

白藜芦醇对猪原代前体脂肪细胞的增殖与分化及 *Sirt1* 基因转录表达时序的影响

Effects of Resveratrol on Pig Primary Preadipocytes Proliferation, Differentiation and Transcription Expression of *Sirt1* Gene

庞卫军 孙世铎* 白 亮 杨燕军 杨公社

PANG Wei-Jun, SUN Shi-Duo*, BAI Liang, YANG Yan-Jun and YANG Gong-She

西北农林科技大学动物脂肪沉积与肌肉发育实验室, 杨凌 712100

Laboratory of Animal Fat Deposition and Muscle Development, Northwest A&F University, Yangling 712100, China

摘 要 分别以 0 $\mu\text{mol/L}$ (对照组), 10 $\mu\text{mol/L}$ (低剂量组), 20 $\mu\text{mol/L}$ (中等剂量组), 50 $\mu\text{mol/L}$, 100 $\mu\text{mol/L}$ (高剂量组) 的白藜芦醇 (Resveratrol, RES) 处理体外培养 1~3 日龄健康仔猪前体脂肪细胞, 采用 MTT 比色法检测细胞活性及增殖状况, 油红 O 染色化学比色法定量分析细胞内脂肪生成及细胞分化程度, RT-PCR 法分析 *Sirt1* (*sirtuin1*) mRNA 表达情况, 探讨 *Sirt1* 对猪前体脂肪细胞增殖分化的影响及其分子机制。结果表明, 脂肪细胞经 RES 处理后, 各组 MTT 和油红 O 染色测得的光密度值 (OD 值) 均低于对照组, 50 $\mu\text{mol/L}$, 100 $\mu\text{mol/L}$ 组在 96~120h 作用极显著 ($P < 0.01$), 与中低剂量组差异显著 ($P < 0.05$); 以 20 $\mu\text{mol/L}$, 100 $\mu\text{mol/L}$ RES 处理细胞后, *Sirt1* mRNA 表达量随细胞分化的进行而逐渐升高, 100 $\mu\text{mol/L}$ 组均显著高于对照组和 20 $\mu\text{mol/L}$ 组 ($P < 0.05$)。RES 对猪前体脂肪细胞增殖分化均有一定抑制作用, 高剂量 RES (50 $\mu\text{mol/L}$ 和 100 $\mu\text{mol/L}$) 可显著减少细胞内脂肪的合成、抑制脂肪细胞增殖与分化, *Sirt1* mRNA 表达量显著升高可能是 RES 抑制细胞分化的重要原因之一。

关键词 白藜芦醇, 猪, 前体脂肪细胞, 增殖, 分化, *Sirt1*

中图分类号 Q756 文献标识码 A 文章编号 1000-3061(2006)05-0850-06

Abstract 1~3 days old Piglet's primary preadipocytes *in vitro* were cultured and treated with 0 $\mu\text{mol/L}$ (control group), 10 $\mu\text{mol/L}$ (lower dose group), 20 $\mu\text{mol/L}$ (middle dose group) and 50 $\mu\text{mol/L}$, 100 $\mu\text{mol/L}$ (higher dose group) RES. Cell proliferation and viability were analyzed by MTT assay. The degree of differentiation and adipogenesis were measured by Oil Red O staining extraction assay and the expression of *Sirt1* (*sirtuin1*) mRNA were detected by RT-PCR. The results showed the optical density (OD) of MTT and Oil Red O staining were all decreased, especially treated by 50 $\mu\text{mol/L}$, 100 $\mu\text{mol/L}$ RES at 72h and 96h ($P < 0.01$); the ratio of OD of the expression of *Sirt1* mRNA to that of β -actin mRNA were increased after treated by 100 $\mu\text{mol/L}$ RES ($P < 0.01$). RES can inhibit proliferation and differentiation of pig preadipocytes in certain degree. Higher dose of RES can markedly decrease adipogenesis and prevent preadipocytes differentiation into adipocytes, which may be in part associated with its effect on increasing the expression of *Sirt1* mRNA.

Key words resveratrol, pig, preadipocytes, proliferation, differentiation, *Sirt1*

Received: March 28, 2006; Accepted: June 8, 2006.

This work was supported by the grants from National Basic Research Program of China (No. 2004CB117506) and the National Natural Science Foundation of China (No. 30471239) and NWFU Young Research Programme.

* Corresponding author. Tel: 86-29-87091017; Fax: 86-29-87092430; E-mail: ssdsm@tom.com

国家重点基础研究发展计划 (973 计划) (No. 2004CB117506) 国家自然科学基金项目 (No. 30471239) 和西北农林科技大学青年科研专项基金资助。

中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 <http://journals.im.ac.cn>

脂肪细胞是动物脂肪组织主要组成单位,由前体脂肪细胞增殖分化而来。前体脂肪细胞增殖分化状况直接影响细胞数量和体积,进而影响体脂沉积。白藜芦醇(Resveratrol, RES)是一种在葡萄酒中发现的多酚类化合物^[1],并被认为是有益于健康的重要活性营养物质,广泛存在于水果、蔬菜和其他植物中,以葡萄和中药材虎杖中含量尤为丰富。RES具有顺式和反式两种结构,反式具有生物活性,其化学名为反-3,4',5-三羟基芪^[2]。研究表明,RES具有抗氧化、抗炎和类雌激素活性,能够诱导肿瘤细胞生长抑制和凋亡,从而被认为具有潜在的化学预防和化学治疗癌症的作用^[3-6]。*Sirt1*(sirtuin1)是依赖于NAD⁺蛋白脱乙酰基转移酶家族成员之一,对脂肪酸代谢、细胞增殖与分化、细胞周期调节和延长生命周期发挥重要的作用^[7-9]。*Sirt1*是一种新发现的重要细胞增殖与分化因子,研究表明,RES是体内和体外*Sirt1*酶的激活剂,抑制大鼠3T3前脂肪细胞系的增殖分化^[7,10],可能促进脂肪动员,减少脂肪生成,但其具体剂量效应和作用机理还不清楚。目前,尚未见RES对猪原代前体脂肪细胞增殖分化作用的相关研究。猪的生理特点与试验鼠相比更接近人类,是研究人类肥胖病的理想模式动物。为此,本研究将以培养的猪前体脂肪细胞为研究对象,探讨RES对猪原代前体脂肪细胞增殖和分化的影响,及其分化中*Sirt1*基因的转录表达时序作用,为调控猪体脂沉积和人类减肥降脂提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

选用20头1~3日龄健康仔猪,白藜芦醇(Sigma公司)溶于二甲基亚砜(DMSO, Sigma公司),浓度稀释为10 μ mol/L、20 μ mol/L、50 μ mol/L、100 μ mol/L, -20 $^{\circ}$ C备用;胎牛血清(FBS)由杭州四季青生物有限公司生产;MTT购于华美生物工程公司,溶于1 \times PBS(10mmol/L, pH7.4)使浓度为5g/L, 0.22 μ m的滤膜过滤除菌后4 $^{\circ}$ C备用;油红O(Oil Red O)购自华美生物工程公司;DMEM/F12(DMEM:F12为1:1)和I型胶原酶(collagenase I)为Gibco公司产品;牛血清白蛋白(BSA)和胰蛋白酶(trypsin)为华美生物工程公司产品;总RNA提取试剂盒Trizol和RT-PCR试剂盒为Fermentas公司产品;*Sirt1*和 β -actin(内参)引物由上海生物工程公司合成,其他试剂均为国产分析纯。

1.2 方法

1.2.1 猪前体脂肪细胞原代培养:在无菌状态下取

1~3日龄健康仔猪背部和颈部皮下脂肪约10g,将猪脂肪块剪碎至1mm³左右,1型胶原酶消化50min, 600目不锈钢尼龙筛过滤,收集滤液于离心管中, 2000r/min离心5min,弃上清液,加入5mL无血清培养液混匀,1000r/min离心5min,再加入含10%血清的DMEM/F12培养液吹打均匀,即获得猪前体脂肪细胞悬液,细胞计数,分别以5 \times 10⁴ cells/cm²密度将细胞接种于6孔和96培养板中,置37 $^{\circ}$ C、饱和湿度, 5% CO₂培养箱中培养,每隔2d换液1次。

1.2.2 MTT法检测RES对细胞增殖的影响:前体脂肪细胞接种于96孔培养板,每孔加200 μ L培养液,培养板移入CO₂培养箱中培养,细胞贴壁后按预设RES浓度(10 μ mol/L, 20 μ mol/L, 50 μ mol/L, 100 μ mol/L)加入培养液,每组5孔。分别于处理后24h、48h、72h、96h和120h进行MTT比色测定。即每孔加入20 μ L新鲜配置的MTT溶液,37 $^{\circ}$ C继续培养4h后终止培养,弃去孔内培养液,每孔加150 μ L DMSO,恒温摇床振荡10min。选择波长490nm,以经过相同处理的空白孔为调零值,在酶联检测仪上测各孔光密度值(OD值)。

1.2.3 油红O染色法检测RES对细胞分化的影响:在细胞分化的第1天,更换培养液,按设计好的浓度将RES加入24孔培养板与猪前体脂肪细胞共孵育,RES处理72h后,取出各组细胞,弃去培养液, PBS洗涤细胞3次,10%甲醛固定30min, PBS洗3次, 0.5%油红O染色20min, PBS洗3次, 37 $^{\circ}$ C下干燥细胞,显微镜下观察,细胞内脂滴呈红色。每孔加2500 μ L的100%异丙醇,振荡萃取10min,紫外分光光度计在500nm下以空白对照调零,测各孔光密度值(OD)。

1.2.4 RT-PCR法检测RES作用于细胞分化中*Sirt1*表达时序:收集各组细胞,用Trizol核酸提取试剂盒提取各组细胞中总RNA,紫外分光光度计测定RNA纯度。取2 μ L总RNA逆转录合成cDNA,再取逆转录产物2 μ L进行PCR扩增。*Sirt1*(GenBank序列号:AF083106)引物序列:上游5'CTACTGGTCTTACTTTGAGGG3',下游5'CAAGGGATGGTATTTATGCT3',扩增条件为95 $^{\circ}$ C预变性5min,94 $^{\circ}$ C变性1min,51 $^{\circ}$ C复性1min,72 $^{\circ}$ C延伸1min,共34个循环,72 $^{\circ}$ C延伸10min,产物长度为522bp。 β -actin引物序列:上游5'TTGTGCCTTGATAGTTTCGC3',下游5'AGTCCTTCTGACCCATACCC3',扩增条件为95 $^{\circ}$ C预变性5min,94 $^{\circ}$ C变性1min,54 $^{\circ}$ C复性1min,72 $^{\circ}$ C延伸1min,共30个循环,72 $^{\circ}$ C延伸7min,产物长度为399bp。取同一

样品的 Sirt1 和 β -actin PCR 产物各 $2.5\mu\text{L}$, 1.0% 的琼脂糖凝胶电泳。Dolphin-DOC 凝胶分析系统摄像分析, 分别测得两个扩增产物条带的光密度值, 并计算 Sirt1 与 β -actin 的光密度比值。

1.2.5 统计学分析 试验所得数据以平均数 \pm 标准差表示, 采用统计软件 SPSS 11.5 进行单因素方差分析与显著性检验。

2 结果与分析

2.1 RES 对猪前体脂肪细胞增殖的影响

MTT 测定方法为研究细胞增殖状况的有效手

表 1 MTT 检测 RES 对猪前体脂肪细胞增殖的作用
Table 1 Effects of RES on pig preadipocytes proliferation by MTT assay

Groups	Time	24h	48h	72h	96h	120h
Control		0.1000 \pm 0.0040 ^b	0.1263 \pm 0.0061 ^b	0.2090 \pm 0.0080 ^a	0.1733 \pm 0.0047 ^a	0.1690 \pm 0.0049 ^a
10 $\mu\text{mol/L}$		0.0906 \pm 0.0055 ^b	0.1106 \pm 0.0031 ^b	0.1753 \pm 0.0065 ^a	0.1283 \pm 0.0068 ^b	0.1210 \pm 0.0066 ^b
20 $\mu\text{mol/L}$		0.0886 \pm 0.0040 ^b	0.1076 \pm 0.0032 ^b	0.1597 \pm 0.0055 ^{ab}	0.1037 \pm 0.0061 ^b	0.1006 \pm 0.0061 ^b
50 $\mu\text{mol/L}$		0.0873 \pm 0.0032 ^b	0.1046 \pm 0.0057 ^b	0.1260 \pm 0.0053 ^b	0.0686 \pm 0.0040 ^c	0.0620 \pm 0.0040 ^c
100 $\mu\text{mol/L}$		0.0843 \pm 0.0030 ^b	0.1006 \pm 0.0042 ^b	0.1190 \pm 0.0062 ^b	0.0560 \pm 0.0044 ^c	0.0500 \pm 0.0020 ^c

Note: Different superscripts of the iso-column data indicate the significant differences between the two groups, $P < 0.05$; a vs b, $P < 0.05$; b vs c, $P < 0.05$; a vs c, $P < 0.01$.

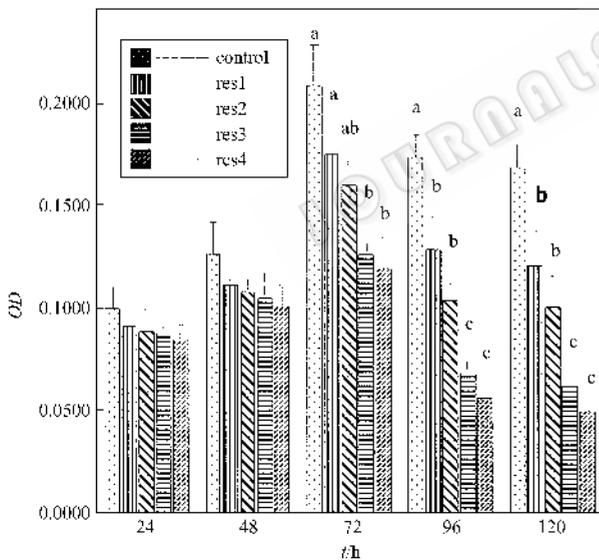


图 1 MTT 法检测不同浓度 RES 对猪前体脂肪细胞增殖的影响

Fig. 1 Effects of RES on pig preadipocytes proliferation
res1, res2, res3, res4 indicate 10 $\mu\text{mol/L}$, 20 $\mu\text{mol/L}$, 50 $\mu\text{mol/L}$, 100 $\mu\text{mol/L}$ RES; Different superscripts of the iso-column data indicate the significant differences between the two groups, $P < 0.05$; a vs b, $P < 0.05$; b vs c, $P < 0.05$; a vs c, $P < 0.01$.

2.2 RES 对猪前体脂肪细胞分化的影响

在猪前体脂肪细胞分化的第 1 天, 分别用含 10 $\mu\text{mol/L}$, 20 $\mu\text{mol/L}$, 50 $\mu\text{mol/L}$ 和 100 $\mu\text{mol/L}$ RES 的培

段。为分析不同浓度 RES 对不同时期前体脂肪细胞增殖的影响, 分别于处理后 24h, 48h, 72h, 96h 和 120h 进行 MTT 检测。结果表明: 在不同时间点, 各处理组光密度值均低于对照组, 50 $\mu\text{mol/L}$ 和 100 $\mu\text{mol/L}$ RES 在 96h 和 120h 作用极显著 ($P < 0.01$), 且与 10 $\mu\text{mol/L}$ 和 20 $\mu\text{mol/L}$ RES 处理组相比差异显著 ($P < 0.05$), 表明 RES 对前体脂肪细胞的增殖有一定抑制作用, 高浓度 RES 长时间处理细胞时抑增殖效果极显著 (表 1, 图 1)。

养液孵育细胞 96h 后, 经油红 O 脂肪特异性染色发现 50 $\mu\text{mol/L}$ 和 100 $\mu\text{mol/L}$ RES 组细胞内被油红 O 染成亮红色的脂滴明显减少, 充脂细胞数及细胞体积相应减小, 而对照组细胞则分化成了典型的成熟脂肪细胞形态, 细胞大而圆, 胞内充满了脂滴 (图 2)。采用油红 O 化学比色法定量分析细胞内脂肪的生成量, 50 $\mu\text{mol/L}$ 和 100 $\mu\text{mol/L}$ RES 处理细胞 96h, 甘油三酯生成量明显减少, 与对照组和 10 $\mu\text{mol/L}$ 组相比差异极显著 ($P < 0.01$), 与 20 $\mu\text{mol/L}$ 组相比差异显著 ($P < 0.05$) (图 3), 表明高浓度 RES 可显著降低脂肪细胞内脂肪的生成量, 对猪前体脂肪细胞向成熟脂肪细胞分化具有较强的抑制作用。

2.3 RES 对猪前体脂肪细胞分化中 Sirt1 表达时序的影响

以 0 $\mu\text{mol/L}$, 20 $\mu\text{mol/L}$, 100 $\mu\text{mol/L}$ RES 处理细胞后, 采用半定量 RT-PCR 检测脂肪细胞中 Sirt1 mRNA 表达情况。结果显示, 100 $\mu\text{mol/L}$ RES 显著上调脂肪细胞中 Sirt1 mRNA 的表达, 各组以第 4 天表达量最高 (表 2)。各组的基因与 β -actin 基因光密度比值如图 5 所示: 100 $\mu\text{mol/L}$ 组与 0, 20 $\mu\text{mol/L}$ 组比较, Sirt1 mRNA 表达量显著上升 ($P < 0.01$) (图 4, 5)。

3 讨论

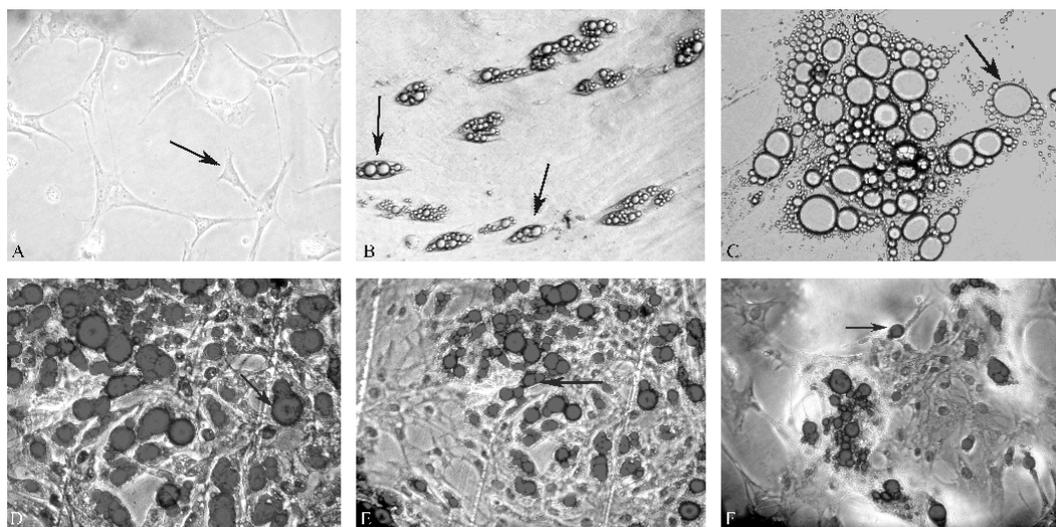


图2 油红 O 染色脂肪细胞(× 200)

Fig.2 Oil red O staining adipocytes(× 200)

A : preadipocyte , arrow indicates preadipocyte that has no lipid drop in cell ; B : preadipocyte in differentiation , arrows indicate preadipocyte in differentiation that have many small lipid drops ; C : control(no staining) , arrow indicates a mature adipocyte that has one large or a few lipid drops ; D : control , arrow indicates lipid drop that is stained by Oil red O ; E , F : preadipocytes treated 96 h by 20 μmol/L and 100 μmol/L RES , arrow indicates like D .

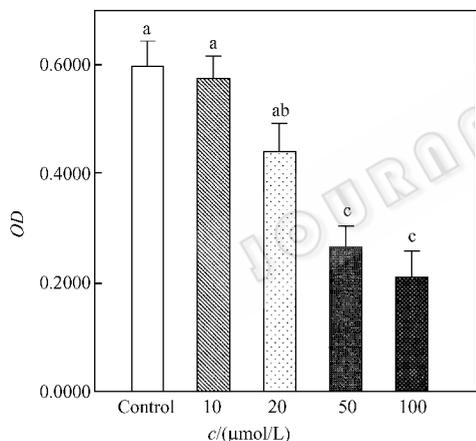


图3 油红 O 法检测 RES 对猪前体脂肪细胞分化的影响

Fig.3 Effects of RES on pig preadipocytes by oil red O

a vs b , $P < 0.05$; b vs c , $P < 0.05$; a vs c , $P < 0.01$.

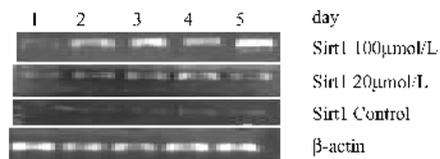


图4 *Sirt1* 基因琼脂糖凝胶电泳

Fig.4 Agarose gel electrophoresis of *Sirt1* gene

细胞的增殖与分化状况与细胞内甘油三酯含量直接相关,脂肪的过度沉积导致肥胖病的发生,而肥胖是世界关注的影响健康的问题。研究表明,脂肪细胞增殖与分化过程大致如下^[11]:① MSC 向脂肪细胞定向分化,形成脂肪细胞(adipoblast),为一种尚未出现脂滴的梭形细胞;②成脂肪细胞经过生长抑制、克隆性增殖,形成前体脂肪细胞(preadipocytes),此时细胞刚开始出现脂滴;③前体脂肪细胞经过生长抑制、克隆性增殖和一系列基因表达的变化,形成不成熟脂肪细胞或多室脂肪细胞(multilocular cells),内含大量小脂滴;④多室脂肪细胞随着脂肪在细胞中的沉积,小脂滴逐渐汇集成一个大脂滴充满脂肪细胞的大部分,形成成熟脂肪细胞或单室脂肪细胞(unilocular cells),成为成熟的脂肪细胞。影响这一过程的因素很多,包括实现能量贮存和能量动员所需的关键酶系、调节蛋白、激素受体、细胞骨架、基质结构和分泌性蛋白等。本研究认为,RES 抑制猪脂肪细胞增殖与分化,且呈剂量、时间依赖效应。近几年来的研究表明,RES 能通过多种途径抑制 GH3 细胞^[12]、乳腺癌 MCF27^[13] 细胞等细胞增殖分化,诱导细胞凋亡,因此起到对抗增生性疾病的作用^[14,15]。本研究结果与以上研究结果相似,但与以下等人结果不同。殷红等^[16]人认为,RES 双向调节 HEK293 细胞增殖,即低浓度(10^{-7} mol/L)时促进细胞增殖,高浓度(10^{-4} mol/L)时抑制细胞生长。Xiong 等人^[17]

(如肥胖、糖尿病)过程中的一个重要中介。脂肪细

研究显示, RES 在低浓度时(10^{-10} mol/L)促进小鼠神经元的存活,但高浓度时($10^{-7} \sim 10^{-5}$ mol/L)抑制存活。原因可能与 RES 作用浓度和细胞种类不同有关。目前认为, RES 的抗增殖作用可能是通过抑制鸟氨酸脱羧酶活性来抑制多胺生物合成的结果,诱导细胞分化的机制可能是 RES 能有效地动员细

胞的细胞周期从 G0-G1 期进入 S 期^[18,19]。由于 RES 是从多种可食用天然植物中提取出来的,毒副作用小,RES 又能有效抑制前体脂肪细胞的增殖分化,因而 RES 可作为潜在的减肥降脂肪药物的重要营养物质,具有较高的开发价值。

前体脂肪细胞分化的实质是一系列基因时序表

表 2 Sirt1 mRNA 与 β -actin mRNA 的光密度比值
Table 2 The ratio of Sirt1 mRNA OD to β -actin mRNA OD

Groups	Time	24h	48h	72h	96h	120h
Control		0.2283 \pm 0.0162a	0.3006 \pm 0.0231a	0.3823 \pm 0.0168a	0.3973 \pm 0.0168a	0.3743 \pm 0.0190a
20 μ mol/L		0.3320 \pm 0.0149a	0.4213 \pm 0.0190a	0.5466 \pm 0.0195b	0.6060 \pm 0.0196b	0.5860 \pm 0.0232b
100 μ mol/L		0.5193 \pm 0.0244b	0.6140 \pm 0.0262b	0.7840 \pm 0.0221c	0.8867 \pm 0.0254c	0.8680 \pm 0.0160c

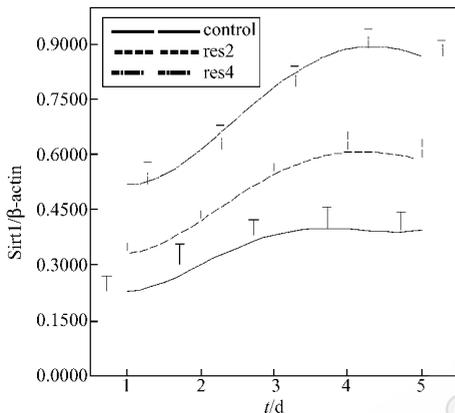


图 5 RES 对猪前体脂肪细胞分化中 Sirt1 表达时序的影响

Fig.5 Effects of RES on transcription expression of Sirt1 during pig preadipocyte differentiation

达的过程,这些基因主要有:C/EBP α 、PPAR γ 、SREBP1 α 、ACC、aP2、FAS 和 HSL 基因等。近两年研究发现,Sirt1 可调控脂肪细胞分化标志基因的表达^[7],使脂肪细胞分化的研究进入了更深的层次。Sirt1 是诱导细胞特异性基因表达和调节细胞分化的重要核转录因子,为细胞分化的负调控因子^[6],Sirt1 表达量升高可能对脂肪细胞分化起抑制作用。RES 为 Sirt1 的促进剂,其抑制猪脂肪细胞增殖与分化的原因,可能与 Sirt1 的表达量升高有关。本研究运用比较基因组学,根据人的 Sirt1 基因 cDNA 高度保守区设计引物,扩增出猪的 522bp(GenBank 序列号:DQ868430)的 Sirt1 基因 cDNA 部分序列,并以此运用 RT-PCR 检测猪前体脂肪细胞分化过程中 Sirt1 基因转录表达水平的情况,结果证实,高剂量 RES (50 μ mol/L 和 100 μ mol/L)可显著减少猪脂肪细胞内脂肪的合成、抑制脂肪细胞分化,RES 影响猪脂肪细胞分化过程中 Sirt1 基因转录表达时序,表达量与

RES 浓度呈剂量依赖关系。Picard 等运用染色质免疫沉淀进一步分析发现,在大鼠 3T3-L1 细胞系中 Sirt1 和 PPAR γ 都结合到 aP2 和 Pparg 基因启动子的相同区域,Sirt1 与 PPAR γ 的共因子 NcoR 和维甲酸及甲状腺受体的沉默调节子结合,从而抑制 PPAR γ 的活性,降低 aP2 的表达^[7],可能抑制脂肪细胞增殖分化,减少脂肪沉积。本研究发现,Sirt1 mRNA 表达量显著升高可能是 RES 抑制猪脂肪细胞分化的重要原因之一,但具体作用机理,如 RES 能否促进 Sirt1 蛋白表达量升高,激活 Sirt1 蛋白活性能力以及 Sirt1 如何使 PPAR γ 的组蛋白脱乙酰基而在脂代谢中发挥重要生理作用有待进一步研究证实。

REFERENCES (参考文献)

- [1] Langcake P, Pryce RJ. The production of resveratrol by *Vitis vinifera* and other members of the *Vitaceae* as a response to infection or injury. *Physiol Plant Pathol*, 1976, **9**: 77-86
- [2] Wang ZX, Zhang XJ, Zhou Y *et al.* A convenient synthesis of trans and Cis-3, 4', 5-trihydroxystilbene. *Journal of Chinese Pharmaceutical Sciences*, 2005, **14**(4): 204-208
- [3] Gusman J, Malonne H, Atast G. A reappraisal of the potential chemopreventive and chemotherapeutic properties of resveratrol. *Carcinogenesis*, 2001, **22**(8): 1111-1117
- [4] Aziz MH, Kumar R, Ahmad N. Cancer chemoprevention by resveratrol: *In vitro* and *in vivo* studies and the underlying mechanisms. *Int J Oncol*, 2003, **23**(1): 17-28
- [5] Aggarwal BB, Bhardwaj A, Aggarwal RS *et al.* Role of resveratrol in prevention and therapy of cancer: Preclinical and clinical studies. *Anticancer Res*, 2004, **24**(5A): 2783-2840
- [6] Picard F, Kurtev M, Chung N *et al.* Sirt1 promotes fat mobilization in white adipocytes by repressing PPAR- γ . *Nature*, 2004, **429**: 771-776
- [7] Luo J, Nikolaev AY, Imai S *et al.* Negative control of p53 by Sir2alpha promotes cell survival under stress. *Cell*, 2001, **107**

- [8] Pang WJ (庞卫军), Li Y (李影), Lu RH (卢荣华) *et al.* Molecular events during adipocytes differentiation. *Chinese Journal of Cell Biology*(细胞生物学杂志), 2005, **27**(5): 497 - 500
- [9] Cohen HY, Miller C, Bitterman KJ *et al.* Calorie restriction promotes mammalian cell survival by inducing the SIRT1 deacetylase. *Science*, 2004, **305**: 390 - 392
- [10] Morrison RF, Farmer SR. Hormonal signaling and transcriptional control of adipocyte differentiation. *American Society for Nutritional Sciences*, 2000, **130**: 3116S - 3121S
- [11] Chu M (初明), Hu ZQ (胡志强), Wei LL (魏兰兰) *et al.* Research of resveratrol on pituitary adenomas GH3 cell growth and molecular mechanism. *National Medical Journal of China*(中华医学杂志), 2003, **83**(22): 2004 - 2006
- [12] Kim YA, Chob T, Lee YT *et al.* Resveratrol inhibits cell proliferation and induces apoptosis of human breast carcinoma MCF27 cells. *Oncol Rep*, 2004, **11**(2): 441 - 446
- [13] Ahmad N, Adhami VM, Afaq F *et al.* Resveratrol causes WAF -1/ P21 -mediated G1-phase arrest of cell cycle and induction of apoptosis in human epidermoid carcinoma A431 cells. *Clin Cancer Res*, 2001, **7**: 1466 - 14731
- [14] Moreno JJ. Resveratrol modulates arachidonic acid release, prostaglandin synthesis, and 3T6 fibroblast growth1. *Pharmacol Exp Her*, 2000, **294**(1): 333 - 3381
- [15] Xiong XY, Wu YM, Zou Y *et al.* Comparison of effects of three drugs for Alzheimer 's disease on viability of mouse cortical neurons *in vitro*. *Chin J Clin Pharmacol Ther*, 2004, **9**(4): 399 - 402
- [16] Yin H (殷红), Cheng GF (程桂芳). Resveratrol bi-regulates activation of nuclear factor- κ B and HEK293 cell proliferation. *Chinese Science Bulletin*(科学通报), 2005, **50**(9): 885 - 889
- [17] Dong Z. Molecular mechanism of the chemop reventive effect of resveratrol. *Mutat Res*, 2003, **523**: 145 - 150
- [18] She QB, Ma WY, Wang M *et al.* Inhibition of cell transformation by resveratrol and its derivatives : differential effects and mechanisms involved. *Oncogene*, 2003, **22**(14): 2143 - 2150
- [19] Fulco, M. Sir2 regulates sketal muscle differentiation as a potential sensor of the redox state. *Mol Cell*, 2003, **12**: 51 - 62