



河南师范大学

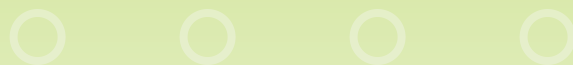
读书报告



汇报人：胡俊仪



时间：2017年04月02日



Orexin A stimulates glucose uptake, lipid accumulation and adiponectin secretion from 3T3-L1 adipocytes and isolated primary rat adipocytes

M. Skrzypski • T. T. Le • P. Kaczmarek • E. Pruszynska-Oszmalek • P. Pietrzak • D. Szczepankiewicz • [P. A. Kolodziejski](#) • M. Sassek • A. Arafat • B. Wiedenmann • [K. W. Nowak](#) • M. Z. Strowski

Received: 10 March 2011 / Accepted: 17 March 2011 / Published online: 21 April 2011

© Springer-Verlag 2011

Orexin A刺激大鼠原代脂肪细胞和3T3-L1脂肪细胞的葡萄糖摄取，脂质积聚，脂联素分泌

CONTENTS

01 背景知识

02 实验方法

03 实验结果

04 启发与思考

背景知识

Orexin：食欲素是一种下丘脑兴奋性神经肽，参与调节睡眠、进食、自主神经功能等，并且在血糖稳态调控和能量代谢平衡中也扮演重要角色。食欲素表达神经元整合外周代谢信号，通过食欲素受体OXR 1 和OXR 2 发挥生理功能。另外，食欲素通过调节胰岛素和瘦素敏感性影响整体糖代谢。

Orexin A：食欲素A和食欲素B，是由同一前体蛋白裂解产生的一对兴奋性神经肽激素，食欲素由下丘脑中特定的神经元产生，主要位于外侧下丘脑区、穹窿周围区，以及下丘脑后部。OXA与OXR1的亲和力约是OXB的10倍，而OXR2以相似的亲和力结合两种同工型。

背景知识

◎ **adiponectin**: 脂联素(Adiponectin/ADPN) 是脂肪细胞分泌的一种内源性生物活性多肽或蛋白质。脂联素是一种胰岛素增敏激素(An Insulin-sensitizing Hormone), 可以增加促进骨骼肌细胞的脂肪酸氧化和糖吸收, 明显加强胰岛素的抑制糖原异生作用, 抑制肝脏的糖生成。对人体的研究发现, 脂联素水平能预示II型糖尿病和冠心病的发展, 并在临床试验表现出抗糖尿病、抗动脉粥样和炎症的潜力。

◎ **PPAR γ** : 过氧化物酶体增植物激活受体 (peroxisome proliferator-activated receptor, PPAR)是调节目标基因表达的核内受体转录因子超家族成员, 1990 发现了这种能被一类脂肪酸样化合物过氧化物酶体增殖剂(PP) 激活, 而被命名为PP 激活受体。根据结构的不同, PPAR 可分为 α 、 β (或 δ) 和 γ 三种类型, 其中PPAR γ 主要表达于脂肪组织及免疫系统, 与脂肪细胞分化、机体免疫及胰岛素抵抗关系密切。

背景知识

PI3K(Phosphoinositide 3-kinase):

磷脂酰肌醇3-激酶，参与细胞增殖、分化、凋亡和葡萄糖转运等多种细胞功能的调节。

siRNA(Small interfering RNA):

是一种小RNA分子(~21-25核苷酸)，SiRNA是siRISC的主要成员，激发与之互补的目标mRNA的沉默。

实验方法



实验结果 - 检测脂肪细胞中Oxr1和Oxr2的表达

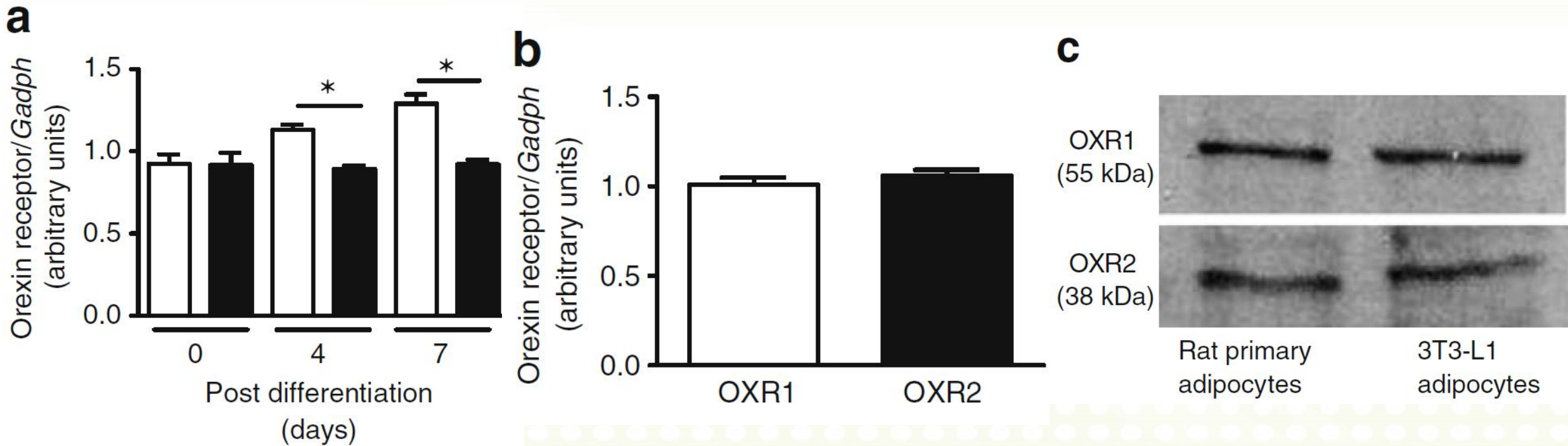
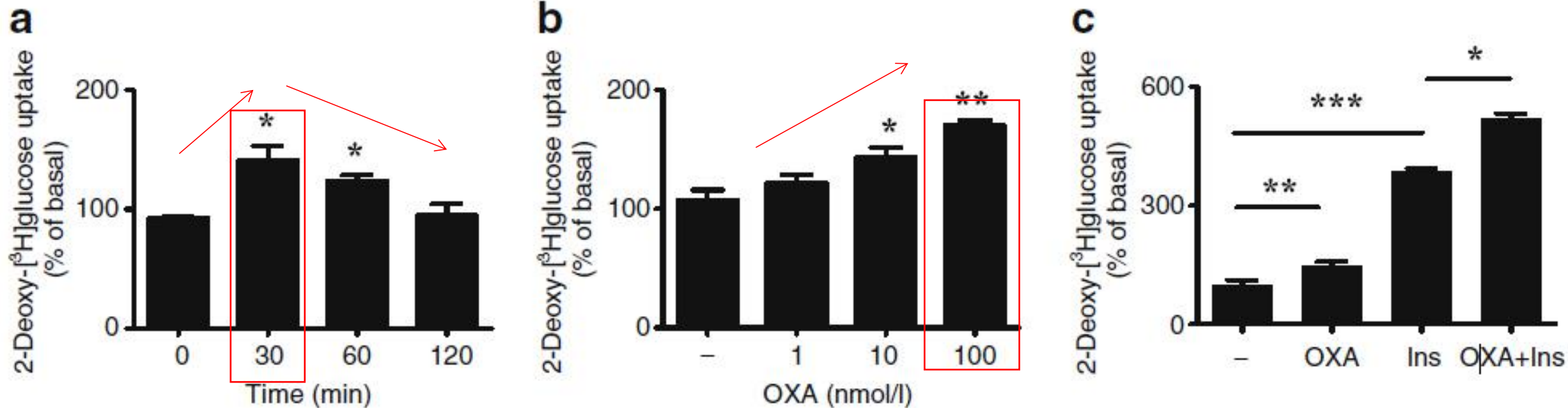


Fig. 1 Detection of Oxr1 and Oxr2 expression in adipocytes. a Detection of Oxr1 and Oxr2 by quantitative PCR in 3T3-L1 adipocytes.

在RNA水平和蛋白水平上验证脂肪细胞能够产生orexin的两种受体

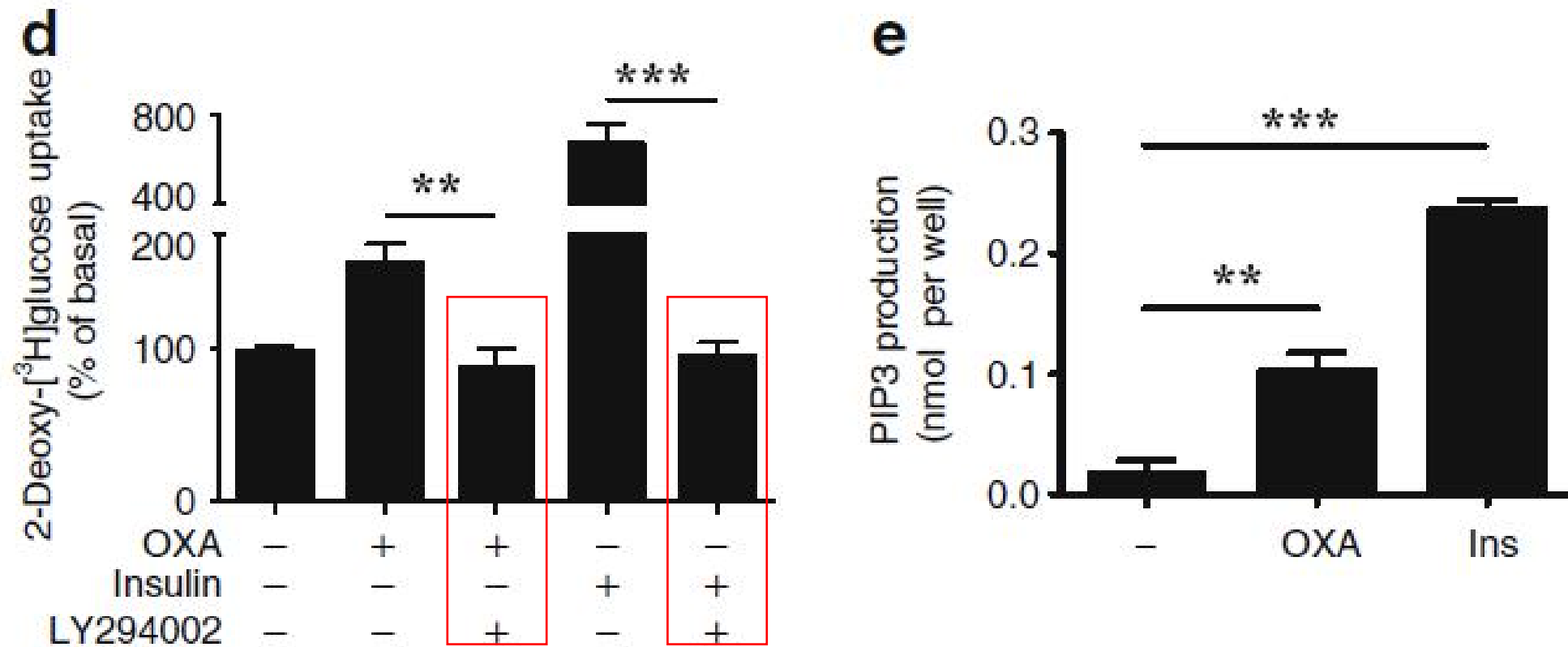
实验结果 - OXA对脂肪细胞摄取葡萄糖的影响



3T3-L1脂肪细胞对葡萄糖摄取随时间而增加并在30分钟后摄取达到最大值（图2a）浓度反应分析（图2b），100nmol / l OXA在30分钟显示对葡萄糖摄取具有最大刺激诱导作用。

OXA刺激分离的大鼠脂肪细胞中的葡萄糖摄取（图2c）

实验结果- OXA对脂肪细胞摄取葡萄糖的影响

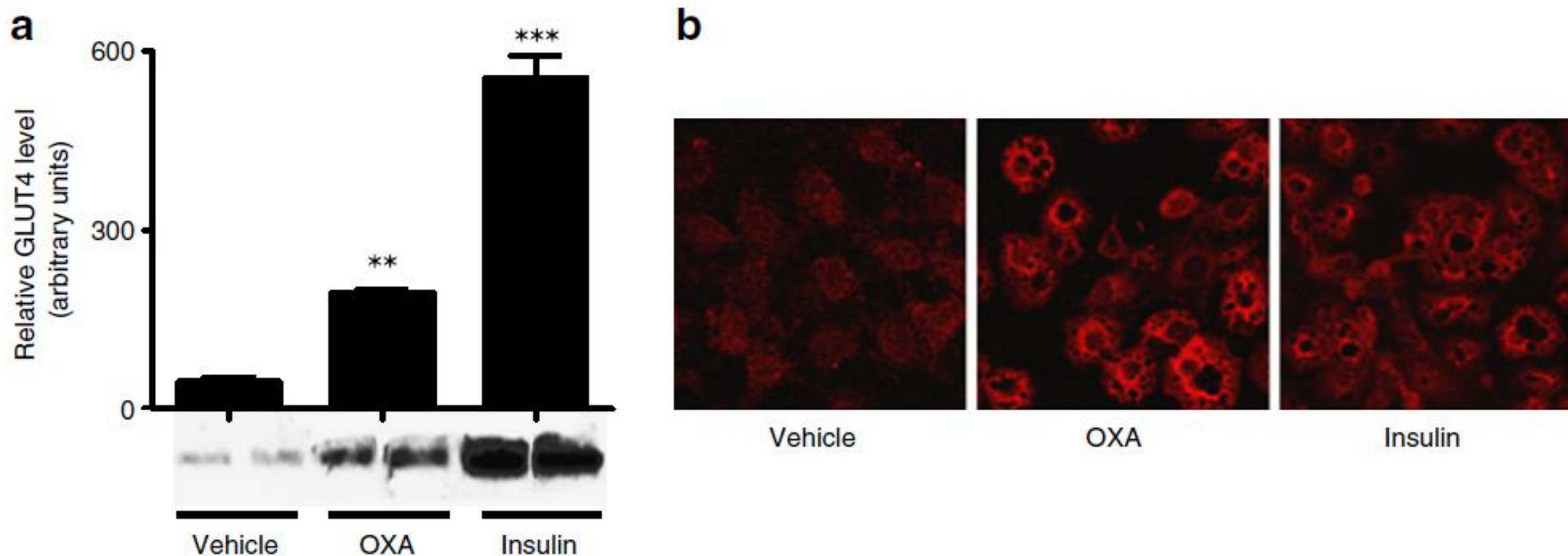


PIP3抑制剂能够抑制OXA和胰岛素刺激3T3-L1脂肪细胞中的葡萄糖摄取（图2d）

OXA和胰岛素增加细胞PIP3含量（图2e）

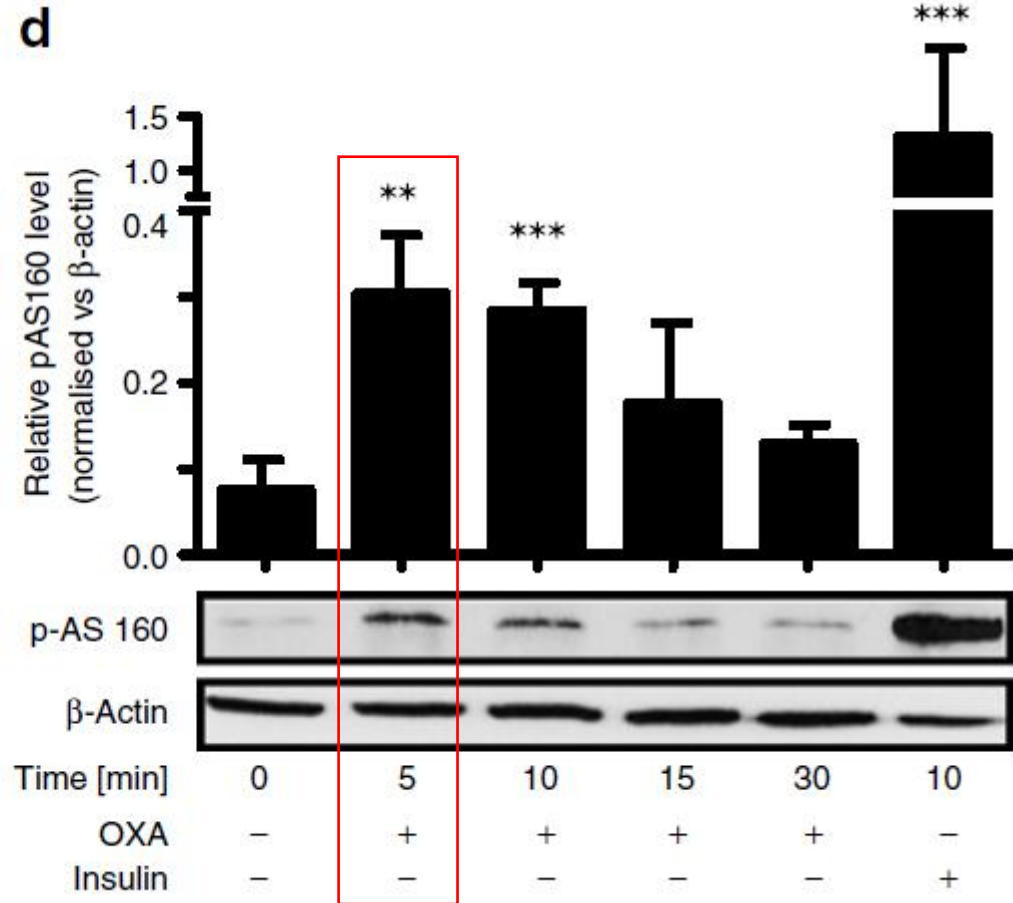
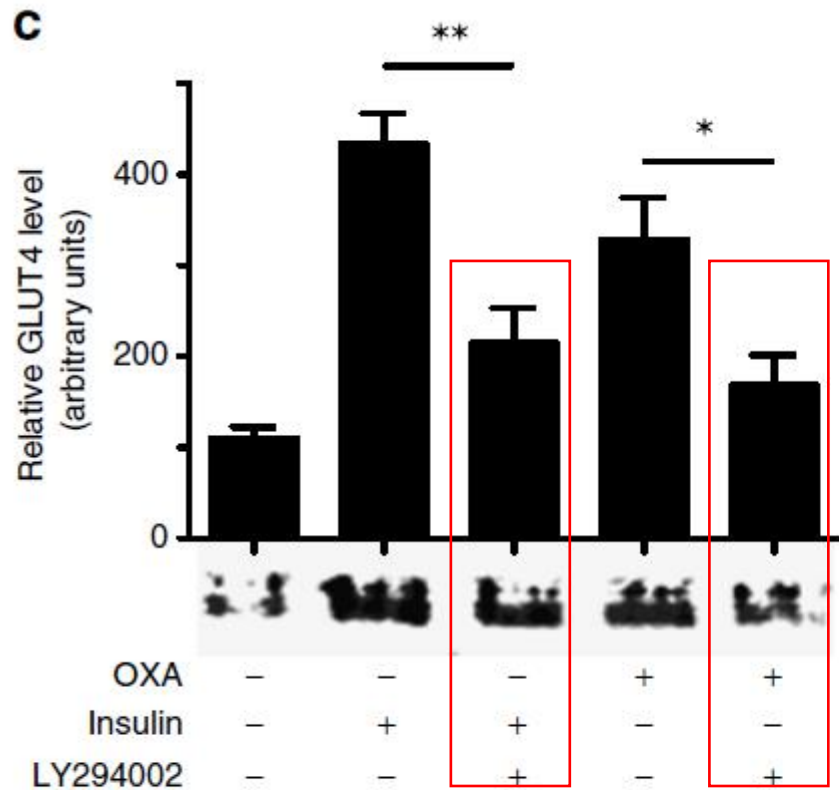
图2表明OXA通过PI3K刺激脂肪细胞对葡萄糖的摄取。

实验结果 - OXA increases the GLUT4 plasma membrane translocation via PI3K



3T3-L1脂肪细胞膜中GLUT4蛋白水平因加入OXA或胰岛素而增加（图3a）
GLUT4从细胞质转移到细胞膜（图3b）

实验结果 - OXA increases the GLUT4 plasma membrane translocation via PI3K



PI3K抑制剂LY294002阻止OXA和胰岛素诱导GLUT4移位 (图3c)

OXA通过PI3K增加GLUT4质膜转运增加葡萄糖摄取

实验结果-OXA stimulates triacylglycerol synthesis via PI3K

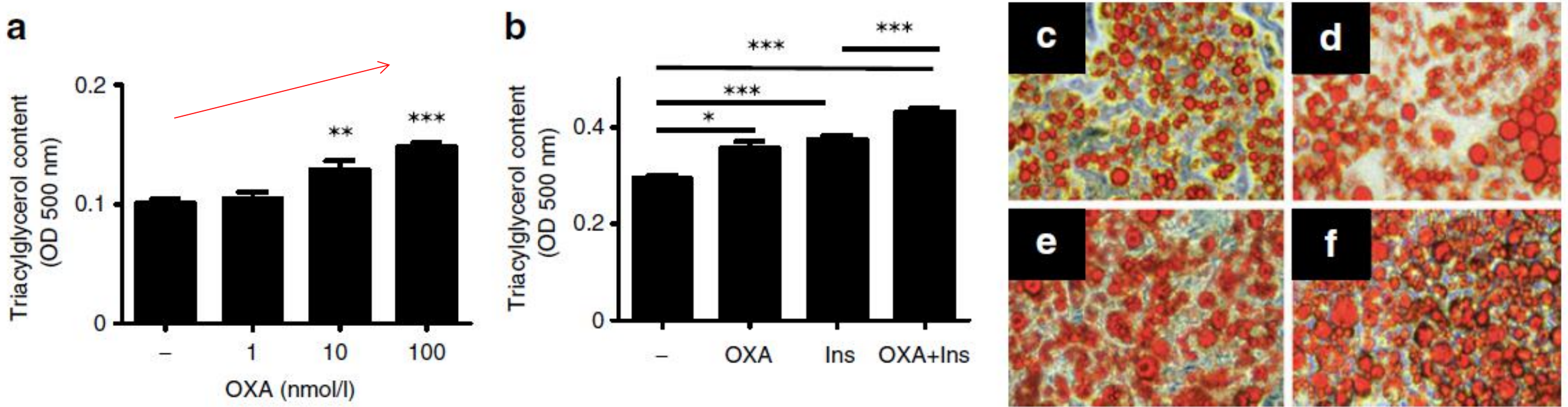
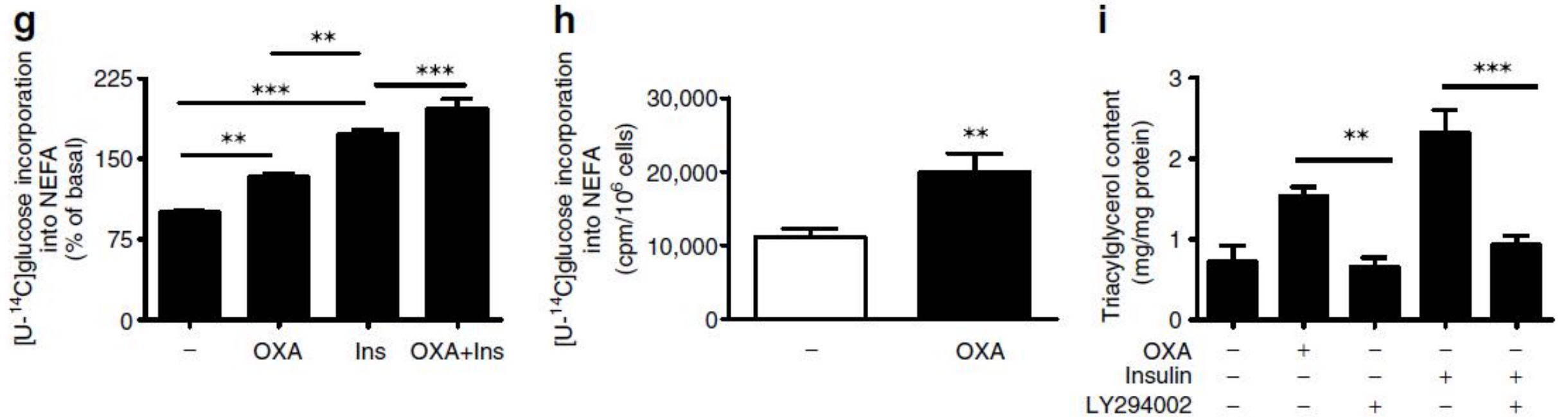


Fig. 4 PI3K-dependent regulation of triacylglycerol accumulation by OXA.

OXA (浓度依赖性地) 增加了3T3-L1脂肪细胞中的三酰甘油含 (图4a) 和增强的胰岛素刺激的三酰基甘油富集 (图4b-f)

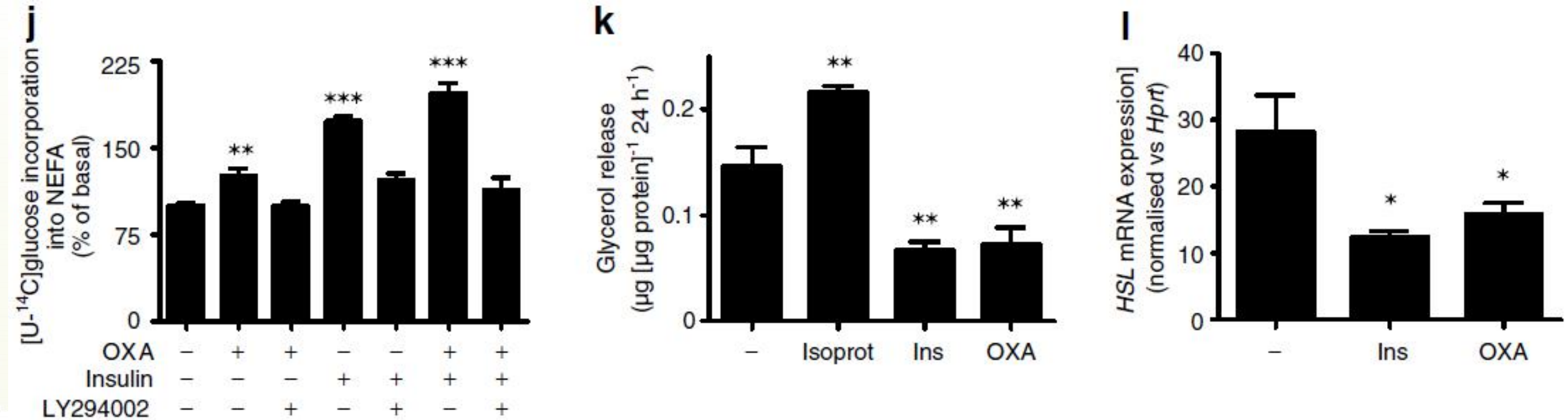
实验结果 - OXA stimulates triacylglycerol synthesis via PI3K



OXA 和胰岛素处理的脂肪细胞中脂质含量的增加是由于通过将葡萄糖转化为脂肪 (图4g, h)

PI3K抑制剂阻断OXA和胰岛素诱导的三酰基甘油积累 (图4i)

实验结果 - OXA stimulates triacylglycerol synthesis via PI3K

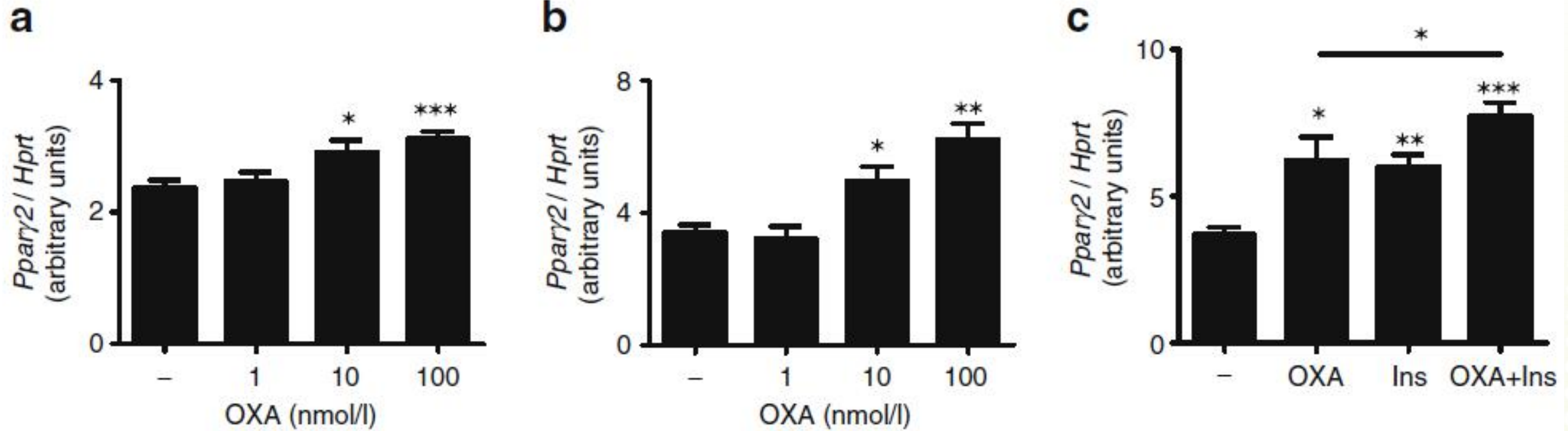


OXA和胰岛素抑制脂肪分解，而肾上腺素刺激脂肪分解（图4k）

OXA降低了Hsl的mRNA表达（图4l）

图4表明OXA通过PI3K刺激脂质合成并减少脂肪细胞分解。

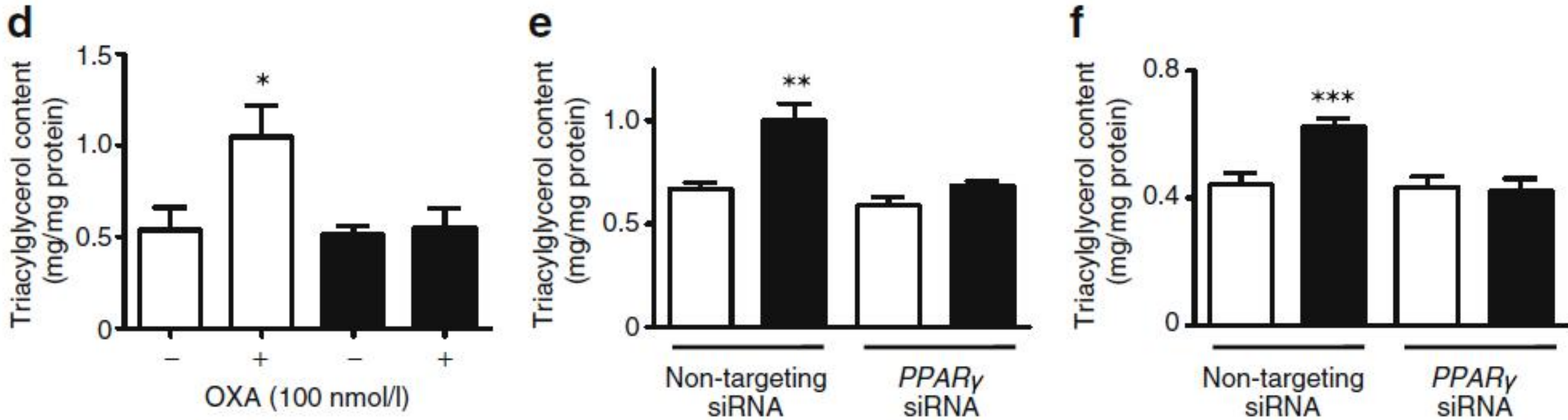
实验结果-OXA stimulates triacylglycerol accumulation via PPAR γ -dependent mechanism



OXA浓度依赖性地上调大鼠脂肪细胞和3T3-L1脂肪细胞中的Ppar γ 2mRNA表达 (图5a,b)

OXA增强胰岛素刺激的Ppar γ 2表达 (图5c)。

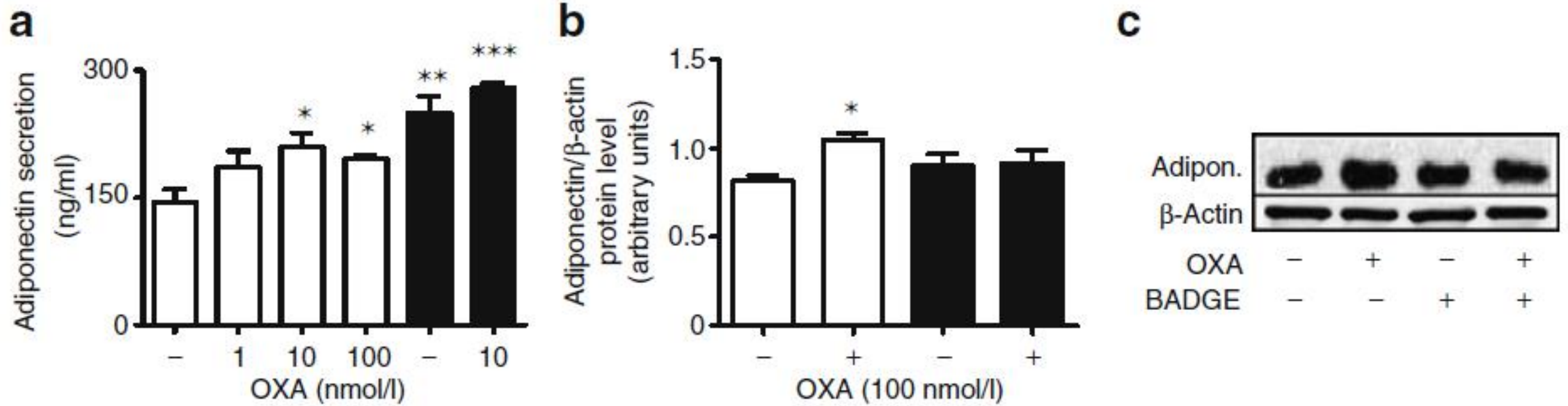
实验结果-OXA stimulates triacylglycerol accumulation via PPAR γ -dependent mechanism



OXA增加3T3-L1脂肪细胞中的三酰基甘油含量，这被PPAR γ 拮抗剂BADGE阻止（图5d）。使用siRNA导致OXA诱导的三酰基甘油聚集丧失。（图5e, f）

图5表明OXA依赖 PPAR γ 机制增加脂肪细胞中的甘油三酯积累。

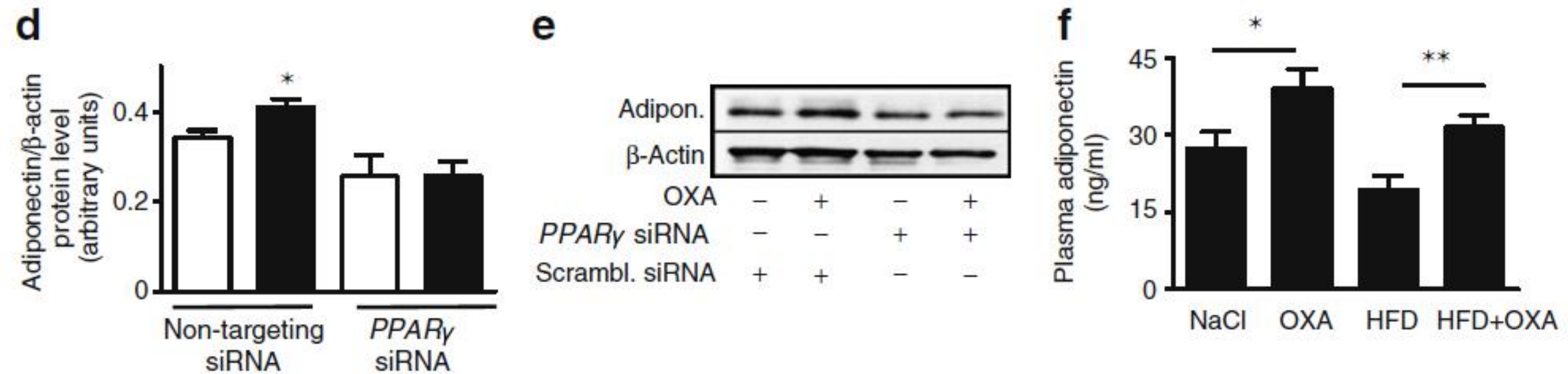
实验结果-OXA stimulates adiponectin secretion and gene expression via PPAR γ -dependent mechanism



OXA浓度依赖性地增加了来自3T3-L1细胞的脂联素分泌，但未能增强PPAR γ 激活剂刺激的脂联素分泌（图6a）。

OXA增加细胞脂联素蛋白含量，PPAR γ 抑制剂BADGE能抑制这种作用。（图6b, c）

实验结果-OXA stimulates adiponectin secretion and gene expression via PPAR γ -dependent mechanism



OXA增加细胞脂联素蛋白含量，PPAR γ 干扰RNA能抑制这种作用。（图6d， e）

OXA增加血浆脂联素含量。（图6f）

图6表明OXA依赖PPAR γ 机制刺激脂肪细胞中的脂连素分泌和基因表达。

结论

OXA刺激脂肪细胞中的葡萄糖摄取，演变为脂肪被储存。

OXA增加脂肪生成，抑制脂肪分解并刺激脂联素的分泌，这些作用是PI3K和PPAR γ 2赋予的。总之，OXA对脂质和脂联素分泌的影响类似胰岛素敏感剂。

启发与思考

- 要从多方面考虑问题
- 对我们做的orexinA注射实验的指导意义



敬请老师同学批评指正