

去除皮下脂肪與瘦體素補充處理對肥胖小鼠胰島素阻抗及 內臟脂肪之影響

陳明德^{1*}、宋育民²

1 僑光科技大學通識教育中心

2 台中慈濟醫院內科部

摘 要

去除皮下脂肪會造成個體的內臟脂肪增加，而內臟脂肪的增加已知與胰島素阻抗相關之代謝性疾病的發生有關。此外瘦體素已知有降低高血糖、高血脂及高血胰島素等作用。本實驗以高脂飼料誘發肥胖小鼠為材料，進行探討動物在經過去除皮下脂肪與瘦體素補充處理後，能否改善其胰島素阻抗情形及降低內臟脂肪堆積。實驗結果顯示去除皮下脂肪的肥胖小鼠會有相對較多的內臟脂肪累積，較差的胰島素活性及較高的血脂濃度。瘦體素補充處理並不影響去除皮下脂肪的肥胖小鼠的內臟脂肪累積量及胰島素作用。本實驗的結果指出肥胖小鼠在去除皮下脂肪後反而會惡化其胰島素阻抗情形。去除皮下脂肪後的內臟脂肪的回饋性增加現象，可能與瘦體素的作用無關。

關鍵詞：去除脂肪、肥胖、胰島素阻抗、瘦體素

*通訊作者：陳明德 E-mail: mdchen@ocu.edu.tw

僑光科技大學通識教育中心

台中市西屯區僑光路 100 號

Effects of Subcutaneous Fat Removal and Leptin Repletion on Insulin Resistance and Visceral Fat Accumulation in Dietary-Obese Mice

Ming-Der Chen^{1*}, Yuh-Min Song²

¹General Education Center, Overseas Chinese University

²Department of Internal Medicine, Taichung Tzu Chi Hospital

ABSTRACT

The removal of subcutaneous fat could cause a compensatory accumulation of visceral fat that closely related to the manifestation of insulin resistance related metabolic diseases. Moreover, leptin repletion corrects certain disorders, like hyperglycemia, hyperinsulinemia and hyperlipidemia. We investigated if visceral fat accumulated to aggravate insulin resistance in dietary obese mice which had received subcutaneous fat removal. Exogenous leptin treatment on the changes of insulin resistance and visceral fat accumulation in those lipectomized obese mice was also examined. The results showed that lipectomized obese mice had more visceral fat, higher blood lipid levels, and reduced insulin sensitivity. However, leptin repletion did not have significant improvements on reducing visceral fat deposition nor insulin resistance in those lipectomized obese mice. Our data indicate that the removal of subcutaneous fat could led to visceral fat accumulation and the aggravation of insulin resistance. Moreover, leptin may not participate in lipectomy induced compensatory visceral fat deposition.

Key words: Lipectomy; Obesity; Insulin resistance; Leptin

壹、前言

不管在歐美或台灣，近年來肥胖患者有明顯增加的現象。過去的資料顯示肥胖個體通常會有高血胰島素症與胰島素阻抗的現象，而且肥胖也是糖尿病及心血管疾病等的危險因子 [1]。有報告指出減重可以改善肥胖個體的胰島素阻抗程度與避免糖尿病的發生 [2]。局部抽脂手術除被用來雕塑身材外，也有人認為抽脂也許可以應用於肥胖的臨床治療 [3, 4]。一般而言，抽脂在臨床操作上，主要是以抽取四肢或腹臀部的皮下脂肪為主，並不能進行內臟脂肪的去除。由以往的實驗報告已知體脂肪的不同分佈部位可能要比其總量更相關代謝性疾病的出現，也就是說內臟脂肪量的多寡會比皮下脂肪量更相關體內的胰島素阻抗程度與代謝異常症狀的出現 [5, 6]。已有不少報告顯示過度累積的內臟脂肪有害健康，此會使體內的醣類與脂肪代謝發生異常，進而出現高血糖、高血脂與造成糖尿病、高血壓及心血管疾病等；相反地，皮下脂肪的累積則可能較無害，除了可以提供物理性遮蔽外力衝撞造成內部器官受損外，甚至有降低內臟脂肪相對堆積的效果，而能減緩代謝性疾病的出現 [5-7]。有動物實驗結果指出動物在經過手術去除皮下脂肪後，反而會造成它們的內臟脂肪組織增生及堆積 [8-10]。因此若考量內臟脂肪的堆積增加會促使代謝性疾病的出現，那麼臨床上在進行局部去除皮下脂肪之抽脂手術是否反而會加劇個體出現糖尿病等代謝性疾病。由於有關肥胖個體在接受局部抽脂後對其胰島素阻抗現象的短期或長期影響尚無資料，因此本實驗在探討肥胖小鼠在經過手術去除皮下脂肪後，其內臟脂肪組織量是否增加，與測試其胰島素阻抗情形在手術後的變化。

瘦體素是動物體內一種主要由脂肪細胞所分泌的蛋白質，具有降低食慾與促進能量消耗等作用的脂肪激素，因此低血瘦體素也被認為是造成肥胖個體發生嗜食現象的原因之一 [11]。瘦體素有促進細胞的葡萄糖攝取、脂質分解與降低胰島素分泌等作用。過去的動物實驗結果指出瘦體素補充處理對於肥胖糖尿病鼠有降低其高血糖、高血脂及高血胰島素的效果；而臨床實驗上，瘦體素補充處理也有降低肥胖病患的體重與體脂肪的效果 [12]。因為大部份的肥胖病患會有高血瘦體素濃度(瘦體素阻抗)，因此瘦體素補充處理的治療效果有限；不過有人認為瘦體素補充可能對於那些有相對性低血瘦體素濃度的肥胖個體會有較大的處理效果 [12]。

另一方面，臨床研究資料顯示不管是經由限制飲食量、進行胃間隔或腸胃繞道或局部抽脂等手術，皆會造成患者的血瘦體素濃度下降 [13-15]。由於瘦體素具有抑制食慾的效果，因此降低的血瘦體素濃度也被懷疑與減肥後常見的體重回復有關。此外，我們的實驗結果也發現部分肥胖婦女因有相對較低的瘦體素生成量，而使得她們出現較嚴重的胰島素阻抗情形 [15]。本實驗的另一個目的是在

探討肥胖鼠在經過去除皮下脂肪的手術後，若額外補充它們因為去除脂肪後所減少的瘦體素生成量，進行觀察此處理是否能夠改善其胰島素抵抗情形與減少內臟脂肪的回饋性堆積。我們認為如果補充瘦體素能夠改善肥胖鼠在去除皮下脂肪後所導致的代謝性異常，那麼在臨床上給與進行抽脂手術的肥胖患者適當的瘦體素補充或許可以讓他們避免出現術後的復胖與新陳代謝異常等的症狀。

貳、實驗材料與方法

本實驗採用 C57BL/6 (B6)品系小鼠進行實驗。B6 小鼠採購自科技部台北南港動物繁殖中心之 3 週齡斷奶後的雄性小鼠，經過餵食高脂飼料 (40% fat, Harlan Teklad Adjusted Fat Diet, PD#96132, Envigo, Livermore, CA, USA) 12 週後，以誘發產生肥胖並進行實驗。

實驗一、探討動物在去除皮下脂肪組織後是否會造成其內臟脂肪組織堆積增加

本實驗將肥胖小鼠分為兩組，每組含 8 隻肥胖小鼠，一組進行去除皮下脂肪組織手術 (LE)，一組則為實驗對照組 (CN)。LE 組的肥胖小鼠在注射 pentobarbital (30 mg/kg BW) 麻醉後，先以小動物體組成分析儀測量體總脂肪量(EM-SCAN Inc., Springfield, IL, USA)，然後在其腹部兩側及背部肩胛部位分別切開 4 及 2 公分長的切口，以解剖剪-去除其皮下脂肪(腋下、腹股溝、肩胛部位的脂肪)後，縫合切口。根據先前報告 [8-10]，經過此方式所取得的皮下脂肪量約為其總體脂肪重量的 30% 或總皮下脂肪量的 80%以上 (以秤取出的脂肪重量及體組成分析儀加以確定)。CN 組肥胖小鼠則進行同樣手術，但並不摘取任何脂肪。本實驗的原本設計是想儘可能地去除掉肥胖小鼠的所有皮下脂肪，至少去除掉大於 70%的皮下脂肪量，因此我們在剛開始進行實驗時拿掉動物腹部兩側及背部肩胛部位的腋下、腹股溝、肩胛部位脂肪，並分別造成腹部與背部的多處切口。但肥胖小鼠經過手術後，它們的傷口癒合或術後恢復狀況都很差，多數經過手術後的肥胖小鼠在術後 3 天內分別因為感染或未進食等因素死亡。隨後我們改變實驗設計，採取只摘除肥胖小鼠腹部兩側大腿腹股溝部位的皮下脂肪 (約為皮下脂肪總量的 40%或總體脂肪量的 10%)，雖然去除的皮下脂肪量較我們的原始實驗設計來得少，但經過此變更後這些肥胖小鼠在術後的恢復狀況良好才得以進行後續實驗。進行手術後的小鼠均單獨置於飼養盒，在標準溫度及濕度控制的動物房繼續餵養 12 週。然後這些肥胖小鼠在經過隔夜禁食後進行糖耐試驗，隨後在隔天進行犧牲後，測量其不同部位的脂肪組織重量 (腋下、腹股溝、肩胛、附睪)與血清生化值。

實驗二、探討給與瘦體素補充是否能夠改善去除皮下脂肪後所可能出現的內臟脂肪增加與代謝異常

根據先前他人的實驗報告及我們實驗室的經驗 [9,10,17]，瘦體素濃度在經過去除皮下脂肪組織後會明顯下降 (平均值約從 5 ng/mL 下降至 1.5 ng/mL)，持續約 2 週後再開始上升，並可在 4 週後回復至其手術前的範圍。本實驗進行是在肥胖小鼠接受去脂手術 5 天後 (LR 組)進行給與補充瘦體素處理 7 天，即將去脂手術後的肥胖小鼠在其背部皮下包埋 mini-osmotic pump (0.1 mg/mL, 0.25 μ L/hr)，使其血瘦體素濃度維持在約 5 ng/mL (進食下的濃度)。經過瘦體素補充處理的肥胖小鼠，進行如同實驗一的實驗方法，在去脂手術後 12 週進行糖耐測試，並在完成糖耐測試後的隔天進行犧牲，並測量其不同部位脂肪組織的重量與血清生化值。

糖耐測試以經隔夜禁食後的肥胖小鼠管餵 3 mL 20%葡萄糖水 (2g/kg BW)後，分別測試其 0、30、60 分鐘的血糖及血胰島素濃度 [16]。血清生化值測試則包括血糖 (Lifescan Surestep, Johnson & Johnson, Milpitas, CA, USA)、胰島素 (Crystal Chem Inc., Chicago, IL, USA)、三酸甘油酯 (Boehringer Mannheim Inc., Mannheim, Germany)及瘦體素 (R&D System Inc., Minneapolis, MN, USA)等項目，各項測試的操作方法採取與我們之前報告的相同實驗步驟 [17]。實驗數據的表示方式為平均值 $\pm$ 標準偏差 (mean $\pm$ SD)。實驗數據的統計分析以變異數分析 (ANOVA)進行，差異顯著性的判定以 P 值小於 0.05 為標準。當 ANOVA 統計分析呈現顯著差異時，再以 Tukeys comparison 進行事後比較檢定 (post-hoc analysis)，並利用電腦統計軟體 Mac StatWorks 1.2 進行計算。

參、結果與討論

LE 組肥胖小鼠(去除皮下脂肪)在手術後經過餵飼高脂飼料 12 週後，其體重及總體脂肪量與 CN 組肥胖小鼠間已無明顯差異。已知高脂飼料可造成實驗動物出現體脂肪增加及胰島素阻抗等現象。去除皮下脂肪後的肥胖小鼠在不改變高脂飼料餵飼情形下，其體重與總體脂肪量會在 4 週內即可追上未經去脂手術的肥胖小鼠，且在術後 12 週時，兩者之間已無顯著差異。LE 組肥胖小鼠的腹股溝部位有少量皮下脂肪累積，但其內臟脂肪(附睪脂肪組織)的總量或比例 (內臟脂肪量除以總體脂肪量)皆明顯有較 CN 組肥胖小鼠增加的情形。由於 LE 組肥胖小鼠的皮下脂肪並未明顯增加，此說明它們所增加的總體脂肪量來自於內臟脂肪量的回饋性增加，此也可從其附睪脂肪組織重量明顯較 CN 組肥胖小鼠高的現象得知。已知內臟脂肪與胰島素作用有關，過多的內臟脂肪累積也是代謝症候群的重要因子。

在本實驗中，LE 組肥胖小鼠在經過手術 4 週後，其血糖與血胰島素濃度皆較 CN 組肥胖小鼠來得低、耐糖反應也比較好 ($P < 0.1$)，不過這些差異尚未達到統計上的顯著性水準。此些胰島素阻抗改善的結果在 LE 組肥胖小鼠術後的 12 週時消失，而與 CN 組肥胖小鼠之間並無差異。另外由 LE 組會有較高的血胰島素/血糖比例，顯示 LE 組肥胖小鼠的胰島素敏感性變差。此部分的結果說明去除皮下脂肪在短期內雖可改善肥胖小鼠的胰島素阻抗現象，但此效果在內臟脂肪回饋性大量增多後會消失，甚至惡化胰島素反應，此也可由其胰島素/血糖比值得知 (0.80 VS 0.71 , $P < 0.05$)。另外 LE 組肥胖小鼠有明顯較高的血三酸甘油酯濃度，但血瘦體素濃度在 LE 組與 CN 組肥胖小鼠之間則無顯著差異。由明顯增加的血三酸甘油酯濃度間接說明去除皮下脂肪後所造成之回饋性內臟脂肪增加情形會干擾體內能量利用情形與相關胰島素阻抗症狀的發生；此外也說明適量皮下脂肪或合適的皮下脂肪/內臟脂肪比例在維持正常生理代謝上的重要。本實驗結果顯示皮下脂肪具有降低脂肪毒性 (lipotoxicity) 與避免胰島素阻抗代謝性症狀出現的作用。因此去除皮下脂肪或其所衍生之內臟脂肪增加現象，對肥胖個體而言，可能反會有不良效果發生 [18-21]；雖然從動物實驗上已知手術去除內臟脂肪有助於改善胰島素阻抗代謝性疾病，但臨床上現仍無法有效進行去除內臟脂肪，而抽脂手術僅能去除皮下脂肪，因此本實驗結果也指出臨床上想要以抽脂手術應用在肥胖或肥胖糖尿病的治療適當性仍有待深入評估。

表一、手術後 12 週時，去除皮下脂肪與瘦體素補充處理對肥胖小鼠的影響

	CN 組小鼠	LE 組小鼠	LR 組小鼠
體重 g	43.8 (1.1)	45.0 (1.6)	44.1 (1.8)
總體脂肪量 g	4.3 (0.5)	3.9 (0.4)	3.5 (0.4)*
附睪脂肪量 g	0.83 (0.06)	0.98 (0.05)*	0.89 (0.10)
血糖 mg/dL	168 (8)	174 (11)	162 (9)
胰島素 ng/mL	11.9 (1.0)	13.8 (1.2)	12.3 (1.0)
三酸甘油酯 mg/dL	188 (40)	252 (31)*	231 (33)*
瘦體素 ng/mL	16.3 (1.7)	15.5 (1.4)	16.9 (2.1)

CN：對照組；LE：去除皮下脂肪組；LR：去除皮下脂肪合併瘦體素補充組
數據表示為平均值(標準偏差)

*表示與對照組(CN 組小鼠)比較時，統計上具有顯著差異 $P < 0.05$

雖然在本實驗中並未測量 LE 組肥胖小鼠在手術後 1 週內的血瘦體素濃度，不過由先前的相關實驗結果顯示血瘦體素濃度會隨著所摘除掉的脂肪量多寡而降低。LE 組肥胖小鼠的血瘦體素濃度在手術後 4 週或手術後 12 週都與 CN 組肥胖小鼠之間並無差異，此部分的結果說明血瘦體素濃度直接反映肥胖小鼠的體脂肪量。在本實驗中，LE 組肥胖鼠只去除腹股溝部位皮下脂肪，而其總體脂肪量在術後 4 週時與 CN 組肥胖小鼠間已無顯著差異，因此 LE 組肥胖小鼠雖有稍低

的血瘦體素濃度，但此與 CN 組肥胖小鼠間無顯著性統計差異。同樣地，在手術後 12 週，LE 組肥胖小鼠與 CN 組肥胖小鼠有相似的總體脂肪量與血瘦體素濃度，雖然已知內臟脂肪的瘦體素分泌量會較皮下脂肪來得少，但此影響在本實驗中並不明顯。另外本實驗的結果指出肥胖小鼠在去除皮下脂肪後，給與瘦體素補充處理對其內臟脂肪的增加或胰島素阻抗的現象都無明顯的影響效果。LR 組肥胖小鼠在去脂手術後 4 週及 12 週時的體重、總體脂肪量、附睪脂肪量、血糖、血胰島素、血三酸甘油酯與血瘦體素濃度皆與 LE 組肥胖小鼠之間並無顯著統計差異。另外 LR 組肥胖小鼠與 LE 組肥胖小鼠在手術後 12 週的耐糖反應也無明顯差異。由 LR 組肥胖小鼠的胰島素/血糖比值與 LE 組肥胖小鼠相類似來看 (0.76 VS 0.79, $P>0.05$)，此結果間接指出去除皮下脂肪後的內臟脂肪回饋性增加的現象可能不會受到瘦體素補充處理所影響。

雖然本實驗結果指出高脂飼料肥胖小鼠在去除皮下脂肪後的內臟脂肪回饋性增加作用與瘦體素無關，但此結果也可能因為受到本實驗所給與的瘦體素補充劑量太小、或由微幫浦持續投與而非在晚上小鼠進食時段前投與、或瘦體素補充處理時間過短等因素所影響。在實驗中，LR 組肥胖小鼠的體重增加情形或飼料進食量在給與瘦體素補充後，在手術後 2 週內雖有較 LE 組肥胖小鼠出現略為降低的情形，但隨後則無明顯不同，此似乎說明在本實驗中所給與的瘦體素補充劑量或投與時機可能尚不夠引發肥胖小鼠發生明顯的抑食效果。另外由瘦體素補充處理無法造成 LR 組肥胖小鼠的體脂肪累積等發生明顯改變，也間接說明瘦體素的補充處理可能需要持續較長的時間才有可能看出效果。雖然最近有動物實驗結果指出去除脂肪後的體脂肪回饋性累積增加的生理調節機制與瘦體素無關 [8, 12, 18]，不過因為這些實驗所去除掉的是內臟脂肪(附睪脂肪組織)而不是皮下脂肪，所以有關瘦體素是否直接影響或間接透過其它脂肪激素的作用 [22]，而參與去除皮下脂肪後所造成的內臟脂肪累積增加的調節過程仍有待進一步釐清與探討。

肆、結論

本實驗的結果指出肥胖小鼠在去除皮下脂肪後，反而會造成其內臟脂肪的回饋性增加，進而惡化其胰島素阻抗的情形。另外去除皮下脂肪後的內臟脂肪回饋性增加的作用機制可能與瘦體素無關。

謝 致

我們感謝行政院退輔會台中榮民總醫院提供研究經費補助(TCVGH-

915905B)·與台中榮民總醫院醫學研究部洪義文博士與李秉碩小姐提供實驗材料及協助進行小鼠手術等工作。

參考文獻

1. Wang T, Xu M, Bi Y, et al. Interplay between diet and genetic susceptibility in obesity and related traits. *Front Med* 2018; 12:601-607.
2. Gustafson B, Hedjazifar S, Gogg S, et al. Insulin resistance and impaired adipogenesis. *Trend Endocrinol Metab* 2015; 26:193-200.
3. Foster MT, Pagliassotti MJ. Metabolic alterations following visceral fat removal and expansion. *Adipocyte* 2012; 1:192-199.
4. Benatti F, Solis M, Artioli G, et al. Liposuction induces a compensatory increase of visceral fat which is effectively counteracted by physical activity: a randomized trial. *J Clin Endocrinol Metab* 2012; 97:2388-2395.
5. Rehrer CW, Karimpour-Fard A, Hernandez TL, et al. Regional differences in subcutaneous adipose tissue gene expression. *Obesity* 2012; 20:2168-2173.
6. Yost TJ, Rodgers CM, Eckel RH. Suction lipectomy: outcome relates to region-specific lipoprotein lipase activity and interval weight change. *Plast Reconstr Surg* 1993; 92:1101-8.
7. Matarasso A, Kim RW, Kral JG. The impact of liposuction on body fat. *Plast Reconstr Surg* 1998; 102: 1686-9.
8. Foster MT, Sofic S, Caldwell J, et al. Subcutaneous adipose tissue transplantation in diet-induced obese mice attenuates metabolic dysregulation while removal exacerbates it. *Physiol Rep* 2013; 1:e00015.
9. Liszka TG, Dellon AL, Im M, et al. Effect of lipectomy on growth and development of hyperinsulinemia and hyperlipidemia in the Zucker rat. *Plast Reconstr Surg* 1998; 102: 1122-7.
10. Weber RV, Buckley MC, Fried SK, et al. Subcutaneous lipectomy causes a metabolic syndrome in hamsters. *Am J Physiol* 2000; 279: R936-43.
11. Park HK, Ahima RS. Physiology of leptin: energy homeostasis, neuroendocrine function and metabolism. *Metabolism* 2015; 64:24-34.
12. Paz-Filho G, Mastronardi CA, Licinio J. Leptin treatment: facts and expectations. *Metabolism* 2015; 64:146-156.
13. Adami GF, Cordera R, Campostano A, et al. Serum leptin and weight loss in severely obese patients undergoing biliopancreatic diversion. *Int J Obes* 1998; 22: 822-4.
14. De-Marinis L, Mancini A, Valle D, et al. Plasma leptin levels after biliopancreatic diversion: dissociation with body mass index. *J Clin*

- Endocrinol Metab 1999; 84: 2386-9.
15. Chen MD, Ou LF, Song YM. Plasma leptin levels reduced in women after suction lipectomy. Mayo Clin Proc 2001; 76:1177-8.
16. Andrikopoulos S, Blair AR, Deluca N, et al. Evaluating the glucose tolerance test in mice. Am J Physiol Endocrinol Metab 2008; 295:E1323-E1332.
17. Chen MD, Song YM, Lin PY. Zinc may be a mediator of leptin production in humans. Life Sci 2000; 66:2143-2149.
18. Mauer MM, Harris RBS, Batness TJ. The regulation of total body fat: lessons learned from lipectomy studies. Neurosci Biobehavior Rev 2001; 25:15-28.
19. Shi H, Strader AD, Woods SC, et al. Sexually dimorphic responses to fat loss after caloric restriction or surgical lipectomy. Am J Physiol Endocrinol Metab 2007; 293:E316-E326.
20. Busetto L, Bassetto F, Zocchi M, et al. The effects of the surgical removal of subcutaneous adipose tissue on energy expenditure and adipocytokine concentrations in obese women. Nutr Metab Cardiovascular Dis 2008; 18:112-120.
21. El-Kafoury BMA, Bahgat NM, Abdel-Hady EA, et al. Impaired metabolic and hepatic functions following subcutaneous lipectomy in adult obese rats. Exp Physiol 2019; 104:1661-1677.
22. Kao KP, Song YM, Chen MD. Lepin administration during pregnancy improves maternal undernourishment induced metabolic abnormalities in adult offspring. IOSR J Pharm Biol Sci 2019; 14:66-69.