

促酰化蛋白对 3T3 - L1 脂肪细胞糖脂代谢的影响

刘 婧 胡秀芬 卢慧玲 温 宇

摘 要 **目的** 观察胰岛素抵抗状态下 3T3 - L1 成熟脂肪细胞促酰化蛋白 (acylation stimulating protein, ASP) 刺激下脂代谢关键酶 (LPL、HSL、perilipin、DGAT) 基因表达的影响, 以及胰岛素经典信号通路 (IRS - 1、PI₃K) 蛋白表达的影响。**方法** 3T3L - 1 脂肪细胞给予不同浓度 (0、0.125、0.5、1.0mmol/L) 油酸及棕榈酸孵育过夜。real - time PCR 方法定量检测 ASP 刺激下脂肪细胞 LPL、HSL、perilipin、DGAT 基因表达水平。Western blot 法检测 ASP 和 INS 刺激下脂肪细胞 HSL、perilipin、IRS - 1、PI₃K 蛋白表达水平。**结果** ASP 促进脂代谢关键酶 HSL、LPL、perilipin 和 DGAT 的基因表达。其中 0.5mmol/L 油酸组增加 5 倍 HSL、1.87 倍 LPL、6.87 倍 perilipin、2.5 倍 DGAT 基因表达 ($P < 0.01$)。1.0mmol/L 油酸组增加 3.26 倍 HSL、2.98 倍 LPL、5.46 倍 perilipin、2 倍 DGAT 基因表达 ($P < 0.01$)。0.5mmol/L 棕榈酸组增加 1.98 倍 HSL、4.63 倍 DGAT 基因表达 ($P < 0.05$)。胰岛素和 ASP 刺激下显著增加脂肪酸孵育的成熟脂肪细胞 HSL、perilipin、PI₃K 蛋白的表达。胰岛素刺激状态下油酸组增加 1.75 倍 HSL、1.27 倍 perilipin、2.59 倍 PI₃K 蛋白的表达 ($P < 0.01$)。棕榈酸组增加 85% ($P < 0.05$) HSL、96% ($P < 0.05$) perilipin、3.66 倍 ($P < 0.01$) PI₃K 蛋白的表达。ASP 刺激状态下油酸组增加 76% ($P < 0.05$) HSL、86% ($P < 0.05$) perilipin 蛋白的表达, 棕榈酸组增加 76% ($P < 0.05$) perilipin、1.27 倍 ($P < 0.01$) PI₃K 蛋白表达。胰岛素及 ASP 刺激下脂肪细胞 IRS - 1 蛋白表达差异无统计学意义。**结论** 胰岛素和 ASP 可增加脂代谢关键酶 HSL、perilipin 蛋白及经典胰岛素信号通路 PI₃K 蛋白的表达。ASP 可以从不同程度上增加糖脂代谢关键酶 HSL、LPL、perilipin 和 DGAT 基因的表达, 通过增加这些酶的表达, 提高酶的敏感度, 参与调节脂肪细胞糖脂代谢。

关键词 脂肪细胞 胰岛素抵抗 促酰化蛋白 糖脂代谢关键酶

中图分类号 R3

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2018.02.017

Effects of Acylation Stimulating Protein on the Lipometabolism in 3T3 - L1 Adipocytes. Liu Jing, Hu Xiufen, Lu Huiling, et al. Wuhan Children's Hospital. Department of Pediatrics, Tongji Hospital, Tongji Medical College of HuaZhong University of Science and Technology, HuBei 430030, China.

Abstract Objective To evaluate the affect on secretion levels and protein expression of the key enzyme of lipid metabolism (LPL, HSL, perilipin, DGAT), and the affect on protein expression of classical signaling pathways of insulin (IRS - 1, PI₃K) in 3T3 - L1 adipocytes with acylation stimulating protein (ASP) stimulated under the condition which produce insulin resistance by free fatty acids. **Methods** The different concentrations of the Oleate and Palmitate (0, 0.125, 0.5, 1.0mmol/L) were added to cultured 3T3 - L1 adipocytes overnight. The real - time - PCR were used to detected mRNA of LPL, HSL, Perilipin, DGAT. The western blot were used to detected protein of HSL, perilipin, IRS - 1, PI₃K. **Results** After incubated with ASP, comparing with that of 0mmol/L, the levels of HSL, perilipin, LPL and DGAT mRNA expression were increased. In insulin and ASP stimulating condition, comparing with the 0mmol/L, the levels of HSL, perilipin, PI₃K protein expression were increased. And comparing with the insulin stimulated, the protein expression of HSL, perilipin IRS - 1 and PISK failed to significantly increase with the ASP stimulated. **Conclusion** Under the condition of insulin resistance, ASP can increase the mRNA expression of HSL, LPL, perilipin and DGAT by increasing the expression of these enzymes to improve the sensitivity and improve the use of the body's fat cell, to regulate the glucose and lipid metabolism. INS and ASP can increase the protein expression of the key enzyme of lipid metabolism (HSL, perilipin), and the classical insulin signaling pathway (PI₃K).

Key words Adipocytes; Insulin resistance; Acylation stimulating protein; Key enzyme of lipometabolism and glycometabolism

促酰化蛋白 (acylation stimulating protein, ASP) 的

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金资助项目 (30800385); 教育部新教师基金资助项目 (200804871059)

作者单位: 430030 武汉, 华中科技大学附属同济医院儿科 (胡秀芬、卢慧玲、温宇); 武汉市儿童医院 (刘婧)

通讯作者: 温宇, 副主任医师, 电子信箱: 2721837622@qq.com

生物学功能与胰岛素类似, 主要是促进脂肪酸酯化和甘油三酯合成, 刺激葡萄糖转运, 参与机体糖脂代谢的调节^[1]。近年来研究证明, 机体存在着与胰岛素抵抗相类似的 ASP 抵抗, 其发生机制与 ASP - C5L2 信号转导途径有关^[2]。然而, ASP 是否参与糖脂代谢关键酶的调节? 如何调节? 这些问题仍需要深入研究。本研究以 3T3 - L1 成熟脂肪细胞为研究对象,

检测不同浓度不同类型游离脂肪酸 (free fat acid, FFA) 孵育的 3T3-L1 成熟脂肪细胞在胰岛素刺激状态和 ASP 刺激状态下脂代谢关键酶 (LPL、HSL、perilipin、DGAT) 基因水平及蛋白表达的影响, 以及经典胰岛素信号通路 (IRS-1、PI₃K) 蛋白表达的影响, 以探讨 ASP 对脂肪细胞糖脂代谢的调节作用, 为代谢综合征的诊治提供新的临床思路。

材料与方法

1. 材料: 小鼠源 3T3-L1 前脂肪细胞株购自美国 ATCC 公司, DMEM/F12 培养基购于美国 Hyclon 公司。促酰化蛋白及 1-甲基 3-异丁基黄嘌呤 (1-methyl 3-isobutylxanthine, IBMX)、地塞米松 (dexamethasone, DEX)、胰岛素 (insulin, INS)、油酸 (oleate)、棕榈酸 (palmitate)、牛血清白蛋白、二甲基亚砷 (DMSO) 均购于美国 Sigma 公司。PCR 试剂盒购于日本 Toyoba 公司。PCR 引物由北京奥科生物有限公司合成。辣根酶标记羊抗兔 IgG (H+L) 购于美国 Fermentas 公司。兔抗 HSL 多克隆抗体、兔抗 perilipin 多克隆抗体、兔抗 IRS-1 多克隆抗体、兔抗 PI₃K 多克隆抗体、兔抗 actin 多克隆抗体购于美国 Santa Cruz Biotechnology 公司。

2. 方法: (1) 细胞培养及诱导分化: 用含 10% 胎牛血清的 DMEM/F12 培养基培养 3T3-L1 前脂肪细胞, 隔天换液, 当细胞单层融合至 70% 的时候, 0.25% 胰蛋白酶消化、传代或冻存。细胞完全融合后 2 天 (此时为诱导分化第 0 天), 加入诱导分化培养基 (DMEM/F12 培养基, 加入 0.5 mmol/L IBMX、1 μmol/L DEX、10 μg/ml INS), 2 天后换用含 10% 胎牛血清的 DMEM/F12 培养基和 10 μg/ml INS 培养 2 天, 2 天后换用仅含 10% 胎牛血清的 DMEM/F12 培养基培养至诱导分化第 8~9 天。(2) 实验分组: 本实验室前期研究中以 3T3-L1 前脂肪细胞和脂肪细胞为研究对象, 观察最大葡萄糖摄取率时胰岛素的作用时间及浓度, 并研究不同浓度脂肪酸 (油酸、棕榈酸) 对前脂肪细胞和脂肪细胞葡萄糖摄取率的影响, 以建立脂肪酸诱导胰岛素抵抗的细胞模型^[3]。体外培养 3T3-L1 前脂肪细胞诱导分化至成熟脂肪细胞。将成熟脂肪细胞置于含终浓度分别为 0、0.125、0.5、1.0 mmol/L 油酸和棕榈酸的无血清的 DMEM/F12 培养基中, 37℃ 培养箱中孵育过夜, 吸出培养基, PBS 清洗 2 次后, 分为 3 组 (空白对照组、ASP 刺激组、胰岛素刺激组), 分别加入无血清 DMEM/F12 培养基、1 μmol/L ASP 及 100 nmol/L INS 继续培养 2h。

按实验要求收获细胞。(3) 实时荧光定量 PCR 方法检测 ASP 刺激下 3T3-L1 脂肪细胞 HSL、Perilipin、LPL、DGAT mRNA 表达: ①游离脂肪酸孵育过夜后, 吸出培养基, PBS 清洗两次后, 各组加入 1 μmol/L ASP 继续培养 2h; ②提取细胞总 RNA, 反转录, 合成引物及内参 (表 1), 采用 real-time PCR 方法扩增, 反应体系为 2 × qPCR Mix 12.5 μl, 2.5 μmol/L 内标引物 2.0 μl, 反转录产物 2.0 μl, ddH₂O 8.5 μl, 共 25 μl。将 cDNA 样品模板进行 5 倍梯度稀释, 制作标准曲线, 寻找最佳 PCR 扩增循环条件, 每个样品重复 3 次。最终循环条件为: 预变性 95℃, 1min; 循环 (40 次) 95℃, 15s → 58℃, 20s → 72℃, 20s。末段延伸 72℃, 5min; 溶解曲线 72℃ → 95℃, 每 20s 升温 1℃; ③PCR 产物分析: 以 β-actin 作为内参, 目的基因及内参基因扩增程度用 Ct 值表示, 应用 2-ΔΔCt 法对目的基因 mRNA 水平进行相对定量分析: $\Delta\Delta Ct = (\text{目的基因 Ct 值} - \text{内参基因 Ct 值})_{\text{待测组}} - (\text{目的基因 Ct 值} - \text{内参基因 Ct 值})_{\text{对照组}}$ 。(4) 免疫印迹 (Western blot) 法检测 IRS-1、PI₃K、HSL、perilipin 蛋白表达: ①刺激物干预: 空白组和 1.0 mmol/L 脂肪酸组吸取培养基, 用温 PBS 清洗两次, 分别加入含 1 μmol/L ASP 和 100 nmol/L INS 的无血清 DMEM/F12 培养基孵育 2h; ②提取总蛋白, 考马斯亮蓝法测定细胞总蛋白, 取 40 μg 蛋白进行 SDS-PAGE 电泳, 转膜, 封闭, 加入 anti-actin (1:500), anti-HSL (1:1000), anti-perilipin (1:800), anti-IRS-1 (1:500), anti-PI₃K (1:1000), 4℃ 过夜。洗涤后加入稀释辣根酶偶联的羊抗兔 IgG 抗体 (1:5000), 避光孵育 1h, 充分洗涤后与化学发光底物反应, 在底片上曝光, 洗片后对结果进行光密度扫描分析, 以特异性目的条带吸光度值与 actin 条带吸光度值的比值表示目的蛋白表达相对含量。

3. 统计学方法: 用 GraphPad Prism 4.0 (USA) 统计学软件进行统计分析, 实验数据以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 多组间比较采用方差分析 (ANOVA), 两组间样本均数比较采用 SNK 法或 t 检验分析, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. FFA 诱导的胰岛素抵抗状态下 ASP 对脂代谢关键酶基因表达的影响: (1) 与空白对照组 (0 mmol/L) 比较, ASP 刺激下, 0.125 mmol/L 油酸组 HSL 基因表达降低 0.06 ($P > 0.05$)、而 0.5 mmol/L 及 1.0 mmol/L 组分别升高 5 倍、3.26 倍 ($P < 0.01$); 棕榈酸组分别

升高 1.04 倍 ($P > 0.05$, 0.125mmol/L), 1.98 倍 ($P < 0.05$, 0.5mmol/L) 和 1.87 倍 ($P < 0.05$, 1.0mmol/L) (图 1、图 2)。(2) 与空白对照组 (0mmol/L) 比较, ASP 刺激下, 0.125mmol/L 油酸组 LPL 基因表达降低了 41% ($P < 0.05$), 而 0.5mmol/L 与 1.0mmol/L 组分别升高 1.87 倍和 2.98 倍 ($P < 0.01$); 0.125mmol/L 棕榈酸组 LPL 基因表达降低 11% ($P > 0.05$), 而 0.5 和 1.0mmol/L 组分别升高 1.03 倍和 1.13 倍 ($P > 0.05$, 图 1、图 2)。(3) 与空白对照组 (0mmol/L) 比较, ASP 刺激下, 油酸组 perilipin 基因表达分别升高 1.39 倍 ($P > 0.05$, 0.125mmol/L)、6.87 倍 ($P < 0.01$,

0.5mmol/L) 和 5.46 倍 ($P < 0.01$, 1.0mmol/L); 0.125mmol/L 的棕榈酸组 perilipin 基因表达降低 27% ($P < 0.05$), 0.5mmol/L 和 1.0mmol/L 组分别升高 1.16 倍和 1.06 倍 ($P > 0.05$, 图 1、图 2)。(4) 与空白对照组 (0mmol/L) 比较, ASP 刺激下, 0.125mmol/L 油酸组 DGAT 基因表达降低了 24% ($P > 0.05$), 0.5mmol/L 与 1.0mmol/L 油酸组分别升高 2.5 倍和 2 倍 ($P < 0.01$)。而不同浓度 (0.125、0.5、1.0mmol/L) 棕榈酸组 DGAT 基因表达与空白对照组比较分别升高 3.81 倍、4.63 倍和 2.53 倍 (P 均 < 0.05 , 图 1、图 2)。

表 1 采用 primer premier 5.0 统计学软件设计 HSL、perilipin、DGAT、LPL 和 β -actin 引物 ($\bar{x} \pm s$)

引物序列	上游引物 (5'→3')	下游引物 (5'→3')	扩增片段 (bp)
HSL	GGAGCACTACAAACGCAACG	CAGAGACGACAGCACCTCAATC	184
perilipin	TCTGCTCTCGGGCTTATCAC	ACACAGTGGGACTCATCGGT	229
DGAT	CCCATACCCGGGACAAAGAC	CAGCATCACACACACCAATTC	146
LPL	AGGATGGCAAGCAACACAAC	GTCTCTCCGGCTTTCACTCG	256
β -actin	CTGAGAGGGAAATCGTGCCT	CCACAGGATTCCATACCCAAGA	208

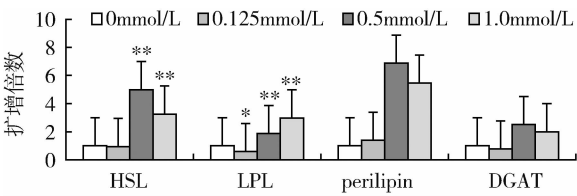


图 1 ASP 刺激下油酸组 3T3-L1 脂肪细胞脂代谢关键酶基因表达的影响
与 0mmol/L 组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

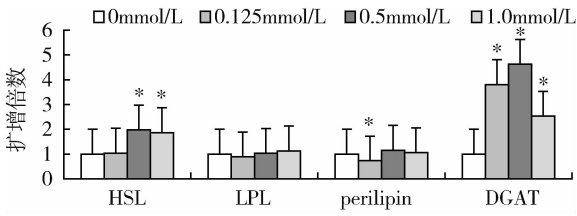


图 2 ASP 刺激下棕榈酸组 3T3-L1 脂肪细胞脂代谢关键酶基因表达的影响
与 0mmol/L 组比较, * $P < 0.05$

2. 胰岛素和 ASP 对 FFA 诱导的 3T3-L1 脂肪细胞胰岛素抵抗状态下 HSL 和 perilipin 蛋白表达的影响: 1.0mmol/L 油酸和棕榈酸孵育过夜后, 与对照组比较 (无 FFA 刺激), 胰岛素刺激下油酸组增加 1.75 倍 ($P < 0.01$) HSL 蛋白和 1.27 倍 ($P < 0.01$) perilipin 蛋白的表达, 棕榈酸组增加 85% ($P < 0.01$) HSL 蛋白

和 96% ($P < 0.05$) perilipin 蛋白的表达; 而 ASP 刺激下油酸组增加 76% ($P < 0.05$) HSL 蛋白和 86% ($P < 0.05$) perilipin 蛋白的表达, 棕榈酸组增加 76% ($P < 0.05$) perilipin 蛋白的表达。而与胰岛素刺激组比较, ASP 刺激 FFA 诱导的脂肪细胞胰岛素抵抗状态下 HSL 蛋白及 perilipin 蛋白表达比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$, 表 2、图 3)。

3. 胰岛素和 ASP 对 FFA 诱导的 3T3-L1 脂肪细胞胰岛素抵抗状态下 PI_3K 和 IRS-1 蛋白表达的影响: 1.0mmol/L 油酸和棕榈酸孵育过夜后, 与对照组相比 (无 FFA 刺激), 胰岛素刺激下油酸和棕榈酸组分别增加 2.59 倍 ($P < 0.01$) 和 3.66 倍 ($P < 0.01$) PI_3K 蛋白表达; ASP 刺激下棕榈酸增加 1.27 倍 ($P < 0.01$) PI_3K 蛋白的表达。IRS-1 蛋白表达比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。而与胰岛素刺激组比较, ASP 刺激 FFA 诱导的脂肪细胞胰岛素抵抗状态下 PI_3K 蛋白及 perilipin 蛋白的表达比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$, 表 2、图 3)。

讨 论

近年来对脂肪细胞的研究着重于其内分泌功能上, 越来越多的研究证明脂肪细胞可分泌多种生物因子, 参与机体的能量调节, 是机体重要的内分泌器官^[4]。脂肪组织内的甘油三酯在酶的参与下分解成游离脂肪酸。游离脂肪酸是细胞膜结构底物, 并参与

表 2 INS 和 ASP 对脂肪细胞脂代谢关键酶蛋白表达的影响(目的蛋白灰度/ β -actin 灰度, $\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	HSL		perilipin		PI ₃ K		IRS-1	
	+ INS	+ ASP	+ INS	+ ASP	+ INS	+ ASP	+ INS	+ ASP
对照组	0.397 ± 0.153	0.825 ± 0.285	0.332 ± 0.04	0.451 ± 0.06	0.122 ± 0.032	0.318 ± 0.137	0.368 ± 0.114	0.734 ± 0.136
油酸	1.092 ± 0.234 **	1.453 ± 0.185 * Δ	0.754 ± 0.213 **	0.842 ± 0.203 * Δ	0.439 ± 0.130 **	0.517 ± 0.145 Δ	0.587 ± 0.213	0.681 ± 0.143 Δ
棕榈酸	0.737 ± 0.163 *	0.957 ± 0.164 Δ	0.652 ± 0.234 *	0.796 ± 0.125 * Δ	0.533 ± 0.152 **	0.723 ± 0.182 ** Δ	0.530 ± 0.125	0.568 ± 0.152 Δ

+ INS: INS 刺激状态, + ASP: ASP 刺激状态; 与对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与 + INS 比较, $\Delta P > 0.05$

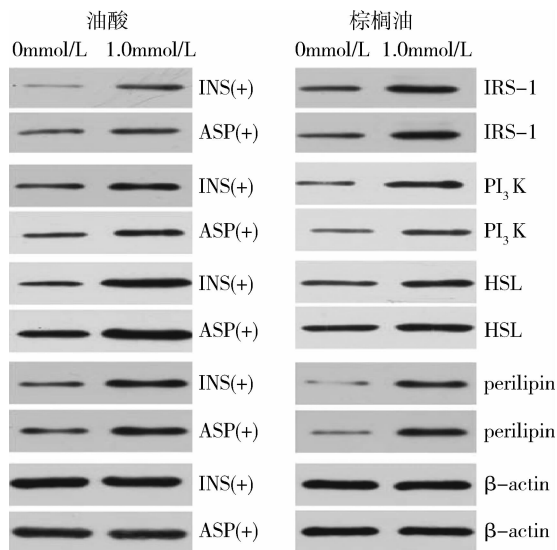


图 3 INS 和 ASP 对脂肪细胞糖脂代谢关键酶蛋白表达的影响

多种信号分子通路,与心血管疾病、代谢综合征等疾病密切相关^[5]。近年来研究显示,高游离脂肪酸血症环境下,胰岛 β 细胞分泌功能异常,并引起糖脂代谢紊乱^[6]。而长期慢性的高游离脂肪酸血症是引起肥胖、心血管疾病的主要危险因素之一^[7]。高游离脂肪酸还可激活核转录调节因子(NF κ B)的促炎症通路,促进炎症因子释放^[8],同时通过损伤胰岛素信号转导通路,直接影响葡萄糖-胰岛素信号转导,导致胰岛素抵抗^[9]。

ASP 与代谢综合征密切相关,ASP 功能异常时,脂肪细胞合成甘油三酯减少,引起大量脂质沉积,从而导致脂代谢紊乱^[10]。而脂代谢紊乱又反过来影响脂肪细胞产生 ASP 的水平,从而引起肥胖及代谢综合征等相关疾病^[11]。

本实验室前期研究发现,胰岛素和 ASP 刺激状态下 3T3-L1 脂肪细胞葡萄糖转运有一定的浓度依赖性,其中 0.125mmol/L 油酸和棕榈酸可抑制前脂肪细胞葡萄糖转运,而 0.5mmol/L 及 1.0mmol/L 油酸和棕榈酸可显著抑制脂肪细胞的葡萄糖转运,并诱导胰岛素抵抗及 ASP 抵抗^[3,12]。本实验室前期研还

究显示 ASP 诱导脂肪细胞 DGAT 基因的表达,促进脂肪细胞合成甘油三酯,ASP 诱导脂肪细胞 LPL 基因表达,增加脂肪组织储存脂质的能力,从而影响脂代谢^[2]。ASP 与其下游信号 C5L2 通路相互作用调节脂肪细胞 LPL 及 DGAT 表达,增加甘油三酯的合成,同时抑制 HSL 的活性,抑制脂肪分解^[13]。研究显示肥胖人群中 LPL 活性下降,抑制甘油三酯酯化,导致血清 FFA 水平明显升高,并与胰岛素抵抗呈正相关^[14,15]。胰岛素抵抗下,机体 perilipin、HSL 等 mRNA 及其蛋白表达显著下降,并且与外周血清中高游离脂肪酸水平有关^[16]。

本实验在前期研究基础上,选择 0、0.125、0.5、1.0mmol/L 油酸和棕榈酸诱导的 3T3-L1 脂肪细胞在 ASP 和胰岛素刺激下糖脂代谢关键酶的表达。本实验发现,在游离脂肪酸介导的胰岛素抵抗状态下,ASP 能够增加脂代谢关键酶 HSL、perilipin、DGAT、LPL 基因的表达。HSL 受多种激素调控,可直接作用于脂肪,是脂肪分解的限速酶。ASP 促进胰岛素抵抗状态下 HSL 基因的表达,促进脂肪分解,并改善胰岛素抵抗。perilipin 对脂代谢具有双向调节的作用,基础状态下包裹脂滴,阻止其水解,而发生磷酸化时则加快脂肪水解。研究表明下调 perilipin 基因的表达,可引起 HSL 活性增加,促进脂解^[17]。而代谢综合征的患者 FFA 水平升高,与 perilipin 表达减少密切相关^[18]。本实验显示胰岛素抵抗状态下 ASP 促进 Perilipin 基因表达增加,参与调控脂肪分解,改善胰岛素抵抗。LPL 可促进脂蛋白分解,研究显示 LDL 基因突变可导致甘油三酯水平的升高以及高密度脂蛋白水平的降低,并与冠心病的发生有关^[19]。LPL 活性的增高能改善高脂饮食导致的代谢紊乱^[20],从而改善胰岛素抵抗。DGAT 是催化甘油三酯生物合成的关键酶,过度表达可促进甘油三酯合成增多,并对胰岛 D 细胞产生毒性不良反应,引起继发性的胰岛素分泌障碍,降低了其他组织对胰岛素的敏感度,导致胰岛素抵抗,并与脂质在器官中的积累密切相关^[21]。本研究中各组的脂肪酶随游离脂肪酸浓度的升高,其

表达呈上升趋势,其中中等浓度 0.5mmol/L 游离脂肪酸组其脂肪酶表达最高,而游离脂肪酸高浓度 1mmol/L 的脂肪酸组其脂肪酶表达较中等浓度 0.5mmol/L 脂肪酸组有减少趋势,但差异无统计学意义,提示高浓度脂肪酸可能影响 ASP 抑制脂肪分解的功能,导致游离脂肪酸进一步增加,从而引起 ASP 抵抗^[22]。但具体作用机制、相互作用途径、具体调节机制尚不清楚,还有待进一步深入研究。

本实验还发现在胰岛素抵抗状态下,ASP 及 INS 能刺激脂肪细胞糖脂代谢关键酶 IRS-1、PI₃K、HSL、perilipin 蛋白表达的增加。通过刺激糖代谢关键酶的表达,刺激葡萄糖转运以及脂肪动员,增加胰岛素敏感度,改善胰岛素抵抗。据此推测 INS 及 ASP 能维持胰岛素抵抗状态下机体代谢的平衡,是机体维持内环境稳态的自我保护机制。但该机制的发生的启动因素以及如何发挥作用尚不明确,需要更多的实验证据支持。同时该研究发现 INS 与 ASP 在增加糖脂代谢关键酶蛋白的表达上差异无统计学意义,可能与实验样本量不足及实验误差所致,ASP 对糖脂代谢影响的机制,以及 ASP 与 INS 生理功能间的差别,仍需进一步实验验证。

综上所述,本实验初步探讨 ASP 与糖脂代谢关键酶的影响,证实 ASP 可以促进糖脂代谢关键酶的表达,改善胰岛素敏感度,减轻胰岛素抵抗。进而加深 ASP 与代谢综合征发生机制的相关性的认识。但由于实验误差以及样本量的不足,有些结果虽有一定的趋势,但差异无统计学意义,且 ASP 对 3T3-L1 脂肪细胞糖脂代谢关键酶影响的发生机制尚未阐明,仍需要我们进一步的完善实验条件予以验证。

参考文献

- Costabile G, Annuzzi G, Di Marino L, *et al.* Fasting and postprandial adipose tissue LPL and HSL in obesity and type 2 diabetes[J]. *J Endocrinol Invest*, 2011, 34(5):110-114
- Maslowska M, Hongwei Wang, Cianflone K. Novel roles for acylation stimulating protein/C3adesArg: a review of recent in vitro and in vivo evidence[J]. *Vitamins Hormones*, 2005, 70:309-332
- 温宇,王宏伟,卢慧玲等. 脂肪酸诱导的 3T3-L1 脂肪细胞胰岛素抵抗的研究[J]. *中国病理生理杂志*, 2007, 23(3):537-543
- Galic S, Oakhill JS, Steinberg GR. Adipose tissue as an endocrine organ[J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2010, 316(2):129-139
- Fisette A, Lapointe M, Cianflone K. Obesity-inducing diet promotes acylation stimulating protein resistance[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2013, 437(3):403-407
- Dong YX, Shi HT, Zhong GX, *et al.* Relation between free fatty acid level and cognitive impairment in type 2 diabetes mellitus patients[J]. *Chin J Geriatr Heart Brain Vessel Dis*, 2014, 16(5):456-458

- Lin SY, Huang GC, Hsieh YY, *et al.* Vitis hunbergii var taiwaniana extracts and purified compounds ameliorate obesity in high-fat diet induced obese mice[J]. *J Agric Food Chem*, 2015, 63(42):9286-9294
- Baker RG, Hayden MS, Ghosh S. NF- κ B, inflammation, and metabolic disease[J]. *Cell Metab*, 2011, 13(1):11-22
- Patel PS, Buras ED, Balasubramanyam A. The role of the immune system in obesity and insulin resistance[J]. *J Obes*, 2013(14):616193
- Strous M, Sedek LM, Velden GJ. Multimeric growth hormone receptor complexes serve as signaling platforms[J]. *J Biol Chem*, 2014, 289(1):65-73
- Fain JN. Release of inflammatory mediators by human adipose tissue is enhanced in obesity and primarily by the nonfat cells: a review[J]. *Mediators Inflamm*, 2010, 20(10):513-948
- 温宇, Katherine Cianflone, 胡秀芬, 等. 脂肪酸诱导脂肪细胞促酰化蛋白抵抗及机制研究[J]. *临床病理生理杂志*, 2010, 26(4):748-754
- Maslowska M, Legakis H, Assadi F, *et al.* Targeting the signaling pathway of acylation stimulating protein[J]. *J Lipid Res*, 2006, 47(3):643-652
- Arner P, Ryden M. Fatty acids, obesity and insulin resistance[J]. *Obes Facts*, 2015, 8(2):147-155
- 王依屹, 张珏, 鲁传翠, 孟佳丽. 超氧化物歧化酶及游离脂肪酸检测在胰岛素抵抗疾病中的应用[J]. *标记免疫分析与临床*, 2017, 24(3):247-249
- Jocken JW, Blank EE. Catecholamine-induced lipolysis in adipose tissue and skeletal muscle in obesity[J]. *Physiol Behav*, 2008, 94(2):219-230
- Frühbeck G, Méndez-Giménez L, Fernández-Formoso J A, *et al.* Regulation of adipocyte lipolysis[J]. *Nutr Res Rev*, 2014, 27(1):63-93
- Mulumba M, Granata R, Marleau S, *et al.* QRFP-43 inhibits lipolysis by reventing ligand-induced complex formation between perilipin A, caveolin-1, the catalytic subunit of protein kinase and hormone-sensitive lipase in 3T3-L1 adipocytes[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2015, 1851(5):657-666
- Soto AG, McIntyre A, Agrawal S, *et al.* Severe hypertriglyceridemia due to a novel p.Q240H mutation in the lipoprotein lipase gene[J]. *Lipids Health Dis*, 2015, 14:102
- Vishram JK, Hansen TW, Torp-Pedersen C, *et al.* Relationship between two common lipoprotein lipase variants and the metabolic syndrome and its individual components[J]. *Metab Syndr Relat Disord*, 2016, 14(9):442-448
- Mara Monetti, M C Levin, b Matthew J, *et al.* Hepatic acyl-CoA: diacylglycerol acyltransferase (DGAT) overexpression, diacylglycerol, and insulin sensitivity[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011, 108(34):E523
- Roy C, Roy MC, Gauvreau D, *et al.* Acute injection of ASP in the third ventricle inhibits food intake and locomotor activity in rats[J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2011, 301(1):e232-e241

(收稿日期:2017-05-26)

(修回日期:2017-06-12)