论著·基础医学

慢性低氧通过肝因子ANGPTL3介导的线粒体损伤与脂肪产热抑制降低耐寒能力

黄榆杰[1,2],黄玲芳[3],郑明海[1,2],熊 坤[1,2],谭小玲[1,2] 陆军军医大学(第三军医大学):高原军事医学系寒区医学教研室[1],极端环境医学教育部重点实验室[2],护理系临床护理学教研室[3],重庆

[摘要] **目的** 探讨肝因子血管生成素样蛋白3(angiopoietin-like 3,ANGPTL3)在慢性低氧暴露导致耐寒能力下降中的作用及机制。**方法** ①7~8周龄、体质量220~260 g的雄性SD大鼠随机分为(*n*=20):常氧组[N组,海拔308 m、(24.0±0.5)℃常氧环境饲养]和低氧组[H组,模拟海拔5 800 m、(24.0±0.5)℃低压氧舱饲养],每组选取12只大鼠在腹腔埋入可测体温的植入子用于后续测核心体温(core body temperature, Tc)。②雄性SD大鼠随机分为(*n*=20):低氧(H)组和低氧+ANGPTL3抑制剂(每周Vupanorsen 2 mg/kg腹腔注射1次)干预(H+V)组,每组选取12只大鼠在腹腔埋入可测体温的植入子用于后续测Tc,大鼠均于模拟海拔5 800 m、(24.0±0.5)℃低压氧舱饲养。6周后,每组取未埋入植入子的8只大鼠采集血液及肝组织,自动生化分析仪测定血清谷草转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)水平,ELISA法检测血液肝因子水平,透射电镜观察肝细胞线粒体形态,Western blot检测肝组织ANGPTL3蛋白水平。每组埋入植入子的12只大鼠分别置于低氧寒冷环境(模拟海拔5 800 m、6 ℃)下24 h或置于常氧寒冷环境(海拔308 m、−10 ℃)下6 h,用生理信号遥测系统检测Tc以评价耐寒能力,Western blot检测皮下白色脂肪组织的解偶联蛋白1(uncoupling protein 1,UCP1)蛋白水平以评估白色脂肪棕色化程度。**结果** ①与低氧常温环境(5 800 m、24 ℃)暴露相比,H组大鼠在低氧寒冷环境(5 800 m、6 ℃)暴露后的Tc显著降低(*P*<0.05)。②常氧寒冷环境下(308 m、−10 ℃、6 h),N组和H组大鼠Tc均显著下降,且H组Tc显著低于N组(*P*<0.05)。③与N组相比,H组大鼠血清ANGPTL3水平显著增加(*t*=7.3,*df*=10,95%*CI*:2.553~2.687,*P*<0.000 1),肝脏ANGPTL3蛋白水平也显著增加(*t*=6.532,*df*=10,95%*CI*:26.98~54.92,*P*<0.000 1)。④与H组相比,H+V组大鼠血清ANGPTL3水平显著降低(*t*=7.803,*df*=10,95%*CI*:−196.8~−109.4,*P*=0.000 4),肝脏ANGPTL3蛋白水平也显著降低(*t*=3.514,*df*=10,95%*CI*:−66.14~−14.81,*P*=0.006)。⑤在常氧寒冷环境暴露(308 m、−10 ℃、6 h),H组和H+V组大鼠Tc均显著下降,且H+V组Tc显著高于H组(95%*CI*:−0.629~−0.452,*P*=0.000 4)。⑥在低氧寒冷环境暴露(5 800 m、6 ℃、24 h),H组和H+V组大鼠Tc均显著下降,且H+V组Tc显著高于H组(95%*CI*:−0.568~−4.431,*P*=0.018 1)。⑦与N组相比,H组大鼠肝细胞线粒体形态结构明显损伤、血清AST水平显著升高(*t*=14.15,*df*=14,95%*CI*:51.61~70.04,*P*<0.000 1)。⑧与H组相比,H+V组大鼠肝细胞线粒体形态结构显著改善、血清AST水平显著下降(*t*=4.879,*df*=14,95%*CI*:−47.24~−18.39,*P*=0.000 2)。⑨在低氧寒冷环境暴露(5 800 m、6 ℃、24 h)后,与H组相比,H+V组大鼠皮下白色脂肪组织中UCP1蛋白水平显著增加(*t*=2.26,*df*=10,95%*CI*:0.849~118.1,*P*=0.047)。**结论** 慢性低氧暴露可促使肝脏ANGPTL3水平增加并释放入血,进而通过损伤肝细胞线粒体以及抑制白色脂肪棕色化潜能,导致耐寒能力下降。

[关键词] ANGPTL3;低氧;耐寒能力;线粒体;白色脂肪棕色化

[中图法分类号] R339.55;R341;R364.4 [文献标志码] A

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(32071122)

[通信作者] 谭小玲,E-mail:tanxl0511@163.com

2097-0927/Copyright © 2026, 陆军军医大学(第三军医大学)。这篇开放获取文章遵循 CC BY 许可协议 (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

引用格式:黄榆杰,黄玲芳,郑明海,等. 慢性低氧通过肝因子ANGPTL3介导的线粒体损伤与脂肪产热抑制降低耐寒能力[J]. 陆军军医大学学报,2026,48(01):54-62. DOI:10.16016/j.2097-0927.202510098.

Citation:HUANG Y J, HUANG L F, ZHEGN M H, *et al*. Chronic hypoxia reduces cold tolerance *via* hepatic ANGPTL3-driven mitochondrial damage and adipose thermogenesis suppression[J]. J Army Med Univ, 2026, 48(01):54-62. DOI:10.16016/j.2097-0927.202510098.

Chronic hypoxia reduces cold tolerance *via* hepatic ANGPTL3-driven mitochondrial damage and adipose thermogenesis suppression

HUANG Yujie[1,2], HUANG Lingfang[3], ZHEGN Minghai[1,2], XIONG Kun[1,2], TAN Xiaoling[1,2] [1]Department of Frigid Zone Medicine, College of High Altitude Military Medicine; [2]Key Laboratory of Extreme Environmental Medicine of Ministry of Education; [3]Department of Clinical Nursing, School of Nursing, Army Medical University (Third Military Medical University), Chongqing, China

[**Abstract**] Objective To investigate the role and mechanism of hepatic-derived angiopoietin-like 3 (ANGPTL3) in mediating reduced cold tolerance induced by chronic hypoxic exposure. Methods ① Male Sprague-Dawley (SD) rats (7 to 8 weeks old, weighing 220 to 260 g) were randomly divided into a normoxic group (N, housed at an ambient condition of altitude 308 m and 24.0±0.5 ℃) and a hypoxic group (H, housed in a hypobaric hypoxic chamber of simulating an altitude 5 800 m and 24.0±0.5 ℃), with 20 rats in each group. Twelve rats from each group were implanted intraperitoneally with temperature-sensing transponders for subsequent measurement of core body temperature (Tc). ② Male SD rats were randomly divided into (n=20 per group): a hypoxic (H) group and a hypoxic+ANGPTL3 inhibitor [Vupanorsen 2 mg/(kg·w)] intervention (H+V) group. Twelve rats from each group were implanted intraperitoneally with temperature-sensing transponders for subsequent Tc measurement. The rats in the H and H+V groups were all housed in a hypobaric hypoxic chamber (simulated altitude 5 800 m, 24.0±0.5 ℃). After 6 weeks, 8 non-implanted rats per group were anesthetized for blood and liver tissue collection. Serum aspartate aminotransferase (AST) level was measured using an automatic biochemical analyzer. Blood levels of hepatic factors were detected with ELISA. Hepatic mitochondrial morphology was assessed by transmission electron microscopy (TEM). Hepatic ANGPTL3 protein level was quantified by Western blotting. The 12 implanted rats from each group were exposed to either a hypoxic cold environment (5 800 m, 6 ℃ for 24 h) or a normoxic cold environment (308 m, −10 ℃ for 6 h). Tc was monitored using a physiological signal telemetry system to assess cold tolerance. Western blotting was used to detect the protein level uncoupling protein 1 (UCP1) in subcutaneous white adipose tissue as an indicator of browning potential. Results ① Compared to normothermic hypoxia (5 800 m, 24 ℃), the group H exhibited a significant Tc decrease during hypoxic cold exposure (5 800 m, 6 ℃) (P<0.05). ② During normoxic cold exposure (308 m, −10 ℃, 6 h), Tc was significantly decreased in both groups N and H, and it was obviously lower in the group H than the group N (P<0.05). ③ Compared to the N group, serum ANGPTL3 level (t=7.3, df=10, 95%CI: 2.553 to 2.687, P<0.000 1) and hepatic ANGPTL3 protein level (t=6.532, df=10, 95%CI: 26.98 to 54.92, P<0.000 1) were notably elevated in the group H. ④ Compared to the H group, serum ANGPTL3 level (t=7.803, df=10, 95%CI: −196.8 to −109.4, P=0.000 4) and hepatic ANGPTL3 protein level (t=3.514, df=10, 95%CI: −66.14 to −14.81. P=0.006) were remarkably decreased in the group H+V. ⑤ During normoxic cold exposure (308 m, −10 ℃, 6 h), Tc was significantly decreased in both groups H and H+V, with that of the group H+V significantly higher that of the group H (95%CI: −0.629 to −0.452, P=0.000 4). ⑥ Under hypoxic cold exposure (5 800 m, 6 ℃, 24 h), Tc was decreased significantly in both groups H and H+V, with that in the H+V group higher than that of the group H (95%CI: −0.568 to −4.431, P=0.018 1). ⑦ Compared to the N group, hepatocyte mitochondrial morphology was significantly damaged and serum AST level was significantly increased (t=14.15,df=14,95%CI:51.61 to 70.04,P<0.000 1) in the group H. ⑧ Compared to the group H, hepatocyte mitochondrial morphology was significantly improved and the serum AST level was significantly decreased (t=4.879, df=14, 95%CI: −47.24 to −18.39, P=0.000 2) in the group H+V. ⑨ Following hypoxic cold exposure (5 800 m, 6 ℃, 24 h), the protein level of UCP1 in subcutaneous white adipose tissue was significantly increased in the group H+V than the group H (t=2.26, df=10, 95%CI: 0.849 to 118.1, P=0.047). Conclusion Chronic hypoxic exposure increases hepatic ANGPTL3 production and release into blood circulation, subsequently impairing cold tolerance. This effect is mediated through ANGPTL3-induced hepatic mitochondrial damage and suppression of white adipose tissue browning potential.

[**Key words**] angiopoietin-like 3; hypoxia; cold tolerance; mitochondria; white adipose tissue browning

Supported by the General Program of National Natural Science Foundation of China (32071122). Corresponding author: TAN Xiaoling, E-mail: tanxl0511@163.com

低氧、寒冷是高原环境的主要特征。以往的研究主要关注低氧对健康和劳动能力的影响,对高原寒冷因素的影响研究较少。越来越多的研究表明,高原寒冷环境下,冷损伤(冻疮、冻伤、低体温症)和高原病等特发病的发生风险大大增加[1-2],严重威胁高原人群的健康,甚至生命安全。因高原地区基础建设和国防安全需要,野外作业时间越来越长。如何提升高原耐寒能力,减轻寒冷带来的不利影响,是高海拔地区医疗保障的重要课题。

耐寒能力是指机体对寒冷环境的耐受性,可通过核心体温(core body temperature, Tc)、冷应激反应(寒战、心率加快、皮肤血管收缩等)等进行评价。高原低氧环境可导致耐寒能力下降。首先,高原冷暴露时,因"氧需(产热耗氧增加)-氧供(低氧环境限制供氧)"矛盾加剧,导致产热能力受限;此外,常驻高海拔地区人员常见的心肺储备功能下降、血液黏稠等问题,影响冷暴露时的组织供氧,进一步限制产热。有研究也发现10 d的低氧暴露会增加足部冻伤的风险[3]。

肝脏是重要的代谢和产热器官[4],肝脏损伤不仅导致代谢紊乱、产热下降,还会对心肺脑等多个器官产生有害影响[5]。高原人群肝功能指标异常率及脂肪肝患病率高的现象十分常见[6-7]。本课题组前期研究也证实,慢性低氧暴露可导致大鼠肝功能显著异常并出现病理损伤[8]。因此,从肝脏功能角度,探讨高原耐寒能力降低的机制非常重要。产热是生物体维持体温和应对寒冷环境的核心机制,直接影响耐寒能力。肝脏不仅自身产热量高,还可通过释放关键因子入血,调控脂肪等组织的产热[9]。本课题组前期研究发现,低氧显著增加肝因子血管生成素样蛋白3(angiopoietin-like 3, ANGPTL3)的表达和分泌。那么,低氧导致的ANGPTL3水平异常升高是否影响耐寒能力?本研究以大鼠为模型,在系统观察慢性低氧暴露对耐寒能力影响的基础上,探讨肝因子ANGPTL3在低氧暴露影响耐寒能力中的作用及机制。

1 材料和方法

1.1 实验材料

1.1.1 主要药品与试剂 大鼠ANGPTL3酶联免疫吸附测定试剂盒(JL21380)购自江莱生物公司;大鼠骨形态发生蛋白9(bone morphogenetic protein, BMP9)酶联免疫吸附测定试剂盒(SEB728Ra)购自武汉云克隆科技有限公司;大鼠成纤维细胞生长因子21(fibroblast growth factor 21, FGF21)酶联免疫吸附测定试剂盒(ml037316)购自上海酶联生物科技有限公司;ANGPTL3抗体(MA5-35681)购自美国英杰生命技术有限公司;Actin抗体(AA128)购自上海碧云天公司;解偶联蛋白1(uncoupling protein 1, UCP1, 72298)购自美国CST公司;靶向抑制肝脏ANGPTL3蛋白合成的反义寡核苷酸Vupanorsen[10](HY-153497)购自美国MCE试剂公司;血气分析芯片(Abbott, CG4+)购自重庆茗昇医疗科技有限公司;乌来糖(S11036)购自上海源叶生物科技有限公司。

1.1.2 实验动物 7~8周龄、体质量220~260 g的雄性SD大鼠80只,由陆军军医大学实验动物中心提供。动物实验按照机构规范进行,并获得了陆军军医大学实验动物福利与伦理委员会的批准(SYXC-2017-0002)。大鼠分笼饲养于(24.0±0.5) ℃、50%~60%湿度和12 h/12 h明暗循环的环境中,自由摄食普通饲料。

1.2 动物实验

本研究分两阶段系统评估低氧环境及药物干预对大鼠的影响,每阶段均包括动物处理、生理生化与组织学检测、耐寒能力评价3部分。第一阶段明确持续6周低氧(模拟海拔5 800 m)暴露对大鼠肝功能、肝组织超微结构、肝因子表达及耐寒能力的作用;第二阶段探究ANGPTL3抑制剂Vupanorsen对上述低氧相关改变的干预效果。

1.2.1 慢性低氧暴露对大鼠肝脏及耐寒能力的影响实验

1.2.1.1 动物分组与处理 适应性喂养后,40只大鼠按体质量大小进行分层,然后使用随机数字表法分为(n=20):常氧(N)组和低氧(H)组。每组选取12只大鼠使用异氟烷进行吸入麻醉,然后行腹部垂直中线切口埋入可测体温的植入子用于后续测Tc。N组所有大鼠置于海拔308 m、(24.0±0.5)℃的平原环境中饲养,H组所有大鼠置于模拟海拔5 800 m、(24.0±0.5)℃的低压氧舱内饲养。所有大鼠喂养6周,自由饮水和进食。

1.2.1.2 生理生化指标测定与组织采集 6周后,对每组未埋入植入子的8只大鼠用乌来糖(15%, 10 mL/kg)麻醉后取血。收集血液后,室温静置2 h,在4 ℃条件下以3 000×g离心10 min,分离血清,自动生化分析仪测定血清中谷草转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)水平,ELISA法检测血清中ANGPTL3、BMP9和FGF21水平,实验操作严格按照试剂盒说明书进行。采血后,处死大鼠,分离肝组织,切取适当大小的肝组织,置于2.5%的戊二醛溶液中进行固定,送至陆军军医大学生物分析测试中心用于后续的透射电镜观察。其余组织立即放入液氮中进行冷冻,随后放入-80 ℃冰柜保存。

1.2.1.3 耐寒能力评价 研究采用埋入植入子的12只大鼠。N组:6只大鼠置于低氧寒冷环境(模拟海拔5 800 m、6 ℃)下24 h;另外6只大鼠置于常氧寒冷环境(海拔308 m、-10 ℃)下6 h。H组:6只大鼠于低氧常温环境(5 800 m、24 ℃)检测24 h的Tc后,再置于

低氧寒冷环境(5 800 m、6 ℃)下24 h;另外6只大鼠置于常氧寒冷环境(海拔308 m、-10 ℃)下6 h。

1.2.1.4　检测指标　　Tc:用DSI小动物生理信号遥测系统接收植入子发送的Tc信号,每分钟记录1次Tc,并计算每小时的平均Tc。血气分析:冷暴露后取股动脉血,用小动物血气分析仪检测动脉血氧分压(arterial oxygen partial pressure,PaO_2)和动脉血氧饱和度(arterial oxygen saturation,SaO_2)等。

1.2.2　Vupanorsen干预对低氧暴露大鼠肝脏及耐寒能力的影响实验

1.2.2.1　动物分组与处理　　适应性喂养后,40只大鼠按体质量大小进行分层,然后使用随机数字表法分为(n=20):低氧(H)组和Vupanorsen干预+低氧(H+V)组。每组选取12只大鼠使用异氟烷进行吸入麻醉,然后行腹部垂直中线切口埋入可测体温的植入子用于后续测Tc,术后给予头孢呋辛钠,术后7 d进行实验;每组剩余8只大鼠正常喂养。所有大鼠置于模拟海拔5 800 m、(24.0±0.5)℃的低压氧舱内饲养。H+V组大鼠每周用Vupanorsen(2 mg/kg)腹腔注射1次,H组大鼠腹腔注射等量无菌水溶剂。所有大鼠喂养6周,自由饮水和进食。

1.2.2.2　生理生化指标与组织采集　　6周后,对每组未埋入植入子的8只大鼠用乌来糖(15%,10 mL/kg)麻醉后取血。收集血液后,室温静置2 h,在4 ℃条件下以3 000×g离心10 min,分离血清,自动生化分析仪测定血清AST水平,ELISA法检测血清中ANGPTL3水平,实验操作严格按照试剂盒说明书进行。采血后,处死大鼠,分离肝组织。肝组织电镜样本制备与组织冻存方法同1.2.1.2所述。

1.2.2.3　耐寒能力评价　　研究采用埋入植入子的12只大鼠。H组:6只大鼠置于低氧寒冷环境(5 800 m、6 ℃)下24 h;另外6只大鼠置于常氧寒冷环境(海拔308 m、-10 ℃)下6 h。H+V组:6只大鼠置于低氧寒冷环境(模拟海拔5 800 m、6 ℃)下24 h;另外6只大鼠置于常氧寒冷环境(海拔308 m、-10 ℃)下6 h。Tc和血气分析方法同1.2.1.4所述。白色脂肪棕色化情况分析:冷暴露后取皮下白色脂肪组织,用于后续检测UCP1蛋白水平,分析白色脂肪棕色化情况。

1.3　Western blot实验

将肝脏或白色脂肪组织在含有蛋白酶抑制剂的Western及IP细胞裂解液(碧云天,中国)中进行匀浆,在冰上充分裂解后收集上清液,按体积加入5×SDS上样缓冲液制备蛋白样品。蛋白样品上样至SDS-PAGE凝胶,电泳后转移至PVDF膜上。用5%BSA室温封闭2 h,随后在4 ℃下与一抗孵育过夜,再与二抗孵育。使用增强化学发光法显影。采用Image J软件进行条带光密度分析。

1.4　统计学分析

采用SPSS 26.0统计软件,数据用$\bar{x}\pm s$表示。两组间比较采用t检验;采用双因素重复测量方差分析,并辅以Bonferroni事后检验,对不同组别大鼠在不同时间点平均Tc进行比较。P<0.05表示差异具有统计学意义。

2　结果

2.1　慢性低氧暴露显著增加大鼠肝脏和血清中ANGPTL3水平

慢性低氧暴露实验结果显示:与N组相比,H组大鼠血清ANGPTL3水平显著增加、FGF21水平显著下降(P<0.05,图1);而低氧暴露对大鼠血清BMP9的水平无显著影响(图1)。2组大鼠肝脏ANGPTL3蛋白水平比较结果显示:与N组相比,H组大鼠肝脏ANGPTL3蛋白水平显著上升(P<0.05,图2)。

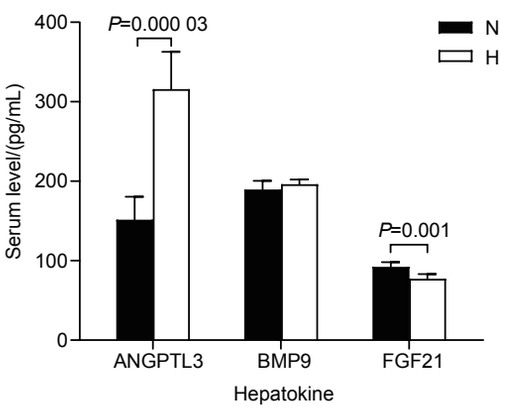
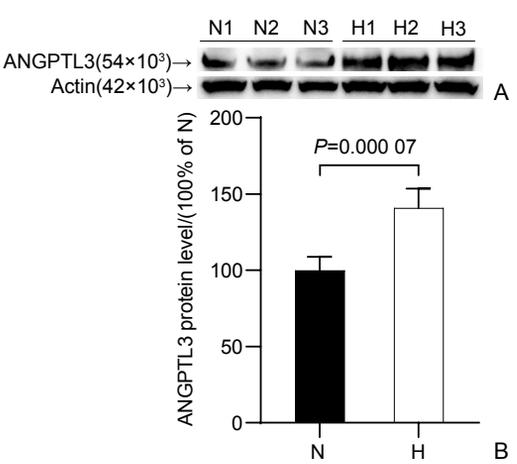


图1　慢性低氧暴露对大鼠血清ANGPTL3、BMP9和FGF21水平的影响(n=6,$\bar{x}\pm s$)

Figure 1　Effects of chronic hypoxic exposure on serum levels of ANGPTL3, BMP9 and FGF21 in rats (n=6,$\bar{x}\pm s$)



A: Representative images of Western blotting result of ANGPTL3 in the liver tissues; B: Statistical analysis of ANGPTL3 protein level

图2　慢性低氧暴露对大鼠肝脏ANGPTL3蛋白水平的影响(n=6,$\bar{x}\pm s$)

Figure 2　Effects of chronic hypoxic exposure on ANGPTL3 protein level in rat liver (n=6,$\bar{x}\pm s$)

2.2　慢性低氧暴露降低大鼠耐寒能力

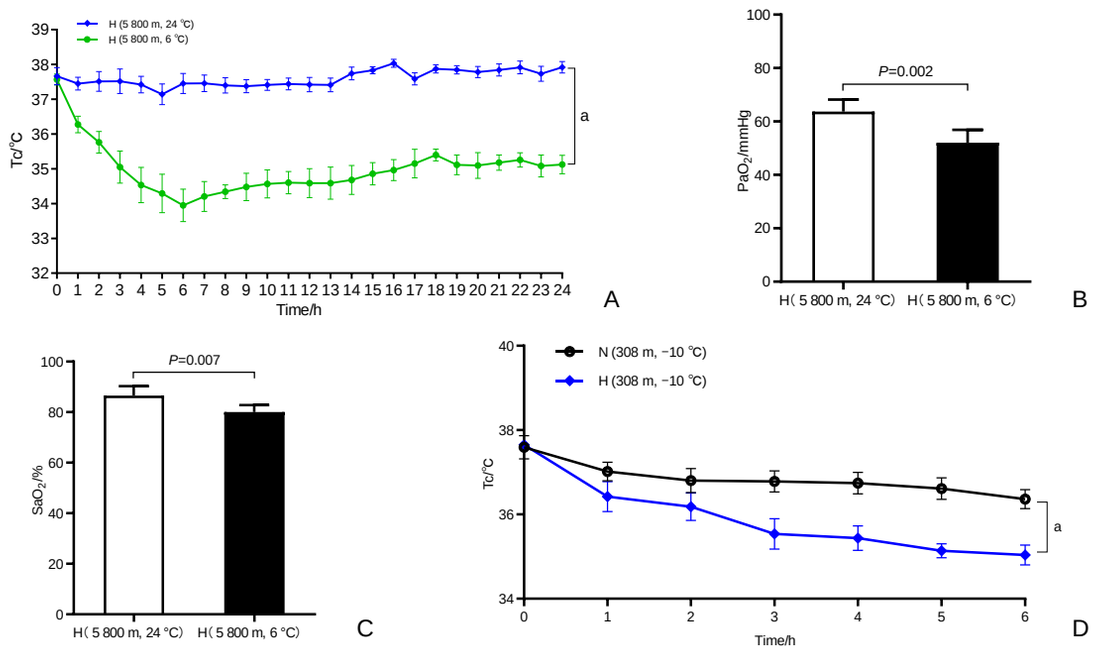
检测H组大鼠Tc和血氧水平的结果显示：与低氧常温环境(5 800 m、24 ℃)相比，低氧寒冷环境(5 800 m、6 ℃)暴露大鼠的Tc、PaO_2和SaO_2均显著降低(P<0.05，图3A~C)。N组和H组大鼠在常氧寒冷环境(308 m、−10 ℃)暴露6 h，检测Tc结果显示：2组大鼠Tc均明显下降，且H组Tc显著低于N组(P<0.05，图3D)。

2.3　低氧环境下，Vupanorsen干预显著降低大鼠肝脏和血清ANGPTL3水平

低氧环境下，用ANGPTL3抑制剂Vupanorsen干预后2组大鼠肝脏和血清ANGPTL3水平比较结果显示：与H组相比，H+V组大鼠肝脏ANGPTL3蛋白水平显著降低(P<0.05，图4A、B)；与H组相比，H+V组大鼠血清ANGPTL3水平也显著降低(P<0.05，图4C)。

2.4　Vupanorsen干预可以增强大鼠耐寒能力

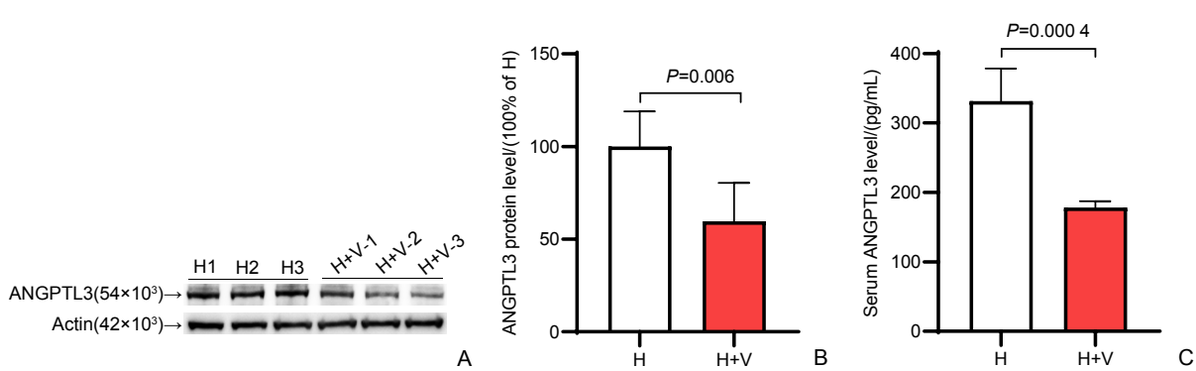
2组实验大鼠在常氧寒冷环境(308 m、−10 ℃)暴露6 h后：H组和H+V组大鼠Tc均显著下降，但H+V组Tc显著高于H组(P<0.05，图5A)。在低氧寒冷环境(5 800 m、6 ℃)暴露24 h后，与H组相比，H+V组大鼠Tc更高、恢复时间更早、回升得更高(P<0.05，图5B)；



A: Tc of rats in the H group exposed to a normothermic hypoxic environment (5 800 m, 24 ℃) or a hypoxic cold environment (5 800 m, 6 ℃) for 24 h; B: PaO_2 level; C: SaO_2 level; D: Tc of rats in the groups N and H exposed to a normoxic cold environment (308 m, −10 ℃) for 6 h. Tc: Core body temperature. a: P<0.05

图3　慢性低氧暴露对大鼠耐寒能力的影响(n=6，$\bar{x}\pm s$)

Figure 3　Effects of chronic hypoxic exposure on cold tolerance in rats (n=6，$\bar{x}\pm s$)



A: Representative images of Western blotting result of ANGPTL3 in the liver tissues; B: Statistical analysis of ANGPTL3 protein level; C: The serum level of ANGPTL3 in rats

图4　低氧环境下Vupanorsen干预对大鼠肝脏和血清ANGPTL3水平的影响(n=6，$\bar{x}\pm s$)

Figure 4　Effects of vupanorsen intervention on ANGPTL3 levels in rat liver and serum under hypoxic condition (n=6，$\bar{x}\pm s$)

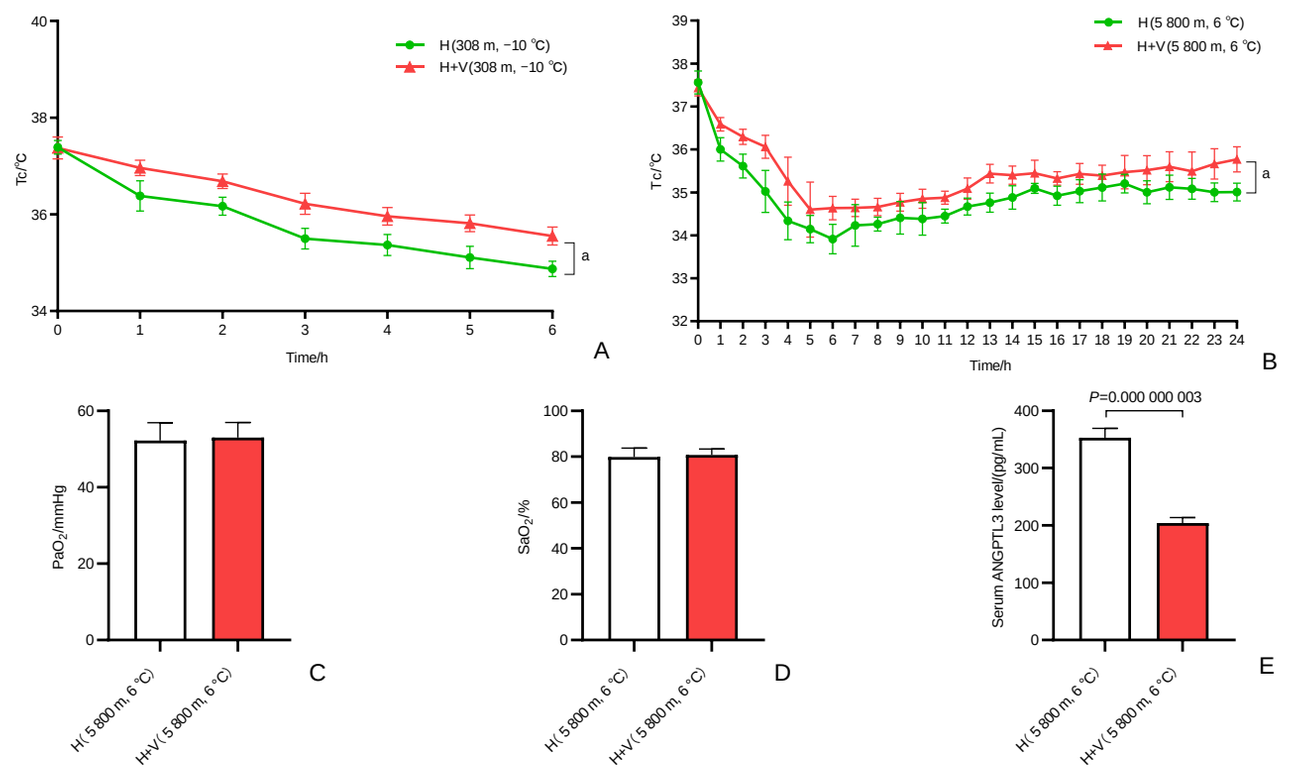
PaO_2和SaO_2水平无明显改变(图5C、D);血清ANGPTL3水平也显著降低(P<0.05,图5E)。

2.5　低氧环境下,Vupanorsen干预可有效减轻大鼠肝组织线粒体损伤

N组大鼠肝细胞线粒体形态结构正常,H组大鼠肝细胞线粒体出现膜密度增加、嵴断裂变形等形态学改变(图6A)。与N组相比,H组大鼠血清AST水平显著升高(P<0.05,图6B);与H组相比,H+V组大鼠肝细胞线粒体形态结构显著改善(图6A),血清AST水平显著降低(P<0.05,图6B)。

2.6　低氧环境下,Vupanorsen干预可促进白色脂肪组织棕色化

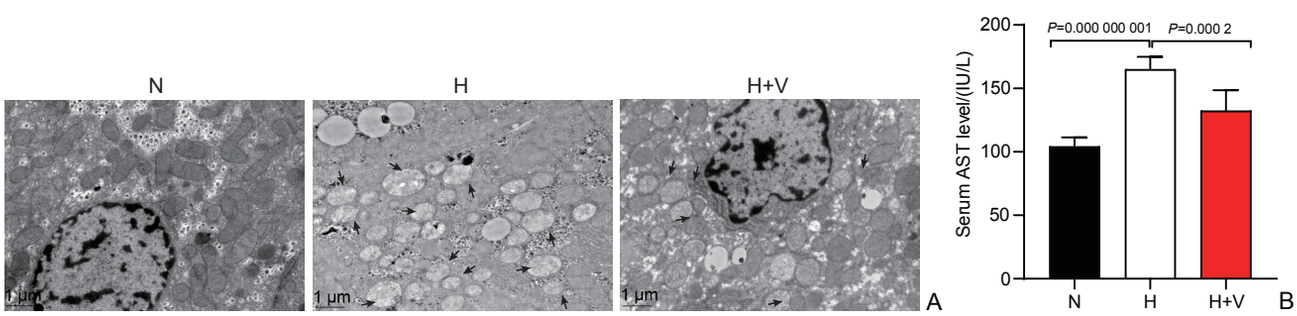
2组实验大鼠在低氧寒冷环境(5 800 m、6 ℃)暴露24 h后,与H组相比,H+V组大鼠皮下白色脂肪组织中棕色化相关标志蛋白UCP1的水平显著增加(P<0.05,图7)。



A: Tc of rats in the groups H and V+H exposed to a normoxic cold environment (308 m, −10 ℃) for 6 h; B: Tc of rats in the groups H and V+H exposed to a hypoxic cold environment (5 800 m, 6 ℃) for 24 h; C: PaO_2 level; D: SaO_2 level; E: The serum level of ANGPTL3 in rats after hypoxic cold exposure. a: P<0.05

图5　Vupanorsen干预对大鼠耐寒能力的影响(n=6,$\bar{x}\pm s$)

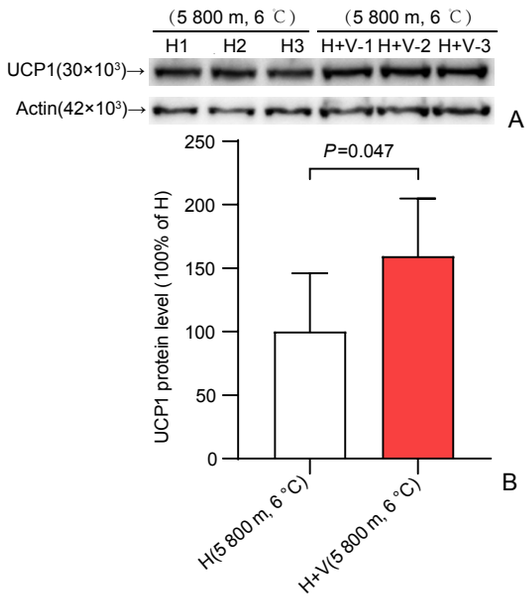
Figure 5　Effects of vupanorsen intervention on cold tolerance in rats (n=6,$\bar{x}\pm s$)



A: Representative images of transmission electron microscopy. The arrows indicate mitochondria with increased electron density and cristae loss; B: The serum AST level in rats

图6　Vupanorsen干预对大鼠肝细胞线粒体和血清AST的影响(n=6,$\bar{x}\pm s$)

Figure 6　Effects of vupanorsen intervention on hepatocyte mitochondria and serum AST level in rats (n=6,$\bar{x}\pm s$)



A: Representative images of Western blotting result of UCP1 in subcutaneous white adipose tissue of rats in the H and V+H groups after hypoxic cold exposure; B: Statistical analysis of UCP1 protein level

图7 Vupanorsen干预对冷暴露后大鼠皮下白色脂肪组织UCP1蛋白水平的影响(n=6,$\bar{x}\pm s$)

Figure 7 Effects of vupanorsen intervention on UCP1 protein level in subcutaneous white adipose tissue of rats after cold exposure(n=6,$\bar{x}\pm s$)

3 讨论

高原冷暴露不仅可导致冷损伤,还会显著增加患高原病的风险。提升高原耐寒能力对于维护高原人群健康具有重要意义。本研究结果显示:慢性低氧暴露所致的大鼠耐寒能力下降与肝因子ANGPTL3水平升高有关;低氧环境下,ANGPTL3降低耐寒能力的机制涉及其对肝细胞线粒体的损伤效应以及对白色脂肪棕色化的抑制作用。

3.1 围绕肝脏来探讨高原耐寒能力降低的机制具有重要意义

为模拟常驻高原人群户外作业时的急性冷暴露场景,我们将大鼠置于低氧环境下6周构建慢性低氧暴露动物模型,随后进行冷暴露,通过检测Tc评价全身耐寒能力。结果表明,慢性低氧暴露会导致大鼠耐寒能力下降。

产热是影响耐寒能力的关键环节。高原急性冷暴露时,氧需-氧供矛盾加剧,缺氧加重,使产热受限,引起机体产热-散热失衡、Tc维持困难,最终导致耐寒能力降低。心肺功能是影响组织供氧的关键。高海拔常驻人员容易出现心血管代偿功能下降、血液黏稠等问题,影响冷暴露时的组织供氧,制约耐寒能力生成。因此,产热调节和组织供氧是影响高原常驻人员耐寒能力的2个重要环节。既往研究已明确慢性低氧暴露对心、肺的损伤作用,但对肝脏的关注相对较少。尽管高原人群肝功能指标异常率及脂肪肝患病率高的现象十分常见,部分慢性高原病患者肝脏也出现显著的病理损伤[11]。然而,肝脏在高原常驻人群耐缺氧及耐寒能力中发挥的作用尚缺乏系统研究。

肝脏不仅自身产热显著,还可分泌关键因子入血,调控脂肪组织等外周器官的产热过程。此外,肝脏与心肺功能联系紧密。研究表明,肝脏分泌的心脏保护因子可改善心力衰竭[12],而肝功能受损可通过干扰脂质代谢、凝血系统、炎症等途径对心血管系统产生不良影响,增加心肌梗死、心力衰竭等心血管事件的风险[13-15]。肝因子FGF21可改善缺氧诱导的肺动脉高压[16];而损伤的肝细胞可以分泌含有精氨酸酶1的细胞外囊泡,引起肺血管内皮细胞功能障碍[17]。临床上也观察到,肝脏疾病发展到一定程度可引起肺毛细血管扩张或肺小动脉重塑,导致低氧血症,肝肺综合征是严重肝脏疾病的常见并发症。因此,理论上,肝脏可能通过直接影响机体产热以及通过调控心肺功能间接影响组织供氧这两条途径,在维持高原耐寒能力中发挥重要作用。

作为高耗氧的代谢与产热器官,肝脏对低氧极为敏感。寒冷刺激本身即增加肝脏耗氧以促进产热。因此,在低氧寒冷复合环境下,肝脏面临的氧需-氧供矛盾尤为突出。围绕肝脏来探讨高原耐寒能力降低的机制,不仅可以为提升高原耐寒能力提供潜在的干预靶点和方法,也为高原健康维护提供了新的研究视角。

3.2 慢性低氧暴露导致的耐寒能力下降与ANGPTL3水平升高有关

肝脏释放的细胞因子(如FGF21、BMP9、ANGPTL3等)可调控脂肪组织产热[18-20],提示肝因子可能是影响高原耐寒能力的重要因素。本研究发现,慢性低氧暴露显著降低了大鼠血清FGF21水平,显著升高了ANGPTL3水平,但对BMP9水平无显著影响。FGF21是重要的代谢调节激素,主要由肝细胞分泌进入循环系统[21]。除肝脏外,FGF21还在胸腺上皮细胞、脂肪细胞、肌肉组织及胰腺中局部产生,发挥自分泌和旁分泌作用。FGF21水平上调可促进白色脂肪棕色化及增强棕色脂肪活性,从而增加产热;而抑制FGF21水平可通过对白色脂肪褐变和棕色脂肪活性的负向调控,削弱机体产热能力[22]。ANGPTL3主要由肝细胞表达和分泌,是调控血清脂质和脂蛋白代谢的关键

因子,也是新兴的降脂药物靶点[23]。近期有研究证实,肥胖模型中上调的ANGPTL3能够抑制脂肪组织产热和白色脂肪棕色化,而敲除ANGPTL3能有效增加产热[20]。然而,低氧环境下,ANGPTL3及FGF21的循环水平变化是否影响耐寒能力尚未见研究。本研究结果显示,慢性低氧暴露导致大鼠血清ANGPTL3水平升高1.08倍,而仅导致血清FGF21水平下降0.16倍。鉴于ANGPTL3水平的显著升高及其在产热调控中的潜在作用,我们选择聚焦ANGPTL3进行后续研究。在低氧环境下,用靶向抑制肝脏ANGPTL3蛋白合成的反义寡核苷酸Vupanorsen处理大鼠,结果发现,Vupanorsen干预可显著增强低氧暴露大鼠的耐寒能力。因此,慢性低氧暴露导致的耐寒能力下降与ANGPTL3水平升高有关,抑制ANGPTL3合成可有效提升高原耐寒能力。那么,ANGPTL3具体通过何种机制影响高原耐寒能力?

3.3 低氧环境下,ANGPTL3通过损伤肝细胞线粒体以及抑制白色脂肪棕色化的潜能,进而降低产热,导致耐寒能力下降

肝脏是人体静息状态下代谢最旺盛、产热最多的内脏器官。线粒体是产热的中心,而肝脏是线粒体含量最丰富的器官之一。本研究发现,慢性低氧暴露会导致大鼠肝细胞线粒体形态结构显著受损。AST主要存在于肝细胞线粒体中,肝细胞轻度受损仅损伤细胞膜,而肝细胞重度受损同时累及细胞膜和线粒体,促使AST大量释放入血。本研究观察到低氧暴露大鼠血清AST水平显著升高,进一步证实低氧暴露会导致肝细胞线粒体损伤。而低氧环境下给予ANGPTL3抑制剂Vupanorsen干预,可显著减轻肝细胞线粒体形态结构损伤,并降低血清AST水平。因此,低氧导致的肝细胞线粒体损伤与ANGPTL3水平升高有关;低氧环境下,ANGPTL3通过损伤肝细胞线粒体,进而影响肝脏产热,导致耐寒能力下降。

白色脂肪组织是机体的重要能量储备库。白色脂肪棕色化是近年来代谢生物学与医学领域的研究热点,指白色脂肪细胞在特定刺激下转化为具有产热能力的米色脂肪细胞,实现从"储能"到"产热"的功能转变,从而增强产热的过程。UCP1是主要表达于棕色脂肪和米色脂肪的特异性标志蛋白,通过介导质子漏将脂肪氧化分解产生的化学能直接转化为热能。本研究将低氧暴露6周后的H组和H+V组大鼠置于冷环境(5 800 m、6 ℃)下24 h,然后分析白色脂肪棕色化情况。结果显示,Vupanorsen干预显著增加了大鼠皮下白色脂肪组织中UCP1蛋白水平。因此,低氧环境下,肝脏ANGPTL3水平的上调抑制了白色脂肪的棕色化潜能,进而限制产热,降低耐寒能力。

研究表明,ANGPTL3水平升高可通过诱发脂代谢紊乱和炎症反应等增加心血管疾病的风险,而ANGPTL3抑制剂可显著降低心血管疾病的发病率和事件风险[24-26]。在低氧寒冷环境(5 800 m、6 ℃)暴露24 h后,与H组相比,尽管H+V组大鼠白色脂肪组织中UCP1显著增加(产热更多,增加耗氧),但Vupanorsen干预并不影响血氧水平。这一现象可能与ANGPTL3抑制剂改善心血管系统功能、进而优化组织供氧有关,具体机制有待进一步研究。

综上所述,本研究揭示了肝因子ANGPTL3在慢性低氧暴露中降低耐寒能力中的重要作用及其机制。慢性低氧暴露促使肝脏合成并释放更多ANGPTL3入血,进而通过损伤肝细胞线粒体和抑制白色脂肪棕色化潜能,导致耐寒能力下降。本研究为提升高原耐寒能力的策略研究提供了科学依据。低氧环境下通过调控肝脏功能,可能为开发增强耐寒能力的干预措施提供有效的靶标和方法。

利益冲突 本文所有作者声明不存在利益冲突

参考文献:

[1] LI M Q, TANG X P, LIAO Z Y, *et al*. Hypoxia and low temperature upregulate transferrin to induce hypercoagulability at high altitude[J]. Blood, 2022, 140(19): 2063-2075. DOI:10.1182/blood.2022016410.

[2] 郑媛媛, 唐玲芳, 谢华, 等. 中药外用制剂在高原官兵常见皮肤病防治中的应用[J]. 联勤军事医学, 2024, 38(7): 631-636. DOI:10.13730/j.issn.2097-2148.2024.07.019.
ZHENG Y Y, TANG L F, XIE H, *et al*. Application of external preparation of traditional Chinese medicine in prevention and treatment of common dermatoses in plateau officers and soldiers[J]. Mil Med Jt Logist, 2024, 38(7): 631-636. DOI:10.13730/j.issn.2097-2148.2024.07.019.

[3] KOUNALAKIS S N, KERAMIDAS M E, AMON M, *et al*. A 10-day confinement to normobaric hypoxia impairs toe, but not finger temperature response during local cold stress[J]. J Therm Biol, 2017, 64: 109-115. DOI: 10.1016/j.jtherbio.2017.01.009.

[4] ABUMRAD N A. The liver as a hub in thermogenesis[J]. Cell Metab, 2017, 26(3): 454-455. DOI: 10.1016/j.cmet.2017.08.018.

[5] TSUTSUMI T, NAKANO D, HASHIDA R, *et al*. The inter-organ crosstalk reveals an inevitable link between MAFLD and extrahepatic diseases[J]. Nutrients, 2023, 15(5): 1123. DOI:10.3390/nu15051123.

[6] 刘伟丽, 蒲玲玲, 徐洪宝, 等. 高原某部军人驻守不同时间血清生化指标分析[J]. 解放军预防医学杂志, 2020, 38(10): 6-8. DOI:10.13704/j.cnki.jyyx.2020.10.003.

LIU W L, PU L L, XU H B, *et al*. Analysis of serum biochemical indexes of soldiers stationed at different time in plateau[J]. J Prev Med Chin PLA, 2020, 38(10): 6-8. DOI: 10.13704/j.cnki.jyyx.2020.10.003.

[7] 祁生贵,更登,李莉,等.非酒精性脂肪性肝病在不同海拔及不同民族人群中的患病率[J].环境卫生学杂志,2022,12(7):533-536. DOI:10.13421/j.cnki.hjwsxzz.2022.07.011.
QI S G, GENG D, LI L, *et al*. The incidence rate for nonalcoholic fatty liver disease in the different ethnic population at high altitude[J]. J Environ Hyg, 2022, 12(7): 533-536. DOI:10.13421/j.cnki.hjwsxzz.2022.07.011.

[8] HUANG Y J, DING Y, GUO X Y, *et al*. Chronic hypoxia induces liver injury *via* PKCδ/ASMase-driven ceramide accumulation and endoplasmic reticulum stress in rats[J]. Lipids Health Dis, 2025, 24(1): 312. DOI:10.1186/s12944-025-02761-w.

[9] SIMCOX J, GEOGHEGAN G, MASCHEK J A, *et al*. Global analysis of plasma lipids identifies liver-derived acylcarnitines as a fuel source for brown fat thermogenesis[J]. Cell Metab, 2017, 26(3): 509-522.e6. DOI:10.1016/j.cmet.2017.08.006.

[10] GAUDET D, KARWATOWSKA-PROKOPCZUK E, BAUM S J, *et al*. Vupanorsen, an N-acetyl galactosamine-conjugated antisense drug to ANGPTL3 mRNA, lowers triglycerides and atherogenic lipoproteins in patients with diabetes, hepatic steatosis, and hypertriglyceridaemia[J]. Eur Heart J, 2020, 41(40): 3936-3945. DOI:10.1093/eurheartj/ehaa689.

[11] 荣黎,曾维政,吴晓玲.高原缺氧与肝脏损伤[J].世界华人消化杂志,2009,17(21):2171-2178. DOI:10.3969/j.issn.1009-3079.2009.21.010.
RONG L, ZENG W Z, WU X L. High altitude hypoxia and liver injury[J]. World Chin J Dig, 2009, 17(21): 2171-2178. DOI:10.3969/j.issn.1009-3079.2009.21.010.

[12] CAO Y, WANG Y C, ZHOU Z Q, *et al*. Liver-heart crosstalk mediated by coagulation factor XI protects against heart failure[J]. Science, 2022, 377(6613): 1399-1406. DOI: 10.1126/science.abn0910.

[13] LIM S, TASKINEN M R, BORÉN J. Crosstalk between nonalcoholic fatty liver disease and cardiometabolic syndrome[J]. Obes Rev, 2019, 20(4): 599-611. DOI: 10.1111/obr.12820.

[14] SUZUKI K, CLAGGETT B, MINAMISAWA M, *et al*. Liver function and prognosis, and influence of sacubitril/valsartan in patients with heart failure with reduced ejection fraction[J]. Eur J Heart Fail, 2020, 22(9): 1662-1671. DOI: 10.1002/ejhf.1853.

[15] NJOKU D B, SCHILLING J D, FINCK B N. Mechanisms of nonalcoholic steatohepatitis-associated cardiomyopathy: key roles for liver-heart crosstalk[J]. Curr Opin Lipidol, 2022, 33(5): 295-299. DOI:10.1097/MOL.0000000000000845.

[16] CAI G X, LIU J J, WANG M B, *et al*. Mutual promotion of FGF21 and PPARγ attenuates hypoxia-induced pulmonary hypertension[J]. Exp Biol Med (Maywood), 2019, 244(3): 252-261. DOI:10.1177/1535370219828692.

[17] ROYO F, MORENO L, MLECZKO J, *et al*. Hepatocyte-secreted extracellular vesicles modify blood metabolome and endothelial function by an arginase-dependent mechanism[J]. Sci Rep, 2017, 7: 42798. DOI:10.1038/srep42798.

[18] MACHADO S A, PASQUARELLI-DO-NASCIMENTO G, SANTOS DA SILVA D, *et al*. Browning of the white adipose tissue regulation: new insights into nutritional and metabolic relevance in health and diseases[J]. Nutr Metab, 2022, 19(1): 61. DOI:10.1186/s12986-022-00694-0.

[19] UM J H, PARK S Y, HUR J H, *et al*. Bone morphogenic protein 9 is a novel thermogenic hepatokine secreted in response to cold exposure[J]. Metabolism, 2022, 129: 155139. DOI:10.1016/j.metabol.2022.155139.

[20] LV S H, ZHOU Y Q, CHEN J J, *et al*. Hepatic ER stress suppresses adipose browning through ATF4-CIRP-ANGPTL3 cascade[J]. Cell Rep, 2022, 40(13): 111422. DOI:10.1016/j.celrep.2022.111422.

[21] SUI Y, CHEN J P. Hepatic FGF21: its emerging role in inter-organ crosstalk and cancers[J]. Int J Biol Sci, 2022, 18(15): 5928-5942. DOI:10.7150/ijbs.76924.

[22] CUEVAS-RAMOS D, MEHTA R, AGUILAR-SALINAS C A. Fibroblast growth factor 21 and browning of white adipose tissue[J]. Front Physiol, 2019, 10: 37. DOI: 10.3389/fphys.2019.00037.

[23] HU X Z, FAN J J, MA Q Q, *et al*. A novel nanobody-heavy chain antibody against angiopoietin-like protein 3 reduces plasma lipids and relieves nonalcoholic fatty liver disease[J]. J Nanobiotechnology, 2022, 20(1): 237. DOI: 10.1186/s12951-022-01456-z.

[24] ZHANG Y J, YAN C, DONG Y, *et al*. ANGPTL3 accelerates atherosclerotic progression *via* direct regulation of M1 macrophage activation in plaque[J]. J Adv Res, 2025, 70: 125-138. DOI:10.1016/j.jare.2024.05.011.

[25] WATTS G F, SCHWABE C, SCOTT R, *et al*. RNA interference targeting ANGPTL3 for triglyceride and cholesterol lowering: phase 1 basket trial cohorts[J]. Nat Med, 2023, 29(9): 2216-2223. DOI:10.1038/s41591-023-02494-2.

[26] LUO F, DAS A, KHETARPAL S A, *et al*. ANGPTL3 inhibition, dyslipidemia, and cardiovascular diseases[J]. Trends Cardiovasc Med, 2024, 34(4): 215-222. DOI: 10.1016/j.tcm.2023.01.008.

(收稿:2025-10-10;修回:2025-11-20)
(编辑 栾 嘉)