

中链脂肪酸受体 GPR84 对小鼠糖脂代谢的影响*

方友臣^{1,2)**} 郑洋^{2,3,4)**} 张庆²⁾ 李静²⁾ 谢欣^{2)***}

⁽¹⁾上海大学生命科学学院, 上海 200444; ⁽²⁾中国科学院上海药物研究所国家新药筛选中心, 上海 201203;

⁽³⁾上海科技大学, 上海 201210; ⁽⁴⁾中国科学院大学, 北京 100049)

摘要 目前, 全球肥胖及肥胖引发的并发症如 2 型糖尿病、心血管疾病等患病率呈上升趋势, 并逐渐成为一个重大的公共卫生问题。与肥胖相关疾病的发病机制是由多种因素共同作用的结果, 游离脂肪酸受体在其中就扮演着重要角色。G 蛋白偶联受体 84(GPR84)是中链脂肪酸(C9-C14)受体, 其在糖脂代谢方面的功能尚不清楚。因此, 探究中链脂肪酸受体 GPR84 在小鼠糖脂代谢方面的作用, 具有重要意义。本文利用高脂饲料在 GPR84 野生型(WT)和基因敲除型(GPR84^{-/-})小鼠中诱导肥胖模型。研究发现, 在常规饲料(normal chow, NC)喂养组和高脂饲料(high-fat diet, HFD)喂养组, 与 WT 小鼠相比, GPR84^{-/-}小鼠在体重、摄食量、葡萄糖耐量、胰岛素敏感性、空腹血糖值、血清中胰岛素含量、组织器官重量、脂质合成与脂肪酸氧化、白色脂肪形成方面无显著性差异; 在血脂水平, GPR84^{-/-}小鼠与 WT 小鼠相比, 甘油三酯、低密度脂蛋白胆固醇、高密度脂蛋白胆固醇无显著性差异; 但是在高脂饲料喂养组, GPR84^{-/-}小鼠总胆固醇浓度显著性降低。同时, 我们发现, 在 HFD 组, 与 WT 小鼠相比, GPR84^{-/-}小鼠肝脏中 B 类 I 型清道夫受体表达显著上调。综上所述, 中链脂肪酸受体 GPR84 在高脂诱导的肥胖模型中不影响小鼠糖脂代谢, 但可能在由高胆固醇引起的高胆固醇血症发挥一定的功能。

关键词 GPR84, 中链脂肪酸受体, 肥胖, 脂类代谢, 高胆固醇血症

学科分类号 R589.2, Q493.9

DOI: 10.16476/j.pibb.2018.0007

随着现代生活方式和饮食结构的改变, 全球肥胖人群的数量正日益增长。肥胖所伴有的糖脂代谢紊乱会引起一系列并发症, 如糖尿病、高血压、冠心病等, 已经成为日益严重的全球性公共健康问题^[1]。因此, 寻找潜在的治疗靶点意义重大。G 蛋白偶联受体(G protein-coupled receptors, GPCRs)是体内最大的一类细胞表面膜受体家族。该膜受体家族具有 7 次跨膜的 α 双螺旋结构, 其中 N 端位于细胞外, C 端位于细胞内, 位于 N 端的胞外结构可以识别并结合环境中的多种信号分子, 如气味、光、神经递质、信息激素、氨基酸、生物肽等等, 引起受体构象发生改变, 从而启动细胞内下游信号通路, 介导多种生理途径^[2]。GPCRs 广泛参与调控机体的多种重要生理过程, 在多种重要疾病中扮演关键的角色, 是已知的生物医药领域最为重要的药物作用靶点, 市场上有近 40% 的药物是以 GPCRs 为靶点^[3-4]。游离脂肪酸受体作为 GPCRs 的一员,

在人和动物的营养代谢以及疾病发生方面具有调控作用^[5]。游离脂肪酸(free fatty acid, FFA)不仅是动物和人体内的重要能量来源, 而且可以作为一种信号分子, 参与不同的信号通路^[6]。FFA 主要是通过结合游离脂肪酸受体, 引发下游信号通路, 进而影响机体生理活性。如长链脂肪酸受体 GPR119 可以调节胰岛素释放, 降低糖尿病小鼠血糖和肥胖小鼠的体重^[6-7]; 长链脂肪酸受体 GPR40 可以调节胰岛素的分泌^[8], 对维持生理葡萄糖稳定具有重要作用^[9]; 长链脂肪酸受体 GPR120 参与调节脂肪形成、胰岛

* 国家重点基础研究计划(973 计划)(2014CB541900), 国家杰出青年科学基金项目(81425024)和国家自然科学基金面上项目(81573442)资助。

** 并列第一作者。

*** 通讯联系人。

Tel: 021-50801313-156, E-mail: xxie@siml.ac.cn

收稿日期: 2018-04-27, 接受日期: 2018-06-11

素敏感性^[10-11]和胰高血糖素样肽 1 的分泌^[12]; 短链脂肪酸受体 GPR43 参与调解机体免疫功能^[13], 所以游离脂肪酸受体对于调控人和动物的营养代谢以及疾病发生具有重要意义。

除了以上脂肪酸受体, 目前已经发现的脂肪酸受体还有 GPR41、GPR84 等^[14-15]。GPR84 是 Wittenberger 等^[16]2001 年利用序列表达标签 (expressed sequence tag: EST) 数据挖掘技术发现的基因, 该基因定位于 12q13.13, 为中链脂肪酸 (C9~C14) 受体, 参与机体免疫反应^[17]和脂质代谢^[18]。此外, GPR84 是一种对百日咳毒素 (pertussis toxin: PTX) 敏感并介导 G α i/o 信号通路的受体^[19]。在人体内, GPR84 主要表达在骨髓和外周白细胞中; 在小鼠中, GPR84 主要表达在骨髓、脾脏和淋巴结中^[19]。在小鼠单核/巨噬细胞系 RAW264.7 中, 在 LPS 存在的前提下, 中链脂肪酸可以通过作用于 GPR84 使巨噬细胞产生 IL-12 p40, 而 IL-12 在诱导和维持 Th1 细胞功能方面具有重要作用, 以此通过 Th1 细胞抑制 Th2 细胞的功能, 介导免疫反应^[20]。并且, GPR84 可以通过调节巨噬细胞来影响疼痛相关信号通路, 进而缓解神经性疼痛^[21]。GPR84 不仅可以调节 Th1 细胞发生免疫应答, 起着促进炎症的作用, 而且在巨噬细胞与脂肪细胞的相互作用中也发挥了重要功能^[22]。2012 年, Nagasaki 等^[22]报道, 在高脂诱导的肥胖模型中, GPR84 高表达于附睾白色脂肪组织中, 在体外将 3T3-L1 脂肪前体细胞分化为脂肪细胞后与巨噬细胞共培养, 发现 3T3-L1 细胞中 GPR84 表达显著性上调, 这提示 GPR84 可能在肥胖和糖尿病方面发挥一定的功能。2017 年, Du 等^[18]发现, GPR84 野生型和基因敲除型小鼠摄入富含中链脂肪酸和长链脂肪酸的饲料后, 两者的体重和葡萄糖耐受性并无差异。在阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 小鼠模型中, GPR84 缺陷可以降低胶质细胞增生, 加速树突状细胞变性和认知能力的下降^[23]。同时, GPR84 可以抑制 NF- κ B 和 MAPK 信号途径来控制破骨细胞的生成^[24]。GPR84 也是视网膜以及其他眼组织正常生长发育所必需的^[25]。

为进一步探讨 GPR84 在小鼠糖脂代谢中的相关作用, 本文利用高脂饲料建立小鼠肥胖模型, 通过检测口服葡萄糖耐受、胰岛素敏感性、血脂和代谢相关基因的表达, 来探究 GPR84 与肥胖以及糖脂代谢之间的关系。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

本实验室根据文献[26-28]确定 TALEN 靶位点, 采用上海斯丹赛生物技术有限公司提供的单元模块试剂盒 (货号 1802-030) 及方法构建靶向敲除 GPR84 基因的 TALEN 载体, 将其体外转录成 TALEN mRNA, 再通过显微注射的方式注入单细胞期受精卵中, 子代小鼠最后经剪尾、测序筛选得到 GPR84 基因删除了 13 bp 并发生移码突变的小鼠, 即 GPR84^{-/-}小鼠。

1.1.2 试剂

Trizol 购自 Invitrogen 公司; 氯仿、异丙醇、甲醇、二甲苯、无水乙醇、中性树脂、葡萄糖购自国药集团化学试剂有限公司; DEPC 水购自生工公司; 苏木精购自 Solarbio Life Sciences 公司; 伊红溶液购自上海虹桥乐翔医用试剂技术有限公司; 血清总胆固醇 (TC) 试剂盒、甘油三酯 (TG) 试剂盒、低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-c) 试剂盒、高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-c) 试剂盒、血糖仪及血糖仪试纸购自 Roche 公司; 常规饲料购自上海仕林生物科技有限公司; 高脂饲料 (Rodent Diet with 60% kcal% fat) 购自 Research Diets 公司; 胰岛素 (insulin) 试剂盒购自 AlphaLISA Research Reagents 公司; 兔抗甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (GAPDH Rabbit mAb) 抗体、兔抗 AMP 依赖的蛋白激酶 (AMPK α Rabbit mAb) 抗体、兔抗磷酸化 AMP 依赖的蛋白激酶 (Phospho-AMPK α (Thr172) Rabbit mAb) 抗体、兔抗 ATP 柠檬酸裂合酶 (ATP-Citrate Lyase Rabbit mAb) 抗体及辣根过氧化物酶 (HRP) 标记的羊抗兔 (Anti-rabbit IgG, HRP-linked Antibody) 均购自 Cell Signaling Technology 公司; 聚偏二氟乙烯树脂 (PVDF) 膜购自 Millipore 公司; 化学发光试剂 (Amersham ECL Plus Western blotting 显色液) 购自 GE Healthcare 公司。所有引物均由上海生工生物工程技术有限公司合成。

1.2 方法

1.2.1 小鼠肥胖模型的建立及样品采集

8 周龄大小的 16 只 WT (wild type) 雄鼠和 16 只 GPR84^{-/-}雄鼠, 按体重随机分为 4 组: WT 常规饲料组 (WT-NC)、GPR84^{-/-}常规饲料组 (GPR84^{-/-}-

NC)、WT 高脂饲料组(WT-HFD)和 GPR84^{-/-} 高脂饲料组(GPR 84^{-/-}-HFD)(常规饲料: 产品标准编号: Q031/0120000099C001-2015, 生产批号: 20170903. 高脂饲料: Rodent Diets D12492, 60% kcal% fat). 常规饲料组每组 6 只小鼠, 高脂饲料组每组 10 只小鼠, 按 3~4 只每笼, 饲养于上海药物研究所实验动物中心 SPF 级环境下, 室温(24 ± 2)℃, 湿度 40%~60%, 维持光 - 暗 12 h 循环交替. 从第 8w 开始, 高脂饲料组小鼠改用高脂饲料喂养, 常规饲料组小鼠继续用常规饲料喂养. 实验期间小鼠自由饮水、摄食, 持续喂养 16w, 每周记录小鼠体重和食物消耗量. 持续喂养小鼠高脂饲料 16w 后, 处死小鼠, 取实验组织. 处死前禁食 6 h, 用 1.25% 的戊巴比妥钠麻醉小鼠, 小鼠麻醉后通过眼眶静脉采取血样, 分离血清 (4 000 r/min, 4℃, 10 min), 冻存于 -80℃. 处死小鼠后取小鼠肝脏、附睾周围白色脂肪、皮下白色脂肪、棕色脂肪、小腿肌肉, 称重记录, 迅速置于液氮速冻, 并置于 -80℃ 保存待用; 部分肝脏组织迅速放入 4% 多聚甲醛固定液中固定 24 h, 进行石蜡包埋, 切片, 用于组织形态学观察.

1.2.2 口服葡萄糖耐量试验 (oral glucose tolerance test, OGTT)

连续喂养 WT 和 GPR84^{-/-} 小鼠高脂 13w(8~21

周龄), 将各组小鼠禁食 12 h, 之后通过口服灌胃方式, 给予小鼠 2 g/kg 剂量的葡萄糖溶液, 分别在 0、15、30、60 和 120 min 时, 利用血糖仪和血糖仪试纸通过小鼠尾静脉取血测量血糖浓度, 同时记录血糖仪读数.

1.2.3 胰岛素耐量试验 (insulin tolerance test, ITT)

连续喂养 WT 和 GPR84^{-/-} 小鼠高脂 15w(8~23 周龄), 将各组小鼠禁食 6 h, 然后通过腹腔注射方式, 给予小鼠 0.75 U/kg 剂量的胰岛素, 分别在 0、15、30、60 和 120 min 时, 利用血糖仪和血糖仪试纸通过小鼠尾静脉取血测量血糖浓度, 同时记录血糖仪读数.

1.2.4 实时荧光定量 PCR (RT-qPCR)

用 Trizol 试剂裂解肝脏组织、白色脂肪组织样品, 并按说明书的操作步骤提取 RNA, 按 Prime Script™ RT reagent Kit 进行反转录, 得到 cDNA. 以该 cDNA 为模板, 按表 1 序列合成相应引物, 进行 qPCR. PCR 反应体系: 2× Biotool™ SYBR Green Master Mix 10 μl, 上下游引物(5 μmol/L)各 0.5 μl, 模板 5 μl, 加水补足至 20 μl. PCR 反应条件: 95℃ 5 min、95℃ 30 s、60℃ 30 s、72℃ 30 s、扩增 40 个循环.

Table 1 Sequence of primers used in quantitative real-time PCR

Primer name	Forward (5' → 3')	Reverse (5' → 3')
Mouse		
GAPDH	TCTCCTGCGACTTCAACA	TGGTCCAGGGTTTCTTACT
aP2	AAGGTGAAGAGCATCATAACCCT	TCACGCCTTTCATAACACATTCC
PPAR _γ	GGCTGAGGAGAAGTCACACTCTG	AAATCTTGCTGTGTACACAGTCCTG
ACL	TGGATGCCACAGCTGACTAC	GGTTCAGCAAGGTCAGCTTC
SREBP1c	GGAGCCATGGATTGCACATT	GGCCCGGGAAGTCACTGT
PGC-1α	TATGGAGTGACATAGAGTGTGCT	CCACTTCAATCCACCCAGAAAG
CPT-1α	TTGCCCTACAGCTCTGGCATTTC	GCACCCAGATGATTGGGATACTGT
ApoB	CAAGCACCTCCGAAAGTA	CACGGTATCCAGGAACAA
SR-BI	TGGACAAATGGAACGGACTC	GTGAAGCGATACGTGGGAAT
SREBP2	GCGTTCTGGAGACCATGGA	ACAAAGTTGCTCTGAAAACAAATCA
HMGCR	CTTGTGGAATGCCTTGTGATTG	AGCCGAAGCAGCACATGAT
LDLR	AGGCTGTGGGCTCCATAGG	TGCGGTCCAGGGTCATCT

GAPDH: Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase; aP2: Adipocyte fatty acid binding protein; PPAR_γ: Peroxisome proliferator activated receptor gamma; ACL: ATP citrate lyase; SREBP1c: Sterol regulatory element binding protein 1c; PGC-1α: Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator-1 alpha; CPT-1α: Carnitine palmitoyltransferase-1 alpha; ApoB: Apolipoprotein B; SR-BI: Scavenger receptor class B type I; SREBP2: Sterol regulatory element binding protein 2; HMGCR: 3-hydroxy-3-methyl-glutaryl-CoA reductase; LDLR: Low-density lipoproteins receptors.

1.2.5 小鼠肝脏组织包埋及 H&E 染色

包埋：肝脏组织于 4% 多聚甲醛固定 24 h、50% 乙醇 30 min、70% 乙醇 30 min、80% 乙醇 30 min、95% 乙醇 15 min、95% 乙醇 15 min、100% 乙醇 15 min、100% 乙醇 15 min、1/2 乙醇 2/1 二甲苯 5 min、二甲苯透明 5 min、二甲苯透明 5 min、石蜡 I 1.5 h、石蜡 II 2 h、石蜡包埋。组织切片：将包埋好的肝脏组织切为 5 μm 的切片，并通过展片、烤片将组织转移至载玻片上。脱蜡：二甲苯 I 30 min、二甲苯 II 30 min。复水：100% 乙醇 5 min、100% 乙醇 5 min、95% 乙醇 5 min、85% 乙醇 5 min、75% 乙醇 5 min、50% 乙醇 5 min、蒸馏水 I 5 min、蒸馏水 II 5 min。染色：苏木精染核 10 min、蒸馏水漂洗 1 min、1% 盐酸乙醇分化 2 s、蒸馏水漂洗 1 min、0.5% 氨水返蓝 3 s、蒸馏水漂洗 1 min、50% 乙醇 1 min、70% 乙醇 1 min、80% 乙醇 1 min、95% 乙醇 1 min、100% 乙醇 3 s、伊红染色 3 s、95% 乙醇 5 min、100% 乙醇 5 min、100% 乙醇 5 min、二甲苯 I 15 min、二甲苯 II 15 min、中性树脂封片。

1.2.6 血清中甘油三酯、总胆固醇、低密度脂蛋白胆固醇、高密度脂蛋白胆固醇、胰岛素浓度检测

按照购自罗氏公司的甘油三酯(TG)、血清总胆固醇(TC)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-c)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-c)按试剂盒内说明书，分别检测小鼠血清中 TG、TC、LDL-c、HDL-c 的浓度；按照购自 AlphaLISA Research Reagents 公司的胰岛素(insulin)试剂盒说明书，检测小鼠血清中的 insulin 浓度。

1.2.7 蛋白质印迹分析(Western blotting)

称取 20~30 mg 肝脏组织，放入 400 μl 预冷的 RIPA 工作液中，加入合适大小的钢珠后用研磨型匀浆机进行破碎。匀浆彻底后，冰上静置 20 min，然后 12 000 r/min 离心 15 min。转移上清，并用 BSA 定量，加入 loading buffer，于 100 $^{\circ}\text{C}$ 金属浴热变性 5 min，之后进行 SDS-PAGE 电泳，电泳完成后转膜，并根据蛋白质分子标准质量分别裁剪 PVDF 膜上蛋白质条带，用 5% 脱脂奶粉封闭液(1 $\times$ TBST 缓冲液配制)室温封闭 1 h，1 $\times$ TBST 缓冲液洗 3 遍，每遍 5 min；将封闭好的 PVDF 膜加一抗孵育，即 5% TBST 稀释的 GAPDH rabbit mAb (1 : 5 000)、AMPK α rabbit mAb (1 : 2 000)、Phospho-AMPK α (Thr172) rabbit mAb (1 : 2 000)、ATP-Citrate lyase rabbit mAb (1 : 2 000)，4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜，

1 $\times$ TBST 缓冲液洗 3 遍；PVDF 膜二抗室温孵育 1 h (5% TBST 稀释的 Anti-rabbit IgG, HRP-linked antibody, 1 : 5 000)；1 $\times$ TBST 缓冲液洗 3 遍；用平头镊将膜取出，用吸水纸吸去液体，置于洁净保鲜膜上，加 1 ml Amersham ECL Plus Western blotting 显色液，放置 1 min；倒去显色液，用吸水纸吸去过量的液体，将膜放在保鲜膜中间，立即显影。

1.2.8 统计分析

用 GraphPad Prism 5 软件统计分析实验结果，所有实验数据均用平均值 $\pm$ 标准误(mean $\pm$ SEM)表示，对实验结果进行 Student's *t*-test 检验，当 $P < 0.05$ 时具有统计学意义。

2 结 果

2.1 高脂饲料诱导小鼠肥胖模型

小鼠自由饮水、摄食 16w(8 周龄至 24 周龄)，体重呈现连续增加趋势，且 WT-HFD 组与 GPR84 $^{-/-}$ -HFD 组小鼠体重增加均大于 WT-NC 组与 GPR84 $^{-/-}$ -NC 组小鼠(图 1a)。小鼠 24 周龄体重结果显示(图 1b)，与 WT-NC 组小鼠相比，WT-HFD 组小鼠体重显著性增加，即表明成功建立了高脂饲料诱导的小鼠肥胖模型；在 NC 组中，WT 与 GPR84 $^{-/-}$ 小鼠体重无显著性差异；在 HFD 组中，WT 与 GPR84 $^{-/-}$ 小鼠体重无显著性差异。小鼠摄食量结果显示(图 1c)，WT-NC 组与 GPR84 $^{-/-}$ -NC 组小鼠平均每天摄食量均显著性高于 WT-HFD 组与 GPR84 $^{-/-}$ -HFD 组小鼠；在 NC 组和 HFD 组中，WT 与 GPR84 $^{-/-}$ 小鼠摄食量无统计学差异。上述结果显示，敲除中链脂肪酸受体 GPR84 对正常及高脂饮食小鼠的摄食和体重无显著影响。

2.2 GPR84 基因敲除对口服葡萄糖耐量与胰岛素耐量的影响

口服葡萄糖耐量试验结果显示，小鼠口服 2 g/kg 剂量的葡萄糖后检测小鼠血糖值，前 15 min NC 组与 HFD 组小鼠血糖值相近，从第 30 min 开始，WT-HFD 组与 GPR84 $^{-/-}$ -HFD 组小鼠血糖值均分别高于 WT-NC 组与 GPR84 $^{-/-}$ -NC 组小鼠血糖值(图 2a)。血糖曲线下面积显示，与 WT-NC 组小鼠相比，WT-HFD 组小鼠血糖曲线下面积显著性增加；在 NC 组中，WT 与 GPR84 $^{-/-}$ 小鼠血糖曲线下面积无统计学差异；在 HFD 组中，WT 与 GPR84 $^{-/-}$ 小鼠血糖曲线下面积无统计学差异(图 2b)。小鼠腹腔注射 0.75 U/kg 剂量的胰岛素后进行胰岛素耐量

试验, 结果显示, WT-HFD 组与 GPR84^{-/-}-HFD 组小鼠血糖值均分别高于 WT-NC 组与 GPR84^{-/-}-NC 组小鼠血糖值(图 2c). 血糖曲线下面积显示, 与

WT-NC 组小鼠相比, WT-HFD 组小鼠血糖曲线下面积显著性增加; 在 NC 组中, WT 与 GPR84^{-/-} 小鼠血糖曲线下面积无统计学差异; 在 HFD 组中,

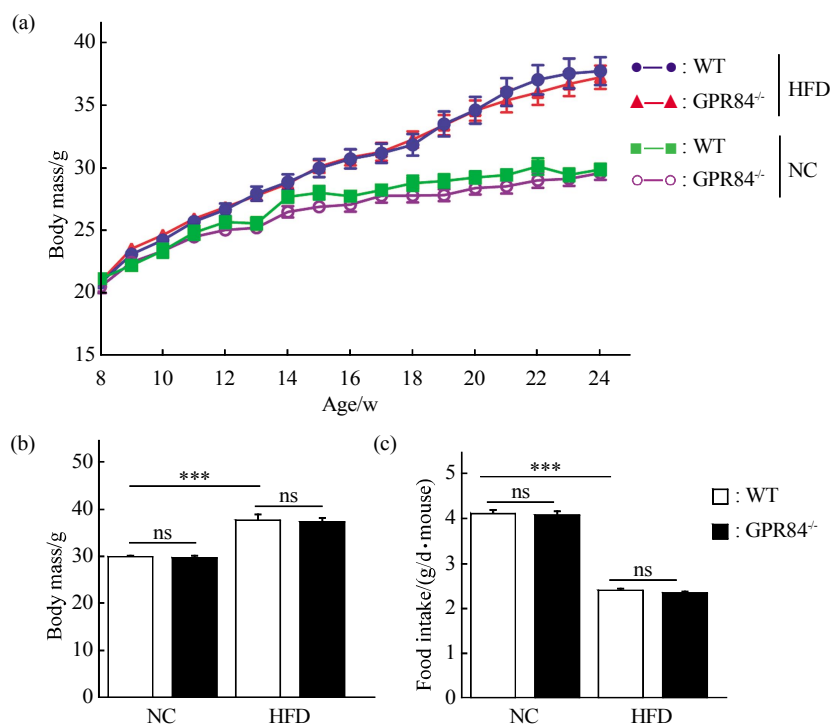


Fig. 1 HFD induced obesity in WT and GPR84^{-/-} mice

(a) Body mass of normal chow (NC) diet or high-fat diet (HFD) fed WT and GPR84^{-/-} mice. (b) Body mass at 24 weeks. Mice were fed on HFD from weeks 8 to 24. (c) Average food intake per mouse per day. Significant difference is determined using Student's *t*-test. NC: *n*=6; HFD: *n*=10. All values are means $\pm$ SEM. ****P* < 0.001, ns means no significant difference.

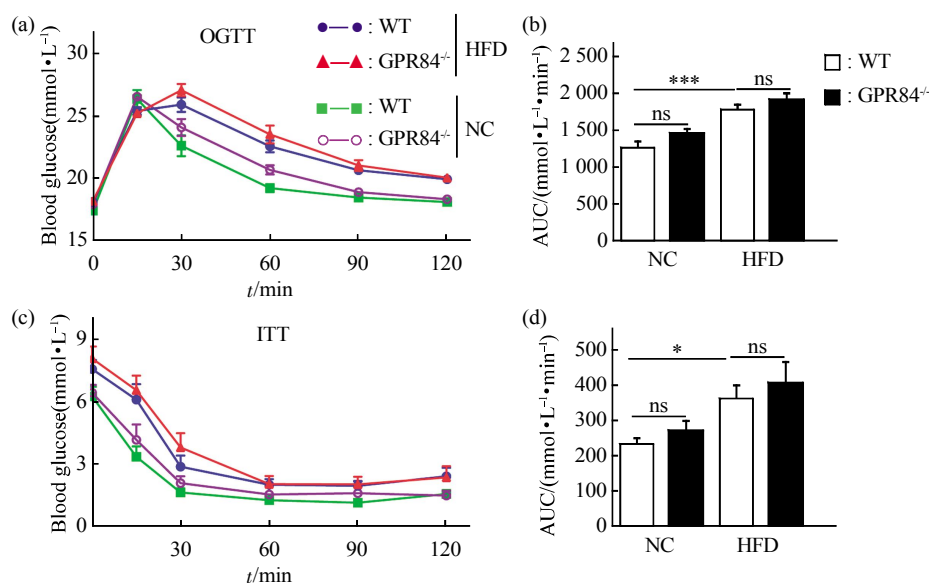


Fig. 2 Oral glucose and insulin tolerance tests in WT and GPR84^{-/-} mice

(a) Oral glucose tolerance test (OGTT) in male WT and GPR84^{-/-} mice on NC (21 weeks of age) and HFD (21 weeks of age). Mice were on HFD from weeks 8 to 21. (b) Area under the curve (AUC) for OGTT calculated from the data in (a). (c) Insulin tolerance test (ITT) in male WT and GPR84^{-/-} mice on NC (23 weeks of age) and HFD (23 weeks of age). Mice were on HFD from weeks 8 to 23. (d) AUC for ITT calculated from the data in (c). Significant difference is determined using Student's *t*-test. NC: *n*=6; HFD: *n*=10. All values are means $\pm$ SEM. **P* < 0.05, ****P* < 0.001, ns means no significant difference.

WT 与 GPR84^{-/-} 小鼠血糖曲线下面积无统计学差异 (图 2d)。以上结果表明, 敲除中链脂肪酸受体 GPR84 对正常及高脂饮食小鼠的葡萄糖耐量和胰岛素敏感性无显著影响。

2.3 GPR84 基因敲除对小鼠组织器官重量的影响

连续喂养小鼠高脂饲料 16w(8w~24w)后, 麻醉小鼠, 取小鼠各个组织, 称重。结果显示, 与 WT-NC 组小鼠相比, WT-HFD 组小鼠皮下白色脂肪重量(图 3a)、附睾白色脂肪重量(图 3b)、棕色脂肪重量(图 3c)、肝脏重量(图 3d)和小腿肌肉重量

(图 3e)均显著性增加。在 NC 组中, WT 与 GPR84^{-/-} 小鼠在皮下白色脂肪重量、附睾白色脂肪重量、棕色脂肪重量、肝脏重量和小腿肌肉重量方面无显著变化; 在 HFD 组中, 与 WT 小鼠相比, GPR84^{-/-} 小鼠在皮下白色脂肪重量、附睾白色脂肪重量、棕色脂肪重量、肝脏重量和小腿肌肉重量方面无显著变化, 但是在附睾白色脂肪重量和棕色脂肪重量方面有下降的趋势。以上结果说明, 敲除中链脂肪酸受体 GPR84 对小鼠组织器官重量无显著性影响。

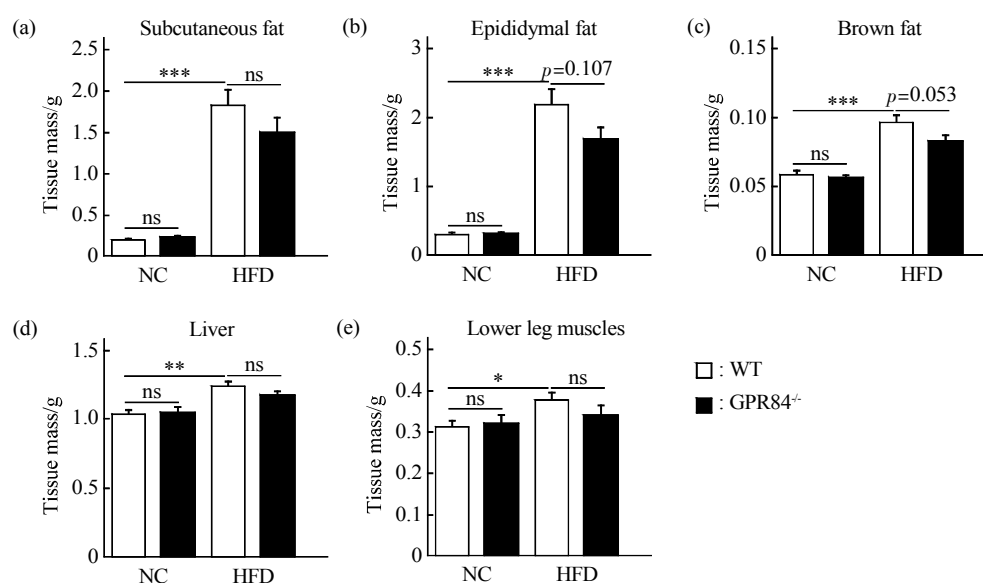


Fig. 3 Wet mass of tissue in mice

(a) Subcutaneous fat mass. (b) Epididymal fat mass. (c) Brown fat mass. (d) Liver mass. (e) Lower leg muscles mass. Significant difference is determined using Student's *t*-test. NC: *n*=6; HFD: *n*=10. Mice were sacrificed after 16 w(8 w–24 w) on HFD and tissues harvested and weighted. All values are means $\pm$ SEM. **P* < 0.05, ***P* < 0.01, ****P* < 0.001, ns means no significant difference.

2.4 GPR84 基因敲除对小鼠血液生化指标的影响

血脂水平与机体健康息息相关, 血脂水平的变化, 可以及时反映机体健康状况。因此, 我们检测了小鼠血清中的血脂水平。结果显示, 与 WT-NC 组小鼠相比, WT-HFD 组小鼠血清中总胆固醇(图 4a)、低密度脂蛋白胆固醇(图 4c)、高密度脂蛋白胆固醇(图 4d)浓度均显著性增加, 甘油三酯(图 4b)浓度无显著性变化。在 NC 组中, WT 与 GPR84^{-/-} 小鼠在总胆固醇、甘油三酯、低密度脂蛋白胆固醇和高密度脂蛋白胆固醇方面无显著性差异; 在 HFD 组中, WT 与 GPR84^{-/-} 小鼠在甘油三酯、低密度脂蛋白胆固醇和高密度脂蛋白胆固醇方

面无统计学差异, 但是在 GPR84^{-/-} 小鼠中, 总胆固醇浓度显著性降低(图 4a)。同时, 我们检测了小鼠的空腹血糖含量和血清中胰岛素含量, 结果显示, 与 WT-NC 组小鼠相比, WT-HFD 组小鼠空腹血糖含量(图 4e)和血清中胰岛素含量(图 4f)显著性升高; 在 NC 组中, WT 与 GPR84^{-/-} 小鼠空腹血糖和胰岛素含量无显著性差异; 在 HFD 组中, WT 与 GPR84^{-/-} 小鼠空腹血糖和胰岛素含量无显著变化。上述结果表明, 敲除中链脂肪酸受体 GPR84 不影响小鼠甘油三酯、低密度脂蛋白胆固醇、高密度脂蛋白胆固醇、空腹血糖和胰岛素的水平, 但是可以显著降低总胆固醇含量。

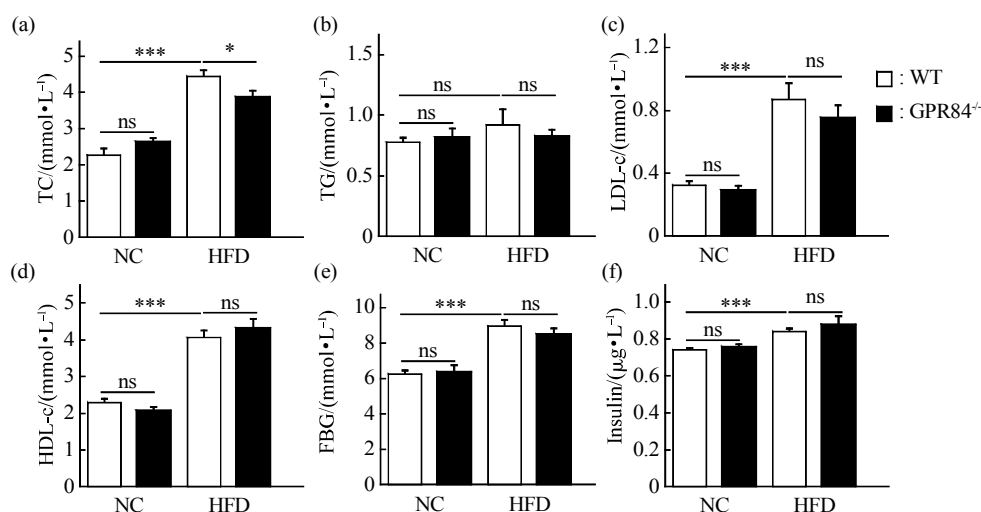


Fig. 4 Effects of genotype and diet on FBG and serum concentrations of parameters

(a) Total cholesterol (TC). (b) Triglyceride (TG). (c) Low density lipoprotein cholesterol (LDL-c). (d) High density lipoprotein cholesterol (HDL-c). (e) Fasting blood glucose (FBG) level. (f) Insulin. Mice were sacrificed after 16 w (8 w–24 w) on HFD and serum harvested and tested. Significant difference is determined using Student's *t*-test. NC: *n*=6; HFD: *n*=10. All values are means ± SEM. **P* < 0.05, ****P* < 0.001, ns means no significant difference.

2.5 GPR84 基因敲除对小鼠肝脏脂质累积、脂质合成、脂肪酸氧化和胆固醇代谢的影响

肝脏是机体最重要的器官之一, 参与糖、脂的代谢, 并具有解毒灭活、分泌胆汁等生理功能. 当肝脏出现病变时, 会对机体健康产生极大威胁. 因此, 为了探究中链脂肪酸受体 GPR84 在小鼠糖脂代谢方面是否具有调节作用, 我们对肝脏进行了 HE 染色, 以及对脂质合成和脂肪酸氧化的相关基因进行了检测. 小鼠肝脏形态见图 5a. 在 NC 组小鼠中, 肝细胞结构清晰, 细胞核位于细胞中央, 肝细胞未发生脂肪变性; 而在 HFD 组中, 肝细胞形态多样, 细胞核随机分布于细胞中, 并且肝细胞脂肪变性程度严重, 形成大量脂滴; 在 NC 组和 HFD 组中, WT 与 GPR84^{-/-} 小鼠肝脏 HE 染色结果无显著性差异. 与 WT-NC 组小鼠相比, WT-HFD 组小鼠肝脏中参与脂肪酸和胆固醇合成的基因 ATP 柠檬酸裂合酶(ACL)、胆固醇应答元件结合蛋白 1c(SREBP1c)表达显著性上调(图 5b, 5c); 参与脂肪酸氧化的基因过氧化物酶体增殖物活化受体 γ 协同刺激因子 1 α (PGC-1 α)和肉碱棕榈酰转移酶 1 α (CPT-1 α)表达显著性下调(图 5d, 5e); 参与运输胆固醇、甘油三酯及低密度脂蛋白的载脂蛋白 B

(ApoB)的表达显著性上调(图 5f). 在 NC 组中, WT 与 GPR84^{-/-} 小鼠在 ATP 柠檬酸裂合酶、胆固醇应答元件结合蛋白 1c、过氧化物酶体增殖物活化受体 γ 协同刺激因子 1 α 、肉碱棕榈酰转移酶 1 α 和载脂蛋白 B 表达方面无统计学差异; 在 HFD 组中, WT 与 GPR84^{-/-} 小鼠相关基因表达趋势与 NC 组小鼠一致. 同时, 我们检测了与胆固醇代谢相关的基因表达水平. 结果显示, 与 WT-NC 组小鼠相比, WT-HFD 组小鼠肝脏中参与胆固醇合成的关键基因固醇调节元件结合蛋白 2(SREBP2)(图 5g)和 3- 羟基-3- 甲基戊二酰辅 A 还原酶(HMGCR)(图 5h)表达显著上调; 参与胆固醇运输的低密度脂蛋白受体(LDLR)(图 5i)和 B 类 I 型清道夫受体(SR-BI)(图 5j)表达无显著性变化; 在 NC 组中, WT 与 GPR84^{-/-} 小鼠在 SREBP2、HMGCR、LDLR 和 SR-BI 中表达无显著性变化(图 5); 在 HFD 组中, WT 与 GPR84^{-/-} 小鼠在 SREBP2、HMGCR 和 LDLR 中表达无显著性变化, 但是与 WT 小鼠相比, GPR84^{-/-} 小鼠组 SR-BI 显著性增加(图 5).

利用蛋白质印迹分析(Western blotting)方法, 我们检测了小鼠肝脏中参与脂肪酸和胆固醇合成的基因 ATP 柠檬酸裂合酶(ACL)蛋白质水平, 在能量

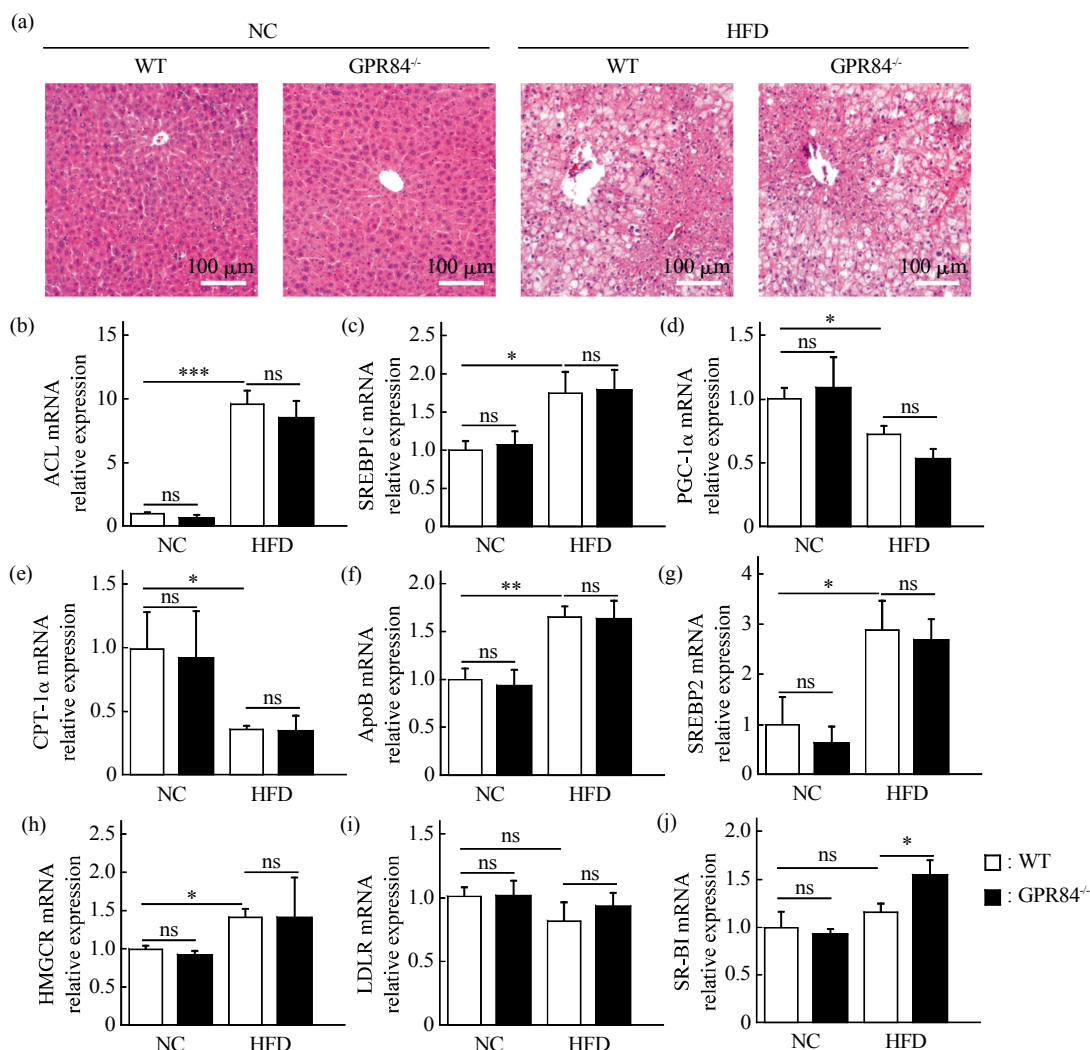


Fig. 5 Effects of genotype and diet on the morphology of mouse liver and the expression of genes involved in lipid and cholesterol metabolism

(a) The morphology of mouse liver with HE staining, showing the differences in fat storage in HFD and NC fed mice. magnification:10 $\times$. mRNA level of ACL (b), SREBP1c (c), PGC-1 α (d), CPT-1 α (e), ApoB (f), SREBP2 (g), HMGCR (h), LDLR (i) and SR-BI (j) examined by quantitative RT-PCR (qRT-PCR). Gene expression was normalized to GAPDH in the same sample. Mice were sacrificed after 16 w (8 w–24 w) of HFD treatment and livers were harvested and tested. Significant difference is determined using Student's *t*-test. NC: *n*=6; HFD: *n*=10. All values are means $\pm$ SEM. **P* < 0.05, ***P* < 0.01, ****P* < 0.001, ns means no significant difference.

代谢调控中起重要作用的腺苷酸激活蛋白激酶 (AMPK α) 以及磷酸化的腺苷酸激活蛋白激酶 (pAMPK α) 蛋白质水平。结果显示, 与 WT-NC 组小鼠相比, WT-HFD 组小鼠中 ATP 柠檬酸裂合酶 (ACL) 蛋白质水平显著性增加(图 6b)、磷酸化的腺苷酸激活蛋白激酶(pAMPK α) 蛋白质水平显著性下降(图 6c)。在 NC 组和 HFD 组中, GPR84^{-/-} 小鼠与 WT 小鼠在 ACL 蛋白质水平和 pAMPK α 蛋白质水

平方面无显著性差异(图 6)。即从蛋白质水平表明, 敲除中链脂肪酸受体 GPR84 不影响肝脏中脂质代谢途径。

以上结果表明, 敲除中链脂肪酸受体 GPR84 不影响肝脏中脂质累积、脂质合成和脂肪酸的氧化, 但可能会影响 SR-BI 基因的表达, 进而影响胆固醇的代谢途径。

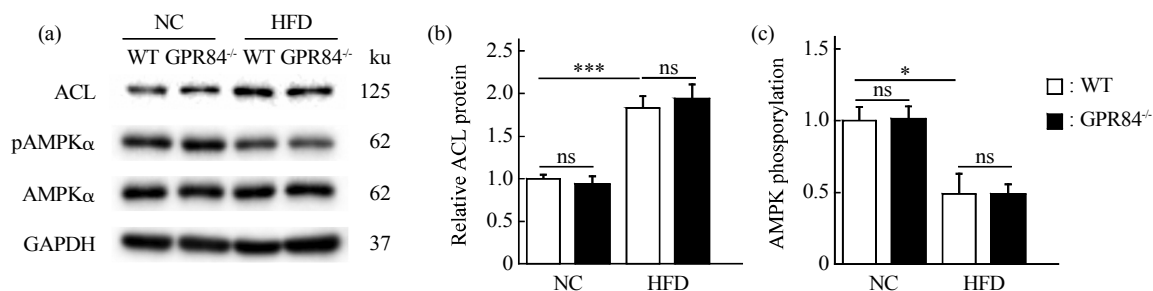


Fig. 6 Effects of genotype and diet on the protein levels of ACL and AMPKα in liver

(a) Western blot showing the protein levels of ACL, AMPKα, and pAMPKα from the liver extracts. GAPDH was used as an endogenous control. Mice were sacrificed after 16 w (8–24 w) of HFD treatment and livers were harvested and tested. Significant difference is determined using Student's *t*-test. NC: *n*=6; HFD: *n*=10. All values are means ± SEM. **P*<0.05, ****P*<0.001, ns means no significant difference.

2.6 GPR84 基因敲除对白色脂肪形成的影响

脂肪组织是人体内重要的组织器官, 在能量代谢稳态方面发挥着重要作用, 可以调控机体摄食行为、能量消耗、胰岛素敏感性等。因此, 为了进一步验证中链脂肪酸受体 GPR84 是否参与小鼠糖脂代谢过程, 我们对脂肪形成过程中的相关基因进行了表达分析。结果显示, 与 WT-NC 组小鼠相比, WT-HFD 组小鼠白色脂肪组织中脂肪酸结合蛋白

(aP2)表达显著性上调(图 7a), 过氧化物酶体增殖物激活受体(PPARγ)有上调趋势(图 7b)。在 NC 组中, WT 与 GPR84^{-/-} 小鼠在脂肪酸结合蛋白和过氧化物酶体增殖物激活受体表达水平无显著性差异; 在 HFD 组中, WT 与 GPR84^{-/-} 小鼠在脂肪酸结合蛋白和过氧化物酶体增殖物激活受体表达水平也无统计学差异, 即表明敲除中链脂肪酸受体 GPR84 不影响白色脂肪的形成。

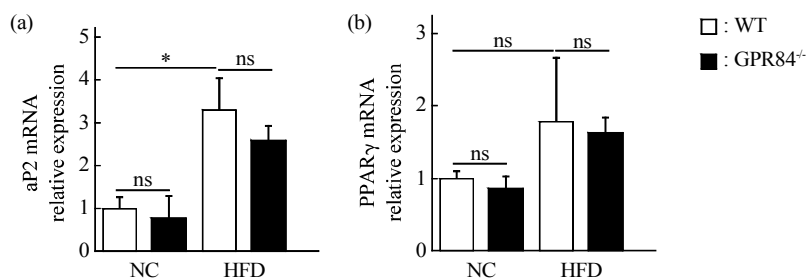


Fig. 7 Effects of genotype and diet on mRNA expression level in subcutaneous fat

Expression of aP2 mRNA (a) and PPARγ mRNA (b) examined by quantitative RT-PCR (qRT-PCR). Gene expression was normalized to GAPDH in the same sample. Mice were sacrificed after 16 w (8 w–24 w) on HFD and subcutaneous fat harvested and tested. Significant difference is determined using Student's *t*-test. NC: *n*=6; HFD: *n*=10. All values are means ± SEM. **P*<0.05, ns means no significant difference.

3 讨 论

近年来的研究报道显示, 游离脂肪酸受体在人和动物的营养代谢以及疾病发生方面具有重要调控作用。它不仅是动物和人体内的重要能量来源, 而且可以作为一种信号分子, 参与不同的信号途径^[5]。中链脂肪酸受体 GPR84 作为游离脂肪酸的一员,

也被报道可能参与机体脂肪酸代谢和免疫调节^[14]。

目前, 关于中链脂肪酸受体 GPR84 在机体代谢方面的研究报道较少。2017 年 Peak 等^[18]报道, 饲以小鼠富含中链脂肪酸和长链脂肪酸的饲料后, 发现 GPR84 野生型和基因敲除型小鼠在体重和葡萄糖耐受性方面无显著性差异。此外, 目前没有研究系统性报道中链脂肪酸受体 GPR84 对小鼠糖脂

代谢的影响。本课题研究结果表明, 常规饲料喂养组小鼠中, GPR84 野生型和基因敲除型小鼠在体重、摄食量、葡萄糖耐受性方面无明显差异; 高脂饲料喂养组小鼠中, GPR84 野生型和基因敲除型小鼠在体重、摄食量、葡萄糖耐受性方面也无显著性差异。这与 2017 年 Peak 等报道的结果一致。同时, 我们的研究首次报道了中链脂肪酸受体 GPR84 不影响小鼠对胰岛素的敏感性、血清中低密度脂蛋白胆固醇和高密度脂蛋白胆固醇的水平, 也不影响肝脏组织中脂质的累积、脂质代谢和脂肪酸的氧化途径以及白色脂肪的形成等。利用蛋白质免疫印迹(Western blotting, WB)方法, 我们检测了小鼠肝脏中参与脂肪酸和胆固醇合成的基因 ATP 柠檬酸裂合酶(ACL)蛋白质水平, 以及腺苷酸活化蛋白激酶(AMPK)水平。AMPK 是一种重要的细胞能量传感器, 在维持细胞能量平衡和调节能量代谢过程中起着重要作用, 它主要是通过通过对能量物质氧化、合成及转录关键酶活性调控, 从而实现对能量物质代谢调控^[29-30]。结果表明, 敲除中链脂肪酸受体 GPR84 不影响小鼠肝脏中 ATP 柠檬酸裂合酶和腺苷酸活化蛋白激酶等代谢关键酶的水平。

血脂水平与机体健康息息相关, 血脂水平的变化, 可以及时反映机体的健康状况。在检测小鼠血清中的血脂水平过程中, 我们发现, 在高脂饲料喂养组中, 与 GPR84 野生型小鼠相比, GPR84 基因敲除型小鼠血清中总胆固醇含量显著性降低。据文献报道, 血清中总胆固醇过高可以引发高胆固醇血症, 进而引发动脉粥样硬化^[31]和冠心病^[32]等心血管疾病, 并且血清胆固醇浓度也是预测心血管疾病和动脉粥样硬化等疾病的指标^[33], 因此我们进一步探究了 GPR84 敲除小鼠血清中总胆固醇降低的原因, 检测了小鼠肝脏中与胆固醇代谢相关的关键性酶, 发现敲除中链脂肪酸受体并不影响固醇调节元件结合蛋白 2(SREBP2)、3- 羟基-3- 甲基戊二酰辅 A 还原酶(HMGCR)和参与胆固醇运输的低密度脂蛋白受体(LDLR)的表达; 同时我们发现, 在高脂喂养组中, 与野生型小鼠相比, 敲除中链脂肪酸受体 GPR84 可以显著性增加 B 类 I 型清道夫受体(SR-B I)的表达。研究表明, SR-B I 是高密度脂蛋白(high-density lipoprotein, HDL)受体, 能选择性介导胆固醇和 HDL 颗粒中胆固醇酯的吸收, 在 HDL 的代谢中起重要作用, 提高 SR-BI 基因表达, 可促进胆固醇外流, 降低血浆胆固醇水平^[34-35]。因此, 我们的结果表明, 敲除中链脂肪酸受体

GPR84 可以上调 SR-BI 的表达, 这可能会在逆向胆固醇转运过程即从外周组织向肝脏转运多余胆固醇的过程中发挥一定的作用。

综上所述, 本课题关于中链脂肪酸受体 GPR84 在小鼠糖脂代谢中的研究, 初步显示了中链脂肪酸受体 GPR84 不参与小鼠糖脂代谢过程, 而敲除中链脂肪酸受体 GPR84, 可以显著性降低血清中的总胆固醇含量, 上调肝脏中 B 类 I 型清道夫受体(SR-B I)的表达。作为游离脂肪酸受体的一员, 中链脂肪酸受体 GPR84 可能在高胆固醇血症等疾病中发挥作用, 这也为我们未来的工作提供了方向。接下来, 我们将围绕这一方向进行研究。

参 考 文 献

- [1] Van Der Klaauw A A, Farooqi I S. The hunger genes: pathways to obesity. *Cell*, 2015, **161**(1): 119-132
- [2] Woehler A, Ponimaskin E G. G protein--mediated signaling: same receptor, multiple effectors. *Curr Mol Pharmacol*, 2009, **2** (3): 237-248
- [3] Thompson M D, Hendy G N, Percy M E, *et al.* G protein-coupled receptor mutations and human genetic disease. *Methods Mol Biol*, 2014, **1175**: 153-187
- [4] Lu M J, Wu B L. Structural studies of G protein-coupled receptors. *Iubmb Life*, 2016, **68**(11): 894-903
- [5] Hara T, Hirasawa A, Ichimura A, *et al.* Free fatty acid receptors FFAR1 and GPR120 as novel therapeutic targets for metabolic disorders. *J Pharm Sci-U.S.*, 2011, **100**(9): 3594-3601
- [6] Zhang S, Ma Y, Li J, *et al.* Molecular matchmaking between the popular weight-loss herb Hoodia gordonii and GPR119, a potential drug target for metabolic disorder. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, **111**(40): 14571-14576
- [7] Shah U. GPR119 agonists: a promising new approach for the treatment of type 2 diabetes and related metabolic disorders. *Curr Opin Drug Discov Devel*, 2009, **12**(4): 519-532
- [8] Itoh Y, Kawamata Y, Harada M, *et al.* Free fatty acids regulate insulin secretion from pancreatic beta cells through GPR40. *Nature*, 2003, **422**(6928): 173-176
- [9] Covington D K, Briscoe C A, Brown A J, *et al.* The G-protein-coupled receptor 40 family (GPR40-GPR43) and its role in nutrient sensing. *Biochem Soc T*, 2006, **34**(5): 770-773
- [10] Gotoh C, Hong Y H, Iga T, *et al.* The regulation of adipogenesis through GPR120. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2007, **354**(2): 591-597
- [11] Oh D Y, Talukdar S, Bae E J, *et al.* GPR120 is an Omega-3 fatty acid receptor mediating potent anti-inflammatory and insulin-sensitizing effects. *Cell*, 2010, **142**(5): 687-698
- [12] Hirasawa A, Tsumaya K, Awaji T, *et al.* Free fatty acids regulate gut incretin glucagon-like peptide-1 secretion through GPR120. *Nat Med*, 2005, **11**(1): 90-94
- [13] Talukdar S, Olefsky J M, Osborn O. Targeting GPR120 and other

- fatty acid-sensing GPCRs ameliorates insulin resistance and inflammatory diseases. *Trends Pharmacol Sci*, 2011, **32**(9): 543–550
- [14] Hara T, Kashiwara D, Ichimura A, *et al.* Role of free fatty acid receptors in the regulation of energy metabolism. *Bba-Mol Cell Biol L*, 2014, **1841**(9): 1292–1300
- [15] Bellahcene M, O'dowd J F, Wargent E T, *et al.* Male mice that lack the G-protein-coupled receptor GPR41 have low energy expenditure and increased body fat content. *Brit J Nutr*, 2013, **109**(10): 1755–1764
- [16] Wittenberger T, Schaller H C, Hellebrand S. An expressed sequence tag (EST) data mining strategy succeeding in the discovery of new G-protein coupled receptors. *J Mol Biol*, 2001, **307**(3): 799–813
- [17] Suzuki M, Takaishi S, Nagasaki M, *et al.* Medium-chain fatty acid-sensing receptor, GPR84, is a proinflammatory receptor. *Journal of Biological Chemistry*, 2013, **288**(15): 10684–10691
- [18] Du Toit E, Browne L, Irving-Rodgers H, *et al.* Effect of GPR84 deletion on obesity and diabetes development in mice fed long chain or medium chain fatty acid rich diets. *Eur J Nutr*, 2018, **57**(5): 1735–1746
- [19] Wang J H, Wu X S, Simonavicius N, *et al.* Medium-chain fatty acids as ligands for orphan G protein-coupled receptor GPR84. *Journal of Biological Chemistry*, 2006, **281**(45): 34457–34464
- [20] Yonezawa T, Kurata R, Yoshida K, *et al.* Free fatty acids-sensing G protein-coupled receptors in drug targeting and therapeutics. *Curr Med Chem*, 2013, **20**(31): 3855–3871
- [21] Nicol L S C, Dawes J M, La Russa F, *et al.* The role of G-protein receptor 84 in experimental neuropathic pain. *J Neurosci*, 2015, **35**(23): 8959–8969
- [22] Nagasaki H, Kondo T, Fuchigami M, *et al.* Inflammatory changes in adipose tissue enhance expression of GPR84, a medium-chain fatty acid receptor TNF alpha enhances GPR84 expression in adipocytes. *Febs Letters*, 2012, **586**(4): 368–372
- [23] Audoy-Remus J, Bozoyan L, Dumas A, *et al.* GPR84 deficiency reduces microgliosis, but accelerates dendritic degeneration and cognitive decline in a mouse model of Alzheimer's disease. *Brain Behavior and Immunity*, 2015, **46**: 112–120
- [24] Park J W, Yoon H J, Kang W Y, *et al.* G protein-coupled receptor 84 controls osteoclastogenesis through inhibition of NF-B and MAPK signaling pathways. *J Cell Physiol*, 2018, **233**(2): 1481–1489
- [25] Perry K J, Johnson V R, Malloch E L, *et al.* The G-protein-coupled receptor, GPR84, is important for eye development in *Xenopus laevis*. *Dev Dynam*, 2010, **239**(11): 3024–3037
- [26] Hockemeyer D, Wang H Y, Kiani S, *et al.* Genetic engineering of human pluripotent cells using TALE nucleases. *Nat Biotechnol*, 2011, **29**(8): 731–734
- [27] Tesson L, Usal C, Menoret S, *et al.* Knockout rats generated by embryo microinjection of TALENs. *Nat Biotechnol*, 2011, **29**(8): 695–696
- [28] Cermak T, Doyle E L, Christian M, *et al.* Efficient design and assembly of custom TALEN and other TAL effector-based constructs for DNA targeting. *Nucleic Acids Res*, 2011, **39**(17): 7879–7879
- [29] Li Y, Xu S, Mihaylova M M, *et al.* AMPK phosphorylates and inhibits SREBP activity to attenuate hepatic steatosis and atherosclerosis in diet-induced insulin-resistant mice. *Cell Metab*, 2011, **13**(4): 376–388
- [30] Kawaguchi T, Osatomi K, Yamashita H, *et al.* Mechanism for fatty acid "sparing" effect on glucose-induced transcription: regulation of carbohydrate-responsive element-binding protein by AMP-activated protein kinase. *J Biol Chem*, 2002, **277**(6): 3829–3835
- [31] Bhatnagar D, Soran H, Durrington P N. Hypercholesterolaemia and its management. *Brit Med J*, 2008, **337**(7668): a993
- [32] Chen Z M, Peto R, Collins R, *et al.* Serum-cholesterol concentration and coronary heart-disease in population with low cholesterol concentrations. *Brit Med J*, 1991, **303**(6797): 276–282
- [33] Van Den Berg M J, Van Der Graaf Y, De Borst G J, *et al.* Low-density lipoprotein cholesterol, non-high-density lipoprotein cholesterol, triglycerides, and apolipoprotein B and cardiovascular risk in patients with manifest arterial disease. *Am J Cardiol*, 2016, **118**(6): 804–810
- [34] Ji A, Meyer J M, Cai L, *et al.* Scavenger receptor SR-B I in macrophage lipid metabolism. *Atherosclerosis*, 2011, **217**(1): 106–112
- [35] Shen W J, Hu J, Hu Z, *et al.* Scavenger receptor class B type I (SR-B I): a versatile receptor with multiple functions and actions. *Metabolism*, 2014, **63**(7): 875–886

Effect of Medium-chain Fatty Acid-sensing Receptor GPR84 on Glucose and Lipid Metabolism in Mice*

FANG You-Chen^{1,2)**}, ZHENG Yang^{2,3,4)**}, ZHANG Qing²⁾, LI Jing²⁾, XIE Xin^{2)***}

⁽¹⁾ School of Life Sciences Shanghai University, Shanghai 200444, China;

²⁾ The National Center for Drug Screening, Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201203, China;

³⁾ ShanghaiTech University, Shanghai 201210, China; ⁴⁾ University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract The global rise of obesity and obesity-associated complications such as type 2 diabetes and cardiovascular disease has become a major public health concern. The etiology and pathogenesis of these obesity-related diseases are caused by multiple factors, and the free fatty acid receptors may play important roles. G protein coupled receptor 84 (GPR84) is a medium-chain (C9-C14) fatty acid-sensing receptor. However, its functions in obesity and metabolic diseases remain unclear. In this research, we established a high-fat diet induced obesity model in wild type and GPR84 knockout mice. Compared with WT mice, GPR84 knockout mice have similar levels of food intake, body weight, oral glucose tolerance test and insulin tolerance test both on normal chow diet and high-fat diet. GPR84 deficiency in mice did not affect fasting blood glucose level, insulin, triglyceride, low density lipoprotein cholesterol (LDL-c) and high density lipoprotein cholesterol (HDL-c). There were no genotypic differences in tissue mass, lipid synthesis, fatty acid oxidation and lipogenesis in mice on normal chow diet or high-fat diet. However, the concentration of total cholesterol (TC) was significantly reduced and scavenger receptor class B type I (SR-B I) was significantly increased in GPR84 knockout mice compared with WT mice on high-fat diet. These results indicate that GPR84 may not be involved in glucose and lipid metabolism in mice; instead, it may play a role in hypercholesterolemia caused by high cholesterol.

Key words GPR84, medium-chain fatty acid-sensing receptor, obesity, lipid metabolism, hypercholesterolemia

DOI: 10.16476/j.pibb.2018.0007

* This work was supported by grants from National Basic Research Program of China (2014CB541 900), China National Funds for Distinguished Young Scientists (81425024) and The National Natural Science Foundation of China (81573442).

**These authors contributed equally to this work.

***Corresponding author.

Tel: 86-21-50801313-156, E-mail: xxie@simmm.ac.cn

Received: April 27, 2018 Accepted: June 11, 2018