

基于气相色谱-质谱的脂肪萎缩小鼠 血浆代谢组学研究

吴琪^{1,2} 吴雅韵^{1,2} 韦世杰^{1,3} 余玉英^{1,3} 陈远云^{1,4} 荣向路^{1,2,3,4} 郭姣^{1,2,3,4}

(1 广东省代谢病中西医结合研究中心,广州,510006; 2 国家中医药管理局高脂血症调肝降脂国家中医药重点研究室,广州,510006;
3 国家中医药管理局脂代谢国家中医药三级实验室,广州,510006; 4 广东省代谢性疾病中医药防治重点实验室,广州,510006)

摘要 目的:脂肪萎缩是引起糖脂代谢紊乱的重要因素之一。通过气相色谱-质谱联用(GC-MS)技术分析 aP2-nSREBP-1c 脂肪萎缩小鼠血浆代谢谱的变化,研究与其密切相关的差异代谢物与代谢通路,探讨其生物学基础。方法:应用 GC-MS 技术对 6 只同窝野生型小鼠和 6 只转基因小鼠血浆样品进行检测,对检测结果进行多元统计分析,筛选出显著差异的代谢物,借助 MetaboAnalyst 分析代谢通路。结果:与野生型(wild-type, WT)小鼠比较,转基因(transgenic, TG)小鼠血浆中乳酸、L-缬氨酸、3-羟基丁酸、尿素、d-半乳糖、D-阿洛糖、硬脂酸、棕榈酸、肌醇、油酸、11-十八碳烯酸含量增加。代谢通路富集分析发现 3 条脂肪萎缩相关通路。结论:通过对 aP2-nSREBP-1c 小鼠血浆代谢组学分析,发现缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸的生物合成,丙酮酸代谢,磷酸肌醇代谢途径与脂肪萎缩相关,为阐明糖脂代谢性疾病的发病机制提供了代谢组学依据。

关键词 脂肪萎缩;气相色谱-质谱联用;代谢组学

Metabolite in Plasma of aP2-nSREBP-1c Mice with Lipoatrophy Using GC-MS Technology

Wu Qi^{1,2}, Wu Yayun^{1,2}, Wei Shijie^{1,3}, Yu Yuying^{1,3}, Chen Yuanyun^{1,4}, Rong Xianglu^{1,2,3,4}, Guo Jiao^{1,2,3,4}

(1 *Guangdong Metabolic Disease Research Center of Integrated Chinese and Western Medicine, Guangzhou 510006, China*;
2 *Key Unit of Modulating Liver to Treat Hyperlipemia, SATCM, Guangzhou 510006, China*; 3 *Level 3 Lab of Lipid Metabolism, SATCM, Guangzhou 510006, China*; 4 *Guangdong TCM Key Laboratory Against Metabolic Diseases Institute of Chinese Medicinal Sciences, Guangzhou 510006, China*)

Abstract Objective: To analyze the changes in plasma metabolism using gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) technology of aP2-nSREBP-1c mice with lipoatrophy. Study the differential metabolites and metabolic pathways that are closely related to lipoatrophic and explore its molecular mechanisms. **Methods:** Plasma samples of 6 wild-type mice in the in the control group and 6 transgene-type mice in the model group were detected using GC-MS. The result was analyzed by using multivariate statistical analysis, the metabolites were screened out which have significant difference. **Results:** Compared with the control group (wild-type, WT), the plasma levels of D-(-)-Lactic acid, L-Valine, (R)-3-Hydroxybutyric acid, Urea, d-Galactose, D-Allose, Stearic acid, Palmitic acid, Myo-Inositol, Oleic acid, 11-Octadecenoic acid in the model group (transgene-type, TG) increased. Pathway enrichment analysis displayed that these metabolites were mainly involved in 3 metabolic pathways which were closely related to lipoatrophy. **Conclusion:** Through plasma metabonomics analysis of aP2-nSREBP-1c rats, metabolic information highly associate with lipoatrophy. The finding is helpful to provide a basis for understanding the molecular mechanisms of the disease.

Key Words Lipoatrophy; Gas chromatography tandem mass spectrometry; Metabonomics

中图分类号:R917 文献标识码:A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2019.01.009

脂肪萎缩是一种异质性、遗传性或获得性疾病,主要特征是身体脂肪的选择性丧失^[1]。过量的脂肪累积或组织萎缩导致脂肪对脂质的储存能力不足,

引起外周组织脂毒性损伤和低度炎性反应,增加糖尿病和动脉粥样硬化等糖脂代谢性疾病风险^[2]。近年来国内外已有相关文献应用代谢组学技术对肥胖

基金项目:国家自然科学基金重点项目(81530102,81830113);广东省科技计划项目(2017B050504005);广州市科技计划项目(民生科技攻关计划)(201803010069);广东省科技厅实验室建设项目(2017B030314064);广东省科技厅国际合作基地建设项目(2016B050501003)

作者简介:吴琪(1992.08—),女,硕士研究生在读,研究方向:中药药理学,E-mail:764672567@qq.com

通信作者:荣向路(1972.04—),男,博士,教授,硕士研究生导师,研究方向:中药药理学,E-mail:571528593@qq.com;郭姣(1961.11—),女,博士,教授,博士研究生导师,研究方向:中西医结合防治糖脂代谢病,E-mail:guojiao@gdpu.edu.cn

症进行研究,发现了许多与肥胖相关的代谢标志物^[3-5],但是在脂肪萎缩的代谢组学方面的研究是缺乏的。事实上,脂肪萎缩的遗传突变表型在代谢综合征中并不罕见;脂肪萎缩与肥胖可同时发生,其代谢后果相似可能叠加^[6-7]。因此,研究脂肪萎缩下小分子代谢物的变化有利于更加全面认识糖脂代谢性疾病的发病机制,并在此基础上研发防治策略和药物。

近年来,代谢组学的快速发展为生命科学研究提供许多便捷,它能定量检测生物体在病理生理刺激或遗传环境因素改变下所产生的动态变化,对于明晰机体发生的代谢变化指出方向。目前,多种分析技术应用于代谢组学研究,而 GC-MS 的应用较为广泛,其特点包括较高检测灵敏度和可供参考的标准谱图库,能够定性分析代谢产物^[8]。aP2-nSREBP-1c 转基因小鼠具有白色脂肪少,棕色脂肪肥大的特点。随年龄增加,肝脏脂肪异位沉积逐渐加重,并且伴有严重的胰岛素抵抗问题^[9]。由于糖脂代谢紊乱和脂肪生成分化障碍,该小鼠曾用作先天遗传引起的脂肪萎缩症或糖尿病研究^[10-11]。本实验主要借助 GC-MS 仪器对 aP2-nSREBP-1c 转基因小鼠的血浆样品进行代谢组学检测与分析,旨在探究脂肪萎缩条件下血浆代谢物的变化,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物 aP2-nSREBP-1c 转基因小鼠由美国 Jackson 实验室引进,委托南京大学模式动物研究所净化,动物合格证编号:J003393 SCXK(苏)2010-0001。动物实验期间均饲养于广东药科大学实验动物中心。饲养繁殖条件:SPF 级动物房,温度 20~25℃,湿度 40%~70%,12 h:12 h 昼夜间断照明,进食普通饲料,自由饮食饮水。

1.1.2 试剂与仪器 涡旋混合器(德国 IKA 公司);台式高速冷冻离心机(美国 SCILOGEX 公司);DK-8D 电热恒温水槽(上海一恒科学仪器有限公司);HGC-24A 型氮吹浓缩仪(天津市恒奥科技发展有限公司);Agilent 7890B/5977B 型气相色谱-质谱联用仪(美国 Agilent 公司)。甲醇(色谱纯,德国 Merck 公司);甲氧胺盐酸盐(上海阿拉丁生化科技股份有限公司,F1601013);吡啶(色谱纯,上海阿拉丁生化科技股份有限公司);N,O-双(三甲基硅烷基)三氟乙酰胺(含三甲基氯硅烷)(87VMH-MM,东京化成工业株式会社);正庚烷(分析纯,天津市致远化学试剂有限公司);超纯水。

1.2 方法

1.2.1 动物分组 aP2-nSREBP-1c 转基因小鼠是 C57BL/6J 和 SJL 背景的杂合子个体,参照 Jackson 实验室基因型鉴定方法鉴定转基因型和野生型,根据基因型把小鼠分为 WT 组和 TG 组。

1.2.2 检测指标与方法 1)脂肪组织形态观察:经乙醚麻醉侧眼底静脉丛取血后处死小鼠,迅速分离脂肪组织,置于 4% 多聚甲醛固定过夜,石蜡包埋,切片,HE 染色,进行病理形态观察分析。

2)血浆样品获取与前处理:10 周龄小鼠 12 h 禁食后经乙醚麻醉,侧眼底静脉丛取血,肝素钠抗凝,离心(3 000 r/min,4℃,15 min)取血浆。吸取 50 μL 新鲜血浆于离心管中,加入 200 μL 甲醇沉淀蛋白质,涡旋混匀 1 min,离心 10 min(15 000 r/min,4℃),取上清液 200 μL 氮气吹干。加入 20 mg/mL 甲氧胺吡啶溶液 50 μL,混匀,在 70℃ 下脲化 1 h。加入 50 μL BSTFA(含 1% TMCS),在 70℃ 水浴下衍生化 1 h。加入 50 μL 正庚烷,涡旋混匀后离心移取上清至微量进样管,待 GC-MS 分析。

3)测定条件:色谱柱:HP-5MS(60 m × 250 μm × 0.25 μm);进样量:1 μL;进样口温度:260℃;进样模式:不分流进样。升温程序:起始温度 60℃,保持 1 min,以 8℃/min 升至 100℃,保持 5 min,以 15℃/min 升至 170℃,保持 5 min,以 10℃/min 升至 210℃保持 2 min,以 15℃/min 升至 350℃保持 3 min。电离方式:EI;电子轰击能量:70eV;离子源温度:230℃;四级杆温度:150℃;溶剂延迟:11 min。

4)数据处理及差异代谢物筛选:使用 GC-MS 联用仪对血浆样品进行检测分析,经过积分后利用美国国家标准与技术局化学数据库(NIST)进行化合物比对。将比对后的数据导入 MetaboAnalyst(<https://www.metaboanalyst.ca/MetaboAnalyst/>)在线分析网站,采用无监督模式识别的主成分分析(Principal Component Analysis,PCA)观察各组分离趋势,根据倍数变化 > 1.5 和 $P < 0.05$ 筛选差异代谢物^[12],以匹配分数大于 80 的鉴定结果作为可信结果。

1.3 统计学方法 采用 SPSS 软件对样本进行统计分析,2 组间比较采用 t 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。采用 MetaboAnalyst 进行代谢通路富集分析,鉴别出 2 组间差异显著的代谢通路。

2 结果

2.1 表型评价-白色脂肪病理切片观察 HE 染色中,细胞质的脂肪被溶解呈空泡状,细胞核位于细胞一侧。与野生型(WT)小鼠比较 aP2-nSREBP-1c 转

基因(TG)小鼠白色脂肪细胞内脂滴较少且体积较小。TG 小鼠白色脂肪呈萎缩状态。见图 1。

2.2 血浆非靶向代谢组学 TIC 图 采用 GC-MS 技术对小鼠血浆进行分析,得到血浆代谢物的总离子流图,从中得到样品的化合物信息,质谱信息,离子丰度等。结果显示 2 组样本多数代谢物的出峰时间集中在 12 ~ 37 min,但在峰信号和峰数目上存在差别,TG 组的峰信号明显强于 WT 组,表明 2 组的血浆代谢轮廓存在一定差异。见图 2。

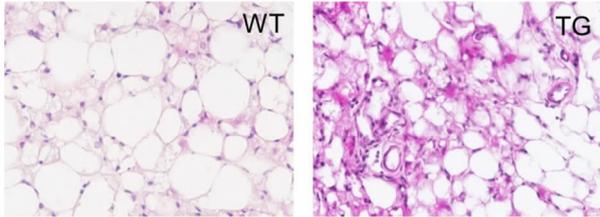


图 1 白色脂肪 H&E 染色(400 ×)

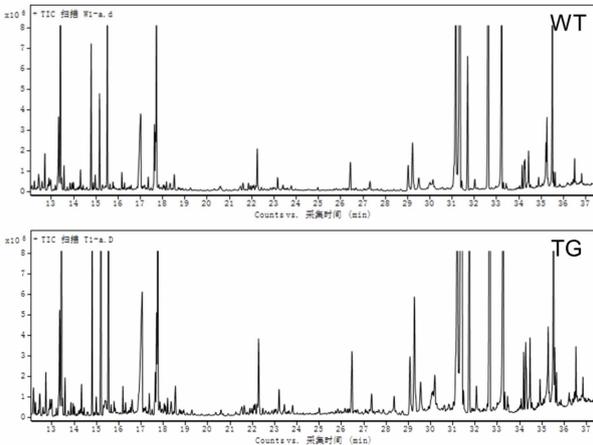


图 2 小鼠血浆非靶向代谢组学总离子流图

2.3 主成分分析(PCA) PCA 分析是一种无监督模式识别的多元变量统计分析方法,可以通过降维的方式,反映出高维数据样本之间的差异。结果如图 3 所示,PCA 得分图上 WT 与 TG 样本点分散于不同区域,说明正常 WT 小鼠与 TG 小鼠血浆内源性代谢物具有差异。

2.4 差异代谢物的筛选结果 本研究共筛选出 11 种差异代谢产物,与 WT 比较,TG 组中乳酸、L-缬氨酸、3-羟基丁酸、尿素、d-半乳糖、D-阿洛糖、硬脂酸、棕榈酸、肌醇、油酸、11-十八碳烯酸含量增加。见表 1、图 4。

2.5 代谢产物通路分析 将 11 种差异代谢物导入 MetaboAnalyst 进行在线数据处理分析。图中每个圆圈对应相关的通路,圆圈的着色代表代谢物在数据中具有不同程度的显著性,着色越深,差异越大;反之,差异越小。根据通路影响值 (pathway impact > 0.1) 得到:缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸的生物合成,

丙酮酸代谢,磷酸肌醇代谢,共 3 条与脂肪萎缩相关的代谢通路。见图 5。

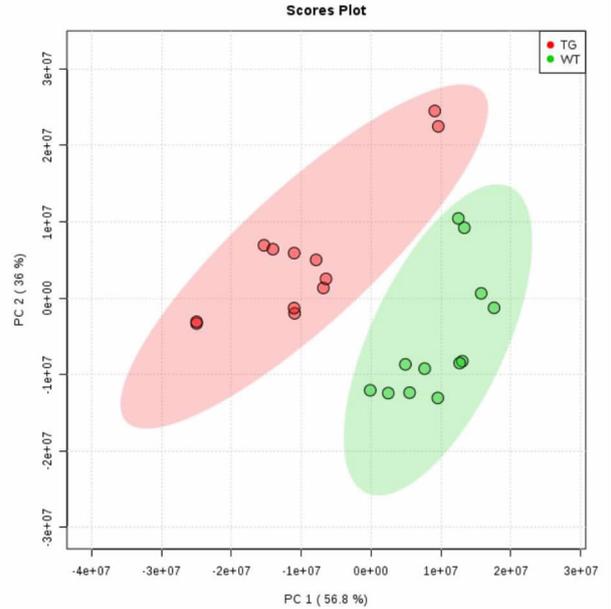


图 3 野生型小鼠与转基因小鼠的 PCA 平面得分图

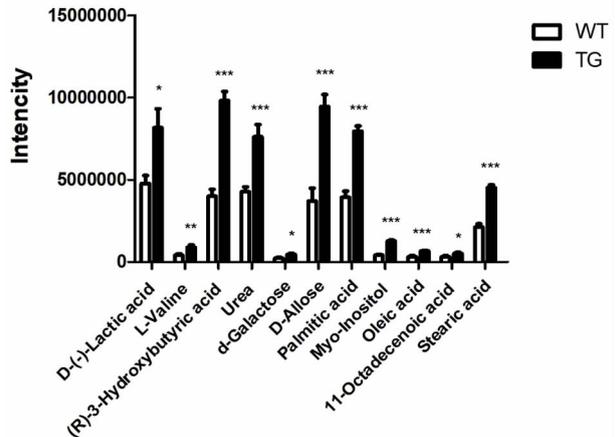


图 4 aP2-nSREBP-1c 小鼠血浆差异代谢物的变化注:与 WT 组比较,* P<0.05,** P<0.01,*** P<0.001

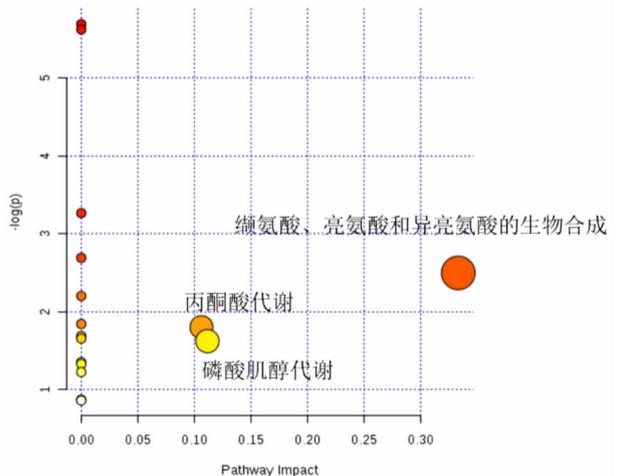


图 5 MetaboAnalyst 通路分析

表1 血浆中的差异代谢物

RT/min	Differential metabolites	差异代谢物	基峰	分数	HMDB	KEGG
13.427	D-(-)-Lactic acid	乳酸	147	95.03	HMDB0001311	C00256
14.008	L-Valine	L-缬氨酸	72.1	90.89	HMDB0000883	C00183
15.535	(R)-3-Hydroxybutyric acid	3-羟基丁酸	147	94.48	HMDB0000011	C01089
17.017	Urea	尿素	147	91.55	HMDB0000294	C00086
30.235	d-Galactose	d-半乳糖	73	81.00	HMDB0000143	C00984
31.730	D-Allose	D-阿洛糖	73	90.74	HMDB0001151	C01487
33.243	Palmitic acid	棕榈酸	313.2	93.92	HMDB0000220	C00249
34.282	Myo-Inositol	肌醇	73	92.52	HMDB0000211	C00137
35.270	Oleic acid	油酸	73	95.15	HMDB0000207	C00712
35.320	11-Octadecenoic acid	11-十八碳烯酸	73	83.81	HMDB0003231	C08367
35.514	Stearic acid	硬脂酸	341.3	96.61	HMDB0000827	C01530

3 讨论

实验以 aP2-nSREBP-1c 转基因小鼠作为研究对象,应用 GC-MS 技术对血浆样本进行代谢组学研究,共筛选出 11 个差异代谢物(包括氨基酸、脂肪酸、糖)。这些代谢物在脂肪萎缩小鼠血浆中显著上调,表明小鼠体内发生了代谢紊乱。通路富集表明差异代谢物在体内主要涉及缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸的生物合成,丙酮酸代谢,磷酸肌醇代谢途径。

缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸的生物合成属于支链氨基酸(Branched Chain Amino Acids,BCAA)的生物合成途径。BCAA 是一种特殊的必需氨基酸。研究认为,BCAA 能够激活雷帕霉素(the Mammalian Target of Rapamycin, mTOR)靶点引起胰岛素抵抗^[13-14]。机体中 BCAA 缺乏时,白色脂肪内硬脂酰辅酶 a、脂肪酸合酶均被抑制,棕色脂肪组织内解耦联蛋白 1 表达水平增加,产热耗能增强,脂肪含量快速减少,机体呈现消耗表型^[15-16]。此外,BCAA 被证明可以通过 mTOR 信号在下丘脑的水平上调节脂肪的瘦素分泌和食物摄入^[17]。本研究中文缬氨酸在转基因小鼠中的血浆代谢水平显著升高,这可能与小鼠脂肪因子信号通路受损相关^[18]。

肌醇参与了磷酸肌醇的代谢途径。肌醇是许多二级信使的前体分子,由葡萄糖合成,是磷脂酰肌醇的组成部分。在胰岛素发挥作用的过程中,磷脂酰肌醇是重要的递质,参与多种信号的传递。乳酸参与丙酮酸代谢途径。丙酮酸作为物质代谢的重要中间体,可通过三羧酸循环实现体内糖、脂肪和氨基酸的相互转化,是三大营养物质代谢联系的枢纽。与酮体代谢相关的 3-羟基丁酸,与脂肪酸代谢相关的硬脂酸、油酸、棕榈酸、11-十八碳烯酸,与糖代谢相关的 d-半乳糖、D-阿洛糖、与蛋白质代谢相关的尿素,血浆代谢水平升高。提示脂肪萎缩可能导致机

体的糖脂代谢紊乱,能量代谢异常问题。

脂肪组织不仅是能量储备器官,它还是一个具有多种内分泌、自分泌和旁分泌功能的内分泌器官,脂肪组织通过分泌多种激素及信号调节分子,与胰腺、肝脏、中枢神经系统、免疫系统等进行器官对话^[19]。过量的脂肪累积或组织萎缩都将影响全身的代谢。本研究使用的代谢组学技术有助于系统了解机体总的病理生理过程,契合中医学“整体观念,辨证论治”理论。通过该技术分析脂肪萎缩小鼠的差异代谢物变化及其代谢途径,能一定程度上反映脂肪萎缩小鼠代谢水平变化,将为阐明糖脂代谢性疾病的发病机制,研发该病中医药/中西医结合防治策略和创新药物,提供代谢组学的实验依据。

参考文献

- [1] Garg A. Lipodystrophies: Genetic and Acquired Body Fat Disorders [J]. Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, 2011, 96(11): 3313-3325.
- [2] Herrero L, Shapiro H, Nayer A, et al. Inflammation and adipose tissue macrophages in lipodystrophic mice [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2010, 107(1): 240-245.
- [3] Giesbertz P, Padberg I, Rein D, et al. Metabolite profiling in plasma and tissues of ob/ob and db/db mice identifies novel markers of obesity and type 2 diabetes [J]. Diabetologia, 2015, 58(9): 2133-2143.
- [4] 岳子敬, 骆斌, 杨宜婷, 等. 不同分型肥胖人群血清和尿液核磁共振代谢组学研究 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2016, 18(6): 138-143.
- [5] Nam M, Choi M S, Jung S, et al. Lipidomic Profiling of Liver Tissue from Obesity-Prone and Obesity-Resistant Mice Fed a High Fat Diet [J]. Scientific Reports, 2015, 5: 16984.
- [6] Rother K I, Brown R J. Novel forms of lipodystrophy: why should we care? [J]. Diabetes Care, 2013, 36(8): 2142-2145.
- [7] 钱荣立. 2 型糖尿病合并肢体部分性脂肪萎缩: 一种新的脂肪萎缩表型 [J]. 中国糖尿病杂志, 2015, 23(3): 287-288.

- ty Acid-Induced Hepatic Steatosis HepG2 Cell Assay[J]. Evidence-Based Complementray and Alternat-ive Medicine, 2013, 2013 (6): 459390.
- [9] Sotoacosta R, Bautistacarbajal P, Cervantessalazar M, et al. DENV up-regulates the HMG-CoA reductase activity through the impairment of AMPK phos-phorylation: A potential antiviral target[J]. Plos Pathogens, 2017, 13(4): e1006257.
- [10] Li D, Zheng J, Hu Y. Amelioration of Intestinal Barrier Dysfunction by Berberine in the Treatment of Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Rats[J]. Ph-armacognosy Magazine, 2017, 13(52): 677-682.
- [11] Chen Z, Li C, Yang C, et al. Lipid Regulation Effects of Raw and Proc-essed Notoginseng Radix Et Rhizome on Steatotic Hepatocyte L02 Cell: [J]. Bi-omed Res Int, 2016, 2016(11): 2919034.
- [12] 刘玲, 黄紫乐. 齐墩果酸经线粒体损伤诱导 SMMC-7721 细胞凋亡的作用[J]. 中国临床药理学杂志, 2017, 33(2): 144-148.
- [13] Gong LL, Fang LH, Wang SB, et al. Coptisine exert cardioprotective effect through anti-oxidative and inhibition of RhoA/Rho kinase pathway on isopr-oterenol-induced myocardial infarction in rats[J]. Atherosclerosis, 2012, 222(1): 50-58.
- [14] Wang Z, Wang J, Chan P. Treating Type 2 Diabetes Mellitus with Tradit-ional Chinese and Indian Medicinal Herbs [J]. Evidence-Based Complementray and Alternative Medicine, 2013, 2013 (6): 343594.
- [15] Cheng P, Wang B, Liu X, et al. Facile synthesis of tetrahydroproto-berber-ine and protoberberine alkaloids from protopines and study on their antibacteri-al activities[J]. Natural Product Research, 2014, 28(7): 413-419.
- [16] Tang F, Mei W, Tian D, et al. An Evidence-based Perspective of Coptis-Chinensis, (Chinese Goldthread) for Cancer Patients [M]. Evidence-based Antic-ancer Materia Medica. Springer Netherlands, 2011: 111-130.
- [17] Zhou L, Yang F, Li G, et al. Coptisine Induces Apoptosis in Human Hepatoma Cells Through Activating 67-kDa Laminin Receptor/cGMP Signaling[J]. Frontiers in Pharmacology, 2018, 9: 00517.
- [18] 杨凡, 李欣, 章婷婷, 等. 黄连碱经活性氧中介物-线粒体途径诱导肺癌 NCI-H1650 细胞凋亡[J]. 实用医学杂志, 2017, 33(24): 4033-4037.
- [19] 孙常磊. PH 区带逆流色谱分离纯化石蒜、黄连、豆豉姜和三颗针中的生物碱类化合物[D]. 济南: 山东中医药大学, 2016.
- [20] 王修婧. 不同比率 DHA/EPA 干预高脂小鼠脂质代谢作用及机制[D]. 武汉: 武汉轻工大学, 2016.
- [21] 黄德强, 罗凌玉, 王丽丽, 等. AMPK 在胰岛素信号转导通路中的作用[J]. 中国细胞生物学学报, 2011, 33(11): 1220-1229.
- [22] Alam M A, Subhan N, Rahman M M, et al. Effect of Citrus Flavonoids, Naringin and Naringenin, on Metabolic Syndrome and Their Mechanisms of A-ction[J]. Advances in Nutrition, 2014, 5(4): 404-417.

(2018-12-10 收稿 责任编辑: 王杨)

(上接第 47 页)

- [8] 李娟, 任路静, 孙冠男, 等. 气相色谱-质谱联用技术及其在代谢组学中的应用[J]. 生物工程学报, 2013, 29(4): 434-446.
- [9] 李凤霞, 李金磊, 荣向路, 等. 脂肪分化障碍引起的胰岛素抵抗、脂肪肝及高胆固醇血症小鼠模型研究[J]. 中药新药与临床药理, 2014, 25(1): 96-101.
- [10] Iichiro Shimomura, Robert E. Hammer, James A. Richardson, et al. Insulin resistance and diabetes mellitus in transgenic mice expressing nuclear SREBP-1c in adipose tissue: model for congenital generalized lipodystrophy[J]. Genes & Development, 1998, 12(20): 3182.
- [11] Shimomura I, Bashmakov Y, Horton J D. Shimomura, I. Bashmakov, Y. & Horton, J. D. Increased levels of nuclear SREBP-1c associated with fatty livers in two mouse models of diabetes mellitus[J]. Journal of Biological Chemistry, 1999, 274(42): 30028-30032.
- [12] 陶嘉磊, 汪受传, 单进军, 等. 消风宣窍汤治疗小鼠变应性鼻炎血清代谢组学研究[J]. 中药材, 2018, 41(10): 2168-2172.
- [13] Yoon M S. The Emerging Role of Branched-Chain Amino Acids in Insulin Resistance and Metabolism[J]. Nutrients, 2016, 8(7): 405.
- [14] Nie C, He T, Zhang W, et al. Branched Chain Amino Acids: Beyond Nutrition Metabolism [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2018, 19(4): 954.
- [15] Wang C X, Guo F F. Branched chain amino acids and metabolic regulation[J]. Chinese Science Bulletin, 2013, 58(11): 1228-1235.
- [16] Cheng Y, Meng Q, Wang C, et al. Leucine Deprivation Decreases Fat Mass by Stimulation of Lipolysis in White Adipose Tissue and Upregulation of Uncoupling Protein 1 (UCP1) in Brown Adipose Tissue [J]. Diabetes, 2010, 59(1): 17-25.
- [17] Kahn B B, Myers M G. mTOR tells the brain that the body is hungry [J]. Nature Medicine, 2006, 12(6): 615-616.
- [18] Lian K, Du C, Liu Y, et al. Impaired Adiponectin Signaling Contributes to Disturbed Catabolism of Branched-Chain Amino Acids in Diabetic Mice[J]. Diabetes, 2015, 64(1): 49-59.
- [19] Paul T, Beattie J H. Physiological role of adipose tissue: white adipose tissue as an endocrine and secretory organ[J]. Proceedings of the Nutrition Society, 2001, 60(3): 11.

(2018-12-10 收稿 责任编辑: 王杨)