

## 慢性高剂量胰岛素刺激猪脂肪细胞脂肪分解

杨永青<sup>1,2</sup>, 鞠大鹏<sup>1</sup>, 张明涛<sup>1</sup>, 杨公社<sup>1</sup>

1 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

2 山西师范大学生命科学学院, 临汾 041000

**摘要:** 为研究慢性高剂量胰岛素对猪脂肪细胞脂肪分解的影响及其分子机制, 分化的猪脂肪细胞在 PKA(Protein kinase A)或 ERK(Extracellular signal-related kinase)抑制剂预处理或不处理的情况下, 再用不同浓度的胰岛素(0、200、400、800、1600 nmol/L)处理不同时间(24、48、72、96 h), 通过测定甘油释放量检测脂肪细胞的脂解率; 采用 RT-PCR 和 Western blotting 检测 perilipin A 和 PPAR $\gamma$ 2 的 mRNA 和蛋白表达。结果显示, 慢性高剂量胰岛素以剂量和时间依赖性的方式刺激猪脂肪细胞的脂肪分解, 并削弱脂肪细胞对异丙肾上腺素刺激的脂解应答; 同时显著下调 perilipin A 和 PPAR $\gamma$ 2 的 mRNA 及蛋白表达; 另外, PKA 和 ERK 抑制剂均显著抑制胰岛素刺激的脂肪分解, 但仅 ERK 抑制剂显著逆转 perilipin A 基因表达的下调。由此推测, 慢性高剂量胰岛素通过 ERK 通路抑制 perilipin A 的表达, 进而刺激猪脂肪细胞的脂肪分解。

**关键词:** 胰岛素, 猪脂肪细胞, 脂肪分解, perilipin A

## Chronic high dose of insulin stimulates lipolysis in porcine adipocytes

Yongqing Yang<sup>1,2</sup>, Dapeng Ju<sup>1</sup>, Mingtao Zhang<sup>1</sup>, and Gongshe Yang<sup>1</sup>

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

2 College of Life Science, Shanxi Normal University, Linfen 041000, China

**Abstract:** To explore the effect of chronic high dose of insulin on lipolysis in porcine adipocytes and the underlying molecular regulation mechanisms, we cultured primary porcine adipocytes and incubated them with different concentrations of insulin (0, 200, 400, 800, 1600 nmol/L) for 24–96 h in the absence or presence of specific protein kinase A (PKA) inhibitor or extracellular signal-related kinase (ERK) inhibitor. Then, we measured the glycerol release into the culture media as an indicator of the lipolysis, and observed the lipid accumulation morphology by phase-contrast microscopy. Further, we analyzed the gene expressions of perilipin A and peroxisome proliferator-activated receptor-gamma2 (PPAR $\gamma$ 2) with semi-quantitative RT-PCR and Western blotting, respectively. The results showed that chronic high dose of insulin stimulated lipolysis in differentiated porcine adipocytes in a dose- and time-dependent manner, and significantly attenuated the lipolytic response to isoprenaline. Meanwhile, the protein and mRNA expressions of PPAR $\gamma$ 2 and perilipin A were significantly reduced. In addition, both PKA and ERK inhibitors significantly suppressed insulin-stimulated lipolysis, however, only ERK inhibitor reversed the insulin-induced down-regulation of perilipin A. These findings imply that chronic high dose of insulin stimulates lipolysis in porcine adipocytes by repressing perilipin A, which is involved in ERK pathway.

**Received:** June 17, 2008; **Accepted:** October 8, 2008

**Supported by:** National High-tech R&D Program of China (863 Program) (No. 2006AA10Z138).

**Corresponding author:** Gongshe Yang. Tel/Fax: +86-29-87092430; E-mail: gsyang999@hotmail.com

国家高技术研究发展计划(“863计划”)(No. 2006AA10Z138)资助。

**Keywords:** insulin, porcine adipocytes, lipolysis, perilipin A

脂肪细胞中甘油三酯的酶解(又称为脂肪分解)是一个精细调节的过程,与维持机体的能量平衡和代谢健康密切相关。脂肪分解产生的游离脂肪酸不仅可作为燃料向周围组织提供能量(通过 $\beta$ -氧化)<sup>[1,2]</sup>,同时还可以作为重要的信号分子调节机体葡萄糖和胰岛素的作用以及胰岛素的产量<sup>[3]</sup>。通常肥胖患者的血浆游离脂肪酸水平异常升高,并伴随代谢综合症,如胰岛素抵抗和 2 型糖尿病等<sup>[4]</sup>。因此,脂肪分解的调控机制越来越成为当今生物学领域研究的热点。

胰岛素是众所周知的抗脂解激素,然而有研究表明,慢性高剂量的胰岛素也可以刺激脂肪分解,其分子机制目前尚不清楚<sup>[5-7]</sup>。Perilipin A(Perilipin 家族的主要成员)作为脂滴膜上的一种重要的结构和功能蛋白<sup>[8]</sup>,是多条脂解通路的终末靶点<sup>[9,10]</sup>,对脂肪分解具有关键的调控作用。在胰岛素刺激的脂肪分解中,perilipin A 的作用及其信号机制目前尚不清楚。与啮齿类动物相比,猪的体脂沉积较多,且在生理特性方面与人类有诸多相似之处,是研究人类肥胖及代谢相关疾病的重要医学模型<sup>[11]</sup>。

本试验通过研究慢性高剂量胰岛素对猪脂肪细胞脂肪分解的作用及其分子机制,可望为调控动物的体脂沉积、防治人类肥胖及代谢相关疾病提供新的分子靶点和理论参考。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材 料

#### 1.1.1 试验动物

1~7 日龄的健康长白仔猪由西北农林科技大学种猪场提供,体重 1.5~2.5 kg,取样前用 0.5% 的新洁尔灭清洗 0.5~1 h,电击处死。

#### 1.1.2 主要试剂

胰岛素(Sigma),DMEM/F12、I 型胶原酶、TRIzol、反转录试剂盒、PVDF 膜和 ECL 试剂(Invitrogen),胎牛血清(民海生物),甘油检测试剂盒(Megazyme),Perilipin A、PPAR $\gamma$ 、 $\beta$ -actin 的一抗、二抗、PD98059、H89(Santa Cruz);Taq DNA 聚合酶(Fermentas);胶片(Kodak);引物由上海生工合成;其他试剂均为国产或进口分析纯。

### 1.2 方 法

#### 1.2.1 猪脂肪细胞原代培养

无菌条件下采集仔猪背部皮下脂肪组织,用 I 型胶原酶消化法分离猪前体脂肪细胞<sup>[12]</sup>,以  $5 \times 10^4$  细胞/cm<sup>2</sup> 的密度接种于直径 60 mm 的培养皿,加适量含 10% 胎牛血清的 DMEM/F12 培养液,置于 37°C、饱和湿度、5% CO<sub>2</sub> 的培养箱培养。接种当天记做第 0 天,以后每 48 h 更换 1 次培养液。一般到第 8 天,有 80% 以上的前体脂肪细胞充脂分化为成熟脂肪细胞。

#### 1.2.2 甘油含量测定

用甘油检测试剂盒测定脂肪细胞培养液中的甘油浓度作为脂解率指标,操作方法严格按照试剂盒说明书执行。

#### 1.2.3 RT-PCR 检测 perilipin A 和 PPAR $\gamma$ 2 的 mRNA 表达

按照 TRIzol 试剂说明书提取细胞总 RNA,琼脂糖凝胶电泳检测总 RNA 质量,紫外分光光度法测定其浓度。使用反转录试剂盒,取 5  $\mu$ g 的总 RNA,以随机六聚体为引物,在 20  $\mu$ L 的反应体系中合成 cDNA 第一链。

根据 GenBank 提供的序列信息,设计猪 perilipin A、PPAR $\gamma$ 2 和  $\beta$ -actin 基因的 PCR 引物(如表 1)。25  $\mu$ L 的 PCR 反应体系:超纯水 15.3  $\mu$ L,  $10 \times (\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  Buffer 2.5  $\mu$ L, 2.5 mmol/L dNTP 2  $\mu$ L, 10  $\mu$ mol/L 引物 S 1  $\mu$ L, 10  $\mu$ mol/L 引物 A 1  $\mu$ L, 2.5 mmol/L MgCl<sub>2</sub> 2  $\mu$ L, cDNA 1  $\mu$ L, Taq DNA 聚合酶 0.2  $\mu$ L。PCR 反应条件:95°C 预变性 5 min; 95°C 变性 45 s, 54°C~58°C 退火 45 s, 72°C 延伸 1 min, 26~28 个循环; 72°C 延伸 10 min, 4°C 10 min, 终止反应。扩增产物经 1% 的琼脂糖凝胶电泳后,用 Dophin-1DOC 凝胶成像系统成像并测定各条带的吸光度值。以  $\beta$ -actin 为内参,结果以目的基因与  $\beta$ -actin 的吸光度比值表示。每个处理设 3 个重复。

#### 1.2.4 Western blotting 检测 perilipin A 和 PPAR $\gamma$ 的蛋白表达

根据本实验室已建立的方法<sup>[12]</sup>,提取细胞总蛋白,SDS-PAGE 电泳检测总蛋白的质量,Lowry 法测定其浓度<sup>[13]</sup>。取 50  $\mu$ g 总蛋白,经 12% 的 SDS-PAGE

表 1 特异性的 PCR 引物

Table 1 The specific primers in polymerase chain reaction

Genes	Primers (5'-3')	Product sizes (bp)	$T_m$ (°C)	GenBank accession No.	Cycle times
Perilipin A	S: CCCTGGTGGCGTCTGTATG A: GCGGCATATTCAGCAGTGTC	349	54.7	AY973170	28
PPAR $\gamma$ 2	S: TGACCCAGAAAGCGATGC A: ATGGCACTTTGGTAGTCCTG	285	58	AF103946	28
$\beta$ -actin	S: ACTGCCGCATCCTCTTCCTC A: CTCCTGCTTGCTGATCCACATC	399	55.5	AY550069	26

S: sense primer; A: antisense primer;  $T_m$ : annealing temperature.

电泳, 将目的条带转移到 PVDF 膜上, 在室温下用含 5%脱脂奶粉的 TBST 封闭 1 h, 与 perilipin A、PPAR $\gamma$ 或 $\beta$ -actin 多克隆抗体在 4°C 孵育过夜, 再与对应的辣根过氧化物酶偶联的二抗室温下孵育 1 h, 最后用超敏化学发光液使目的条带在 X 胶片上曝光。

### 1.2.5 统计学分析

试验数据以平均值 $\pm$ 标准误(Mean $\pm$ SE)表示, 采用 One-way ANOVA (SPSS 13.0) 统计软件进行单因素方差分析, 差异显著水平为  $P<0.05$ 。

## 2 结果

### 2.1 慢性高剂量胰岛素对脂肪细胞脂肪分解的影响

用不同浓度的胰岛素 (0、200、400、800、1600 nmol/L)处理分化的猪脂肪细胞 48 h, 测定培养液中的甘油释放量作为脂解率指标。如图 1A 所示, 随着胰岛素浓度的增加, 脂肪细胞的脂解率显著增加。另外, 用 800 nmol/L 的胰岛素处理分化的猪脂肪细胞 24~96 h 并测定其脂解率, 如图 1B 所示, 随着处理时间的增加, 脂肪细胞的脂解率也显著增加。

### 2.2 慢性高剂量胰岛素对脂肪细胞聚脂形态的影响

用不同浓度的胰岛素 (0、400、800 nmol/L) 处理分化的猪脂肪细胞 48 h, 在倒置相差显微镜下观察。如图 2 所示, 随着胰岛素浓度的增加, 脂肪细胞中脂滴的数目和大小显著降低。

### 2.3 慢性高剂量胰岛素对异丙肾上腺素刺激的脂肪细胞脂解应答的影响

分化的猪脂肪细胞用不同浓度的胰岛素 (0、400、800、1600 nmol/L) 预处理 48 h, 再用 10  $\mu$ mol/L 异丙肾上腺素处理 1 h, 测定脂肪细胞的脂解率。如图 3 所示, 与对照组相比, 10  $\mu$ mol/L 异丙肾上腺素显著刺激猪脂肪细胞的脂肪分解; 然而随着胰岛素

浓度的升高, 异丙肾上腺素刺激的脂肪分解显著降低( $P<0.05$ )。

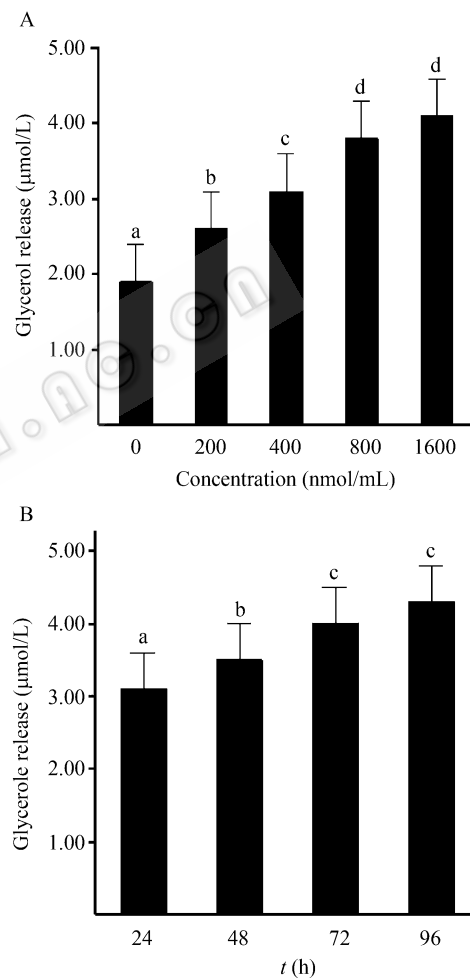


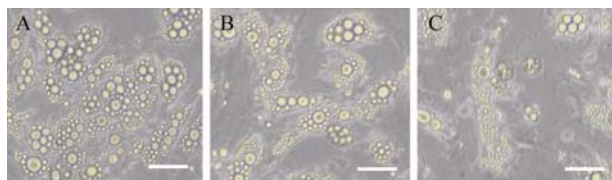
图 1 慢性高剂量胰岛素对猪脂肪细胞脂肪分解的影响

Fig. 1 Effect of chronic high dose of insulin on lipolysis in porcine adipocytes. A: dose-dependent effect of insulin on lipolysis; B: time-dependent effect of insulin on lipolysis. Values that share different superscripts are significantly different ( $P<0.05$ ).

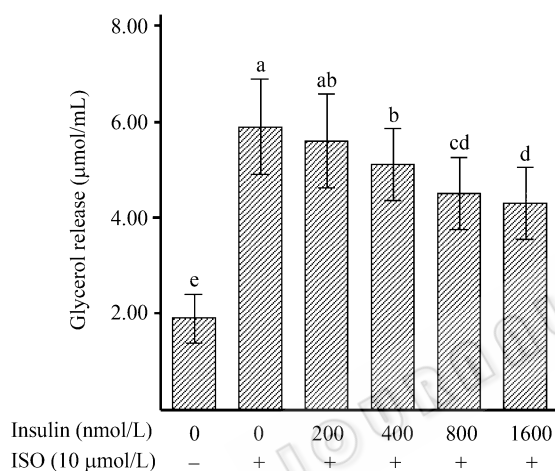
### 2.4 慢性高剂量胰岛素对脂肪细胞 perilipin A 和 PPAR $\gamma$ 基因 mRNA 和蛋白表达的影响

分化的猪脂肪细胞用不同浓度的胰岛素 (0、

400、800 nmol/L) 处理 48 h, 提取总 RNA 和总蛋白, 采用 RT-PCR 和 Western blotting 检测 perilipin A 和 PPAR $\gamma$  的基因表达。结果表明, 与对照组相比, 400 nmol/L 和 800 nmol/L 胰岛素均显著降低 perilipin A 和 PPAR  $\gamma$  2 的蛋白表达(图 4A); 同时, 这 2 种基因的 mRNA 表达也显著降低(图 4B)( $P<0.05$ )。



**图 2 慢性高剂量胰岛素对脂肪细胞聚脂形态的影响**  
Fig. 2 Effect of insulin treatment on lipid accumulation morphology in adipocytes. A: control; B: 400 nmol/L insulin treatment; C: 800 nmol/L insulin treatment (Bars=100  $\mu$ m).



**图 3 慢性高剂量胰岛素对异丙肾上腺素刺激的脂肪细胞脂解应答的影响**  
Fig. 3 Effect of chronic high dose of insulin on isoprenaline-stimulated lipolytic response in adipocytes. The results are the mean  $\pm$  S.E. of triplicate measurements. Values that share different superscripts are significantly different ( $P<0.05$ ).

### 2.5 PKA 抑制剂对胰岛素刺激的脂肪分解及 perilipin A 基因表达的影响

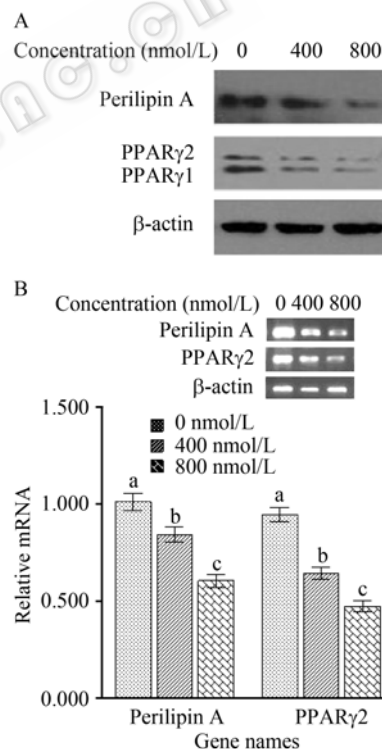
分化的猪脂肪细胞用不同浓度的 PKA 抑制剂 H89 (10、20  $\mu$ mol/L) 预处理 24 h, 再联合使用 800 nmol/L 胰岛素处理 24 h, 测定脂解率和 perilipin A 的 mRNA 表达。结果表明, 与对照组相比, 2 种浓度的 H89 均显著抑制胰岛素刺激的脂肪分解(图 5A), 但对胰岛素刺激的 perilipin A 基因表达水平的下降无显著影响(图 5B)。

### 2.6 ERK 抑制剂对胰岛素刺激的脂肪分解及 perilipin A 基因表达的影响

分化的猪脂肪细胞用不同浓度的 ERK 抑制剂 PD98059(20、50  $\mu$ mol/L) 预处理 24 h, 再联合使用 800 nmol/L 胰岛素处理 24 h, 测定脂解率和 perilipin A 的 mRNA 表达。结果表明, 与对照组相比, 2 种浓度的 PD98059 均显著抑制胰岛素刺激的脂肪分解(图 6A); 同时, 显著逆转胰岛素刺激的 perilipin A 基因表达水平的下降(图 6B)。

## 3 讨论

脂肪分解与人类及动物的体脂沉积和代谢健康密切相关。胰岛素是调控脂肪分解的重要激素。正常情况下, 胰岛素通过激活磷酸二酯酶 3B (Phosphodiesterase 3B, PDE3B) 降低细胞内 cAMP 水平, 从而抑制 PKA 活性、阻断  $\beta$  肾上腺素受体信号,



**图 4 慢性高剂量胰岛素对 perilipin A 和 PPAR $\gamma$  基因表达的影响**  
Fig. 4 Effect of chronic high insulin on gene expressions of perilipin A and PPAR  $\gamma$ . A: effect of insulin on protein expression of perilipin A and PPAR  $\gamma$ ; B: effect of insulin on mRNA expression of perilipin A and PPAR  $\gamma$ 2. Values that share different superscripts for the same gene are significantly different ( $P<0.05$ ).

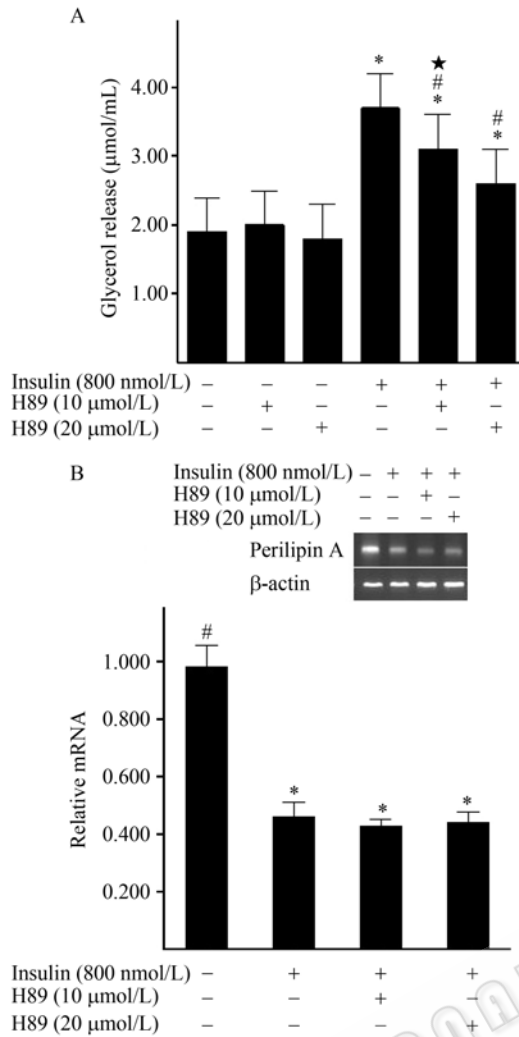


图5 H89对胰岛素刺激的脂肪分解及perilipin A基因表达的影响

Fig. 5 Effects of H89 on insulin-stimulated lipolysis and gene expression of perilipin A. A: effect of H89 on insulin-stimulated lipolysis; B: effect of H89 on gene expression of perilipin A. \*  $P < 0.05$  compared with vehicle control. #  $P < 0.05$  compared with insulin alone. ★  $P < 0.05$  compared with the high-dose group.

最终抑制脂肪分解<sup>[14-16]</sup>。然而,有研究表明,胰岛素也可以刺激脂肪分解。Smith于1974年首次报道,胰岛素的长期作用能够刺激人类脂肪组织块释放更多的甘油<sup>[17]</sup>。李晓华等研究表明,高剂量胰岛素长期作用显著刺激人脂肪细胞的脂肪分解<sup>[18]</sup>。Hupfeld等研究表明,慢性高剂量胰岛素使3T3-L1脂肪细胞内cAMP产量增加25%~63%,同时显著刺激脂肪分解<sup>[6]</sup>。然而,胰岛素刺激脂肪分解的分子机制目前尚不清楚,而且胰岛素对猪脂肪细胞脂肪分解的影响也未见报道。本研究表明,慢性高剂量胰岛素以剂量和时间依赖性的方式刺激猪脂肪细胞的脂肪分

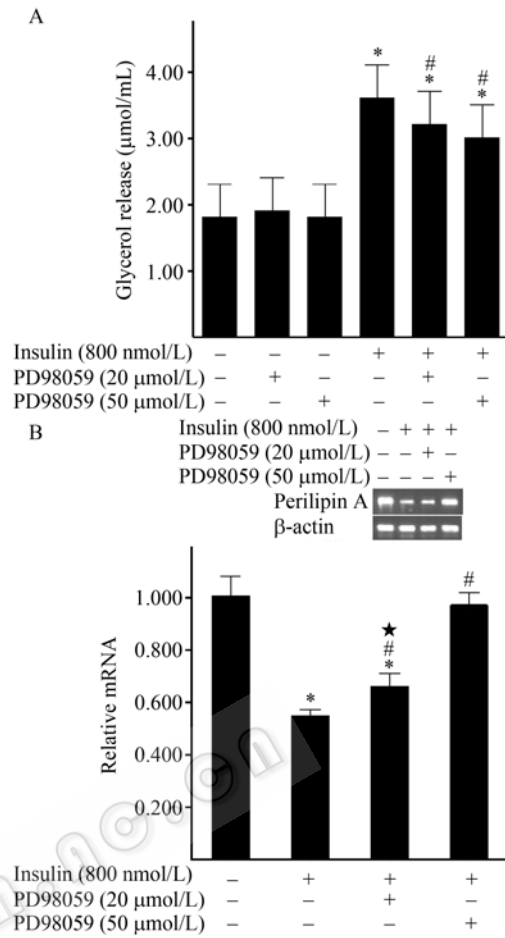


图6 PD98059对胰岛素刺激的脂肪分解及perilipin A基因表达的影响

Fig. 6 Effects of PD98059 on insulin-stimulated lipolysis and gene expression of perilipin A. A: effect of PD98059 on insulin-stimulated lipolysis; B: effect of PD98059 on gene expression of perilipin A. \*  $P < 0.05$  compared with vehicle control. #  $P < 0.05$  compared with insulin alone. ★  $P < 0.05$  compared with the high-dose group.

解(图1A、1B),同时降低脂肪细胞中的脂质积聚(图2),该结果与上述研究者在其他物种方面的研究结果一致;本研究还显示慢性高剂量胰岛素显著削弱猪脂肪细胞对异丙肾上腺素刺激的脂解应答(图3),该结果与Zhang等<sup>[5]</sup>对3T3-L1脂肪细胞的研究结果一致,但与李晓华等<sup>[18]</sup>的研究不同,推测与细胞来源或细胞的培养体系不同有关。

Perilipin A对脂肪细胞的脂肪分解具有双向调节作用。基础状态下,perilipin A在脂滴周围形成一道屏障,阻止脂肪酶水解脂肪;在儿茶酚胺类激素刺激下,perilipin A被磷酸化,可促进脂肪酶对脂肪的水解<sup>[9]</sup>。本研究发现,慢性高剂量胰岛素使perilipin A的蛋白和mRNA表达水平显著下降(图

4A、4B), 这一结果与脂肪细胞的基础脂解率升高(图 1)和异丙肾上腺素刺激的脂解应答下降(图 3)相一致, 表明慢性高剂量胰岛素通过抑制 perilipin A 刺激猪脂肪细胞的基础脂解。

核转录因子 PPAR $\gamma$ 2(Peroxisome proliferator-activated receptor gamma2) 主要调控脂肪代谢相关基因的表达<sup>[19,20]</sup>。在 perilipin A 启动子区域有 PPAR $\gamma$ 的应答元件 PPRE, 因此 PPAR $\gamma$ 2 可直接调控 perilipin A 的 mRNA 表达<sup>[21]</sup>。本研究中, 慢性高剂量胰岛素显著下调 PPAR $\gamma$ 2 的 mRNA 和蛋白表达(图 4), 由此推断, PPAR $\gamma$ 2 表达水平的降低直接导致了 perilipin A mRNA 和蛋白表达水平的下降。

cAMP/PKA 通路是调控脂肪分解的经典通路。细胞内 cAMP 浓度升高直接激活 PKA, 活化的 PKA 使 perilipin A 磷酸化, 同时激活脂肪细胞中 2 种主要的脂肪酶—HSL(Hormone sensitive lipase)和 ATGL (Adipose triglyceride lipase)<sup>[9, 22–25]</sup>, 从而促进脂肪分解。本研究显示, PKA 抑制剂 H89 显著抑制胰岛素刺激的脂肪分解(图 5A), 表明 PKA 通路介导了胰岛素刺激的脂肪分解, 该结果与 Hupfeld 等<sup>[6]</sup>对 3T3-L1 脂肪细胞的研究报道一致; 然而, H89 并未改变 perilipin A 基因表达(图 5B), 表明 PKA 通路与胰岛素刺激的 perilipin A 基因下调无关。

ERK(Extracellular signal-related kinase)通路是脂肪细胞中又一条重要的脂解通路。ERK 是 MAPK(Mitogen-activated protein kinase)亚家族的主要成员之一, 其信号级联转导系统在细胞的基因表达<sup>[26]</sup>、增殖<sup>[27]</sup>、分化<sup>[28]</sup>和内环境稳定<sup>[29]</sup>等方面发挥重要作用。ERK 短期激活可导致其下游 PPAR $\gamma$ 被磷酸化, 长期激活则降低 PPAR $\gamma$ 的表达, 这 2 种结果都会降低 PPAR $\gamma$ 的转录活性, 使 perilipin A 的表达水平降低<sup>[26]</sup>。ERK 激活还能够使 HSL 磷酸化而增强脂解活性<sup>[30]</sup>, 但并不能使 perilipin A 磷酸化<sup>[8]</sup>。本研究发现, ERK 特异性抑制剂 PD98059 显著抑制胰岛素刺激的脂肪分解(图 6A), 同时显著下调 perilipin A 的 mRNA 表达(图 6B), 表明 ERK 通路介导了慢性高剂量胰岛素刺激的脂肪分解以及 perilipin A 表达水平的下调。

综上所述, 慢性高剂量胰岛素通过 ERK 通路抑制 PPAR $\gamma$ 和 perilipin A 的表达, 导致脂肪细胞脂解率增加。这项研究将为有效调控动物的体脂沉积、

防治人类肥胖及脂代谢相关疾病提供新的靶点和理论参考。

## REFERENCES

- [1] Koubi HE, Desplanches D, Gabrielle C, *et al.* Exercise endurance and fuel utilization: a reevaluation of the effects of fasting. *J App Physiol*, 1991, **70**(3): 1337–1343.
- [2] Klein S, Young VR, Blackburn GL, *et al.* The impact of body composition on the regulation of lipolysis during short-term fasting. *J Am Coll Nutr*, 1988, **7**(1): 77–84.
- [3] Jazet IM, Pijl H, Meinders AE. Adipose tissue as an endocrine organ: impact on insulin resistance. *Neth J Med*, 2003, **61**(6): 194–212.
- [4] Groop LC, Bonadonna RC, DelPrato S, *et al.* Glucose and free fatty acid metabolism in non- insulin-dependent diabetes mellitus: Evidence for multiple sites of insulin resistance. *J Clin Invest*, 1989, **84**: 205–213.
- [5] Zhang J, Hupfeld CJ, Taylor SS, *et al.* Insulin disrupts  $\beta$ -adrenergic signalling to protein kinase A in adipocytes. *Nature*, 2005, **437**(22): 569–573.
- [6] Hupfeld CJ, Dalle S, Olefsky JM.  $\beta$ -Arrestin 1 down-regulation after insulin treatment is associated with supersensitization of  $\beta$ 2 adrenergic receptor G $\alpha$ s signalling in 3T3-L1 adipocytes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, **100**: 161–166.
- [7] Getty-Kaushik L, Richard AT, Corkey BE. G-lucose-dependent insulin modulation of oscillatory lipolysis in perfused rat adipocytes. *Obes Res*, 2005, **13**(12): 2058–2065.
- [8] Zhang HH, Souza SC, Muliro KV, *et al.* Lipase-selective functional domains of perilipin A differentially regulate constitutive and protein kinase A-stimulated lipolysis. *J Biol Chem*, 2003, **278**: 51535–51542.
- [9] Miyoshi H, Souza SC, Zhang HH, *et al.* Perilipin promotes hormone-sensitive lipase-mediated adipocyte lipolysis via phosphorylation-dependent and -independent mechanisms. *J Biol Chem*, 2006, **281**(23): 15837–15844.
- [10] Zhang HH, Halbleib M, Ahmad F, *et al.* Tumor necrosis factor- $\alpha$  stimulates lipolysis in differentiated human adipocytes through activation of extracellular signal-related kinase and elevation of intracellular cAMP. *Diabetes*, 2002, **51**: 2929–2935.
- [11] Gerrity RG, Natarajan R, Nadler JL, *et al.* Diabetes-induced accelerated atherosclerosis in swine. *Diabetes*, 2001, **50**: 1654–1665.
- [12] Lin YQ, Zhuang HL, Yang GS. Effects of RXR $\alpha$  gene silencing on the porcine adipocyte differentiation *in vitro*. *Comp Biochem Physiol (Part D)*, 2007, **2**: 207–214.
- [13] Fryer HJ, Davis GE, Manthorpe M, *et al.* Lowry protein

- assay using an automatic microtiter plate spectrophotometer. *Anal Biochem*, 1986, **153**(2): 262–266.
- [14] Elks ML, Manganiello VC. Antilipolytic action of insulin: role of cAMP phosphodiesterase activation. *Endocrinology*, 1985, **116**: 2119–2121.
- [15] Manganiello VC, Smith CJ, Degerman E. Molecular Mechanisms Involved in the Antilipolytic Action of Insulin: Phosphorylation and Activation of a Particulate Adipocyte cAMP Phosphodiesterase. New York: Plenum Press, 1991: 239–248.
- [16] Coppack SW, Frayn KN, Humphreys SM, *et al.* Effects of insulin on human adipose tissue metabolism *in vivo*. *Clin Sci*, 1986, **77**: 663–670.
- [17] Smith U. Studies of human adipose tissue in culture: Influence of insulin and medium glucose concentration on cellular metabolism. *J Clin Invest*, 1974, **53**: 91–98.
- [18] Li XH, Zhang S, Liu YP, *et al.* Long-term regulation of lipolysis by insulin in human adipocytes. *Acad J Shanghai Second Med Univ*, 2005, **25**(3): 239–241.  
李晓华, 郑升, 刘优萍, 等. 胰岛素的长期作用对人脂肪细胞代谢的影响. 上海第二医科大学学报, 2005, **25**(3): 239–241.
- [19] Peng YD, Chen JL. Differentiation of adipocyte and regulation of fat metabolism by PPARs. *Foreign Med Sci: Endocrinol*, 1998, **12**(18): 172–175.  
彭永德, 陈家伦. PPARs 与脂肪细胞分化及脂质代谢. 《国外医学》内分泌学分册, 1998, **12**(18): 172–175.
- [20] Tontonoz PE, Spiegelman BM. Stimulation of adipogenesis in fibroblasts by PPAR $\gamma$ 2, a lipid activated transcription factor. *Cell*, 1994, **79**: 1147–1156.
- [21] Arimura N, Horiba T, Imagawa M, *et al.* The peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$  regulates expression of the Perilipin gene in adipocytes. *J Biol Chem*, 2004, **279**(11): 10070–10076.
- [22] Miyoshi H, 2nd Perfield JW, Souza SC, *et al.* Control of adipose triglyceride lipase action by serine 517 of perilipin A globally regulates protein kinase A-stimulated lipolysis in adipocytes. *J Biol Chem*, 2007, **282**(2): 996–1002.
- [23] Subramanian V, Rothenberg A, Gomez C, *et al.* Perilipin A mediates the reversible binding of CGI-58 to lipid droplets in 3T3-L1 adipocytes. *J Biol Chem*, 2004, **279**(40): 42062–42071.
- [24] Lass A, Zimmermann R, Haemmerle G, *et al.* Adipose triglyceride lipase-mediated lipolysis of cellular fat stores is activated by CGI-58 and defective in Chanarin-dorfman syndrome. *Cell Metab*, 2006, **3**(5): 309–319.
- [25] Schweiger M, Schreiber R, Haemmerle G, *et al.* Adipose triglyceride lipase and hormone-sensitive lipase are the major enzymes in adipose tissue triacylglycerol catabolism. *J Biol Chem*, 2006, **281**(52): 40236–40241.
- [26] Chung S, Brown JM, Provo JN, *et al.* Conjugated linoleic acid promotes human adipocyte insulin resistance through NF $\kappa$ B-dependent cytokine production. *J Biol Chem*, 2005, **280**(46): 38445–38456.
- [27] Pages G, Lenormand P, L'Allemain G, *et al.* Mitogen-activated protein kinases p42MAPK and p44MAPK are required for fibroblast proliferation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1993, **90**: 8319–8323.
- [28] Bost F, Caron L, Marchetti I, *et al.* Retinoic acid activation of the ERK pathway is required for embryonic stem cell commitment into the adipocyte lineage. *Biochem J*, 2002, **361**: 621–627.
- [29] Kanda Y, Nishio E, Watanabe Y. Differential regulation of Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchange and DNA synthesis in vascular smooth muscle cells. *Eur J Pharmacol*, 1999, **371**: 69–74.
- [30] Greenberg AS, Shen WJ, Muliro K, *et al.* Stimulation of lipolysis and hormone-sensitive lipase via the extracellular signal-regulated kinase pathway. *J Biol Chem*, 2001, **276**: 45456–45461.

## 我单位《生物工程学报》等4种期刊论文数据库制作完成并上网

为提高期刊的显示度, 加强对历史文档的整理、保护和利用, 更好地为科研人员提供信息服务, 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部历时近1年, 将包括《生物工程学报》、《微生物学报》、《菌物学报》、《微生物学通报》等4种期刊自第1卷第1期开始, 全部逐页扫描、分类检索, 进行数字化制作, 建成了回溯文档全文数据库, 共计130卷620余期, 约1万多篇论文。由于年代久远, 很多版本已成孤本, 搜集整理及制作工作耗时半年多, 目前已全部完成, 并已上传至各编辑部网页供所有读者免费浏览下载。读者只要输入题目、关键词、年卷期、作者、单位等信息, 就可以方便地检索出四刊发表过的全部相关文章。

此外, 2008年起, 我所四刊已采用 Open Access(开放存取)模式出版, 各刊当期新发表的文章将先于印刷版在网上全文发布, 以利信息的更快传播, 提高文章的阅读量和被引频次。

欢迎浏览下载, 欢迎投稿。请登录期刊联合编辑部网址: <http://journals.im.ac.cn>