

研究论文

组胺刺激棕色和米色脂肪产热

冯月瑶¹, 张玉洁², 常永生^{1,*}

¹天津医科大学基础医学院生理与病理生理学系, 天津 300070; ²中国医学科学院基础医学研究所, 北京协和医学院基础医学院, 医学分子生物学国家重点实验室, 北京 100005

摘要: β 3-肾上腺素受体激动剂能够刺激棕色脂肪适应性产热, 并能促进白色脂肪米色化。然而到目前为止, 有哪些代谢产物参与介导 β 3-肾上腺素受体激动剂促进脂肪产热作用尚不清楚。本研究通过给予8周龄C57/BL6J雄性小鼠腹腔注射 β 3-肾上腺素受体激动剂CL316,243, 分离提取小鼠脂肪组织进行RNA-Seq检测, 结果显示组胺合成限速酶组氨酸脱羧酶(histidine decarboxylase, HDC)在脂肪中被CL316,243强烈诱导, 因此推测HDC的代谢产物组胺可能参与了脂肪组织的产热过程。通过给予正常饮食与高脂饮食C57BL/6J小鼠静脉注射组胺, 以明确组胺促进脂肪产热的生理作用和机制。结果显示, 组胺可刺激正常饮食小鼠棕色脂肪和皮下白色脂肪中产热基因的表达, 包括过氧化物酶体增殖物激活受体 γ -辅活化因子-1 α (peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator-1 α , PGC-1 α)和解耦联蛋白1 (uncoupling protein 1, UCP1)。HE染色表明, 组胺处理降低了脂肪细胞中脂滴的大小。此外, 组胺还可以促进高脂饮食诱导的肥胖小鼠脂肪产热, 改善糖耐量和脂肪肝表型。最后, 我们通过脂肪原代前体细胞实验验证了组胺促进产热是细胞的自主特性。本研究结果表明, 组胺可能参与介导了 β 3-肾上腺素受体激动剂促进脂肪的产热。

关键词: 组胺; 产热; 肥胖; UCP1; PGC-1 α

中图分类号: R363

Histamine stimulates thermogenesis of brown and beige fat

FENG Yue-Yao¹, ZHANG Yu-Jie², CHANG Yong-Sheng^{1,*}

¹Department of Physiology and Pathophysiology, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China; ²National Laboratory of Medical Molecular Biology, Institute of Basic Medical Sciences, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100005, China

Abstract: β 3-adrenergic agonists induce adaptive thermogenesis and promote beiging of white fat. However, it remains unclear which metabolites mediate the stimulatory effects of β 3-adrenergic agonists on thermogenesis of brown and beige fat. In this study, adipose tissue was isolated from 8-week-old C57/BL6J male mice by intraperitoneal administration of β 3-adrenergic agonist CL316,243 for RNA-Seq, which revealed that histidine decarboxylase, a key enzyme in histamine synthesis, was strongly induced in adipose by CL316,243. Therefore, we speculated that histamine might be involved in the process of thermogenesis in adipose tissue. We determined the physiological role and mechanism by which histamine promotes fat thermogenesis by intravenous administering histamine to C57BL/6J mice fed a normal or a high-fat diet. The results showed that intravenous injection of histamine into C57BL/6J mice fed a normal diet stimulated the expression of thermogenic genes, including peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator-1 α (PGC-1 α) and uncoupling protein 1 (UCP1), in brown adipose tissue (BAT) and inguinal white adipose tissue (iWAT). H&E staining also suggested that histamine treatment decreased the size of lipid droplets in adipocytes. Moreover, histamine treatment also enhanced thermogenesis of fat in high-fat diet induced obese mice, and improved glucose intolerance and fatty liver phenotype. Finally, we demonstrated that the effects of histamine on the thermogenic program were cell autonomous. Our data suggest that histamine may mediate the effects of β 3-adrenergic agonists on thermogenesis of fat.

Key words: histamine; thermogenesis; obesity; UCP1; PGC-1 α

Received 2020-11-25 Accepted 2021-02-26

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81825004, 81730024).

*Corresponding author. Tel: +86-22-83336577; E-mail: changys@tmu.edu.cn

组胺是一种生物胺，在中枢系统中主要在结节状核神经元中合成，之后被组胺 *N*-甲基转移酶甲基化后位于突触后膜和胶质细胞中，参与调控摄食行为、觉醒、体温调节等生理过程^[1]。在外周血液中，组胺主要是在肥大细胞和嗜碱性粒细胞中经脱颗粒合成，参与过敏、哮喘、免疫调节等病理生理过程^[2]。Valdes 等通过在侧脑中直接注射组胺来研究中枢组胺水平上调对机体的影响，结果显示中枢组胺增加能够调节核心体温，并且影响小鼠的摄食行为^[3]。在第三脑室或视前区注射组胺可以引起棕色脂肪交感神经系统兴奋，从而使棕色脂肪中的产热基因解耦联蛋白 1 (uncoupling protein 1, UCP1) 表达增加^[4]。升高下丘脑组胺水平使小鼠呼吸商降低，促进脂质氧化，提高氧耗^[5]。之前的研究表明，组胺不能通过血脑屏障^[6]。在大鼠中，经皮下注射组胺后，观察到外周组胺的增加可以降低血浆中的甘油三酯、总胆固醇和低密度脂蛋白的浓度，改善高脂饮食诱导的肥胖相关表型^[7]。

近年来由于人们饮食结构以及生活水平的提高，全球肥胖的发病率持续上升^[8]，肥胖会增加心血管系统的压力，使心脑血管发生意外的可能性增加^[9]。肥胖还可能对消化系统、内分泌系统、生殖系统等也具有消极的影响^[10]。 β 3-肾上腺素受体激动剂能够诱导适应性产热，从而促进白色脂肪米色化^[11]，缓解肥胖引发的不良影响。目前对于哪些代谢产物参与介导 β 3-肾上腺素受体激动剂的产热作用尚不清楚。本研究通过对腹腔注射 β 3-肾上腺素受体激动剂 CL316,243 的 C57BL/6J 小鼠皮下脂肪进行 RNA-Seq 分析，发现组氨酸脱羧酶 (histidine decarboxylase, HDC) mRNA 表达上调，而 HDC 为组胺合成的限制酶，因此我们进一步探索组胺在 β 3-肾上腺素受体激动剂诱导脂肪产热过程中的作用。

1 材料与方法

1.1 主要试剂 DMEM 高糖培养基、DMEMF12 培养基和胎牛血清 (fetal bovine serum, FBS) 分别购自 Hyclone 和 Gibco 公司；丙烯酰胺、苯甲基磺酰氟 (phenylmethanesulfonyl fluoride, PMSF)、牛血清白蛋白 (bovine serum albumin, BSA)、胶原酶、青霉素、链霉素、胰蛋白酶购自 Solarbio 公司；增强化学发光 (enhanced chemiluminescence, ECL) 试剂盒、BCA 定量试剂盒购自 Genstar 公司；二氟化树脂 (polyvinylidene fluoride, PVDF) 膜购自 Millipore 公司；

实时定量 PCR MIX、TRIzol 购自 Invitrogen 公司；逆转录试剂盒购自 ABI 公司；抗过氧化物酶体增殖物激活受体 γ -辅活化因子-1 α (peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator-1 α , PGC-1 α) 抗体、抗 UCP1 抗体、抗 β -tubulin 抗体、辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔抗体、辣根过氧化物酶标记的山羊抗鼠抗体购自 Abcam 公司；组胺、3-异丁基-1-甲基黄嘌呤 (IBMX)、地塞米松、三碘甲状腺氨酸 (T3)、罗格列酮、油红 O、胰岛素购于美国 Sigma 公司；氯化钠、异丙醇、75% 乙醇、无水乙醇均购于国药集团化学试剂上海有限公司。

1.2 实验动物 雄性 C57BL/6J 小鼠购于北京斯贝福生物技术有限公司，小鼠置于 SPF 级动物房，在室温 (25 ± 1) °C，相对湿度 (55 ± 5)% 的环境中饲养。维持 12 h/12 h 光/暗循环，自由摄食和饮水。实验操作均严格按照实验动物伦理学相关规则进行。

1.3 实验设计和动物分组处理 我们尝试使用了三种剂量的组胺尾静脉注射小鼠：每天 83.25 ng/g、166.5 ng/g、333 ng/g，在不引发小鼠产生过敏反应的前提下，小剂量组胺注射后白色脂肪米色化最显著，所以我们选择了每天 83.25 ng/g 组胺剂量。将小鼠随机分为 4 组，设置正常饮食生理盐水注射组、正常饮食组胺注射组、高脂饮食 (含 60% 脂肪) 生理盐水注射组、高脂饮食组胺注射组。正常饮食组自实验开始至结束用正常饲料喂养，高脂饮食组自实验开始至结束用高脂饲料喂养，喂养 14 周后，两组生理盐水对照组给予生理盐水尾静脉注射，两组组胺药物注射组小鼠分别根据体重给予尾静脉注射不同剂量组胺，正常饮食组连续注射 7 天，每天 1 次，高脂饮食组连续注射 15 天，每天 1 次。实验结束后，所有动物眼球取血，分离血清。颈椎脱臼法处死小鼠，取小鼠棕色脂肪组织 (brown adipose tissue, BAT)、白色脂肪组织和肝脏组织。

1.4 RNA 提取与实时定量 PCR 分析 新鲜组织 50 mg 或细胞加入 1 mL TRIzol 总 RNA 提取试剂，使用匀浆仪破碎组织。根据 TRIzol 提取试剂盒说明书提取 RNA，最后使用适量无菌无 RNA 酶水充分溶解 RNA 沉淀，使用分光光度计测量浓度。根据逆转录试剂盒说明书的步骤逆转录合成 cDNA，根据实时定量 PCR MIX 说明书建立 10 μ L 的 real-time PCR 反应体系：5 μ L 2 \times qPCR MIX, 1 μ L cDNA 模板, 3 μ L RNase Free ddH₂O, 0.5 μ L 上游引物 (10 μ mol/L), 0.5 μ L 下游引物 (10 μ mol/L)。所用引物序列如下：

HDC: 正向: 5'-TTGACCGTATCTCAGTGAGTC-CAT-3', 反向: 5'-ACGGTCATACGAAACAATAC-CATC-3', PGC-1 α : 正向: 5'-GGAGCTCCAAGACTCTAG-ACA-3', 反向: 5'-CCAAAGTCTCTCTCAGGTAGC-3', UCPI1: 正向: 5'-AGAGGTCGTGAAGGTCAGAATG-3', 反向: 5'-GGCTTGGTACGCTTGGGT-3', 36B4: 正向: 5'-CAGCAAGTGGGAAGGTGTAATCC-3', 反向: 5'-CCCAT-TCTATCATCAACGGGTACAA-3'。反应条件: 预变性: 95 °C 10 min, 扩增反应: 95 °C, 10 s; 60 °C, 20 s; 72 °C, 20 s, 共 45 个循环。最后得到 Ct 值, 以 36B4 为内参, 用 2^{- $\Delta\Delta$ Ct} 法计算各目的 mRNA 的相对表达水平。

1.5 Western blot 分析 取适量组织, 用干净的剪刀将组织剪碎于 1.5 mL EP 管中, 加入 600 μ L 蛋白裂解液 (含 PMSF), 匀浆仪破碎组织, 提取蛋白。取部分上清使用 BCA 试剂盒测量蛋白含量。30~60 μ g 蛋白进行聚丙烯酰胺凝胶电泳, 再将电泳后分离的蛋白质从凝胶中转印到 PVDF 膜上, 于 4 °C 孵育一抗 12 h, 使用 TBST 溶液洗 45 min, 室温孵育二抗 1 h, 使用 TBST 溶液洗 1 h, 使用 ECL 发光液曝光显影。

1.6 脂肪原代前体细胞分离以及给药方案 棕色脂肪原代前体细胞分离: 5~6 只 C57BL/6J 小鼠于冰上放置 5~10 min, 从颈部背侧取出 BAT, 将所有组织放于干净的 2 mL EP 管中, 用无菌的剪刀剪碎, 加入胶原酶, 于 37 °C 消化 20 min, 加入分离液终止消化后离心, 弃上清, 用 1 mL 含 20% FBS 的 DMEM 培养基重悬沉淀, 于 37 °C 细胞培养箱培养。白色脂肪原代前体细胞分离: 5 只 5~6 周龄 C57BL/6J 小鼠断头取血后浸泡于 75% 酒精中, 从腹部取出皮下脂肪组织, 将所有组织放于干净的 2 mL EP 管中, 用无菌剪刀剪碎, 加入胶原酶, 于 37 °C 消化 20 min, 加入分离液终止消化后过 60 目滤网, 离心, 弃去上清, 用 1 mL 含 10% FBS 的 DMEM-F12 培养基重悬沉淀, 于 37 °C 细胞培养箱培养。我们使用三种组胺浓度 (10 μ mol/L, 100 μ mol/L, 1 mmol/L) 对脂肪原代前体细胞进行处理, 最终在不影响细胞生长状态的前提下, 选取了细胞表型最显著的组胺浓度 1 mmol/L, 处理 24 h。

1.7 葡萄糖耐量实验 (glucose tolerance test, GTT)

于测试前一天下午 4 时至测试当天上午 8 时, 小鼠禁食 16 h, 自由饮水, 先测量零时血糖, 再给每只小鼠腹腔注射 2 g/kg 葡萄糖溶液, 检测 15、

30、60、90、120 min 时的小鼠血糖, 绘制血糖曲线。

1.8 HE 染色分析 将新鲜小鼠组织放入 4% 多聚甲醛溶液中固定 48 h 后, 进行脱水、石蜡包埋、切片。脱蜡后, 蒸馏水清洗 3 min, 使用一滴苏木素染色液进行染色 6 min, 清水冲洗 10 min, 滴加 95% 乙醇 5 s 后, 再使用伊红染色液染色 30 s。将染好的切片进行脱水、透明处理。使用中性树脂进行封片, 置于阴凉通风处存放。

1.9 油红 O 染色 取新鲜肝脏组织, 进行冰冻切片, 室温平衡 20 min, 使用 4% 多聚甲醛溶液固定 20 min, 清水清洗, 使用 60% 异丙醇溶液同化 5 min, 油红 O 染液染色 30 min, 使用 50% 甘油进行封片, 避光保存。

1.10 统计学分析 结果用 mean \pm SEM 来表示。应用 GraphPad Prism 7 统计软件进行非配对 *t* 检验分析。P < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 β 3-肾上腺素受体激动剂 CL316,243 与冷刺激均诱导棕色脂肪和白色脂肪中 HDC 基因的表达

为了确定参与 β 3-肾上腺素受体激动剂在脂肪中诱导适应性产热和米色化的关键信号分子或代谢物, 我们首先对 C57BL/6J 小鼠腹腔注射 β 3-肾上腺素受体激动剂 CL316,243, 将脂肪组织进行 RNA-Seq 分析^[12], 结果显示 HDC 基因在腹股沟白色脂肪组织 (inguinal white adipose tissue, iWAT) 和 BAT 中被 CL316,243 强烈诱导 (图 1A)。有文献报道, 4 °C 冷刺激可以通过刺激去甲肾上腺素 (norepinephrine, NE) 的分泌, 诱导棕色和米色脂肪的适应性产热^[13]。所以我们推测冷刺激能够促进 HDC 基因的表达。结果显示, 4 °C 冷刺激的确促进了 BAT 和 iWAT 中 HDC 基因的表达 (图 1B), 和预期结果一致。

2.2 组胺促进正常饮食小鼠的棕色脂肪产热和白色脂肪米色化

由于冷刺激和 β 3-肾上腺素受体激动剂均能够诱导 HDC 基因的表达, 我们推测该基因可能参与脂肪的产热。因此, 我们将 HDC 的代谢产物组胺 (每天 83.25 ng/g, 连续 7 天) 静脉注射到正常饮食的 C57BL/6J 小鼠中, 结果观察到组胺处理可以诱导 BAT 和 iWAT 中的产热基因 (包括 PGC-1 α 和 UCPI1) 的表达 (图 2A~D)。此外, HE 染色显示用组胺处理的小鼠 BAT 和 iWAT 中脂滴减小 (图 2E)。

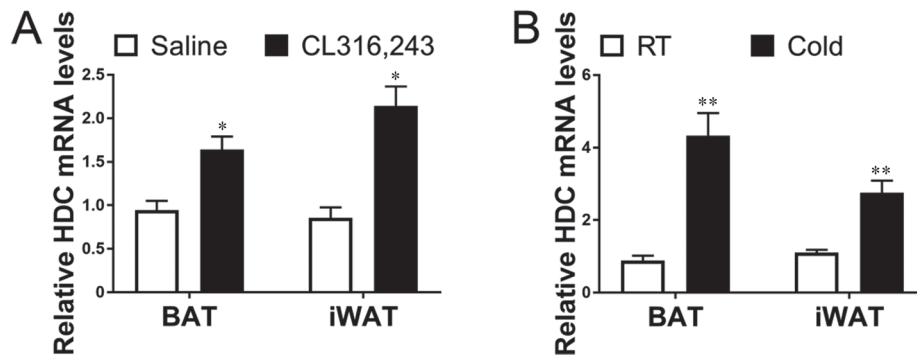


图 1. β_3 -肾上腺素受体激动剂和冷刺激诱导脂肪组织中组氨酸脱羧酶基因的表达

Fig. 1. Adipose HDC expression is regulated by β_3 -adrenergic agonist and cold stimulation. *A*: Quantitative PCR analysis of HDC mRNA levels in BAT and iWAT of C57BL/6J mice injected daily with saline or CL316,243 (1 mg/kg) for 4 days ($n = 6$ /group). *B*: Quantitative PCR analysis of HDC mRNA levels in iWAT and BAT of C57BL/6J mice housed at room temperature (RT) or 4 °C (cold) for 48 h ($n = 6$ /group). Data are given as mean \pm SEM. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs Saline or RT. BAT: brown adipose tissue; iWAT: inguinal white adipose tissue; HDC: histidine decarboxylase.

2.3 组胺改善高脂饮食小鼠的代谢表型

为了进一步研究组胺的生理作用，我们将组胺（每天 83.25 ng/g，连续 15 天）静脉注射到高脂饮食诱导的肥胖小鼠中。结果与正常饮食小鼠类似，组胺注射也增加了高脂饮食小鼠 BAT 和 iWAT 中 PGC-1 α 和 UCP1 的 mRNA 水平（图 3A, B）。高脂饮食喂养会诱发高脂血症和脂肪肝疾病。然而，如 HE 染色和油红 O 染色所示，组胺显著降低高脂饮食小鼠血清甘油三酯水平并改善脂肪肝表型（图 3C, D）。此外，GTT 显示组胺还改善了高脂饮食小鼠葡萄糖耐受不良（图 3E）。

2.4 组胺促进脂肪原代前体细胞产热基因的表达

为了确定组胺对脂肪产热的影响是否是细胞自主发生的，我们分离了脂肪前体细胞，体外分化为棕色脂肪细胞和米色脂肪细胞后，用 1 mmol/L 组胺处理 24 h。结果在白色和棕色脂肪原代前体细胞中 PGC-1 α 和 UCP1 mRNA 水平也显著升高（图 4A, B）。这些结果表明，组胺能直接刺激脂肪细胞产热，不需要通过影响其他组织或细胞而间接刺激脂肪的产热。

3 讨论

能量代谢与能量摄入的平衡被破坏时，多余的能量在脂肪组织中储存，进而引起肥胖的发生，这与许多临床上的疾病息息相关，影响机体多种组织、器官，使患者支付巨大的费用的同时还要遭受病痛的折磨。目前相关的治疗手段效果一般。

人体的脂肪组织大体可以分为三类：棕色脂肪、

米色脂肪和白色脂肪。棕色脂肪和米色脂肪可以通过产热来消耗能量过剩的储存，缓解代谢紊乱，从而达到对肥胖症的控制与治疗。因此，我们试图寻找能够增强脂肪组织自主产热的代谢物。通过对小鼠进行 β_3 -肾上腺素受体激动剂 CL316,243 的注射，我们观察到脂肪组织中 HDC 的 mRNA 表达水平显著升高。由于 HDC 是组胺合成的关键酶，所以我们认为组胺可能参与了 β_3 -肾上腺素受体激动剂诱导的脂肪产热过程。

之前的研究显示，HDC 敲除小鼠 ($HDC^{-/-}$) 由于大脑中 HDC 的缺乏，组胺生成减少，组胺能神经元的支配减弱。 $HDC^{-/-}$ 小鼠由于组胺的缺乏，降低了交感神经系统的张力，使 BAT 中产热减少，组织重量增加。 β_3 -肾上腺素受体作用减弱，BAT 中 UCP1 mRNA 表达减少，脂肪分解减弱^[14, 15]。并且有文献报道，在寒冷刺激时，肥大细胞活化脱颗粒释放组胺，能够促进脂肪的产热过程，而组胺受体 1 拮抗剂氯苯那敏可以有效抑制脂肪细胞中 UCP1 mRNA 的表达^[16]。这与本研究结果相一致，我们在增加了外周组胺浓度之后，观察到正常饮食小鼠与高脂饮食诱导的肥胖小鼠的脂肪组织中产热相关基因表达（包括 PGC-1 α 和 UCP1）均被上调，激活了适应性产热过程。为了验证是否是脂肪细胞自主发生的产热过程，我们通过分离脂肪原代前体细胞，在体外诱导成米色脂肪细胞与棕色脂肪细胞，结果发现组胺可以直接刺激脂肪细胞发挥产热功能。并且，我们还观察到在组胺处理组中高脂饮食诱导的相关代谢疾病（高脂血症、脂肪肝以及受损

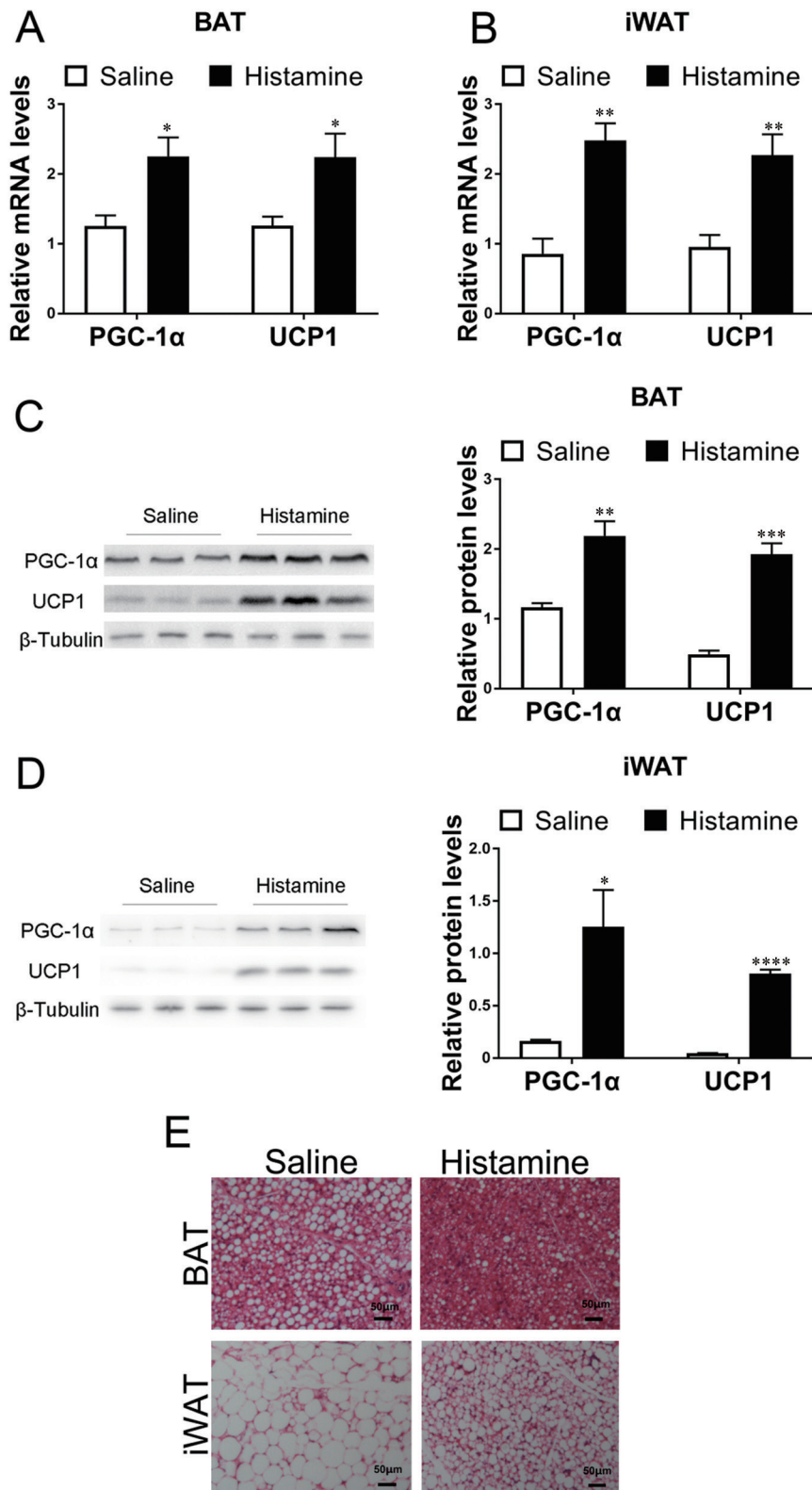


图 2. 组胺促进正常饮食小鼠脂肪的产热基因表达

Fig. 2. Histamine promotes BAT thermogenesis and iWAT browning in mice fed a normal diet. *A, B*: RT-qPCR of PGC-1 α and UCP1 mRNA in BAT and iWAT from chow diet mice treated with saline or histamine for 1 week ($n = 6/\text{group}$). *C, D*: Western blot and semi-quantitative analyses of PGC-1 α and UCP1 expression in BAT and iWAT from chow diet mice. Western blot results were normalized and presented relative to β -Tubulin. *E*: HE staining for BAT and iWAT from chow diet mice. Scale bar, 50 μm . Data are given as mean \pm SEM. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ and **** $P < 0.0001$ vs Saline. BAT: brown adipose tissue; iWAT: inguinal white adipose tissue.

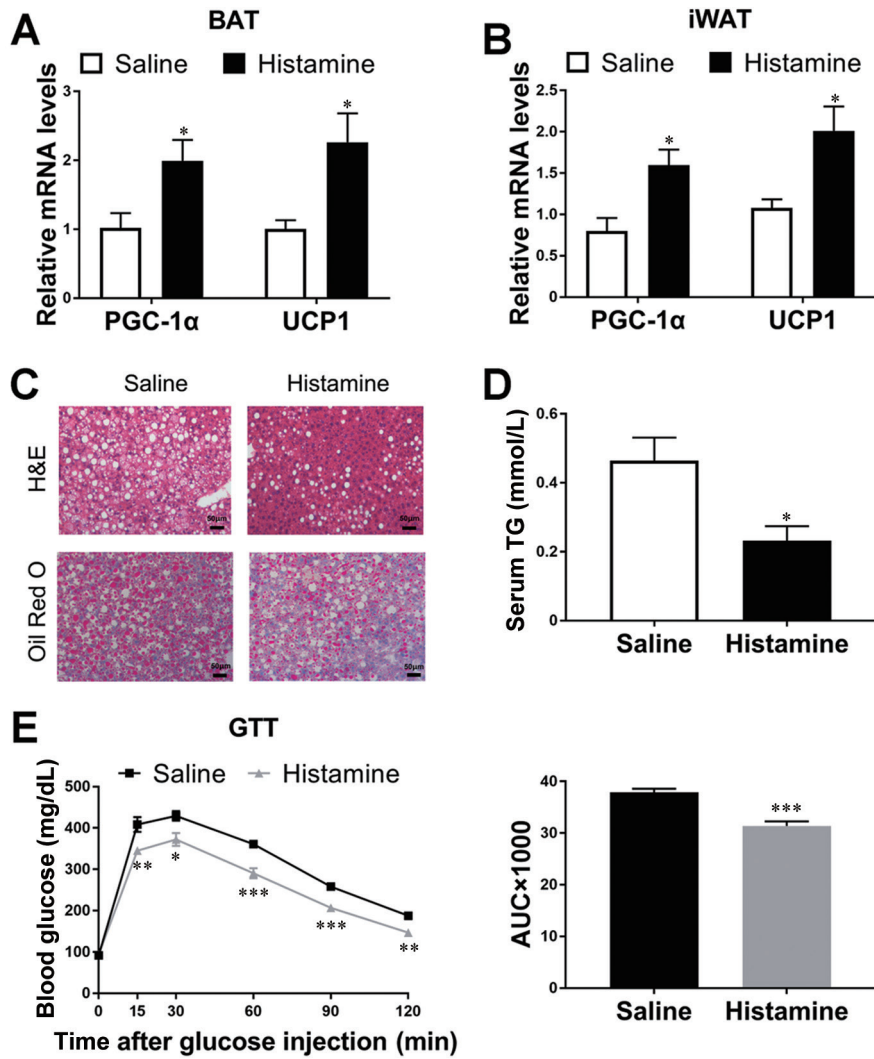


图 3. 组胺改善高脂饮食诱导的肥胖小鼠的代谢表型

Fig. 3. Histamine ameliorates metabolic abnormalities in mice fed a high-fat diet. *A, B*: RT-qPCR of PGC-1 α and UCP1 mRNA in BAT and iWAT from high-fat diet induced obese mice treated with saline or histamine for 15 days ($n = 6$ /group). *C*: H&E and Oil Red O staining for the liver from obese mice. Scale bar, 50 μ m. *D*: Histamine reduced the serum triglyceride (TG) concentration of obese mice. *E*: Blood glucose concentrations during the glucose tolerance test (GTT) in obese mice and area under curve (AUC). Data are given as mean \pm SEM. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ and *** $P < 0.001$ vs Saline. BAT: brown adipose tissue; iWAT: inguinal white adipose tissue.

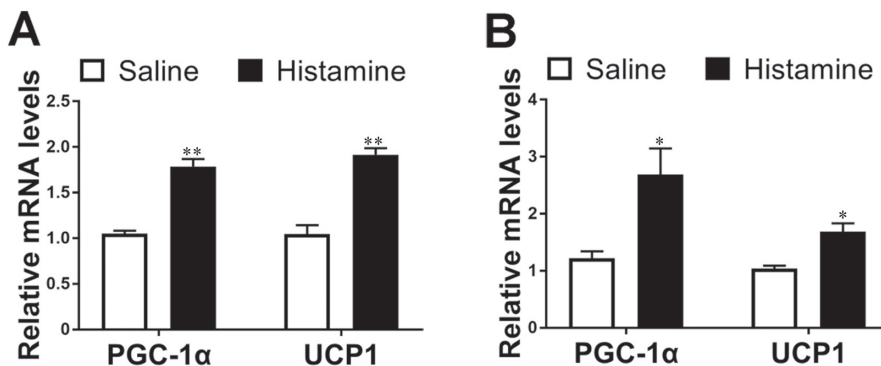


图 4. 组胺促进脂肪原代前体细胞产热基因的表达

Fig. 4. Histamine promotes thermogenesis in primary adipocytes. *A, B*: RT-qPCR of PGC-1 α and UCP1 mRNA in brown (*A*) and white (*B*) primary adipocytes ($n = 6$ /group). Data are given as mean \pm SEM. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs Saline.

的葡萄糖耐量)被改善。因此我们推测组胺可能参与了 β 3-肾上腺素受体介导的产热反应,并且改善了部分高脂饮食引起的代谢表型。

组胺参与适应性产热反应的分子机制尚不明确,目前已经报道的组胺受体共有4个,之前代谢相关研究发现,组胺受体1参与中枢神经系统和胰腺组织之间的协同作用,调节体内葡萄糖代谢。受体2参与肝脏和骨骼肌中的脂质和葡萄糖代谢^[17]。受体3主要在外周神经内分泌器官中起调节作用^[18],受体4参与了冷刺激后皮下白色脂肪组织的米色化^[19]。后续我们还需要通过不同组胺受体的特异性拮抗剂探索组胺参与 β 3-肾上腺素受体激动剂介导的适应性产热的分子机制。

综上所述,我们的研究结果证明,组胺可能参与介导了 β 3-肾上腺素受体激动剂对脂肪产热的影响。

参考文献

- Chikahisa S, Kodama T, Soya A, Sagawa Y, Ishimaru Y, Sei H, Nishino S. Histamine from brain resident MAST cells promotes wakefulness and modulates behavioral states. *PLoS One* 2013; 8(10): e78434.
- Lindstedt KA, Mayranpaa MI, Kovanen PT. Mast cells in vulnerable atherosclerotic plaques--a view to a kill. *J Cell Mol Med* 2007; 11(4): 739-758.
- Valdes JL, Sanchez C, Riveros ME, Blandina P, Contreras M, Farias P, Torrealba F. The histaminergic tuberomammillary nucleus is critical for motivated arousal. *Eur J Neurosci* 2010; 31(11): 2073-2085.
- Yasuda T, Masaki T, Sakata T, Yoshimatsu H. Hypothalamic neuronal histamine regulates sympathetic nerve activity and expression of uncoupling protein 1 mRNA in brown adipose tissue in rats. *Neuroscience* 2004; 125(3): 535-540.
- Malmlof K, Zaragoza F, Golozoubova V, Refsgaard HH, Cremers T, Raun K, Wulff BS, Johansen PB, Westerink B, Rimvall K. Influence of a selective histamine H3 receptor antagonist on hypothalamic neural activity, food intake and body weight. *Int J Obes (Lond)* 2005; 29(12): 1402-1412.
- Alstadhaug KB. Histamine in migraine and brain. *Headache* 2014; 54(2): 246-259.
- Nikfar A, Rasouli M. Hypolipemic effects of histamine is due to inhibition of VLDL secretion from the liver: involvement of both H1 and H2-receptors. *Arch Physiol Biochem* 2020: 1-5.
- Eid S, Sas KM, Abcouwer SF, Feldman EL, Gardner TW, Pennathur S, Fort PE. New insights into the mechanisms of diabetic complications: role of lipids and lipid metabolism. *Diabetologia* 2019; 62(9): 1539-1549.
- Parhofer KG. The treatment of disorders of lipid metabolism. *Dtsch Arztebl Int* 2016; 113(15): 261-268.
- Jones JG. Hepatic glucose and lipid metabolism. *Diabetologia* 2016; 59(6): 1098-1103.
- Chen KY, Brychta RJ, Abdul Sater Z, Cassimatis TM, Cero C, Fletcher LA, Israni NS, Johnson JW, Lea HJ, Linderman JD, O'Mara AE, Zhu KY, Cypess AM. Opportunities and challenges in the therapeutic activation of human energy expenditure and thermogenesis to manage obesity. *J Biol Chem* 2020; 295(7): 1926-1942.
- Fan H, Zhang Y, Zhang J, Yao Q, Song Y, Shen Q, Lin J, Gao Y, Wang X, Zhang L, Zhang Y, Liu P, Zhao J, Cui Q, Li JZ, Chang Y. Cold-inducible Klf9 regulates thermogenesis of brown and beige fat. *Diabetes* 2020; 69(12): 2603-2618.
- Harms M, Seale P. Brown and beige fat: development, function and therapeutic potential. *Nat Med* 2013; 19(10): 1252-1263.
- Hegy K, Fulop KA, Kovacs KJ, Falus A, Toth S. High leptin level is accompanied with decreased long leptin receptor transcript in histamine deficient transgenic mice. *Immunol Lett* 2004; 92(1-2): 193-197.
- Fulop AK, Foldes A, Buzas E, Hegyi K, Miklos IH, Romics L, Kleiber M, Nagy A, Falus A, Kovacs KJ. Hyperleptinemia, visceral adiposity, and decreased glucose tolerance in mice with a targeted disruption of the histidine decarboxylase gene. *Endocrinology* 2003; 144(10): 4306-4314.
- Finlin BS, Zhu B, Confides AL, Westgate PM, Harfmann BD, Dupont-Versteegden EE, Kern PA. Mast cells promote seasonal white adipose beiging in humans. *Diabetes* 2017; 66(5): 1237-1246.
- Wang KY, Tanimoto A, Yamada S, Guo X, Ding Y, Watanabe T, Watanabe T, Kohno K, Hirano K, Tsukada H, Sasaguri Y. Histamine regulation in glucose and lipid metabolism via histamine receptors: model for nonalcoholic steatohepatitis in mice. *Am J Pathol* 2010; 177(2): 713-723.
- Kotanska M, Kuder KJ, Szczepanska K, Sapa J, Kiec-Kononowicz K. The histamine H3 receptor inverse agonist pitolisant reduces body weight in obese mice. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 2018; 391(8): 875-881.
- Zhao YX, Pan JB, Wang YN, Zou Y, Guo L, Tang QQ, Qian SW. Stimulation of histamine H4 receptor participates in cold-induced browning of subcutaneous white adipose tissue. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2019; 317(6): E1158-E1171.