doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2023.10.004

# 诱导小鼠白色脂肪来源的 SVF 分化为米色脂肪细胞的方法初探\*

蒋 硕¹ 陈思远¹ 孟轩羽² 刘迪晖3 梁小弟 1△

(1新疆医科大学基础医学院生物化学与分子生物学教研室 新疆 乌鲁木齐 830011;

2新疆医科大学基础医学院机能中心 新疆乌鲁木齐 830011;3 新疆医科大学附属肿瘤医院病理科 新疆乌鲁木齐 830011)

摘要目的:探究将小鼠白色脂肪来源的SVF 细胞诱导为米色脂肪细胞的方法,为米色脂肪的研究提供细胞模型。方法:分离培养 小鼠脂肪组织来源的SVF 细胞,观察其细胞形态及生长特性,分别用鸡尾酒法和米色脂肪诱导法处理细胞,在诱导的第0、2、4、 6、8、10 天收取细胞样品进行 Western blot 和 RT-qPCR 实验,油红 O 染色观察不同时间,点培养皿中的脂质生成情况,并对针对脂 滴大小定量。结果:实验分离的SVF 细胞随着接种时间的延长逐渐呈长梭形,在+接种120h后有呈螺旋式生长的趋势。Western blot 和 RT-qPCR 结果显示两种诱导方法皆使过氧化物酶体增殖物受体 γ (Peroxisomeproliferator activated receptor γ, PPARγ)和 CCAAT-增强子结合蛋白(CCAAT/enhancer binding proteins α, C/EBPα)基因表达升高(P<0.05),油红 O 染色结果显示,在两种方 法的诱导下,脂质生成水平无差异,但与鸡尾酒法相比,米色脂肪诱导法的脂肪细胞脂滴面积明显减少(P<0.05),并且小体积脂滴 所占百分比较高。Western blot 和 RT-qPCR 结果显示,与鸡尾酒法相比,米色脂肪诱导法使解偶联蛋白 1(Uncoupling protein 1, UCP1)和含 PR 结构域蛋白 16(PRD1-BF1-RIZ1 homologous domain containing 16, PRDM16)基因表达升高(P<0.05)。结论:与鸡 尾酒法相比,该方法能够成功诱导 SVF 细胞向米色脂肪细胞分化,脂滴具备米色脂肪特征,并表达米色脂肪标记基因。 关键词:SVF 细胞;米色脂肪细胞;UCP1;PRDM16;鸡尾酒诱导法

中图分类号:R-33;Q591;Q593;Q75 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2023)10-1822-07

# The Method of Inducing White Adipose-derived SVF to Differentiate into Beige Adipocytes\*

JIANG Shuo<sup>1</sup>, CHEN Si-yuan<sup>1</sup>, MENG Xuan-yu<sup>2</sup>, LIU Di-hui<sup>3</sup>, LIANG Xiao-di<sup>1</sup>

 (1 Department of Biochemistry and Molecular Biology, School of Basic Medicine, Xinjiang Medical University, Urumqi, Xinjiang, 830011, China; 2 Functional Center of Basic Medical College, Xinjiang Medical University, Urumqi, Xinjiang, 830011, China; 3 Department of Pathology, Affiliated Cancer Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi, Xinjiang, 830011, China)

**ABSTRACT Objective:** To investigate the method of inducing mice SVF cells derived from white fat into beige fat cells, and to provide a cell model for the study of beige fat. **Methods:** SVF cells derived from mouse adipose tissue were isolated and cultured, and their cell morphology and growth characteristics were observed. The cells were treated with cocktail method and beige fat induction method, respectively, and cell samples were collected at the 0, 2, 4, 6, 8 and 10 days of induction for Western blot and RT-qPCR. Lipid production in the petri dishes at different time points was observed by oil red O staining, and lipid drop size was quantified. **Results:** The isolated SVF cells showed a long spindle shape gradually, and a spiral growth trend after 120 h inoculation. Western blot and RT-qPCR results indicated that Peroxisome proliferator activated receptor  $\gamma$  (PPAR $\gamma$ ) could be induced by both methods. The gene expressions of PPAR $\gamma$  and CCAAT/enhancer binding proteins  $\alpha$  (C/ EBP- $\alpha$ ) were increased (*P*<0.05). Oil red O staining showed no difference in lipid production levels under the induction of the two methods, but compared with that in the cocktail method, Fat droplet area of fat cells induced by beige fat decreased significantly (*P*<0.05), and the percentage of small fat droplet was higher. Western blot and RT-qPCR results showed that compared with that by the cocktail method, the beige fat induction method enabled the uncoupling protein 1 (UCP1) and an increased gene expression of PRD1-BF1-RIZ1 homologous domain containing 16 (PRDM16) (*P*<0.05). **Conclusions:** Compared with the cocktail method, this method can induce SVF cells to differentiate into beige adipocytes successfully. The adipocytes have the characteristics of beige adipocytes and express the beige adipocyte marker genes.

Key words: SVF cells; Beige fat cells; UCP1; PRDM16; Cocktail inducement

Chinese Library Classification(CLC): R-33; Q591; Q593; Q75 Document code: A Article ID: 1673-6273(2023)10-1822-07

<sup>\*</sup>基金项目:国家自然科学基金地区项目(81760162);2017年度高校科研计划面上项目(XJEDU2017M016); 新疆维吾尔自治区研究生科研创新项目(XJ2022G184)

作者简介:蒋硕(1996-),男,硕士研究生,主要研究方向:脂肪细胞分化的转录后水平调控,E-mail: 1711643174@qq.com

<sup>△</sup> 通讯作者:梁小弟,男,副教授,博士,研究方向:脂肪细胞分化与 RNA 转录后调控机制,E-mail: xiaodiliang@xjmu.edu.cn (收稿日期:2023-01-09 接受日期:2023-02-05)

## 前言

人体内的脂肪组织分为白色脂肪组织和棕色脂肪组织。大 量研究表明,棕色脂肪组织的增多在一定程度上可以有效地改 善机体由于肥胖造成的代谢综合征<sup>[1,2]</sup>,而当机体在受到持续寒 冷或 $\beta$ 3 受体激动剂等刺激时,白色脂肪组织中会产生一种被 称为米色脂肪细胞的"棕色样"白色脂肪细胞<sup>[3]</sup>。它具有部分 棕色脂肪细胞的特征,比如高表达 UCP1 和 PRDM16,脂滴呈 多房等<sup>[46]</sup>。对于米色脂肪细胞的来源,有文献表明<sup>[7,9]</sup>,在寒冷刺 激下,血小板源性生长因子受体  $\alpha$ (Platelet-derived growth factor receptor  $\alpha$ ,PDGFR $\alpha$ )、CD81 (CD81 protein)、 $\alpha$  肌动蛋白 (Smooth muscle actin, $\alpha$ SMA)阳性的血管壁细胞可分化为米色 脂肪细胞<sup>[10]</sup>,因此有必要探究米色脂肪细胞的体外分化方法。

脂肪组织血管基质组分(Stromal vascular fraction, SVF)是 一类异质性的细胞群,其主要成分是间充质干细胞,还包含内 皮细胞,巨噬细胞等间质细胞<sup>111</sup>,其中间充质干细胞经诱导可 分化为成熟的脂肪细胞<sup>[12]</sup>。相比较于 3T3-L1 等前脂肪细胞系, SVF 更真实地反应了脂肪细胞在体内的复杂环境,具有更好的 研究意义。对于脂肪细胞的诱导方法,最初的研究发现地塞米 松等糖皮质激素与 3-异丁基 -1-甲基黄嘌呤 (3-Isobutyl-1-methylxanthine,IBMX) 的组合能够促进 C/EBPa 在前脂肪细胞中表达13,因此二者在早期研究中被广泛应用于 前脂肪细胞的诱导分化,但12至14天的分化时间大大影响了 实验效率。随着研究的深入人们发现,前脂肪细胞胰岛素信号 通路的激活是其向成熟脂肪细胞分化的关键因素,因此在地塞 米松和 IBMX 的基础上加入了胰岛素和曲格列酮[14,15],以促进 前脂肪细胞对葡萄糖的吸收,使分化时间减少到8至10天,形 成了目前广泛应用的白色脂肪细胞诱导方法 - 鸡尾酒诱导法。 而对于米色脂肪细胞的体外分化,科学界目前没有统一的确切 方法。该研究在鸡尾酒诱导法的基础上,探究了一种使 SVF 分 化为米色脂肪细胞的具体方法,为肥胖及其并发症的研究提供 一定的实验方法。

#### 1 材料和方法

#### 1.1 实验动物

2-3 周龄雄性 C57BL/6 小鼠购自新疆医科大学实验动物 中心,饲养于新疆医科大学实验动物中心 SPF 级动物房,自由 摄食与饮水,温度(22±3)℃,湿度 50%± 5%,每天光照与黑夜 时间各为 12 h。

#### 1.2 主要试剂和仪器

主要试剂和仪器: DMEM 培养基、胎牛血清、青霉素、链霉 素购自以色列 BI 公司; 3- 异丁基 -1- 甲基黄嘌呤粉剂、地塞米 松粉剂、胰岛素粉剂、罗格列酮粉剂、吲哚美辛粉剂购自美国 Sigma 公司; TRIzol RNA 提取试剂购自美国 Invitrogen 公司; SYBROR Green RT-qPCR 试剂盒购自凯杰生物; Revert Aid First Strand cDNA Synthesis Kit 逆转录试剂盒购自 Takala; HSP90 —抗、 $\beta$ -actin —抗购自美国 Protientech 公司; PRDM16 —抗购自美国 R&D System 公司; C/EBP $\alpha$  —抗购自美国 Abcam 公司; UCP1 —抗、PPAR $\gamma$  —抗购自美国 CST 公司; HRP 标记的二抗购自美国 Protientech 公司; 油红 O 染液购自美国 Sigma 公司; 低温高速冷冻离心机购自德国 Eppendorf 公司;核 酸微量检测仪和全波长酶标仪购自美国 Thermo Fisher 公司; 倒置显微镜购自日本 OLYMPUS 公司。

#### 1.3 SVF 细胞分离培养

将 2-3 周龄雄性 C57BL/6 小鼠颈脱臼处死后浸泡于 75% 酒精,放在超净台,将小鼠腹股沟皮下白色脂肪组织分离出来 后浸泡于 PBS 中,剔除淋巴结和血管后用 PBS 清洗 2-3 遍,用 眼科剪将组织剪成糊状,加入为 1.5 倍组织体积,浓度为 1.5 mg/mL 的 II 型胶原酶工作液,并混匀,转移至 15 mL 离心管,于 37℃ 水浴箱中,震荡 8-10 min,无肉眼可见的组织块立即停止消化; 取出离心管,加入 2 mL PBS 混匀后用 200 目细胞滤网进行过滤, 1000 rpm,离心 10 min 后,弃去上层清液,留取沉淀;加入 2 mL PBS 将沉淀重悬,清洗细胞沉淀,1000 rpm,离心 10 min 后弃去上 清,用 37℃预热的含 10%FBS、青霉素、链霉素的 DMEM/F12 完全培养基重悬细胞沉淀,并分别接种在两个 6 cm 细胞培养 皿,并做好标记,放在 37℃、5% CO<sub>2</sub> 条件的细胞培养箱培养, 6-8 h 换液,并在换液前用 PBS 清洗。

#### 1.4 细胞分组及诱导方法

根据不同的诱导方法将 SVF 分为两组,鸡尾酒法组 (Cocktail group,n=3)和米色诱导组(Beige group,n=3),使用诱导试剂及终浓度见表 1,SVF 汇合至接触抑制后为诱导分化的 第0天,此时加入诱导 I 液;两天后,更换诱导 II 液,并按时间 点处理细胞。

Table 1 Inducing the final concentration of the reagent						
Goups	INS	ROS	IBMX	DEX	INDO	Т3
Cocktail group solution I	0.5 mg/L	1 μM/L	0.5 mM/L	3.9 mg/L	-	-
Cocktail group solution II	0.5 mg/L	-	-	-	-	-
Beige group solution I	0.5 mg/L	1 μM/L	0.5 mM/L	3.9 mg/L	0.125 M/L	1 nM/L
Beige group solution II	0.5 mg/L	-	-	-	-	1 nM/L

表1 诱导试剂终浓度

Note: INS, Insulin; ROS, Rosiglitazone; IBMX, 3-Isobutyl-1-methylxanthine; DEX, Dexamethasone; INDO, Indomethacin; T3, Triiodothyronine.

#### 1.5 总 RNA 提取和 RT-qPCR 检测

向细胞培养皿中加入1mL TRIzol,冰上裂解5min,采用 异丙醇氯仿法提取组织的总RNA。通过分光光度法测量 RNA浓度及A260/A280,利用IDT设计引物并由上海生工生 物技术有限公司合成,引物序列见表 1,β-actin 引物购自生工 (B662302),在 Quant Studio6 Flex 系统下使用 SYBR Select Master Mix 试剂进行 PCR 扩增。

Table 2 Primer sequences of mouse target gene					
Gene	Forward primer	Reversed primer			
$\beta$ -Actin	5'-GTGACGTTGACATCCGTAAAGA-3'	5'-GCCGGACTCATCGTACTCC-3'			
$PPAR\gamma$	5'-GGTGAACCACTGATATTCAGGAC-3'	5'-CAACTGTGGTAAAGGGCTTGATGTC-3'			
C/EBPa	5'-TGCCGGGAGAACTCTAACT-3'	5'-TCTGGAGGTGACTGCTCAT-3'			
PRDM16	5'- CACAAGTCCTACACGCAGTT-3'	5'- TTGTTGAGGGAGGAGGTAGT-3'			
UCP1	5'- CCTGGCAGATATCATCACCTTC -3'	5'- TGGTCCCTAGGACACCTTTAT -3'			

#### 表 2 小鼠靶基因引物序列

## 1.6 免疫印迹

向每个 3.5 cm 细胞培养皿中加入 200 μL 细胞裂解液,冰 上裂解 30 min,12000 rpm,4 ℃离心 10 min,将上清转移至新的 1.5 mL EP 管中,用 BCA 工作液对蛋白质进行定量。在 10% SDS-PAGE 胶中上样,80 V 电泳,待样品跑至浓缩胶与分离胶 汇合处,再调至 130 V 电泳直至 Marker 完全分开;80 mA 恒流 转膜 3 h,5%脱脂奶室温封闭 1 h,—抗按照 1:1000 比例稀释4℃ 孵育过夜,HRP 标记的二抗按照 1:5000 稀释室温孵育 1 h, ECL 发光法检测,结果通过 Azure-600 仪器显示,用 Image J 软 件扫灰度进行分析。

#### 1.7 油红 O 染色

将油红 O 染液与无 RNA 酶水以 3:2 比例稀释,用滤纸缓 慢过滤一遍再用 0.22 μm 过滤器过滤两遍,向两组诱导成熟的 脂肪细胞中加入预冷 PBS 缓冲液冲洗 2 遍,4%多聚甲醛固定 30 min,弃去多聚甲醛,双蒸水清洗细胞培养皿,每个皿中加入 1 mL 油红 O 工作液,染 25 min,吸去油红 O 染液并用蒸馏水 清洗,去除多余的油红。加入 1 mL 蒸馏水,用倒置显微镜进行 拍照。

#### 1.8 统计学分析

每个实验有三个样的生物学重复,对实验所得数据用 GraphPad Prism8.0软件进行处理,定量资料数据符合正态分布 以均数±标准差(Mean±SD)表示,组间使用两独立样本 t 检 验比较分析两组间数据, P<0.05则认为差异有统计学意义。

### 2 结果

#### 2.1 SVF 细胞生长情况与形态学特征

如图 1 所示,分离后的 SVF 细胞接种至培养皿 24 h 已完 全贴壁,并在 48 h 后细胞数量逐渐增加,细胞形态从不规则逐 渐转化为长梭形生长,在接种 120 h 后细胞融合至 90%,有呈 漩涡状生长趋势。



图 1 倒置显微镜下观察 SVF 细胞生长情况与形态学特征(10×40)



## 2.2 Cocktail group 和 Beige group PPARγ和 C/EBPα 基因表达 情况

RT-qPCR 结果显示,Cocktail group 和 Beige group Ppary-mRNA皆在分化第6天明显升高(P<0.001),并在分化第 8天到达顶峰,C/ebp $\alpha$ -mRNA在分化前期第2天开始表达,在 第4天达到最高值(P<0.001),在分化后期表达下降。Western Blot结果显示,Cocktail group 和 Beige group PPARy蛋白水平 皆在分化第6天明显升高(P<0.05),并在分化第8天到达顶峰 (P<0.01),C/EBP $\alpha$ 蛋白水平在分化前期第2天开始表达,在第 4天达到最高值(P<0.01),在分化后期表达减少。见图2。

## 2.3 Cocktail group 和 Beige group 脂质生成情况

油红 O 结果显示,两组随着诱导时间的增加,脂质生成皆明显增加,见图 3A,使用 ImageJ 处理后发现,两组脂质生成并 无差异,见图 3B。

## 2.4 Cocktail group 和 Beige group 脂滴大小及分布情况

油红 O 染色后,在倒置显微镜下观察脂滴生成情况,结果

显示,两组脂滴皆随着诱导时间的增加而增大,见图 4A,Beige group 在诱导第 6,8 天的脂滴明显小于 Cocktail group(P<0.05), 见图 4B,并且在 Beige group 中出现了极小脂滴(蓝色箭头)。 两组诱导第 10 天的平均脂滴大小虽无统计学差异,但针对其 脂滴面积分布情况进行分析,结果显示,Beige group 小体积脂 滴占比略高于 Cocktail group,见图 4C。

## 2.5 Cocktail group 和 Beige group UCP1 和 PRDM16 基因表达 情况

RT-qPCR 结果显示,与 Cocktail group 相比,Beige group Ucp1-mRNA 在分化第 2 天(P<0.01),第 4 天(P<0.001),第 6 天(P<0.001)明显升高,Prdm16-mRNA 在分化第 2 天(P<0.01), 第 4 天(P<0.01),第 6 天(P<0.001),第 8 天(P<0.01)明显升高。 Western Blot 结果显示,与 Cocktail group 相比,Beige group UCP1 蛋白水平在分化第 2 天(P<0.01),第 4 天(P<0.001),第 6 天 (P<0.01),第 8 天(P<0.001),第 10 天(P<0.001)皆明显升高。 PRDM16 蛋白水平在分化第 2 天(P<0.05),第 4 天(P<0.05), 第6天(P<0.001),第8天(P<0.01)明显升高。见图5。







Note: Data were expressed as  $\bar{x} \pm$  SD, n=3.



Fig.4 On red O staining observed the size and distribution of input droplets during differentiation of Cocktail group and Beige group Note: Data were expressed as  $\bar{x} \pm$  SD, n=3. \**P*<0.05.

## 3 讨论

肥胖会增加糖尿病、高血压、心血管疾病等相关代谢性疾 病的风险[16,17],为了解决肥胖及其并发症所带来的世界性难题, 针对产热脂肪的研究越来越多[18-20]。人体内的脂肪细胞主要分 为白色脂肪细胞和棕色脂肪细胞,白色脂肪细胞以甘油三酯的 形式储存能量,而棕色脂肪细胞以热量的形式消耗能量,从而 抵抗体温过低[21]、肥胖[22]、糖尿病[23]等带给人体的负面影响。棕 色脂肪细胞以多房脂滴为特征<sup>[24]</sup>,并且高表达 UCP1, UCP1 能 够将电子传递链与 ATP 的合成解偶联, 使能量通过热量的方 式释放,研究报道 UCP1 蛋白水平的降低会导致小鼠产热障碍 并引发肥胖[2]。近年来的研究表明,在寒冷或β3受体激动剂的 刺激下,在白色脂肪组织中发现呈多房,并高表达 UCP1 的产 热脂肪细胞,被称为米色脂肪细胞<sup>[26]</sup>。Lee,Y等<sup>[79]</sup>发现白色脂 肪组织中 PDGFR、CD81 和 αSMA 阳性的血管壁细胞在寒冷 刺激下可分化为米色脂肪细胞,这解释了米色脂肪细胞的来 源。而越来越多的研究证实[1727,28],米色脂肪具有和棕色脂肪同 样强大的抵抗肥胖和缓解众多代谢性疾病的潜能,本研究利用 白色脂肪组织 SVF 细胞,与经典鸡尾酒诱导方法相比较,提出 了一种米色脂肪细胞的诱导方法。

SVF 中的间充质干细胞虽然具有多向分化能力<sup>[29,30]</sup>,但是

在普通培养基中仅具备增殖能力,无法分化。经典鸡尾酒法利 用胰岛素, 地塞米松, IBMX 使具备分化潜能的干细胞停止增 殖,并向白色脂肪细胞方向分化,增加葡萄糖的摄取,合成甘油 三酯。PPARγ 作为一个关键转录因子是干细胞向脂肪细胞分 化的一个开关<sup>[31]</sup>, C/EBPα则在分化前期发挥着重要功能<sup>[32]</sup>。罗 格列酮是强效 PPARy 激动剂,在诱导液中加入罗格列酮后可 以观察到不管是 Cocktail group 还是 Beige group, PPARy 和 C/EBPα的基因表达都明显升高。随后,我们对两组不同分化时 间的细胞进行油红 O 染色,针对培养皿的染色情况进行定量 分析发现两组脂质生成并无差异,通过倒置显微镜观察分化过 程中脂滴的变化发现两组脂滴皆随着诱导的时间增加而增大, 因此不管从分子水平上还是细胞形态上皆证明了两种方法都 可以成功诱导 SVF 细胞向脂肪细胞分化。研究表明<sup>[3]</sup>,脂肪细 胞内环磷酸腺苷 (Cyclic adenosine monophosphate, cAMP)的 水平是米色脂肪细胞形成的重要因素,本研究在 Beige group 分化液和维持液中加入了 T3,T3 能够以配体的形式激活脂肪 细胞 cAMP-PKA 通路,以维持分化过程中细胞内 cAMP 的水 平。而在米色脂肪细胞中,PRDM16是促进 UCP1 转录的一个 关键转录因子,文献报道<sup>134</sup>PRDM16 可与 PPARy 结合共同促 进 UCP1 的转录,因此本研究在诱导液中加入了吲哚美辛,它 是一种非选择性环氧和酶 COX-1/COX2 抑制剂,具有部分激



Fig.5 Changes in UCP1 and PRDM16 mRNA and protein levels during differentiation induction in Cocktail and Beige groups Note: Data were expressed as  $x \pm SD$ , n=3. \*P < 0.05, \*\*P < 0.01, \*\*\*P < 0.001.

活 PPARγ和 PRDM16的作用。我们的结果显示,Beige group PRDM16和 UCP1的基因表达明显高于 Cocktail group,UCP1 是米色和棕色脂肪细胞的标志性蛋白,而对于白色脂肪来源的 UCP1 阳性的脂肪细胞,我们可以确定它就是米色脂肪细胞,值 得一提的是,在分化的第十天,Beige group 面积较小的脂滴所 占比例更高,平均脂滴面积也更小,并且出现了极小脂滴包绕 大脂滴的情况,这提示 UCP1 表达的升高可能促进了成熟脂肪 细胞中甘油三脂的消耗,进而促进了脂解,形成极小脂滴,该细 胞模型的脂解水平有待后续实验证实。

目前随着我国肥胖率也逐年攀升,人们迫切需要在解决肥 胖的科学问题上有重大突破,而目前针对产热脂肪的研究让我 们看到了希望,增加脂肪组织对能量的消耗是缓解肥胖及其并 发症的一个关键思路,而针对米色脂肪的研究是其中的一个重 要方向,本研究成功建立了一个米色脂肪细胞的分化及培养方 法,为针对产热脂肪以及相关代谢疾病的研究奠定了实验基础。

#### 参考文献(References)

- Ahmad B, Vohra M S, Saleemi M A, et al. Brown/beige adipose tissues and the emerging role of their secretory factors in improving metabolic health: The batokines[J]. Biochimie, 2021, 184: 26-39
- [2] Cheng L, Wang J, Dai H, et al. Brown and beige adipose tissue: A novel therapeutic strategy for obesity and type 2 diabetes mellitus[J]. Adipocyte, 2021, 10(1): 48-65
- [3] Berry D C, Jiang Y, Graff J M. Mouse strains to study cold-inducible beige progenitors and beige adipocyte formation and function[J]. Nat

Commun, 2016, 7: 10184

- Wang Q, Li H, Tajima K, et al. Post-translational control of beige fat biogenesis by prdm16 stabilization [J]. Nature, 2022, 609 (7925): 151-158
- [5] Zhang L, Hu S, Cao C, et al. Functional and genetic characterization of porcine beige adipocytes[J]. Cells, 2022, 11(4): 751
- [6] Li H, Zhang X, Huang C, et al. Fgf2 disruption enhances thermogenesis in brown and beige fat to protect against adiposity and hepatic steatosis[J]. Mol Metab, 2021, 54: 101358
- [7] Lee Y H, Petkova A P, Mottillo E P, et al. In vivo identification of bipotential adipocyte progenitors recruited by beta3-adrenoceptor activation and high-fat feeding[J]. Cell Metab, 2012, 15(4): 480-491
- [8] Long J Z, Svensson K J, Tsai L, et al. A smooth muscle-like origin for beige adipocytes[J]. Cell Metab, 2014, 19(5): 810-820
- [9] Oguri Y, Shinoda K, Kim H, et al. Cd81 controls beige fat progenitor cell growth and energy balance via fak signaling [J]. Cell, 2020, 182 (3): 563-577 e520
- [10] Cohen P, Kajimura S. The cellular and functional complexity of thermogenic fat[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2021, 22(6): 393-409
- [11] Bora P, Majumdar A S. Adipose tissue-derived stromal vascular fraction in regenerative medicine: A brief review on biology and translation[J]. Stem Cell Res Ther, 2017, 8(1): 145
- [12] Bunnell B A. Adipose tissue-derived mesenchymal stem cells [J]. Cells, 2021, 10(12): 3433
- [13] Shugart E C, Umek R M. Dexamethasone signaling is required to

establish the postmitotic state of adipocyte development [J]. Cell Growth Differ, 1997, 8(10): 1091-1098

- [14] Tchoukalova Y D, Hausman D B, Dean R G, et al. Enhancing effect of troglitazone on porcine adipocyte differentiation in primary culture: A comparison with dexamethasone[J]. Obes Res, 2000, 8(9): 664-672
- [15] Vishwanath D, Srinivasan H, Patil M S, et al. Novel method to differentiate 3t3 11 cells in vitro to produce highly sensitive adipocytes for a glut4 mediated glucose uptake using fluorescent glucose analog[J]. J Cell Commun Signal, 2013, 7(2): 129-140
- [16] Starling S. Obesity phenotypes: Explaining the unexplained [J]. Nat Rev Endocrinol, 2022, 18(12): 717
- [17] Vujovic N, Piron M J, Qian J, et al. Late isocaloric eating increases hunger, decreases energy expenditure, and modifies metabolic pathways in adults with overweight and obesity[J]. Cell Metab, 2022, 34(10): 1486-1498 e1487
- [18] Niemann B, Haufs-Brusberg S, Puetz L, et al. Apoptotic brown adipocytes enhance energy expenditure via extracellular inosine [J]. Nature, 2022, 609(7926): 361-368
- [19] Cero C, Lea H J, Zhu K Y, et al. Beta3-adrenergic receptors regulate human brown/beige adipocyte lipolysis and thermogenesis [J]. JCI Insight, 2021, 6(11): e139160
- [20] Shamsi F, Piper M, Ho L L, et al. Vascular smooth muscle-derived trpv1 (+) progenitors are a source of cold-induced thermogenic adipocytes[J]. Nat Metab, 2021, 3(4): 485-495
- [21] Song A, Dai W, Jang M J, et al. Low- and high-thermogenic brown adipocyte subpopulations coexist in murine adipose tissue [J]. J Clin Invest, 2020, 130(1): 247-257
- [22] Chen Y T, Yang Q Y, Hu Y, et al. Imprinted lncrna dio3os preprograms intergenerational brown fat development and obesity resistance[J]. Nat Commun, 2021, 12(1): 6845
- [23] Maliszewska K, Kretowski A. Brown adipose tissue and its role in insulin and glucose homeostasis[J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(4): 1530
- [24] Cui L, Mirza A H, Zhang S, et al. Lipid droplets and mitochondria are

anchored during brown adipocyte differentiation [J]. Protein Cell, 2019, 10(12): 921-926

- [25] Takahashi A, Adachi S, Morita M, et al. Post-transcriptional stabilization of ucp1 mrna protects mice from diet-induced obesity[J]. Cell Rep, 2015, 13(12): 2756-2767
- [26] Park S J, Shon D H, Kim J H, et al. Samm50 regulates thermogenesis of beige adipocytes differentiated from human adipose-derived stem cells by balancing mitochondrial dynamics[J]. Int J Mol Sci, 2022, 23 (12): 6764
- [27] Lagarde D, Jeanson Y, Barreau C, et al. Lactate fluxes mediated by the monocarboxylate transporter-1 are key determinants of the metabolic activity of beige adipocytes [J]. J Biol Chem, 2021, 296: 100137
- [28] Li H, Shen L, Zhang L, et al. Reduced beige adipogenic potential in subcutaneous adipocytes derived from obese chinese individuals[J]. Diabetes Metab Syndr Obes, 2020, 13: 2551-2562
- [29] Wang Q, Pan Y, Zhao B, et al. Mir-33a inhibits the adipogenic differentiation of ovine adipose-derived stromal vascular fraction cells by targeting sirt6[J]. Domest Anim Endocrinol, 2021, 74: 106513
- [30] Liu J, Liang Y, Qiao L, et al. Mir-128-1-5p regulates differentiation of ovine stromal vascular fraction by targeting the klf11 5'-utr [J]. Domest Anim Endocrinol, 2022, 80: 106711
- [31] Li P, Fan W, Xu J, et al. Adipocyte ncor knockout decreases ppargamma phosphorylation and enhances ppargamma activity and insulin sensitivity[J]. Cell, 2011, 147(4): 815-826
- [32] Pereira M J, Vranic M, Kamble P G, et al. Cdkn2c expression in adipose tissue is reduced in type ii diabetes and central obesity: Impact on adipocyte differentiation and lipid storage?[J]. Transl Res, 2022, 242: 105-121
- [33] Ikeda K, Yamada T. Adipose tissue thermogenesis by calcium futile cycling[J]. J Biochem, 2022, 172(4): 197-203
- [34] Kajimura S, Seale P, Spiegelman B M. Transcriptional control of brown fat development[J]. Cell Metab, 2010, 11(4): 257-262

#### (上接第1834页)

- [26] M Stoffel, R Stein, C V Wright, et al. Localization of human homeodomain transcription factor insulin promoter factor 1 (IPF1) to chromosome band 13q12.1[J]. Genomics, 1995, 28(1): 125-126
- [27] M A Feanny, S P Fagan, N Ballian, et al. PDX-1 expression is associated with islet proliferation in vitro and in vivo [J]. J Surg Res, 2008, 144(1): 8-16
- [28] S Liu, N Ballian, N S Belaguli, et al. PDX-1 acts as a potential

molecular target for treatment of human pancreatic cancer [J]. Pancreas, 2008, 37(2): 210-220

- [29] J Yu, S H Liu, R Sanchez, et al. PDX1 associated therapy in translational medicine[J]. Ann Transl Med, 2016, 4(11): 214
- [30] H Sakai, Y Eishi, X L Li, et al. PDX1 homeobox protein expression in pseudopyloric glands and gastric carcinomas [J]. Gut, 2004, 53(3): 323-330