

钙信号对小鼠脂肪组织中 *GPR120* 基因转录及脂肪生成的影响

张忠品^a, 孙超^b, 马佩云^b, 张朝^a

(西北农林科技大学 a 动物医学院, b 动物科技学院, 陕西 杨凌 712100)

【摘要】 **【目的】**探讨钙信号对小鼠脂肪组织中 *GPR120* 基因转录及脂肪生成的影响。**【方法】**用外源性葡萄糖酸钙和二氢吡啶钙离子通道的阻滞剂 Nifedipine 处理小鼠 30 d, 记录小鼠体质量的变化, 测定小鼠皮下脂肪、附睾脂肪和肾周脂肪的沉积量, 检测血清中甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)和低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)的浓度, 同时利用 Real-time PCR 法分析 *GPR120* 基因及与脂肪生成密切相关的转录因子 *PPAR γ* 、*C/EBP α* 和脂解基因 *HSL*、生脂基因 *FAS* mRNA 的表达情况, 用 SPSS 软件分析小鼠附睾脂肪中 *GPR120* 与脂代谢相关基因表达的相关性。**【结果】**葡萄糖酸钙可延缓小鼠体质量的增加, 减少体脂含量($P<0.01$), 并使小鼠血清中的 TG、TC 和 LDL-C 浓度极显著降低($P<0.01$), HDL-C 浓度显著升高($P<0.05$), 可导致 *GPR120*、*PPAR γ* 、*C/EBP α* 和 *FAS* 的 mRNA 表达水平降低, 且分别达到极显著($P<0.01$)或显著($P<0.05$)水平, 并可使 *HSL* mRNA 表达水平极显著升高($P<0.01$); Nifedipine 处理能使小鼠体质量增加($P<0.05$), 促进体脂沉积($P<0.01$), 并使小鼠血清中的 TG 和 TC 浓度显著升高(分别为 $P<0.05$ 和 $P<0.01$), *GPR120*、*PPAR γ* 、*C/EBP α* 和 *FAS* 的 mRNA 表达水平极显著升高($P<0.01$), 但却使 *HSL* mRNA 的表达水平极显著降低($P<0.01$)。相关性分析表明, *GPR120* mRNA 的表达水平与 *PPAR γ* 、*FAS* 和 *C/EBP α* 间呈显著正相关。**【结论】**钙信号在 *GPR120* 调节小鼠脂肪生成的过程中可能起到负调控作用。

【关键词】 钙信号; *GPR120*; 转录因子; 脂肪生成

【中图分类号】 Q786; S865.1⁺3

【文献标识码】 A

【文章编号】 1671-9387(2010)09-0006-07

Effects of calcium signal on the transcription of *GPR120* and adipogenesis in mouse adipose tissue

ZHANG Zhong-pin^a, SUN Chao^b, MA Pei-yun^b, ZHANG Zhao^a

(a College of Veterinary Medicine, b College of Animal Science and Technology, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: **【Objective】** The present study aimed at exploring the effects of calcium signal on the transcription of *GPR120* and adipogenesis in mouse adipose tissue. **【Method】** Mice were treated with Calglucon and Ca^{2+} antagonists Nifedipine respectively for 30 days. The body weight, subcutaneous fat tissue, periepididymal fat pads and perirenal fat pads were weighed, total cholesterol (TC), triglycerides (TG), high density lipoprotein cholesterol (HDL-C), and LDL-C were measured, and the expression levels of *GPR120*, two major transcriptional factors *PPAR γ* and *C/EBP α* as well as *HSL* and *FAS* mRNA were measured by Real-time PCR, the correlations of *GPR120* with adipose metabolism related genes in mice periepididymal fat were analyzed by using SPSS analysis software. **【Result】** The results showed that dietary calglucon can at-

* [收稿日期] 2010-02-03

[基金项目] 国家自然科学基金项目(30871785);教育部新世纪优秀人才计划项目(NCET-06-0865)

[作者简介] 张忠品(1984—),男,山东梁山人,在读硕士,主要从事动物细胞工程研究。

[通信作者] 孙超(1968—),男,陕西商南人,教授,博士,主要从事生物技术与动物遗传育种研究。

E-mail: sunchao2775@163.com

tenuate the increase of body mass and decrease body fat gain ($P<0.01$),the concentrations of TG,TC and LDL-C in blood serum decreased significantly ($P<0.01$),and the expression levels of *GPR120*,*PPAR* γ ,*C/EBP* α and *FAS* mRNA was down-regulated ($P<0.05$ and $P<0.01$ respectively),while the expression level of *HSL* mRNA increased significantly($P<0.01$). In Nifedipine-treatment group,body fat mass increased significantly ($P<0.01$),the levels of TG and TC in serum increased ($P<0.05$ and $P<0.01$ respectively), the expression levels of *GPR120*,*PPAR* γ ,*C/EBP* α and *FAS* mRNA were up-regulated ($P<0.01$) while *HSL* mRNA decreased ($P<0.01$). In mice periepididymal fat,the expression of *GPR120* mRNA was correlated with *PPAR* γ ,*FAS* and *C/EBP* α but not with *HSL*.【Conclusion】 Calcium signal may play a negative regulation role in the process of adipogenesis mediated by *GPR120*.

Key words:calcium signal;*GPR120*;transcriptional factor;adipogenesis

GPR120 是一种新发现的游离脂肪酸受体,其直接或者间接地参与调节体内一系列代谢过程,如激素分泌^[1]、葡萄糖代谢^[2]和脂质生成^[3]等。长链游离脂肪酸可通过 *GPR120* 偶联的 Ca^{2+} 信号来诱导胆囊收缩素(CCK)的分泌^[4]。目前关于钙信号与脂肪代谢关系的研究较多,如 Parra 等^[5]发现,外源钙的摄入能够降低小鼠体质量,并能在高脂饲喂条件下减少体脂的沉积,同时加速普通饲喂条件下小鼠体质量的减轻。但是国内外尚未见有关钙信号通路是否参与 *GPR120* 基因调节小鼠脂代谢过程的报道。为进一步探索 *GPR120* 参与调节脂肪代谢的分子机制,以及钙信号是否参与了此过程,本试验采用普通日粮饲喂小鼠,以葡萄糖酸钙作为膳食钙的来源,并添加与外钙内流有关的 L 型电压门控钙通道阻滞剂 Nifedipine 进行饲喂,观察二者对小鼠附睾脂肪中 *GPR120*、*PPAR* γ 、*C/EBP* α 、*HSL* 和 *FAS* 基因 mRNA 表达的影响,为进一步阐释 *GPR120* 的

生理功能及糖尿病、肥胖症等代谢疾病的治疗提供参考。

1 材料与方法

1.1 材 料

- 1.1.1 试验动物 雄性昆明小白鼠 45 只,体质量(18±2) g,购于第四军医大学实验动物中心。
- 1.1.2 试 剂 葡萄糖酸钙,天津力生制药股份有限公司;Nifedipine,德国拜耳医药保健有限公司;高密度脂蛋白胆固醇试剂盒、甘油三酯试剂盒和总胆固醇试剂盒,中生北控生物科技股份有限公司;RNA 提取试剂盒 TRIZOL,天根生化公司;反转录试剂盒 RevertAid™ First Strand cDNA Synthesis Kit、*Taq* 酶,Fermentas 公司;dNTP,Wolsen 公司。其他试剂均为国产分析纯。
- 1.1.3 日粮配方 小鼠的普通日粮配方见表 1,各组分含量均以质量分数表示。

表 1 小鼠普通日粮的配方组成
Table 1 Formulations of normal-diet

日粮 Diet	面粉 Flour	玉米 Corn	麸皮 Wheat bran	豆粕 Soybean meal	鱼粉 Fish meal	骨粉 Bone meal	酵母 Yeast	食盐 Salt	鱼油 Fish oil	添加剂 Additive
普通 Normal	38	20	16	15	4	3	1	1	1	1

1.2 小鼠分组及处理

将 45 只雄性昆明小白鼠随机分为 3 组,即对照组(CK)、钙处理组(Calglucon)和 Nifedipine 处理组(Nifedipine),每组 15 只,设 5 个重复。钙处理组日粮含钙(葡萄糖酸钙)12 g/kg,Nifedipine 处理组日粮含 Nifedipine 0.1 g/kg。小鼠单笼饲养,环境温度(23±2)℃,每天光照 12 h,自由采食和饮水,饲喂 30 d,每 2 d 测 1 次体质量,然后禁食 12 h,摘眼球采血后脱颈椎处死,分离血清,-20℃保存待测。称小鼠皮下脂肪、附睾脂肪和肾周脂肪质量,并将附睾脂肪置于液氮中迅速冷却后转入-80℃保存。

1.3 血脂检测

按照试剂盒操作说明书,采用紫外分光光度计检测血清甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)和高密度脂蛋白(HDL-C)浓度;低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)浓度根据下式计算:LDL-C=TC-(HDL-C-TG/5)。

1.4 总 RNA 提取及 cDNA 第一链的合成

小鼠总 RNA 的提取按照 TRIpure Reagent 试剂盒说明进行,10 g/L 琼脂糖凝胶检测。按反转录试剂盒 RevertAid™ First Strand cDNA Synthesis Kit 说明书合成 cDNA 第一链,-40℃保存。

1.5 扩增效率的一致性检测

由于本试验采用比较 CT 法的相对定量策略,因而必须首先证实目的基因和内参基因 $\beta actin$ 扩增效率的一致性。将小鼠附睾脂肪组织 RNA 逆转录合成的 cDNA 浓度倍比稀释为 $1, 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}$ 和 10^{-4} , 以其为模板, 用 SYBR Green I 实时定量 PCR 来检测扩增效率的一致性。

1.6 Real-time PCR 扩增

根据 GenBank 提供的序列, 用 Primer express 2.0 软件设计 $\beta actin$ 、 $GPR120$ 、 $PPAR\gamma$ 、 $C/EBP\alpha$ 、

HSL 、 FAS 基因扩增引物, 其序列和参数如表 2 所示。引物由上海生工生物工程技术有限公司合成。PCR 反应在 RG3000A(Corbett) 机器上进行, 反应总体积为 $20\ \mu\text{L}$: 灭菌水 $7.4\ \mu\text{L}$, SYBR Premix Ex Taq™ $10\ \mu\text{L}$, 上、下游引物各 $0.8\ \mu\text{L}$, cDNA 产物 $1.0\ \mu\text{L}$ 。反应条件: $95\ ^\circ\text{C}$ 预变性 $10\ \text{s}$; $95\ ^\circ\text{C}$ $5\ \text{s}$, $60\ ^\circ\text{C}$ $35\ \text{s}$, 40 个循环。各基因的表达水平由 $\beta actin$ 进行均一化, $\Delta\Delta CT$ 法检测 Real-time PCR 试验中各基因表达的相对差异。

表 2 Real-time PCR 的引物序列及退火温度

Table 2 Sequence of primers and annealing temperature of Real-time PCR

基因 Gene	引物序列(5'→3') Primer sequence (5'→3')	扩增长度/bp Length	退火温度/℃ Annealing temperature
$\beta actin$	Forward: ACTGCCGCATCTCTTCCTC Reverse: CTCCTGCTTGCTGATCCACATC	399	53.8
$GPR120$	Forward: TTCTTCTCCGATGTCAAGGGC Reverse: CGCTTAGGGTCATCACGTAGAAG	286	52.2
$PPAR\gamma$	Forward: ACCACTCGCATTCCCTTGAC Reverse: CCACAGACTCGGCACTCAAT	261	52.1
$C/EBP\alpha$	Forward: GGTGGACAAGCAAGAACAGCAACGA Reverse: GATCTGGAGACCCGAAACCA	320	52
HSL	Forward: GACTCACCGCTGACTTCC Reverse: CTGTCTCGTTGCGTTGTA	162	57.9
FAS	Forward: AGTGTCCACCAACAAGCG Reverse: GATGCCGTCAGGTTTCAG	280	55.9

$\Delta\Delta CT$ 值由以下公式得到: $\Delta\Delta CT = (A - B) - (C - D)$ 。式中: A 、 B 分别为处理组靶基因、 $\beta actin$ 基因的 CT 值, C 、 D 分别为对照组靶基因、 $\beta actin$ 基因的 CT 值。

靶基因表达水平的变化由下面公式计算: 靶基因表达水平差异倍数 = $2^{-\Delta\Delta CT}$ 。

1.7 数据分析

采用 SPSS 13.0 统计软件 One-way ANOVA, 对试验数据进行方差分析与显著性检验, 数据用 “ $\bar{x} \pm SD$ ” 表示, 采用 SPSS13.0 Bivariate Correlation → Pearson Correlation 对变量进行相关分析。

2 结果与分析

2.1 葡萄糖酸钙和 Nifedipine 对小鼠体质量的影响

从图 1 可以看出, 用葡萄糖酸钙和 Nifedipine 处理小鼠后, 处理组与对照组小鼠体质量有明显差异。饲喂 10 d 后, 葡萄糖酸钙处理组小鼠的体质量明显低于对照组 ($P < 0.05$); 从第 15 天开始, 二者差异达到极显著水平 ($P < 0.01$)。从饲喂的第 15 天开始, Nifedipine 处理组小鼠的体质量明显高于对照组 ($P < 0.05$)。说明葡萄糖酸钙可降低小鼠体质量, 而 Nifedipine 却对小鼠体质量的增加有促进作用。

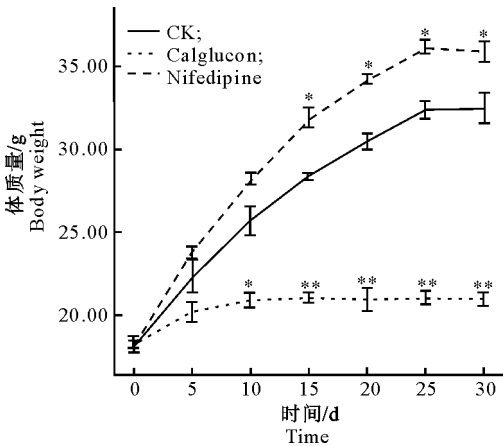


图 1 葡萄糖酸钙和 Nifedipine 对小鼠体质量的影响
* 表示与对照组差异显著 ($P < 0.05$);
* * 表示与对照组差异极显著 ($P < 0.01$); 图 2 同
Fig. 1 Effects of Calglucon and Nifedipine on the body weight of mice
* Represents significant difference compared with CK ($P < 0.05$); * * Represents extremely significant difference with CK ($P < 0.01$); Fig 2 is the same

2.2 葡萄糖酸钙和 Nifedipine 对小鼠体脂含量的影响

由表 3 可知, 葡萄糖酸钙处理组小鼠皮下、附睾、肾周的脂肪含量极显著低于对照组 ($P < 0.01$),

而 Nifedipine 处理组小鼠的体脂含量极显著高于对照组($P<0.01$),说明葡萄糖酸钙可明显降低小鼠的体脂含量,而 Nifedipine 处理却可明显促进小鼠皮下、附睾和肾周脂肪的沉积。

表 3 葡萄糖酸钙和 Nifedipine 对小鼠体脂含量的影响
Table 3 Effect of Calglucon and Nifedipine on body fat mass of mice g

组别 Group	皮下脂肪 Subcutaneous fat	附睾脂肪 Epididymal fat	肾周脂肪 Perirenal fat
CK	0.398 3±0.003 7 B	0.490 7±0.001 9 B	0.149 4±0.001 1 B
Calglucon	0.138 9±0.001 2 C	0.197 7±0.009 6 C	0.056 8±0.000 8 C
Nifedipine	0.487 1±0.005 3 A	0.658 9±0.004 0 A	0.206 8±0.002 1 A

注:同列数据后标不同大写字母表示差异极显著($P<0.01$)。下表同。
Note: Different capital letters in the same column represent significant difference($P<0.01$). The following table is the same.

2.3 葡萄糖酸钙和 Nifedipine 对小鼠血脂指标的影响

由表 4 可知,与对照组相比,葡萄糖酸钙处理组小鼠血清中的 TG、TC 和 LDL-C 浓度均极显著降低($P<0.01$),而 HDL-C 浓度显著升高($P<0.05$);Nifedipine 组小鼠血清 TC 和 LDL-C 浓度均极显著升高($P<0.01$),TG 浓度显著升高($P<$

0.05),而 HDL-C 浓度极显著降低($P<0.01$)。与葡萄糖酸钙处理组相比,Nifedipine 组小鼠血清 TG、TC 和 LDL-C 浓度均极显著升高($P<0.01$),HDL-C 浓度极显著降低($P<0.01$)。说明饲喂葡萄糖酸钙可降低血脂的 TC、TG 浓度,而 Nifedipine 却使血脂水平得以提升。

表 4 葡萄糖酸钙和 Nifedipine 对小鼠血脂水平的影响
Table 4 Effect of Calglucon and Nifedipine on serum lipid level of mice mmol/L

组别 Group	TG	TC	HDL-C	LDL-C
CK	1.524 5±0.127 8 Bb	3.528 1±0.014 4 B	2.637 5±0.045 7 Bb	1.195 5±0.009 7 B
Calglucon	0.933 0±0.027 1 A	2.993 0±0.139 8 A	2.986 1±0.032 2 Ba	0.197 0±0.108 1 A
Nifedipine	1.833 2±0.149 9 Ba	4.051 1±0.088 3 C	1.856 8±0.295 2 C	2.560 9±0.179 1 C

注:同列数据后标不同小写字母者表示差异显著($P<0.05$)。
Note: Different small letters in the same column represent significant difference ($P<0.05$).

2.4 扩增效率的一致性分析

为建立实时荧光定量 RT-PCR 的合适反应条件,本试验将小鼠附睾脂肪组织的 cDNA 倍比稀释后,分别进行目的基因 *GPR120*、*PPAR γ* 、*C/EBP α* 、*HSL*、*FAS* 和内参基因 *β actin* 的扩增,制作相对标准曲线。结果表明,目的基因及 *β actin* 的相对标准曲线均显示 CT 值与起始模板各浓度梯度的对数呈直线相关关系,相关系数 R^2 分别为 0.993,0.996,0.991,0.997,0.990 和 0.995。用目的基因 *GPR120*、*PPAR γ* 、*C/EBP α* 、*HSL*、*FAS* cDNA 浓度梯度的 lg 值分别对 ΔCT 值($\Delta CT=CT_{\text{靶基因}}-CT_{\beta actin}$)做图,所得直线斜率的绝对值分别为 0.032,0.083,0.065,0.016,0.024,均接近于 0,表明目的基因均与内参基因 *β actin* 的扩增效率一致,试验结果可以用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法进行相对定量分析。

2.5 葡萄糖酸钙和 Nifedipine 对小鼠附睾脂代谢相关基因 mRNA 表达的影响

由图 2 可看出,经葡萄糖酸钙处理后,小鼠附睾脂肪中 *GPR120*、*PPAR γ* 、*C/EBP α* 和 *FAS* 基因 mRNA 的表达水平均低于对照组,且差异达极显著($P<0.01$)或显著($P<0.05$)水平,而脂解相关基因

HSL mRNA 的表达水平却极显著高于对照组($P<0.01$)。

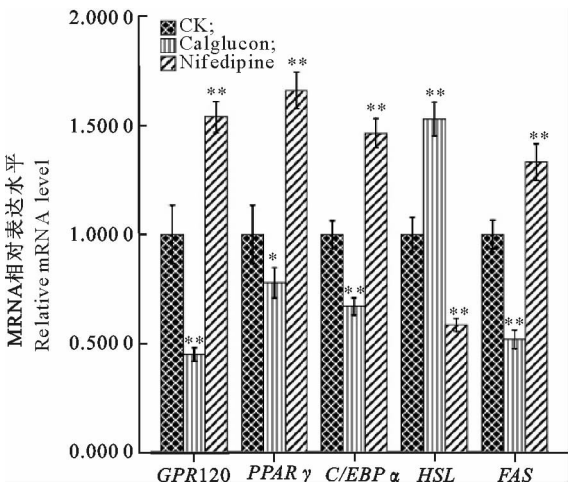


图 2 葡萄糖酸钙和 Nifedipine 对小鼠附睾脂代谢相关基因 mRNA 表达的影响

Fig. 2 Effects of Calglucon and Nifedipine on the expression of *GPR120*, *PPAR γ* , *C/EBP α* , *HSL* and *FAS* mRNA in periepididymal fat of mice

由图 2 可知,Nifedipine 处理后,小鼠附睾脂肪中 *GPR120*、*PPAR γ* 、*C/EBP α* 和 *FAS* 基因 mRNA

的表达水平均极显著高于对照组($P<0.01$),而 *HSL* 基因 mRNA 的表达水平则极显著低于对照组($P<0.01$)。上述研究结果表明,外源性葡萄糖酸钙能够抑制 *GPR120*、*PPAR γ* 和 *C/EBP α* 基因的表达,而 *HSL* 基因 mRNA 的表达却被诱导;Nifedipine 处理能诱导 *GPR120*、*PPAR γ* 、*C/EBP α* 和 *FAS* 基因 mRNA 的表达,并使其表达水平上调。

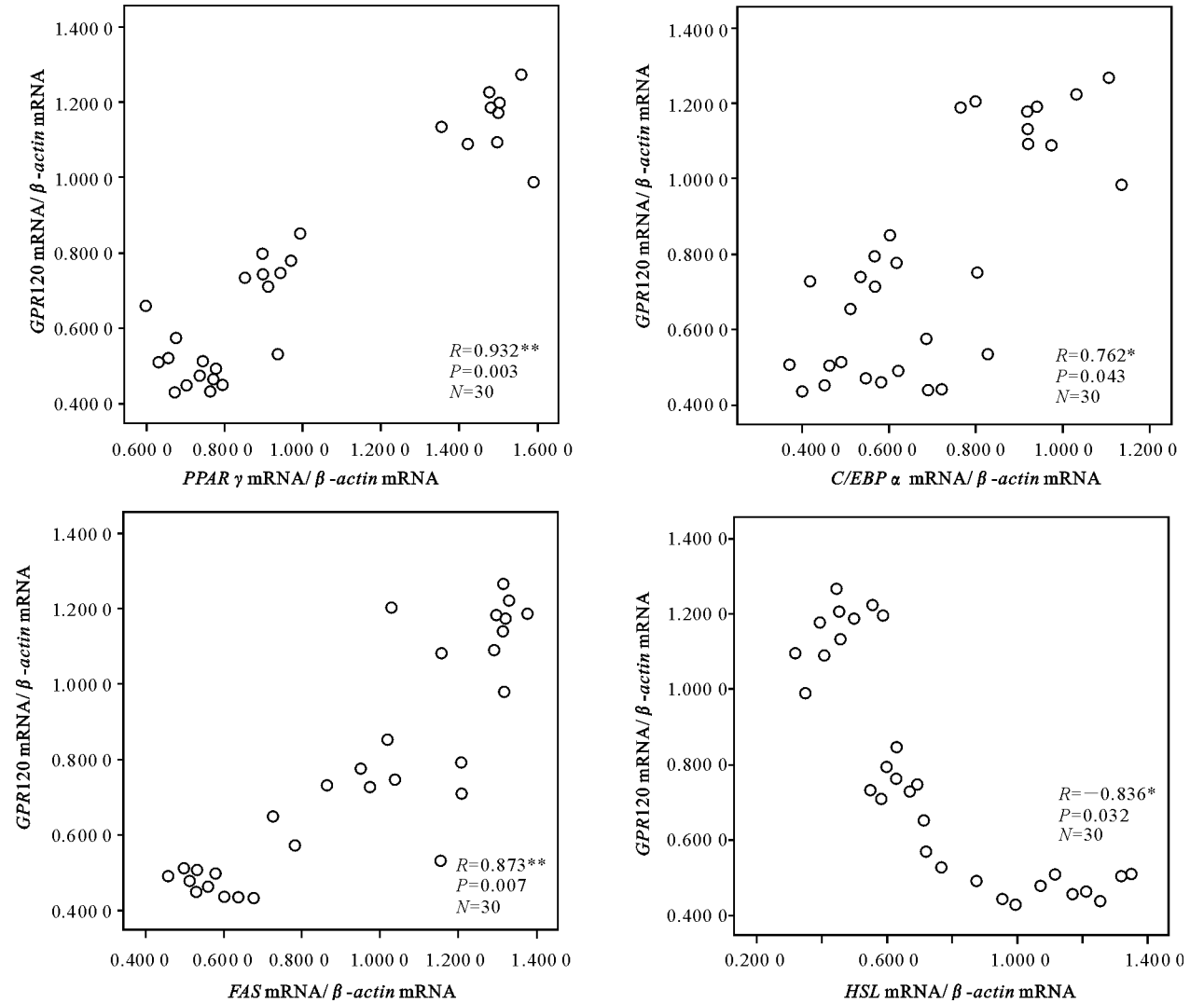


图 3 *GPR120* 与脂代谢相关基因在小鼠附睾脂肪组织中表达的相关性
R. 皮尔森相关系数;*P*. 显著性水平;*N*. 样本数; * 表示显著相关($P<0.05$); * * 表示极显著相关($P<0.01$)
Fig. 3 Expression correlation results of *GPR120* and adipose metabolism related genes in mice periepididymal fat
R. Pearson correlation coefficient; *P*. Significant level; *N*. Sample number; * Significant correlation ($P<0.05$); * * Extremely significant correlation($P<0.01$)

3 讨 论

肥胖症是由于长期能量摄入大于能量消耗所引起的以脂质代谢异常为主的代谢失调症,其与糖尿病、高血压、心脑血管等疾病的发生密切相关^[6-7]。

2.6 *GPR120* 与脂代谢相关基因在小鼠附睾脂肪中表达的相关分析

由图 3 可知,*GPR* 在小鼠附睾脂肪组织中的表达与脂肪生成的重要转录因子 *PPAR γ* 和生脂基因 *FAS* 的 mRNA 表达水平呈极显著正相关($P<0.01$),与另一重要生脂转录因子 *C/EBP α* 的 mRNA 表达水平显著相关($P<0.05$),与脂解基因 *HSL* mRNA 的表达水平呈显著负相关。

近年来,有关膳食钙对体质量影响的研究报道较多,Siddiqui 等^[8]在给大鼠饲喂乳清蛋白、钙和维生素 D 的试验中发现,增加乳清蛋白、钙和维生素 D 的摄入,可降低大鼠体内脂肪含量,并能提高体内瘦肉率;杨瑾等^[9]研究发现,高膳食钙可以预防大鼠摄入

高脂膳食导致的肥胖,并可抑制血清总胆固醇、三酰甘油水平升高;Shi 等^[10]认为,高钙饮食能降低脂肪酸合成酶活性并促进脂肪分解。本试验中,经葡萄糖酸钙处理后,小鼠体质量、体脂含量及血脂指标均有明显变化,说明外源性钙能显著降低小鼠的脂肪沉积。

Nifedipine 是二氢吡啶类钙离子通道的阻滞剂,临床上用于治疗心血管疾病,其通过选择性阻滞细胞膜的钙通道,阻止钙离子内流,降低细胞内可利用的钙离子浓度从而发挥作用^[11]。本试验发现,在调控小鼠脂肪形成的过程中,Nifedipine 发挥了与葡萄糖酸钙相反的作用,经 Nifedipine 处理后,小鼠的体质量高于对照组,并在处理的第 15 天开始达到显著水平($P<0.05$);Nifedipine 也促进了小鼠的体脂沉积,使血脂中的 TC、LDL-C 和 TG 浓度均有不同程度的升高。

GPR120 mRNA 在皮下脂肪、肾周脂肪、附睾脂肪和肠系膜等组织中高度表达,高脂饲喂小鼠的脂肪组织中,GPR120 mRNA 表达水平显著上调,表明 GPR120 与饮食及肥胖之间存在一定的关系^[3]。脂肪生成的主要转录因子包括 PPAR γ 和 C/EBP α ,二者在脂肪细胞分化过程中发挥着十分关键的作用^[12-14]。Gotoh 等^[3]研究发现,用 siRNA 技术下调 3T3-L1 脂肪细胞中 GPR120 基因表达的同时,PPAR- γ 2 和 aP2 基因 mRNA 的表达水平也均被明显下调;PPAR- γ 2 基因表达的上调和下调均能影响 GPR120 基因 mRNA 的表达。本试验也证实,GPR120 基因、PPAR γ 基因和另一与脂肪生成有关的重要转录因子 C/EBP α ,其 mRNA 具有相同的表达规律。FAS 是脂肪合成的标志基因,通常在脂肪合成阶段或脂肪蓄积部位表达量增多^[15]。本试验发现,GPR120 在附睾脂肪中的表达与 FAS 的表达呈极显著正相关,结合 GPR120 与 PPAR γ 和 C/EBP α 的正相关性,进一步说明 GPR120 参与了脂肪的生成过程。

HSL 基因被认为是甘油三酯和甘油二酯水解的特异性调节基因^[16-18]。本试验中发现,GPR120 与 HSL 表现出相反的表达规律,葡萄糖酸钙处理使小鼠附睾脂肪中 GPR120 mRNA 的表达水平降低,而使 HSL mRNA 的表达水平升高;Nifedipine 处理使小鼠附睾脂肪中 GPR120 mRNA 的表达水平提高,而使 HSL mRNA 的表达水平降低。相关性分析也证明,GPR120 与 HSL 呈显著负相关,说明 GPR120 可能仅参与脂肪的生成,而不参与脂肪

的降解。综上可推知,钙信号在 GPR120 调节小鼠脂肪生成的过程中可能起着负调控作用。

[参考文献]

- [1] Hirasawa A, Tsumaya K, Awaji T, et al. Free fatty acids regulate gut incretin glucagon-like peptide-1 secretion through GPR120 [J]. *Nature Medicine*, 2005, 11: 90-94.
- [2] Tanaka T, Yano T, Adachi T, et al. Cloning and characterization of the rat free fatty acid receptor GPR120; *in vivo* effect of the natural ligand on GLP-1 secretion and proliferation of pancreatic β cells [J]. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol*, 2008, 377: 515-522.
- [3] Gotoh C, Hong Y H, Iga T, et al. The regulation of adipogenesis through GPR120 [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2007, 354(2): 591-597.
- [4] Tanaka T, Katsuma S, Adachi T, et al. Free fatty acids induce cholecystokinin secretion through GPR120 [J]. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol*, 2008, 377: 523-527.
- [5] Parra P, Bruni G, Palou A, et al. Dietary calcium attenuation of body fat gain during high-fat feeding in mice [J]. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 2008, 19: 109-117.
- [6] Heaney R P, Davies K M, Barger-Lux M J. Calcium and weight: Clinical studies [J]. *Journal of American College of Nutrition*, 2002, 21(2): 152-155.
- [7] Zemel M B. Role of calcium and dairy products in energy partitioning and weight management [J]. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 2004, 79(5): 907-912.
- [8] Siddiqui S M K, Chang E, Li J, et al. Dietary intervention with vitamin D, calcium, and whey protein reduced fat mass and increased lean mass in rats [J]. *Nutrition Research*, 2008, 28: 783-790.
- [9] 杨瑾, 王枫, 史永亮, 等. 膳食钙对肥胖大鼠体质量的干预效应 [J]. *中国临床康复*, 2006, 10(48): 101-103.
Yang J, Wang F, Shi Y L, et al. Interventional effects of dietary calcium on body weight of obese rats [J]. *Chinese Journal of Clinical Rehabilitation*, 2006, 10(48): 101-103. (in Chinese)
- [10] Shi H, DiRienzo D, Zemel M B. Effects of dietary calcium on adipocyte lipid metabolism and body weight regulation in energy-restricted aP2-agouti transgenic mice [J]. *The FASEB Journal*, 2001, 15: 291-293.
- [11] 李谨, 蒋春梅, 徐艳, 等. 硝苯地平对大鼠牙龈成纤维细胞内 Ca^{2+} 含量影响的激光共聚焦显微观察 [J]. *口腔医学研究*, 2006, 22(5): 495-497.
Li J, Jiang C M, Xu Y, et al. Effect of nifedipine on the concentration of intracellular Ca^{2+} in gingival fibroblast under confocal laser microscopy [J]. *Journal of Oral Science Research*, 2006, 22(5): 495-497. (in Chinese)
- [12] Tontonoz P, Hu E, Spiegelman B M. Stimulation of adipogenesis in fibroblasts by PPAR γ 2, a lipid-activated transcription factor [J]. *Cell*, 1994, 79(7): 1147-1156.
- [13] Matsubara Y, Endo T, Kano K. Fatty acids but not dexamethasone are essential inducers for chick adipocyte differentia-

tion *in vitro* [J]. Comparative Biochemistry and Physiology, 2008,151(4):511-518.

[14] Cho Y W,Hong S H,Jin Q H,et al. Histone methylation regulator PTIP is required for PPAR γ and C/EBP α expression and adipogenesis [J]. Cell Metabolism,2009,10(1):27-39.

[15] Matthew H H,Chirala S S,Wakil S J. Human fatty-acid synthase gene [J]. The Journal of Biological Chemistry,1996,271(23):13584-13592.

[16] He J H,Jiang H F,Tansey J T, et al. Calyculin and okadaic acid promote perilipin phosphorylation and increase lipolysis in primary rat adipocytes [J]. Biochimica et Biophysica Acta, 2006,1761(2):247-255.

[17] Wang S P,Soni K G,Semache M,et al. Lipolysis and the integrated physiology of lipid energy metabolism [J]. Molecular Genetics and Metabolism,2008,95(3):117-126.

[18] Bézaire V,Mairal A,Anesia R,et al. Chronic TNF α and cAMP pre-treatment of human adipocytes alter HSL,ATGL and perilipin to regulate basal and stimulated lipolysis [J]. FEBS Letters,2009,583(18):3045-3049.

(上接第 5 页)

[8] Porcher C,Juhem A,Peinnequin A,et al. Expression and effects of metabotropic CRF1 and CRF2 receptors in rat small intestine [J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol,2005,288(5):1091-1103.

[9] 李 娟,孙 新,毕 辉,等. 低压低氧性大鼠肺动脉高压模型的建立 [J]. 临床心血管病杂志,2008,28(4):297-301.

Li J,Sun X,Bi H,et al. Establishment of on animal model of hypobaric and hypoxia pulmonary hypertension [J]. Journal of Clinical Cardiology,2008,28(4):297-301. (in Chinese)

[10] 吴战军,钟学军,孙延平,等. 急性低压缺氧对大鼠上消化道粘膜生长抑素含量的影响 [J]. 第四军医大学学报, 2001,22(9):846-848.

Wu Z J,Zhong X J,Sun Y P,et al. Effects of acute hypobaric hypoxia on SS contents in upper gastrointestinal tract mucosa of rats [J]. Journal of the Fourth Military Medical University,2001,22(9): 846-848. (in Chinese)

[11] Weingarten H P. Cytokines and food intake:The relevance of the immune system to the student of ingestive behavior [J]. Neurosci Biobehav Rev,1996,20(1):163-170.

[12] Tamás K,Akira A. Distribution of urocortin in the rat's gastrointestinal tract and its colocalization with tyrosine hydroxylase [J]. Peptides,2002,23(3):515-521.

[13] 张国荣,张月华,吴希如. 白细胞介素-1(IL-1)在中枢神经系统中的作用 [J]. 中国神经科学杂志,1997,4(1):44-48.

Zhang G R,Zhang Y H,Wu X R. Effects of IL-1 on central nervous system [J]. Chinese Journal of Neuroscience,1997,4(1):44-48. (in Chinese)