组比较,#  $P < 0.01$ ;"—"表示未检测

表 3 各组烫伤大鼠骨骼肌 UCP2、UCP3 mRNA 表达水平的比较 ( $\bar{x} \pm s$ )  
 Tab 3 Comparison of expression of UCP2 mRNA, UCP3 mRNA in skeletal muscle in each group ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	鼠数 (只)	UCP 亚型	伤后时间(h)				
			8	24	96	120	168
A 组	40	UCP2	0.62 ± 0.13 <sup>#</sup>	0.77 ± 0.27 <sup>#</sup>	0.61 ± 0.33	0.57 ± 0.21	0.71 ± 0.12 <sup>#</sup>
		UCP3	0.80 ± 0.29	1.37 ± 0.43 <sup>#</sup>	1.25 ± 0.34 <sup>#</sup>	1.37 ± 0.47 <sup>#</sup>	1.43 ± 0.51 <sup>#</sup>
B 组	32	UCP2	—	0.71 ± 0.21	0.48 ± 0.26	0.45 ± 0.14	0.32 ± 0.20 <sup>*</sup>
		UCP3	—	1.25 ± 0.61	0.64 ± 0.25	0.66 ± 0.15 <sup>*</sup>	0.48 ± 0.13 <sup>**</sup>
C 组	24	UCP2	—	—	0.41 ± 0.14	0.48 ± 0.18	0.35 ± 0.15 <sup>*</sup>
		UCP3	—	—	0.71 ± 0.34	0.57 ± 0.27 <sup>*</sup>	0.53 ± 0.15 <sup>**</sup>
D 组	16	UCP2	—	—	—	0.55 ± 0.18	0.43 ± 0.24
		UCP3	—	—	—	1.06 ± 0.15	0.78 ± 0.21

注:A 组不切痂,B、C、D 组分别于伤后 8、24、96 h 切痂;正常对照组 8 只大鼠,骨骼肌 UCP2 mRNA 表达水平为 0.24 ± 0.11,UCP3 mRNA 表达水平为 0.41 ± 0.09;与 A 组比较,\* P < 0.05,\*\* P < 0.01;与正常对照组比较,# P < 0.01;“—”表示未检测

B、C 组,但差异无显著性意义 ( $P > 0.05$ )。(2) 各组骨骼肌 UCP3 mRNA 表达的变化趋势与 UCP2 类似。见表 3。

### 讨 论

UCP 的主要功能是产生“质子漏”(proton leak)作用,即消除线粒体内膜两侧的质子梯度,使能量代谢底物的氧化过程与腺苷二磷酸(ADP)磷酸化过程解偶联,从而使代谢底物氧化时产生的能量以热能的形式散发,而不是储存到腺苷三磷酸(ATP)的高能磷酸键中<sup>[5]</sup>。人体 UCP 共有 3 个亚型,其中 UCP2、UCP3 是其主要表达形式,常见于占体重 40%、对能量代谢有重要影响的骨骼肌中,UCP1 仅表达于新生儿棕色脂肪组织中。Strommer 等<sup>[4]</sup>报道,在大鼠肠切除创伤模型中,比目鱼肌 UCP2 的 mRNA 及其蛋白表达量分别较伤前升高 3 倍和 2 倍;UCP3 mRNA 及其蛋白表达量均较伤前升高 1 倍,他们认为 UCP 表达水平的改变可能与创伤后代谢异常有关。Faggioni 等<sup>[5]</sup>报道,大鼠注射内毒素/脂多糖(LPS)后 16 h 肝脏 UCP2 mRNA 表达量升高 28 倍,骨骼肌、脂肪组织 UCP2 mRNA 表达量升高 5 倍,同时认为 UCP 表达量上升是高代谢反应的一部分,可能与发热现象有关。

本研究中,笔者主要观察了烫伤大鼠伤后不切痂(A 组)、休克期切痂(B、C 组)或常规切痂(D 组)后其骨骼肌 UCP2 mRNA、UCP3 mRNA 表达水平的改变。结果显示,各组大鼠的 UCP2 mRNA、UCP3 mRNA 表达变化规律相似:A 组中二者表达水平均大幅上调;切痂后则明显下降,其中以 B、C 两组下降幅度最大;D 组表达水平虽也有降低,但在观察期内与 A 组比较差异无显著性意义 ( $P > 0.05$ )。以上结果与以往关于休克期切痂植皮对能量代谢影响的研究结论基本一致<sup>[2]</sup>。

此外,本研究中笔者还考虑到了影响 UCP 表达

的两种主要体液因素:瘦素和 TNF- $\alpha$ 。瘦素是影响 UCP 表达的重要生理因素,据报道,其水平一旦升高,即可通过刺激脂肪水解、增加血清游离脂肪酸(FFA)等途径上调 UCP 的表达<sup>[6]</sup>。但本研究中,各组大鼠血清瘦素水平与骨骼肌 UCP 表达水平的变化规律相反,与该报道不符。Cortez 等<sup>[7]</sup>观察到,在创伤、炎症等多种病理条件下,影响 UCP 表达的主要因素为 TNF- $\alpha$ 。本研究结果显示,各组大鼠血清 TNF- $\alpha$  水平的变化趋势与骨骼肌 UCP 表达的变化趋势较接近,支持了 Cortez 等<sup>[7]</sup>的观点。

综上所述,大鼠烫伤后 UCP2 mRNA、UCP3 mRNA 表达水平的升高可能是伤后代谢率上升的生理机制之一;早期切痂植皮可以通过降低 TNF- $\alpha$  水平等途径使其表达水平大幅下调,这可能是早期切痂可有效降低代谢率的部分生理基础。

### 参 考 文 献

- 高维谊,郭振荣,韩翠华,等. 烧伤休克期切痂植皮对伤后高代谢影响的实验研究. 军医进修学院学报, 1998, 19: 1-3.
- 郝岱峰,郭振荣,柴家科,等. 休克期切痂植皮对小型猪烧伤后能量消耗的影响. 中华烧伤杂志, 2000, 16: 34-36.
- Pecqueur C, Ricquier D. Genetic and physiological analysis of the role of uncoupling proteins in human energy homeostasis. J Mol Med, 2001, 79: 48-56.
- Strommer L, Abou EEG, Kamel A, et al. Upregulation of uncoupling protein homologues in skeletal muscle but not adipose tissue in posttraumatic insulin resistance. Biochem Biophys Res Commun, 2001, 23: 334-340.
- Faggioni R, Shigenaga J, Moser A, et al. Induction of UCP2 gene expressing by LPS: a potential mechanism for increased thermogenesis during infection. Biochem Biophys Res Commun, 1998, 24: 75-78.
- Commins SP, Watson PM, Frampton IC, et al. Leptin selectively reduces white adipose tissue in mice via a UCP1-dependent mechanism in brown adipose tissue. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2001, 280: 372-377.
- Cortez PH, Yang SQ, Lin HZ, et al. Bacterial lipopolysaccharide in hepatocytes by a tumor necrosis factor alpha dependent mechanism. Biochem Biophys Res Commun, 1998, 251: 313-319.

(收稿日期: 2003-11-03)

(本文编辑: 罗 勤)