

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2017.15.009

AMPK 与脂肪细胞分化的关系研究及其在人脂肪源性肿瘤组织中的表达特点 *

李旭苗^{1,2#} 王 博^{3#} 李 洁¹ 武晓慧¹ 李 青¹ 徐玉乔^{1Δ}

(1 第四军医大学基础部病理学教研室 / 西京医院病理科 陕西 西安 710032; 2 西安高新医院病理科 陕西 西安 710075; 3 西北妇女儿童医院产科 陕西 西安 710061)

摘要 目的:探讨 AMPK 在脂肪细胞分化过程中的作用以及与脂滴相关表面蛋白 Cidec 的表达关系,为肥胖发生及其防治肥胖及肥胖相关性疾病提供重要的理论依据。**方法:**通过免疫组织化学、Real-time PCR 和 Western blot 等方法分析 AMPK 和 Cidec 在脂肪细胞分化中的作用,明确二者的相关性。**结果:**在不同分化程度的脂肪源性肿瘤组织中,AMPK 表达随着脂肪细胞分化程度的升高而表达降低,而 Cidec 的表达是逐渐增高的;在不同发育阶段的胎儿脂肪组织中,AMPK 随着胎龄的增加表达逐渐降低($P<0.01$),而 Cidec 的表达则呈逐渐增高的趋势($P<0.01$);以上 AMPK α 的表达均与 Cidec 的表达水平呈负相关。**结论:**AMPK 可能在脂肪细胞分化过程中扮演重要角色,研究其与 Cidec 的表达与作用关系可能为脂肪细胞发育及分化提供重要线索及依据。

关键词:肥胖;脂肪细胞;AMPK;分化;Cidec

中图分类号:R589.2;Q556.9;R-33 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2017)15-2833-04

The Role of AMPK in the Differentiation of Human Adipocyte and the Expressing Features in Human Lipoma or Liposarcoma*

LI Xu-miao^{1,2#}, WANG Bo^{3#}, LI Jie¹, WU Xiao-hui¹, LI Qing¹, XU Yu-qiao^{1Δ}

(1 Dept.of Pathology, Basic Medical College/Xijing Hospital, the Fourth Military Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710032, China;

2 Department of Pathology, Xi'an Gao-Xin Hospital, Xi'an, Shaanxi, 710075, China;

3 Department of Obstetrics, Northwest women and children's Hospital, Xi'an, Shaanxi, 710061, China)

ABSTRACT Objective: In this study, we would emphatically study the role of AMPK in the process of adipocyte differentiation and dig out its possible relationship with Cidec during adipogenesis, in order to provide a potential role for AMPK α as a target in treating obesity or obesity-related diseases. **Methods:** Using IHC staining, real-time polymerase chain reaction (RT-PCR) and western blot analysis to detect AMPK and Cidec expression in different differentiation phase of human adipocytic tumors, as well as different developmental stages of human fetal adipose tissue. **Results:** The results showed that AMPK was gradually increased with a decrease in differentiation of the tumor cells, while Cidec was gradually decreased; and in the fetal adipose tissues, AMPK decreased ($P<0.01$) and Cidec increased ($P<0.01$) significantly with the birth age increased. It was implied that AMPK was closely related with adipocytes differentiation, and showed a reverse trend compared with Cidec during the differentiation course of human adipocytes. **Conclusion:** In this study, we demonstrated that AMPK played a key role during the differentiation of adipocytes, thus might propose important clues to discover new possible mechanism for human adipogenesis.

Key words: Adiposity; Adipocyte; AMPK; Differentiation; Cidec

Chinese Library Classification(CLC): R589.2; Q556.9; R-33 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2017)15-2833-04

前言

AMP 活化的蛋白激酶 (AMP-activated protein kinase, AMPK) 广泛存在于真核生物中,就结构组成而言,AMPK 由 α 、 β 和 γ 三个亚基组成。其中 α 亚基是 AMPK 的功能单位,为催化亚基; β 和 γ 亚基的主要功能是维持 AMPK 的整体结构,

为结构亚基^[1]。由于 AMPK 对机体内能量状态的改变具有高度的敏感性,因而被称做机体的代谢感受器,其目的为维持能量的稳态^[2]。研究指出,机体内 AMPK 被激活后将开放产生 ATP 的代谢途径(促进葡萄糖转运和脂肪酸氧化)而关闭消耗 ATP 的代谢途径(抑制糖原、脂肪和胆固醇合成)^[3]。此外,在脂肪组织中,AMPK 可通过控制脂肪酸氧化、糖摄取和脂肪分解等来

* 基金项目:国家自然科学基金项目(31400722)

作者简介:李旭苗(1978-),本科,主治医师,主要从事妇科及产科病理研究, E-mail: 2802676758@qq.com;

王博(1979-),硕士研究生,主要研究方向:妊娠期糖尿病对胎儿发育的影响, E-mail: 18062457@qq.com

为共同第一作者

Δ 通讯作者:徐玉乔(1979-),博士研究生,主要研究方向:肿瘤病理学与脂肪代谢, E-mail: yuqiaoxu@fmmu.edu.cn

(收稿日期:2016-11-30 接受日期:2016-12-27)

调节能量稳态^[4]。因此,AMPK 对脂肪细胞能量代谢以及脂肪细胞分化等方面可能发挥重要作用。我们实验室前期研究指出 Cidec 是与脂肪细胞分化相关的重要蛋白^[5],在脂肪细胞分化过程中扮演重要角色,然而现有的研究中关于 AMPK 与脂肪细胞分化方面的关系尚不清楚,因此本研究旨在明确 AMPK 在脂肪细胞分化中的作用及其与 Cidec 在脂肪细胞分化中的作用关系,从而为探索脂肪细胞分化的分子机制提供重要依据。

1 材料与方法

1.1 组织来源

新鲜人胎儿脂肪组织为本实验室 2009 年收集所得,所获取人胎儿脂肪组织均为臀部皮下脂肪组织,孕周分别为

18W,23W 和 33W。50 例脂肪源性肿瘤组织标本均来自第四军医大学西京医院病理科,每个病例均由至少两名有经验的病理医生得出诊断。包括 10 例正常脂肪组织、10 例脂肪瘤组织和 30 例脂肪肉瘤组织(10 例高分化脂肪肉瘤,10 例中分化脂肪肉瘤,10 例低分化/去分化脂肪肉瘤);其中男性 27 例,女性 23 例;年龄范围 21-69 岁,中位年龄 45 岁(Table1)。

1.2 抗体

Cidec 鼠抗人单克隆抗体为美国 Abcam 公司产品(货号:ab3581);AMPK α 兔抗人单克隆抗体为美国 Cell Signaling Technology 公司产品(货号:#5832);PPAR γ 兔抗人多克隆抗体为 Abcam(货号:ab19481); β -actin 鼠抗人单克隆抗体为西安中杉生物科技有限公司产品。

表 1 不同分化程度的脂肪肿瘤组织标本信息

Table 1 Information of adipocytic tumor cases

Histological diagnosis	Male	Female	Total case number	Age
Normal adipose tissue	5	5	10	35~55
Lipoma	6	4	10	21~45
Well differentiated liposarcoma	7	3	10	24~53
Middle differentiated liposarcoma	6	4	10	32~48
Low/De-differentiated liposarcoma	3	7	10	31~69

1.3 免疫组织化学染色法检测 AMPK α 和 Cidec 蛋白的表达

组织切片常规脱蜡至水,二甲苯浸泡 3 遍,时间均为 20 min;再过梯度酒精各 5 min;3% H₂O₂ 孵育 30 min,之后用 1 $\times$ PBS 清洗 3 次;5%BSA 于室温下封闭 30 min;稀释 Cidec 抗体,置于湿盒于 4 $^{\circ}$ C 过夜;次日滴加山羊抗兔或抗小鼠的二抗,及辣根过氧化物酶标记链霉卵白素工作液进行 DAB 显色,苏木素复染;常规脱水透明,中性树胶封片。

1.4 提取人脂肪组织总 RNA 及 Real-time PCR

取脂肪组织约 100 mg,加入 1 mL TRIZOL 试剂,迅速匀浆,充分研磨,将匀浆液转移入离心管,通过离心(4 $^{\circ}$ C 12 000 rpm 离心 5 min)沉淀组织,每 1 mL TRIZOL 加入 200 μ L 三氯甲烷溶液,4 $^{\circ}$ C 12000 rpm 离心 15 min,吸出约 500 μ L 上清,加入等体积异丙醇颠倒混匀后静置。4 $^{\circ}$ C 12000 rpm 离心以沉淀 RNA,加入 1 mL 75%乙醇(DEPC 水配制)洗涤沉淀;简单干燥沉淀,将沉淀溶于 30~50 μ L 灭菌的 DEPC 水中;紫外分光光度计测 OD 值,置于 -80 $^{\circ}$ C 冰箱备用。

将以上提取的 RNA 使用日本 TaKaRa 公司的 Prime-ScriptTM RT reagent Kit 反转录合成 cDNA。实时定量 PCR 反应采用日本 TaKaRa 公司的 SYBRTM Premix Ex Taq[®] 试剂进行,而后由 Bio-Rad MyiQTM 检测系统采集荧光;目的基因相对表达量用 $\Delta\Delta$ Ct 法计算。Ct 值为实时定量 PCR 在扩增过程中每管内实时测量的荧光值达到阈值时所经历的循环数。

1.5 Western Blot 检测目的蛋白

称量组织,按 100 mg 加入 1 mL 预冷的 Rapa 裂解液,组织匀浆,加入 2 $\times$ 上样缓冲液冰浴。收集的蛋白组织进行 Western 电泳、转膜及 5%脱脂奶粉封闭以后,以 1:2 制备好的小鼠抗人 Cidec 抗体和 1:1000 稀释的兔抗人 AMPK α 抗体敷育 PVDF

膜,常规敷二抗、发光与照相。

1.6 统计学分析

全部结果均用 SPSS13.0 软件进行统计学分析。使用 Bonferroni correction 检验分析 Real-time PCR 量化结果。

2 结果

2.1 AMPK α 在不同分化程度脂肪源性肿瘤组织中的表达情况

我们首先采用免疫组织化学检测技术比较了 50 例脂肪来源的肿瘤组织(不同分化程度)中 AMPK α 和 Cidec 的表达情况。结果显示:AMPK α 在 10 例正常脂肪组织和 6 例良性脂肪瘤组织中的表达几乎呈阴性而 Cidec 的表达则均呈强阳性;在 10 例高分化脂肪肉瘤中可在部分肿瘤细胞的胞浆内检测到 AMPK α 的阳性表达,Cidec 仅在分化较好的脂肪细胞内呈阳性表达;在中分化脂肪肉瘤中 AMPK α 的表达进一步增强而 Cidec 的表达进一步减弱;而在去分化/低分化脂肪肉瘤的病例中可见 AMPK α 在大部分区域呈弥漫强阳性表达,而 Cidec 的表达几乎为阴性(图 1,2)。以上结果可以提示随着肿瘤细胞分化程度的降低,AMPK α 的表达逐渐升高,而 Cidec 表达逐渐降低。

2.2 AMPK α 在不同发育阶段脂肪组织中的表达情况

为了更进一步明确 AMPK α 和 Cidec 在脂肪组织分化过程中的关系,我们采用实时定量 PCR 和 Western Blot 蛋白印迹的方法,分别从 mRNA 和蛋白水平来检测呈不同发育阶段的胎儿脂肪组织中 Cidec 和 AMPK α 的表达特征,我们同时检测调控脂肪细胞分化过程中一个关键分子过氧化物酶体增殖物激活受体(PPAR γ)的表达作为参考。结果显示:不论是蛋白水平还是 mRNA 水平,随着胎龄的增加,Cidec 的表达水平逐渐

增高而 AMPK α 的表达逐渐降低, 并且 Cidec 与 PPAR γ 的表达趋势一致(图 3, 4)。

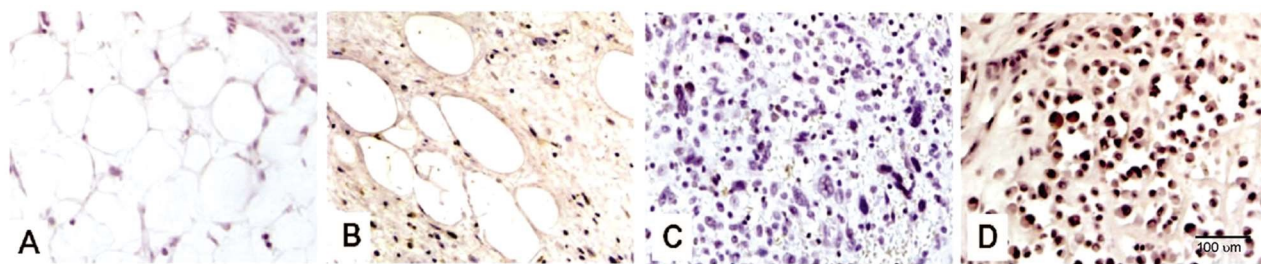


图 1 AMPK α 在不同分化程度的脂肪来源肿瘤组织中的表达(IHC)

Fig.1 IHC staining for AMPK α in adipocyte-derived tumors

随着脂肪细胞分化成熟度的降低, AMPK α 的表达丰度逐渐增高。A) 良性脂肪瘤; B) 高分化脂肪肉瘤; C) 中分化脂肪肉瘤; D) 低 / 去分化脂肪肉瘤。Scale bar: 100 μ m

The expression of AMPK α was gradually increased with a decrease in differentiation of the tumor cells. A) lipomas/normal adipose tissue; B) well-differentiated liposarcomas; C) middle-differentiated liposarcomas; D) de-differentiated liposarcomas. DAB was used as the color reagent (brown). Nucleus was redyed by hematoxylin. Scale bar: 100 μ m.

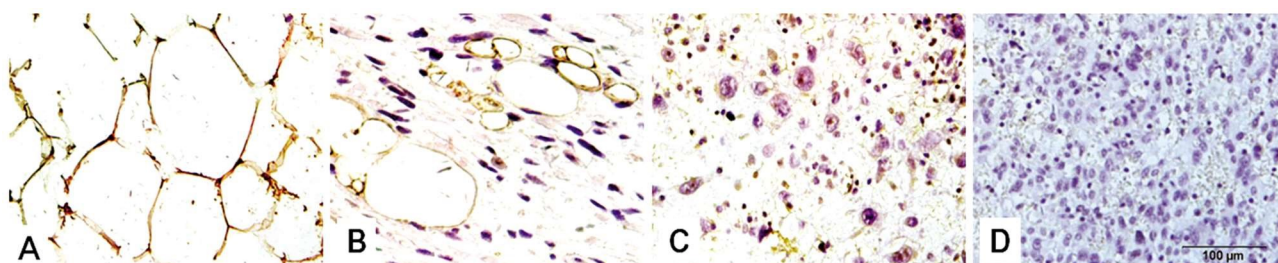


图 2 Cidec 在不同分化程度的脂肪来源肿瘤组织中的表达

Fig.2 IHC staining for Cidec in adipocyte-derived tumors

随着脂肪细胞分化成熟度的降低, Cidec 的表达丰度逐渐降低。A) 良性脂肪瘤; B) 高分化脂肪肉瘤; C) 中分化脂肪肉瘤; D) 低 / 去分化脂肪肉瘤。Scale bar: 100 μ m

The expression of CIDEK was gradually decreased with a decrease in differentiation of the tumor cells. A) lipomas/normal adipose tissue; B) well-differentiated liposarcomas; C) middle-differentiated liposarcomas; D) de-differentiated liposarcomas. DAB was used as the color reagent (brown). Nucleus was redyed by hematoxylin. Scale bar: 100 μ m

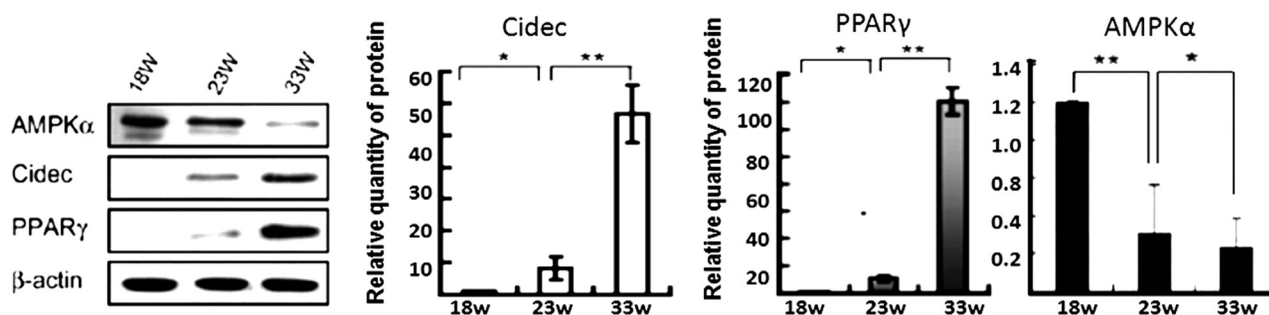


图 3 不同分化程度胎儿脂肪组织中 AMPK α 及 Cidec 的表达

Fig.3 Western Blot analysis of Cidec and AMPK α in fetal adipose tissues

随着胎龄的增加, AMPK α 的表达量逐渐降低, Cidec 的表达量逐渐增高, 脂肪特异性表达产物 PPAR γ 也逐渐增高。

Immunoblotting results showed the expression of AMPK α decreased while with Cidec and PPAR γ increased during the differentiation of fetal adipose tissue.

3 讨论

当今时代, 社会经济飞速发展, 人们的生活方式也随之变化, 致使现阶段超重与肥胖的人数日益增多。所谓肥胖症指的是体内的脂肪组织堆积过多或分布异常从而导致体重增加, 是一种多因素的慢性代谢性疾病; 当体内贮积的脂肪超过理想体

重的20%以上时, 即可诊断为肥胖症^[9]。研究表明, 肥胖主要表现为体内白色脂肪组织(WAT)含量过多, 且脂肪细胞分化异常和代谢障碍亦常与肥胖症、糖尿病、高脂血症等多种代谢性疾病的发生关系密切, 因此, 研究脂肪细胞分化与代谢异常对于防治肥胖及肥胖相关性疾病具有重要的意义。

Ailhaud 等的研究发现, 人一生中脂肪细胞的分化增殖主

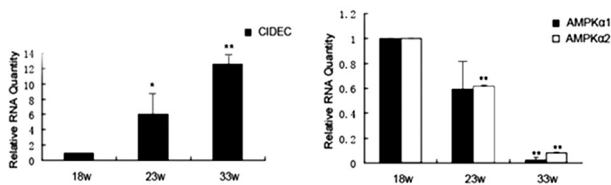


图4 不同分化程度胎儿脂肪组织中 AMPK α 及 Cidec 的表达

Fig.4 mRNA levels of Cidec and AMPK α in fetal adipose tissues

随着胎龄的增加,Cidec 的 mRNA 水平逐渐增高,AMPK α 1 和 AMPK α 2 的 mRNA 水平均显著降低(*P<0.05, **P<0.01)。

Real-time PCR analysis showed the levels of Cidec increased while AMPK α 1/ α 2 decreased with the increase of the fetal age.

要分为三个阶段:胚胎发育后3个月,出生后1年以及青春期;这些时期人体脂肪细胞的数目急剧增多并不断分化成熟,到达青春期以后脂肪细胞的数量才能够基本稳定下来^[7]。然而进一步的研究表明,儿童时期超重或肥胖将会对日后肥胖及肥胖相关疾病的产生于发展产生深远影响,且在成人期,脂肪细胞虽以体积增大为主,但脂肪细胞仍保留了分化的潜能,其目的在于维持细胞更新的动态平衡^[8]。此外,传统的治疗肥胖的方法大都通过减少细胞内的脂质储存,治疗结束后脂质往往可再次合成导致肥胖再度发生^[9]。因此,对于逆转肥胖以及防治与肥胖相关的代谢性疾病的发生需要找寻新的治疗路径。

AMPK 一直以来都处于能量代谢的焦点,是调节细胞能量反应的中心环节,亦是生物体内蛋白激酶级联反应的中枢;研究指出,AMPK 可启动分解代谢途径(脂肪酸氧化和糖酵解)以促进产能(ATP),同时关闭合成代谢途径(脂肪酸合成和蛋白合成)以减少能耗;在细胞水平,AMPK 既可作为能量感受器,亦可通过激素和细胞因子(瘦素、脂联素及抵抗素等)途径参与机体内能量平衡的调节^[10-12]。由于 AMPK 可参与到机体能量代谢的多个环节中去,因此有可能成为防治肥胖症、高脂血症及糖尿病等代谢性疾病的重要靶点之一。

诸多的研究已经表明,AMPK 激活后使机体内分解代谢活动增强和 ATP 的生成增多而使体内合成代谢以及某些耗能代谢活动减弱:在脂肪代谢过程中,AMPK 通过磷酸化 ACC、甘油磷酸酰基转移酶以及 HMG-CoA 还原酶等抑制脂质的合成^[13]。还有研究发现在骨骼肌组织,活化的 AMPK 能够上调己糖激酶、GIUT-4 和线粒体酶等的表达,说明 AMPK 可能也参与了基因的调控与表达^[14];然而,现有的研究大多集中于研究 AMPK 和能量代谢方面的关系,而很少有报道去揭示 AMPK 在脂肪细胞分化过程中的作用。目前只有一些间接证据:1) AMPK 激活物 AICAR 可以抑制脂肪细胞分化并降低脂肪酸合成酶和转录因子 PPAR γ 、C/EBP 等脂肪细胞分化后期的分子标志;2)前脂肪细胞向脂肪细胞分化主要体现在细胞中脂肪形成(脂滴增大和甘油三酯增多)及分化相关蛋白的表达(脂肪细胞代谢酶类及 PPAR、C/EBP 等分化调节蛋白),AMPK 对脂肪细胞糖脂代谢影响提示其在脂肪细胞分化中发挥重要作用^[15]。

Mittberberger 等^[16]在其最新的研究中发现白藜芦醇(Resveratrol)可通过激活 AMPK 而抑制 PPAR γ 2 的表达继而抑制 3T3-L1 小鼠前脂肪细胞系的成脂能力和组织其向脂肪细胞方向分化。Figarola 等^[17]的研究发现一种与抗肿瘤作用相关小分子化合物 COH-SR4 亦可通过活化 AMPK 而阻止前脂肪细

胞 3T3-L1 的分化。他们的研究指出,在 3T3-L1 细胞中加入 COH-SR4 可明显抑制脂肪细胞分化并呈现出剂量依赖性;在已分化的脂肪细胞中,COH-SR4 可明显降低脂滴的聚积和下调某些脂源性转录因子和与脂肪生成相关的蛋白的表达;并且他们推测 COH-SR4 的这些效应有可能是间接激活了细胞内 AMPK 通路所致。此外,Zhang 等^[18]利用 LKB1(Liver Kinase B1,一种肿瘤抑制因子)基因敲除的小鼠发现 LKB1 基因缺失可降低细胞内 IRS1 (insulin receptor substrate 1)、PPAR γ 、C/EBP α 以及磷酸化 AMPK 的表达水平从而抑制白色脂肪细胞的生长与分化。因此他们得出结论在白色脂肪组织生长和分化过程中,LKB1 可通过抑制 AMPK 的活性而促进白色脂肪细胞的分化。

以上研究结果都是以动物细胞模型为研究对象来研究 AMPK 与脂肪细胞分化的关系。在本部分实验中,我们在人体组织中首次明确了 AMPK α 在脂肪细胞分化中的表达情况并初步显示了与 Cidec 表达程度的相关性。免疫组化、Real time PCR 和 Westernblot 结果均表明在脂肪组织分化过程中,AMPK α 的表达逐渐降低而 Cidec 的表达逐渐升高,二者呈截然相反的表达趋势,提示在脂肪细胞分化成熟过程中,Cidec 有可能与 AMPK α 存在一定的相关性,这为后续进一步研究二者的相互作用关系提供了必要的研究基础。

参考文献(References)

- [1] Evans AM, Mahmoud AD, Moral-Sanz J, et al. The emerging role of AMPK in the regulation of breathing and oxygen supply[J]. Biochem J, 2016, 473(17): 2561-272
- [2] Van Dam AD, Kooijman S, Schilperoort M, et al. Regulation of brown fat by AMP-activated protein kinase [J]. Trends Mol Med, 2015, 21 (9): 571-579
- [3] Hudson ER, Pan DA, James J, et al. A novel domain in AMP-activated protein kinase causes glycogen storage bodies similar to those seen in hereditary cardiac arrhythmias[J]. Curr Biol, 2003, 13(10): 861-866
- [4] Stein SC, Woods A, Jones NA, et al. The regulation of AMP-activated protein kinase by phosphorylation [J]. Biochem J, 2000, 1 (345): 437-443
- [5] 王淑芳,李青,程红,等. CIDEs 家族在脂肪细胞肿瘤中的表达[J]. 现代肿瘤医学, 2008, 16(7): 1069-1072
Wang Shu-fang, Li Qing, Cheng Hong, et al. Expression of CIDEs family in adipocytic tumors [J]. Modern Oncology, 2008, 16 (7): 1069-1072
- [6] Crow JM. Obesity: insensitive issue [J]. Nature, 2012, 486 (7403): S12-13
- [7] Ailhaud G, Grimaldi P, Negrel R. Cellular and molecular aspects of adipose tissue development[J]. Annu Rev Nutr, 1992, 12: 207-233
- [8] Spalding KL, Arner E, Westermark PO, et al. Dynamics of fat cell turnover in humans[J]. Nature, 2008, 453(7196): 783-787
- [9] Li F, Gu Y, Dong W, et al. Cell death-inducing DFF45-like effector, a lipid droplet-associated protein, might be involved in the differentiation of human adipocytes[J]. FEBS J, 2010, 277(20): 4173-4183
- [10] Zhou YT, Wang ZW, Higa M, et al. Reversing adipocyte differentiation: implications for treatment of obesity [J]. Proc Natl Acad Sci, 1999, 96(5): 2391-2395

(下转第 2852 页)

- Roentgenol, 2007,188(2): 593-602
- [8] Samuels OB, Joseph GJ, Lynn MJ, et al. A standardized method for measuring intracranial arterial stenosis [J]. AJNR Am J Neuroradiol, 2000, 21(4): 643-646
- [9] Choi J, Suthakar P, Farmand F, Fatal outcome in a Hispanic woman with moyamoya syndrome and Graves' disease [J]. Endocrinol Diabetes Metab Case Rep, 2016, 2016
- [10] Kim SJ, Heo KG, Shin HY, et al. Association of thyroid autoantibodies with moyamoya-type cerebrovascular disease: a prospective study [J]. Stroke, 2010, 41(1): 173-176
- [11] Poplawska-Kita A, Siewko K, Telejko B, et al. The changes in the endothelial function and haemostatic and inflammatory parameters in subclinical and overt hyperthyroidism [J]. Int J Endocrinol, 2013, 2013: 981638
- [12] Danese MD, Ladenson PW, Meinert CL, et al. Clinical review 115: effect of thyroxine therapy on serum lipoproteins in patients with mild thyroid failure: a quantitative review of the literature [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2000, 85(9): 2993-3001
- [13] Miyawaki S, Imai H, Takayanagi S, et al. Identification of a genetic variant common to moyamoya disease and intracranial major artery stenosis/occlusion[J]. Stroke, 2012, 43(12): 3371-3374
- [14] Suzuki S, Mitsuyama T, Horiba A, et al. Moyamoya disease complicated by Graves' disease and type 2 diabetes mellitus: report of two cases[J]. Clin Neurol Neurosurg, 2011, 113(4): 325-329
- [15] Tendler BE, Shoukri K, Malchoff C, et al. Concurrence of Graves' disease and dysplastic cerebral blood vessels of the moyamoya variety [J]. Thyroid, 1997, 7(4): 625-629
- [16] Adams HP, Jr., Bendixen BH, Kappelle LJ, et al. Classification of subtype of acute ischemic stroke. Definitions for use in a multicenter clinical trial. TOAST. Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment [J]. Stroke, 1993, 24(1): 35-41
- [17] 宋刘广, 赫小龙, 项美香, 等. 甲状腺过氧化物酶抗体与冠心病相关性研究[J]. 心电与循环, 2016, 35(4): 245-248
- Song Liu-guang, He Xiao-long, Xiang Mei-xiang, et al. Correlation between thyroid peroxidase antibody and coronary heart disease[J]. ECG and circulation, 2016, 35(4): 245-248
- [18] Bossowski A, Moniuszko M, Idzkowska E, et al. Evaluation of CD4⁺CD161⁺CD196⁺ and CD4⁺IL-17⁺ Th17 cells in the peripheral blood of young patients with Hashimoto's thyroiditis and Graves' disease[J]. Pediatr Endocrinol Diabetes Metab, 2012, 18(3): 89-95
- [19] Kudlyk T, Willett R, Pokrovskaya ID, et al. COG6 interacts with a subset of the Golgi SNAREs and is important for the Golgi complex integrity[J]. Traffic, 2013, 14(2): 194-204
- [20] Katsargyris A, Tsiodras S, Theocharis S, et al. Toll-like receptor 4 immunohistochemical expression is enhanced in macrophages of symptomatic carotid atherosclerotic plaques [J]. Cerebrovasc Dis, 2011, 31(1): 29-36
- [21] Gupta Y, Bhadada SK, Shah VN, et al. Carotid intima media thickness in patients with sporadic idiopathic hypoparathyroidism: a pilot study[J]. Endocr J, 2012, 59(7): 555-559
- [22] Chistiakov DA, Killingsworth MC, Myasoedova VA, et al. CD68/macrosialin: not just a histochemical marker[J]. Lab Invest, 2016
- [23] Fatkhullina AR, Peshkova IO, Koltsova EK, The Role of Cytokines in the Development of Atherosclerosis[J]. Biochemistry (Mosc), 2016, 81(11): 1358-1370
- [24] Karagiannis A, Mikhailidis DP, Tziomalos K, et al. Serum uric acid as an independent predictor of early death after acute stroke[J]. Circ J, 2007, 71(7): 1120-1127

(上接第 2836 页)

- [11] Fryer LG, Carling D. AMP-activated protein kinase and the metabolic syndrome[J]. Biochem Soc Trans, 2005, 33(Pt 2): 362-366
- [12] Hardie DG. The AMP-activated protein kinase pathway--new players upstream and downstream[J]. J Cell Sci, 2004, 117(Pt 23): 5479-5487
- [13] Carling D. AMP-activated protein kinase: balancing the scales [J]. Biochimie, 2005, 87(1): 87-91
- [14] Daval M, Fougelle F, Ferre P. Functions of AMP-activated protein kinase in adipose tissue[J]. J Physiol, 2006, 574(Pt 1): 55-62
- [15] Mitterberger MC, Zwerschke W. Mechanisms of Resveratrol-Induced Inhibition of Clonal Expansion and Terminal Adipogenic Differentiation in 3T3-L1 Preadipocytes [J]. J Gerontol A Biol Sci Med Sci, 2013, 68(11): 1356-1376
- [16] Figarola JL, Rahbar S. Smallmolecule COH-SR4 inhibits adipocyte differentiation via AMPK activation [J]. Int J Mol Med, 2013, 31(5): 1166-1176
- [17] Zhang W, Wang Q, Song P, et al. Liver Kinase B1 Is Required for White Adipose Tissue Growth and Differentiation[J]. Diabetes, 2013, 62(7): 2347-2358
- [18] Kemp BE, Mitchelhill KI, Stapleton D, et al. Dealing with energy demand: the AMP-activated protein kinase [J]. Trends Biochem Sci, 1999, 24(1): 22-25