

## 蛋白酪氨酸磷酸酶 1B 在 3T3-L1 前脂肪细胞分化过程中表达的变化

陈 月, 邹大进\*, 张 征, 王 森, 吴 捷

(第二军医大学长海医院内分泌科, 上海 200433)

**[摘要]** **目的:** 观察在 3T3-L1 前脂肪细胞分化过程中蛋白酪氨酸磷酸酶 1B(PTP1B)mRNA 表达及其蛋白水平的变化, 探讨 PTP1B 与脂肪细胞分化的关系。**方法:** 体外培养 3T3-L1 前脂肪细胞, 在 3T3-L1 前脂肪细胞分化成熟过程中(第 1~10 日), 采用油红 O 染色及 RT-PCR 法检测过氧化物酶体增殖物活化受体  $\gamma$ 2(PPAR $\gamma$ 2) 基因表达评价脂肪细胞分化成熟情况, RT-PCR 法及 Western 印迹法检测脂肪细胞分化过程中 PTP1B mRNA 表达及其蛋白水平的变化。**结果:** 随着脂肪细胞诱导分化逐步深入, 油红 O 染色显示其中脂滴形成逐渐增多, 至占全视野 90% 以上; 同时 PPAR $\gamma$ 2 基因表达逐步增多, 均提示脂肪细胞分化逐步成熟, 至最终分化为成熟脂肪细胞。PTP1B mRNA 和蛋白水平在前脂肪细胞中表达较高, 随着脂肪细胞的逐步成熟, 其表达逐渐降低, 至分化成熟时表达水平降至最低。**结论:** 在 3T3-L1 前脂肪细胞分化成熟过程中, PTP1B mRNA 及其蛋白表达水平逐渐减低, PTP1B 可能参与了脂肪细胞分化。

**[关键词]** 蛋白质酪氨酸磷酸酶; 3T3-L1 细胞; 细胞分化

**[中图分类号]** R 329.25 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2007)08-0838-05

## Expression changes of protein tyrosine phosphatase 1B during differentiation of 3T3-L1 preadipocytes

CHEN Yue, ZOU Da-jin\*, ZHANG Zheng, WANG Miao, WU Jie (Department of Endocrinology, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

**[ABSTRACT]** **Objective:** To observe the expression changes of protein tyrosine phosphatase 1B (PTP1B) mRNA and protein during the differentiation of 3T3-L1 preadipocytes, so as to explore the relationship between PTP1B and adipocytes differentiation. **Methods:** 3T3-L1 preadipocytes were cultured *in vitro* and were induced to differentiate into mature adipocytes; the differentiation of adipocytes was assessed through detecting expression of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma 2 (PPAR $\gamma$ 2) mRNA by RT-PCR and oil red O staining. Expression of PTP1B in adipocytes was detected by RT-PCR and Western blot during differentiation. **Results:** With the progression of 3T3-L1 cell differentiation, oil red O staining showed that the lipid droplets increased gradually to 90% of the vision field; meanwhile, the expression of PPAR $\gamma$ 2 also increased gradually, suggesting the proliferation and maturation of the preadipocytes. The expression of PTP1B mRNA and protein decreased in 3T3-L1 preadipocytes with their differentiation and maturation; the expression reached the lowest level in mature adipocytes. **Conclusion:** Expression of PTP1B mRNA and protein decreases during the differentiation of preadipocytes, indicating a role for PTP1B in the maturation of adipocytes.

**[KEY WORDS]** protein-tyrosine-phosphatase; 3T3-L1 cells; cell differentiation

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2007, 28(8): 838-842]

作为最早被纯化的蛋白酪氨酸磷酸酶之一, 蛋白酪氨酸磷酸酶 1B (protein tyrosine phosphatase 1B, PTP1B) 一直被认为是胰岛素受体后信号转导的主要负性调控因子<sup>[1-3]</sup>, 近年来更是成为治疗肥胖、2 型糖尿病等胰岛素抵抗相关疾病的新靶点。多项研究<sup>[4]</sup>证实, PTP1B 水平降低可使实验小鼠肝脏和肌肉组织中胰岛素受体 (InsR) 和胰岛素受体底物 (insulin receptor substrate, IRS) 蛋白的磷酸化增强, 胰岛素信号转导增强, 提高胰岛素敏感性。然而在同样是胰岛素主要作用靶点——脂肪组织的研究中, PTP1B 对脂肪组织胰岛素敏感性的影响不完全相同。在 PTP1B 基因敲除小鼠中, 脂肪组织中胰岛素受体的去磷酸化丝毫未受影响<sup>[4]</sup>。Rondinone

等<sup>[5-6]</sup>研究发现, 低 PTP1B 对 ob/ob 小鼠脂肪组织胰岛素相关的蛋白激酶 B (PKB) 磷酸化无影响, 对脂肪细胞中胰岛素介导的葡萄糖转运亦无明显作用。然而, 一项最近的研究<sup>[7]</sup>显示, 在脂肪组织中特异性敲除 PTP1B 基因可导致小鼠体质量增加。相关研究结论迥异, 存在争议, 无法弄清 PTP1B 对脂肪细胞的作用。为此本课题组选用 3T3-L1 前脂肪细胞进行体外培养诱导分化, 观察在脂肪细胞分化成熟过程中 PTP1B 基因及蛋白表达的变化, 以探讨 PTP1B 在脂质合成和成脂过程中的作用。

**[作者简介]** 陈 月, 博士, 讲师、主治医师。

\* Corresponding author. E-mail: zwj22@medmail. com. cn

## 1 材料和方法

1.1 材料 3T3-L1前脂肪细胞株由上海市瑞金医院内分泌科实验室惠赠;重组人普通胰岛素购自Novo Nordisk公司;地塞米松(DEX)、3-异丁基-1-甲基黄嘌呤(3-isobutyl-1-methylxanthine, MIX)购自Sigma公司;DMEM细胞培养液购自Gibco公司;胎牛血清(FBS)购自上海实生细胞生物技术有限公司, DMSO为宜兴市化工厂产品。RT-PCR实验试剂中, TRIzol为美国Invitrogen公司产品, dNTP、Oligo(dT) Primer、M-MLV逆转录酶为美国Promega公司产品, *Taq*酶、DNA Marker DL2000购自大连宝生物工程有限公司, 二乙基焦碳酸酯(DEPC)、琼脂糖、RNasin购自上海生工生物工程技术服务有限公司, 引物由上海生工生物工程技术服务有限公司合成。Western印迹实验试剂中, 抗小鼠多克隆PTP1B抗体购自Upstate生物技术公司, 羊抗小鼠二抗购自华舜公司。

1.2 3T3-L1细胞的培养和诱导分化 将3T3-L1前脂肪细胞接种于6孔培养板, 采用完全培养液(10%FBS+100 U/ml青霉素+100 U/ml链霉素的高糖DMEM), 在37℃、5%的CO<sub>2</sub>条件下培养, 每2 d换液1次。待细胞生长至完全融合后2 d开始诱导分化, 具体步骤为: 将培养液换为含0.5 mmol/L MIX、0.25 μmol/L DEX和10 μg/ml胰岛素的完全培养液孵育48 h, 再换以含10 μg/ml胰岛素的完全培养液孵育48 h, 随后以不含任何诱导剂的完全培养液继续培养, 每2 d换培养液1次, 直至第10日95%以上细胞已经分化为成熟的脂肪细胞。收集诱导分化第1~10日处于不同分化过程的细胞, -70℃冻存备用。

1.3 3T3-L1脂肪细胞的油红O染色 采用油红O染色鉴定分化成熟的3T3-L1脂肪细胞。先用0.01 mmol/L PBS洗3次, 10%多聚甲醛固定细胞10 min, PBS洗净后将细胞晾干20 min, 加入油红O染液于细胞表面, 静置10 min后用60%异丙醇洗细胞2次, 以去除多余的染料。再以双蒸水洗3~4次后, 用苏木精染细胞核2 min。用水洗5~10 min, 倒置显微镜下观察结果, 拍照。

1.4 3T3-L1前脂肪细胞分化过程中过氧化物酶体增殖物活化受体γ2(PPARγ2)mRNA的表达 应用TRIzol试剂盒分别提取3T3-L1前脂肪细胞诱导分化第1~10日的细胞总RNA。用紫外分光光度计检测RNA浓度与纯度, 要求D<sub>260</sub>/D<sub>280</sub>比值在1.8~2.0之间。采用RT-PCR法检测PPARγ2

mRNA的表达。RT: 各样本取5 μg的RNA, 加入RNasin 0.5 μl, 加入DEPC水至总体积为10 μl, 70℃水浴5 min、冰上5 min。再加入5×RT buffer 5 μl、RNasin 0.5 μl、MLV 1 μl、100 mmol/L dNTP 0.5 μl、Oligo(dT) 1 μl, 加入DEPC水至总体积为25 μl, 40℃水浴60 min, 70℃水浴15 min, 冰上终止反应。PCR反应: 自行设计扩增基因引物, PPARγ2上游引物5'-TGG AAT TAG ATG ACA GCG ACT TGG-3', 下游引物5'-CTG GAG CAG CTT GGC AAA CA-3', PCR产物为182 bp; β-actin上游引物5'-AGC CAT GTA CGT AGC CAT CC-3', 下游引物5'-CTC TCA GCT GTG GTG GTG AA-3', PCR产物为228 bp。PCR反应体系为cDNA 1 μl, 10×PCR buffer 2.5 μl, dNTP 0.5 μl, 10 pmol/L PPARγ2、β-actin上下游引物各0.5 μl, *Taq*酶0.3 μl, DEPC水补足25 μl。扩增条件: 94℃预变性5 min, 之后94℃变性30 s, 57℃退火30 s, 72℃延伸30 s, 扩增30个循环, 最后72℃延伸10 min, 4℃终止反应。PCR产物的检测: 取PCR产物5 μl, 加样于1%琼脂糖凝胶, 0.5×TBE为电泳缓冲液, 100 V恒压电泳30 min, PCR产物在紫外线透视仪显影拍照。Kodak digital science 310分析电泳条带密度值, PPARγ2基因mRNA的表达水平以该基因条带密度占β-actin基因条带密度的百分率(%)表示。

1.5 3T3-L1前脂肪细胞分化过程中PTP1B mRNA表达 收集3T3-L1前脂肪细胞诱导分化第1~10日的细胞, RNA抽提及检验方法同上。采用RT-PCR法检测PTP1B mRNA的表达。RT方法同上; PCR反应: PTP1B上游引物5'-AGT ACG ACA GTT GGA GTT GG-3', 下游引物5'-TCG GGT GGA AGG TCT AGA TC-3', PCR产物为450 bp; β-actin上游引物5'-GAC GAG GCC CAG AGC AAG AGA GG-3', 下游引物5'-GAT CCA CAT CTG CTG GAA GGT GGA C-3', PCR产物为906 bp。PCR反应体系为cDNA 1 μl, 10×PCR buffer 2.5 μl, dNTP 0.5 μl, 10 pmol/L PTP1B、β-actin上下游引物各0.5 μl, *Taq*酶0.3 μl, DEPC水补足25 μl。扩增条件: 94℃预变性5 min, 之后94℃变性30 s, 57℃退火30 s, 72℃延长30 s, 扩增30个循环, 最后72℃延长10 min, 4℃终止反应。PCR产物的检测: 取PCR产物5 μl, 加样于1%琼脂糖凝胶, 0.5×TBE为电泳缓冲液, 100 V恒压电泳30 min, PCR产物在紫外线透视仪显影拍照。Kodak digital science310分析电泳条带密度值, PTP1B mRNA的表达水平以该基因条带密度占β-actin基

因条带密度的百分率(%)表示。

1.6 3T3-L1 前脂肪细胞分化过程中 PTP1B 蛋白表达水平 采用 Western 印迹法检测 PTP1B 蛋白表达水平。收集 3T3-L1 前脂肪细胞分化第 1~10 日的细胞,预冷 PBS 洗涤后加入裂解液[50 mmol/L Tris · HCl pH 7.5, 150 mmol/L NaCl, 1% NP-40, 1 mmol/L Na<sub>3</sub> VO<sub>4</sub>, 1 mmol/L NaF, 2.5 mmol/L sodium pyrophosphate, 1 mmol/L β-glycerolphosphate, 1 mmol/L EDTA, 1 mmol/L EGTA, 1 μg/ml leupeptin, 1 mmol/L PMSF(临用前加入)],冰上放置 30 min,刮取细胞裂解物,4℃, 10 000 r/min 离心 15 min 后收集上清即为所抽提蛋白,Lowry 法定量,取 50 μg 样品进行 SDS-PAGE 蛋白电泳,通过电转仪将蛋白转移至硝酸纤维素膜(Schleicher and Schcell 公司),以 5% 脱脂奶粉封闭 1 h, TBST[20 mmol/L Tris · HCl(pH 7.6) + 150 mmol/L NaCl + 0.1% Tween 20]洗 3 次,每次 5 min,再予 5% BSA 稀释一抗,孵育 2 h, TBST 洗 3 次,每次 5 min, 5% 脱脂奶粉稀释二抗,孵育 1 h, TBST 洗 3 次,每次 5~10 min,最后以化学发光法(ECL)显影。Kodak digital science310 分析电泳条带密度值,PTP1B 蛋白表达水平以该条带密度占 GAPDH 条带密度的百分比(%)表示。

1.7 统计学处理 计量资料且符合正态分布的以  $\bar{x} \pm s$  表示。组间计量资料比较采用方差分析,应用 SPSS11.0 软件进行统计分析。

## 2 结果

2.1 3T3-L1 前脂肪细胞分化过程中形态学变化 诱导前的 3T3-L1 前脂肪细胞形态与成纤维细胞相似,呈典型的梭形,胞质中未见脂滴;当细胞完

全融合后,处于生长停滞期,多个视野下均未见处于明显分裂象的细胞;加入诱导剂后,细胞开始由不成熟脂肪细胞向成熟脂肪细胞类型转变,细胞形态由梭形逐渐向椭圆、类圆及圆形转变,胞体逐渐增大,胞质中开始出现小脂滴,标志脂质积累开始,进而小脂滴不断增多并融合为较大的脂滴;至诱导分化第 10 日时,90% 的 3T3-L1 前脂肪细胞都分化为成熟的脂肪细胞,表现为细胞质丰富,大量体积较大的脂滴分布于细胞核周围,形成“戒环样”结构,即为典型的成熟脂肪细胞形态,油红 O 染色后显微镜下观察脂滴呈红色,细胞核呈蓝色(图 1)。

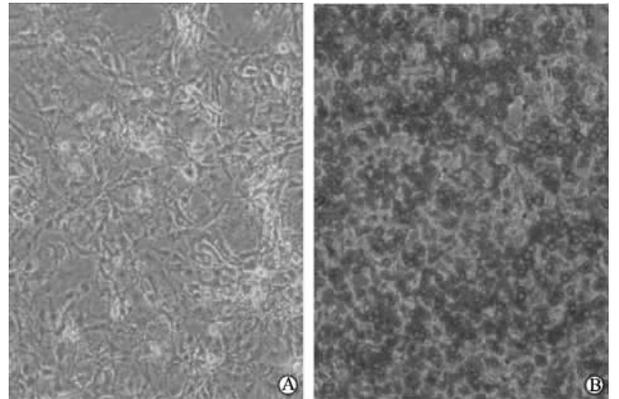


图 1 3T3-L1 前脂肪细胞分化前后油红 O 染色结果  
Fig 1 Oil red O staining during differentiation of 3T3-L1 preadipocytes (×100)

A: 3T3-L1 preadipocytes; B: Mature 3T3-L1 adipocytes

2.2 3T3-L1 前脂肪细胞分化过程中 PPARγ2 mRNA 表达变化 PPARγ2 mRNA 水平在 3T3-L1 前脂肪细胞中表达极低,随着诱导分化逐步成熟,其表达量逐步增加,至诱导分化第 9~10 日其表达量最高,提示脂肪细胞分化完全成熟(图 2)。

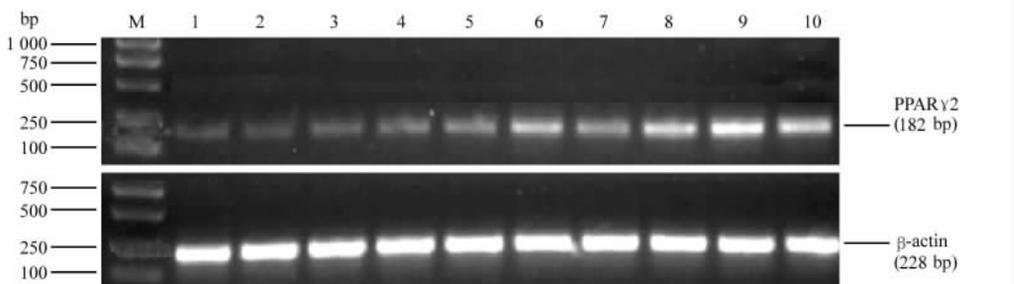


图 2 3T3-L1 前脂肪细胞诱导分化过程中 PPARγ2 mRNA 表达的变化

Fig 2 Expression of PPARγ2 mRNA during differentiation of 3T3-L1 adipocytes

M: Marker; 1-10; 1-10 d during the differentiation of 3T3-L1 preadipocytes, respectively

2.3 3T3-L1前脂肪细胞分化过程中PTP1B mRNA表达变化 3T3-L1前脂肪细胞诱导分化过程中,PTP1B mRNA表达在第1日最丰富,随着诱导分化的逐渐成熟,其表达也逐步减低,至第10日脂肪细胞完全成熟时降至最低点(图3)。诱导分化第1~10日PTP1B mRNA相对表达量分别为(98.15±0.70)%、(98.02±0.81)%、(96.67±

0.66)%、(87.64±0.18)%、(85.83±0.46)%、(79.61±0.57)%、(75.03±0.32)%、(70.07±5.44)%、(23.15±0.32)%和(23.33±1.40)%。其中诱导分化第1~3日、第4~8日、第9~10日各阶段组内表达未见明显差异,各阶段之间可见PTP1B mRNA表达差异显著( $P<0.01$ )。

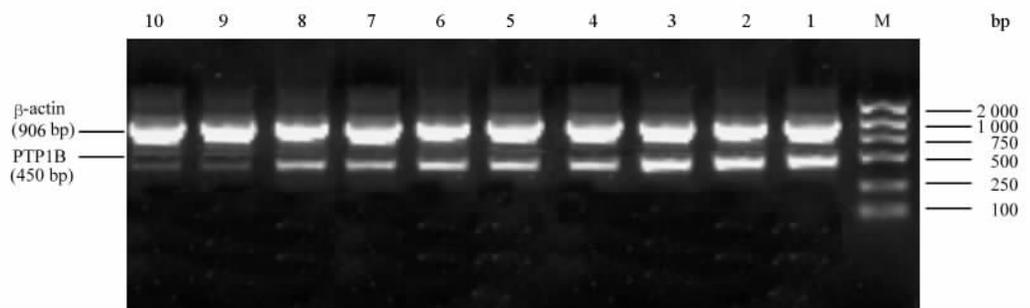


图3 3T3-L1前脂肪细胞诱导分化过程中PTP1B mRNA表达的变化

Fig 3 Expression of PTP1B mRNA during differentiation of 3T3-L1 adipocytes

M:Marker; 1-10:1-10 d during the differentiation of 3T3-L1 preadipocytes, respectively

2.4 3T3-L1前脂肪细胞分化过程中PTP1B蛋白水平变化 3T3-L1前脂肪细胞诱导分化过程中,PTP1B蛋白表达情况与其mRNA表达相平行,在诱导分化第1日最丰富,随着诱导分化的逐渐成熟,蛋白水平逐步减低,至第9日蛋白表达显著减少,第10日脂肪细胞完全成熟时表达最少(图4)。诱导分化第1~10日PTP1B蛋白相对表达量分别为(62.27±0.54)%、(61.70±0.44)%、(61.44±0.08)%、(41.77±0.57)%、(39.97±0.36)%、(37.39±0.50)%、(35.59±0.98)%、(29.06±1.24)%、(13.28±0.78)%和(3.52±0.06)%。其中诱导分化第1~3日、第4~8日组内表达未见明显差异,但诱导分化第1~3日、第4~8日、第9日和第10日各阶段之间可见PTP1B蛋白表达差异显著( $P<0.01$ )。

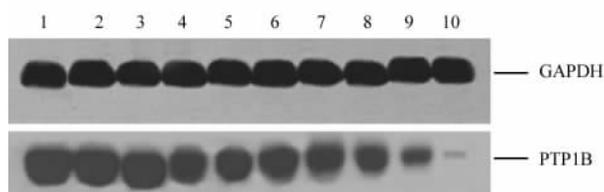


图4 3T3-L1前脂肪细胞诱导分化过程中PTP1B蛋白水平的变化

Fig 4 Expression of PTP1B protein during differentiation of 3T3-L1 adipocytes

1-10:1-10 d during the differentiation of 3T3-L1 preadipocytes, respectively

### 3 讨论

由于PTP1B可使InsR及IRSs等脱磷酸化,一直被认为是胰岛素信号转导的负性调控因子<sup>[1-3]</sup>,对于其抑制剂的研究成为近年来治疗2型糖尿病、肥胖等代谢性疾病的新方向。近年来的多项研究<sup>[4-6]</sup>证实,在肝脏及骨骼肌中,PTP1B水平降低可使小鼠肝脏及骨骼肌组织中InsR和IRSs磷酸化明显增强,反映胰岛素敏感性的指标如胰岛素诱导的机体葡萄糖处置力(insulin stimulated whole-body glucose disposal, ISGD)显著提升。

然而,研究<sup>[4-6]</sup>也发现,PTP1B对胰岛素敏感性的调控存在着明显的组织特异性。在同样表达丰富、且同为胰岛素主要作用靶点的脂肪组织中,却有截然不同的表现。Venable等<sup>[8]</sup>在过表达人PTP1B的3T3-L1脂肪细胞中发现,PTP1B水平增高可使脂肪细胞中胰岛素刺激的InsR及IRS-1磷酸化程度及其下游的磷脂酰肌醇3激酶(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)活性均减少50%~60%,而对于胰岛素介导的葡萄糖转运的基础值、亚峰值还有最大峰值均无明显影响。Shimizu等<sup>[9]</sup>在胰岛素抵抗大鼠中则观察到,高PTP1B水平可引起肝脏中固醇调节元件结合蛋白-1a(sterol regulatory element-binding protein, SREBP-1a)及-1c mRNA表达增强,进而其后续生脂基因如脂肪酸合成酶(fatty acid

synthase, FAS)表达增强。PTP1B<sup>-/-</sup>小鼠脂肪生成能力明显减弱,不易发生高脂饮食诱导的肥胖,进一步研究提示这种成脂能力的下降主要体现在脂肪细胞体积的明显减小而脂肪细胞数量并无显著减少。而低 PTP1B 水平的 ob/ob 小鼠则表现出肥胖程度明显减退且脂肪细胞中三酰甘油含量显著减少,SREBP-1 及其下游靶点基因 spot14 和 FAS 以及其他成脂基因如脂蛋白脂酶(lipoprotein lipase, LPL)和 PPAR $\gamma$  等表达均呈下降调节<sup>[5-6]</sup>。采用微点阵分析比较发现经 PTP1B ASO 处理后的 ob/ob 小鼠脂肪组织中参与脂肪分化及肥胖发生的基因表达下调<sup>[6]</sup>。由此可见,虽然 PTP1B 对于脂肪组织中胰岛素信号转导、胰岛素敏感性无明显作用,但机体中 PTP1B 水平变化却可以显著影响到脂肪细胞的分化、脂质堆积以及肥胖的发生。然而,PTP1B 对于脂肪组织的确切作用至今仍不明了。

本研究采用体外培养小鼠 3T3-L1 前脂肪细胞,给予包含 0.5 mmol/L MIX、0.25  $\mu$ mol/L DEX 和 1  $\mu$ g/ml 胰岛素的完全培养液诱导脂肪细胞分化,并以油红 O 染色及脂肪细胞内 PPAR $\gamma$ 2 基因<sup>[10]</sup>表达情况反映脂肪细胞分化成熟程度,发现 PTP1B 基因及蛋白在前脂肪细胞中呈高水平表达,随着脂肪细胞分化成熟,其 mRNA 和蛋白表达逐渐减少,至脂肪细胞完全分化成熟时降至最低,其 mRNA 和蛋白表达趋势与脂肪细胞分化、脂质积聚呈现出较好的反向一致性。Bence 等<sup>[7]</sup>采用组织特异性敲除 PTP1B 基因,发现仅神经元 PTP1B<sup>-/-</sup>小鼠出现体质量下降及对饮食所致肥胖(diet induced obesity, DIO)的抵抗,其他无论是肝脏、骨骼肌还是全身性的 PTP1B<sup>-/-</sup>小鼠均表现出 DIO,尤其是脂肪组织 PTP1B<sup>-/-</sup>小鼠体质量增加更为明显。结果提示既往研究中所观察到的 PTP1B 水平降低导致小鼠表现出成脂能力降低可能主要是由于中枢神经系统中神经元 PTP1B 缺乏进而引发全身性瘦素敏感性增强所致。

更多的研究已经表明,脂肪细胞功能障碍而非单纯的肥胖是产生胰岛素抵抗的关键原因。研究<sup>[11]</sup>显示,许多在脂肪细胞分化过程中表达明显增加的基因,包括转录因子 SREBP1、PPAR $\gamma$ 2 和 CCAAT 增强子结合蛋白(CCAAT enhancer binding proteins, C/EBPs)及一些与脂代谢有关的基因如硬脂酰辅酶 A 脱氢酶、ATP 柠檬酸裂解酶和甘油

三磷酸脱氢酶基因等在肥胖 ob/ob 小鼠脂肪细胞中表达明显降低,而一些脂肪分泌蛋白如脂联素、血管紧张素原等在肥胖小鼠脂肪细胞中也大幅减少,提示肥胖小鼠的脂肪细胞正在发生类似于未成熟的前脂肪细胞的变化。由此可见,PTP1B 水平的降低,虽然对于脂肪细胞中胰岛素信号转导级联过程无明显影响,但其对于脂肪细胞分化、脂质积聚的促进作用,与它提高肝脏及骨骼肌中胰岛素受体后信号转导的作用,两者相互协同,起到了改善肥胖小鼠胰岛素敏感性的作用。

## [参考文献]

- [1] Zhang Z Y. Protein tyrosine phosphatases: structure and function, substrate specificity, and inhibitor development[J]. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2002, 42: 209-234.
- [2] Tonks N K. PTP1B: from the sidelines to the front lines[J]. *FEBS Lett*, 2003, 546: 140-148.
- [3] Ramachandran C, Kennedy B P. Protein tyrosine phosphatase 1B: a novel target for type 2 diabetes and obesity[J]. *Curr Top Med Chem*, 2003, 3: 749-757.
- [4] Klamann L D, Boss O, Peroni O D, et al. Increased energy expenditure, decreased adiposity, and tissue-specific insulin sensitivity in protein-tyrosine phosphatase 1B-deficient mice [J]. *Mol Cell Biol*, 2000, 20: 5479-5489.
- [5] Rondinone C M, Trevillyan J M, Clampit J, et al. Protein tyrosine phosphatase 1B reduction regulates adiposity and expression of genes involved in lipogenesis [J]. *Diabetes*, 2002, 51: 2405-2411.
- [6] Waring J F, Ciurlionis R, Clampit J E, et al. PTP1B antisense-treated mice show regulation of genes involved in lipogenesis in liver and fat[J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2003, 203(1-2): 155-168.
- [7] Bence K K, Delibegovic M, Xue B, et al. Neuronal PTP1B regulates body weight, adiposity and leptin action [J]. *Nat Med*, 2006, 12: 917-924.
- [8] Venable C L, Frevert E U, Kim Y B, et al. Overexpression of protein-tyrosine phosphatase-1B in adipocytes inhibits insulin-stimulated phosphoinositide 3-kinase activity without altering glucose transport or Akt/protein kinase B activation[J]. *J Biol Chem*, 2000, 275: 18318-18326.
- [9] Shimizu S, Ugi S, Maegawa H, et al. Protein-tyrosine phosphatase 1B as new activator for hepatic lipogenesis via sterol regulatory element-binding protein-1 gene expression[J]. *J Biol Chem*, 2003, 278: 43095-43101.
- [10] Fu M, Sun T, Bookout A L, et al. A Nuclear Receptor Atlas: 3T3-L1 adipogenesis[J]. *Mol Endocrinol*, 2005, 19: 2437-2450.
- [11] Nadler S T, Stoehr J P, Schueler K L, et al. The expression of adipogenic genes is decreased in obesity and diabetes mellitus [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97: 11371-11376.

[收稿日期] 2007-03-14

[修回日期] 2007-07-03

[本文编辑] 曹静