

L6大鼠成肌细胞胰岛素信号传导通路中磷脂酰肌醇3激酶、蛋白激酶B和葡萄糖转运蛋白4的表达***

任小燕¹, 闫朝丽¹, 胡康洪², 苏秀兰³, 李彩萍¹, 张嘉玲³

Expressions of phosphoinositide-3-kinase, protein kinase B and glucose transporter 4 involved in insulin signal conduction pathway in L6 rat skeletal myoblasts

Ren Xiao-yan¹, Yan Zhao-li¹, Hu Kang-hong², Su Xiu-lan³, Li Cai-ping¹, Zhang Jia-ling³

Abstract

BACKGROUND: Angiotensin II (Ang II) can damage the insulin signal in the downstream signaling molecules and induce insulin resistance, but the specific mechanism remain poorly understood.

OBJECTIVE: To study the effects of Ang II on proteins involved in insulin signal conduction pathway including phosphoinositide-3-kinase (PI3K), protein kinase B (PKB) and glucose transporter 4 (GLUT4) in L6 rat skeletal myoblasts.

METHODS: L6 rat myoblasts cultured and differentiated myotubes and were divided into 4 groups: control group, insulin group, insulin+Ang II group and insulin+Ang II+H89 group according to Ang II or H-89 different interventions. PI3K and PKB mRNA were detected by RT-PCR; expressions of insulin resistance substance 1 (IRS1), P^{tyr}-IRS1 and GLUT4 (membrane protein) were detected by immunofluorescence.

RESULTS AND CONCLUSION: The expression of PI3K mRNA were increased in the insulin, insulin+Ang II and insulin+Ang II+H89 groups than that of the control group ($P < 0.05$). PKB total mRNA among the 4 groups was not significantly different ($P > 0.05$). Compared with the control group, expressions of IRS1, P^{tyr}-IRS1 and GLUT4 (membrane protein) were increased in the other three groups ($P < 0.05$). P^{tyr}-IRS1 and GLUT4 (membrane protein) expressions in the insulin+Ang II+H89 group was lower than those of the insulin group but higher than those of insulin+Ang II group ($P < 0.05$). The results demonstrated that: Ang II blocks insulin signaling downstream via JAK2-*PKA* signaling pathway, reduces GLUT4 expression and causes glucose transport hindrance, therefore, induces insulin resistance.

Ren XY, Yan ZL, Hu KH, Su XL, Li CP, Zhang JL. Expressions of phosphoinositide-3-kinase, protein kinase B and glucose transporter 4 involved in insulin signal conduction pathway in L6 rat skeletal myoblasts. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2011;15(2): 313-316. [http://www.crter.cn http://en.zglckf.com]

摘要

背景: 血管紧张素II可损伤胰岛素信号中的下游信号分子引起胰岛素抵抗,但其机制不清。

目的: 观察血管紧张素II对L6大鼠成肌细胞胰岛素信号传导通路中磷脂酰肌醇3激酶、蛋白激酶B和葡萄糖转运蛋白4的影响。

方法: L6细胞培养及诱导分化肌管,根据干预措施不同实验分为对照组、胰岛素组、胰岛素+血管紧张素II组及胰岛素+血管紧张素II+H89组。采用RT-PCR检测4组磷脂酰肌醇3激酶、蛋白激酶B mRNA表达,免疫荧光检测胰岛素受体底物1、酪氨酸磷酸化胰岛素受体底物1、葡萄糖转运蛋白4表达。

结果与结论: 胰岛素组、胰岛素+血管紧张素II组及胰岛素+血管紧张素II+H89组的磷脂酰肌醇3激酶 mRNA 表达均较对照组显著升高($P < 0.05$)。各组间蛋白激酶B mRNA 表达差异无显著性意义($P > 0.05$)。相比对照组,其余3组间胰岛素受体底物1、酪氨酸磷酸化胰岛素受体底物1和葡萄糖转运蛋白4(膜蛋白)表达均升高($P < 0.05$);胰岛素+血管紧张素II+H89组酪氨酸磷酸化胰岛素受体底物1和葡萄糖转运蛋白4表达低于胰岛素组但高于胰岛素+血管紧张素II组($P < 0.05$)。结果显示,血管紧张素II在骨骼肌细胞中通过JAK2-*PKA*通路引起胰岛素下游信号传导受阻,葡萄糖转运蛋白4表达减少,葡萄糖转运障碍,进而导致胰岛素抵抗。

关键词: 血管紧张素II; 胰岛素抵抗; 磷脂酰肌醇3激酶; 蛋白激酶B; 葡萄糖转运蛋白4

doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2011.02.030

任小燕, 闫朝丽, 胡康洪, 苏秀兰, 李彩萍, 张嘉玲. L6大鼠成肌细胞胰岛素信号传导通路中磷脂酰肌醇3激酶、蛋白激酶B和葡萄糖转运蛋白4的表达[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2011, 15(2):313-316.

[http://www.crter.org http://cn.zglckf.com]

0 引言

研究表明血管紧张素II(angiotensin II, Ang II)与骨骼肌细胞表面受体结合后,抑制了胰岛素受体底物1(insulin receptor substance 1, IRS1)酪氨酸磷酸化,降低磷脂酰肌醇3激酶(phosphoinositide-3-kinase, PI3K)的活性,蛋

白激酶B(protein kinase B, PKB)的丝氨酸磷酸化减少,进而抑制下游通路,葡萄糖转运蛋白4(glucose transporter 4, GLUT4)由胞浆转移至胞膜减少,从而使组织葡萄糖利用障碍^[1]。有关Ang II引起胰岛素抵抗机制研究涉及到胰岛素传导通路中多个信号分子,然而,具体机制目前不清楚,有研究表明Ang II与血管紧张素II 1型受体结合后,可抑制IRS1酪氨酸磷酸化,

¹Department of Endocrinology, ²Research Center of Clinical Medicine, Affiliated Hospital of Inner Mongolia Medical College, Hohhot 010059, Inner Mongolia Autonomous Region, China; ³Research Group of Viral RNA Structure and Function Relationships, Wuhan Institute of Virology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430040, Hubei Province, China

Ren Xiao-yan★, Studying for master's degree, Department of Endocrinology, Affiliated Hospital of Inner Mongolia Medical College, Hohhot 010059, Inner Mongolia Autonomous Region, China
violetrenxiaoyan@126.com

Correspondence to: Yan Zhao-li, Doctor, Professor, Department of Endocrinology, Affiliated Hospital of Inner Mongolia Medical College, Hohhot 010059, Inner Mongolia Autonomous Region, China
aliceyzl@126.com

Supported by: the Chunhui Plan, No. Z2007-1-01008*; Major Issue of Affiliated Hospital of Inner Mongolia Medical College, No. NYFYZD 201005*

Received: 2010-11-11
Accepted: 2010-12-04

内蒙古医学院附属医院, 1 内分泌科, 3 临床医学研究中心, 内蒙古自治区呼和浩特市 010059; 2 中国科学院武汉病毒研究所病毒 RNA 结构与功能关系学科学组, 湖北省武汉市 430040

任小燕★, 女, 1984 年生, 汉族, 内蒙古医学院在读硕士, 主要从事内分泌性高血压的研究。
violetrenxiaoyan@126.com

通讯作者: 闫朝丽, 女, 1968 年生, 博士, 教授, 内蒙古医学院附属医院内分泌科, 内蒙古自治区呼和浩特市 010059
aliceyzi@126.com

中图分类号: R318
文献标识码: B
文章编号: 1673-8225 (2011)02-00313-04

收稿日期: 2010-11-11
修回日期: 2010-12-04
(20101117019/MJ-Z)

抑制PI3K途径, 使GLUT4由胞浆转移至胞膜减少, 而使组织不能有效利用葡萄糖, 证实Ang II能导致胰岛素抵抗^[2]。冯晓丽等^[3]研究表明替米沙坦逆转Ang II对骨骼肌细胞葡萄糖吸收和抑制胰岛素信号转导PI3K途径的作用, 可能是其影响糖代谢的机制之一。也有研究表明在平滑肌细胞中, 如果使用JAK2-PKA抑制剂H89, 可显著改善由于Ang II引起的上游通路中传导信号的改变, 从而使有效利用葡萄糖增加^[4], 说明Ang II可能通过JAK2-PKA途径影响了胰岛素的作用, 进而影响胰岛素下游信号转导通路, 而在骨骼肌上尚无发现相关报道。实验以大鼠成肌细胞L6为研究对象, 观察Ang II和H89对胰岛素信号传导通路及对葡萄糖代谢的影响。

1 材料和方法

设计: 细胞学体外实验。

时间及地点: 实验于2009-07/12在内蒙古医学院附属医院临床医学研究中心完成。

材料: L6大鼠成肌细胞购自中国科学院细胞库。

试剂及仪器:

试剂及仪器	来源
RNA PCR Kit (AMV) Ver.3.0	TaKaRa 公司
H89, Ang II	Sigma 公司
PCR 仪	东胜创新生物科技有限公司
GEL-PRO 凝胶成像系统	北京亚力恩科技有限公司

实验方法

L6成肌细胞培养及传代: 将L6成肌细胞培养于体积分数10%胎牛血清的DMEM培养基中, 在体积分数5%CO₂, 37 °C 的CO₂细胞培养箱中培养, 待生长到80%时进行诱导分化, 将细胞培养到2%DMEM培养液中, 培养6~8 d, 细胞每隔2 d换液, 当肌管生长到60%~70%时, 收集细胞用于实验^[2]。

分组: 实验分对照组、胰岛素组、胰岛素+血管紧张素II、胰岛素+ Ang II +H89组。胰岛素+ Ang II组, 胰岛素+ Ang II +H89组分别用Ang II, Ang II +H89作用24 h, 然后Ins组、胰岛素+ Ang II组、Ins+ Ang II +H89均用胰岛素刺激(10 nmol/L)30 min培养1 d, Ang II终浓度10⁻⁷ mol/L, H89终浓度10 μmol/L, 对照组为正常培养的细胞, 实验重复3次。

总RNA提取: 诱导后的细胞处于80%~90%融合状态时用于实验, 加入Trizol 1 mL, 按照

Trizol Reagent说明书提取总RNA: Trizol, 氯仿、异丙醇、体积分数75%乙醇分离沉淀RNA, 最后于RNA 沉淀中加40 μL焦碳酸二乙酯(DEPC)处理的无菌去离子水常温干燥, 取2 μL RNA 分别测 RNA 吸光度(A)值(A_{260 nm}/A_{280 nm}=1.8~2.0), 用1%变性的琼脂糖凝胶电泳检测显示28S和18S rRNA 两条清晰带, 以证实所提RNA 的纯度和完整性, 将RNA置于-80 °C储存备用。

RT-PCR检测: 参照以往研究方法设计引物^[5], 引物PI3K, PKB及内对照基因三磷酸甘油醛脱氢酶(GAPDH) 引物由美国Invitrogen公司合成。

引物信息:

cDNA	引物序列(5'-3')	片断长度(bp)
GAPDH	上游: TTA CTC CTT GGA GGC CAT GTG GGC C	465
	下游: ACT GCC ACC CAG AAG ACT GTG GAT GG	
PI3K	上游: GAA GCC ATT GAG AAG AAA GGA C	427
	下游: GAG GTG TTC AGT ATT ATC AGA GC	
PKB	上游: GTA TCT GTC ATC AAA GAA GGC TG	302
	下游: TTC AGA CTG TTG GCT ACC ATC	

反应条件: 按TaKaRa RNA PCR Kit (AMV) Ver.3.0反转录试剂盒步骤操作, 包括反转录、PCR反应、电泳、凝胶成像等步骤。将mRNA反转录为cDNA, 用所得cDNA 在EDC-810 PCR 仪上扩增, 内参GAPDH, PI3K及PKB, 扩增体系为25 μL体系: 5 × PCR Buffer 5 μL, cDNA 模板5 μL, M13 Primer M4 0.2 μmol/L, 引物对各200 nmol/L, Taq 酶0.125 μL, PCR产物在2%琼脂糖凝胶(含终浓度0.15 mg/L溴化乙锭)上电泳, 经GEL-PRO凝胶成像系统对GAPDH和PI3K及PKB进行吸光度扫描, 以各待测基因与内参照GAPDH的A值之比(%)来表示各待检基因mRNA表达量。

免疫荧光检测: 将L6成肌细胞培养诱导分化成肌管, 实验分为4组, 分别用40 g/L多聚甲醛固定细胞30 min, PBS清洗3次, 冰冷Triton-X100(PBS稀释) 5 min, PBS洗3次, 0.5%BSA 30~60 min, pBS洗3次, 一抗IRS1, P^{br}-IRS1, GLUT4 多克隆抗体(1:100) 孵育1 h (0.1%BSA-PBS 稀释), PBS洗3次, 二抗(FITC)(1:100)孵育1 h, PBS洗3次。最后用

荧光显微镜采集图像, 荧光物质均易发生淬灭, 染色后的样品宜避光, 微图像采集分析系统分析图像。

主要观察指标: 血管紧张素 II 或 H89 作用后 L6 大鼠成肌细胞胰岛素信号传导通路中 PI3K, PKB mRNA 及 IRS1, P^{tyr}-IRS1 和 GLUT4 (membrane protein) 蛋白表达的变化。

统计学分析: 实验数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 由第一作者采用 SPSS 13.0 统计学软件进行统计学分析。多组间数据比较采用单因素方差分析, 组间多重均数的两两比较应用 SNK-q 检验, $P < 0.05$ 为差异有显著性意义。

2 结果

2.1 L6 大鼠成肌细胞经 Ang II 和 H89 作用后 PI3K 和 PKB mRNA 的表达 RT-PCR 法检测 3 组间 PI3K mRNA 表达均较对照组显著升高 ($P < 0.05$), 见图 1 和表 1。

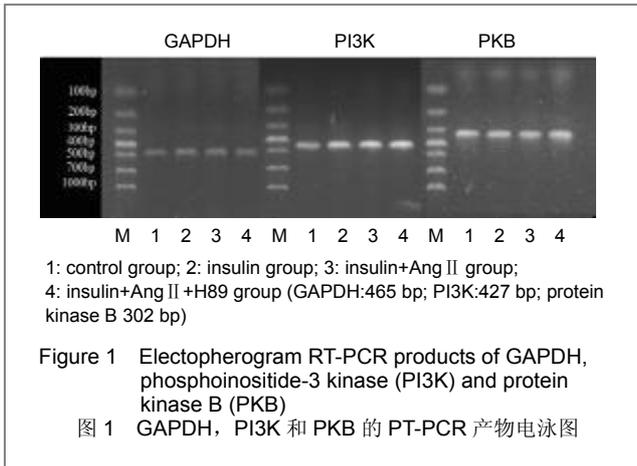


表 1 各组 L6 大鼠成肌细胞 PI3K 和 PKB mRNA 的表达
Table 1 Expressions of phosphoinositide-3 kinase (PI3K) and protein kinase B (PKB) mRNA in L6 rat myoblasts ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Group	PI3K	PKB
Control	1.77±0.26	1.84±0.32
Insulin	2.25±0.24 ^a	1.80±0.26
Insulin+Ang II	2.22±0.40 ^a	1.87±0.22
Insulin+Ang II+H89	2.27±0.36 ^a	2.00±0.39

Ang II: angiotensin II; ^a $P < 0.05$, vs. control group

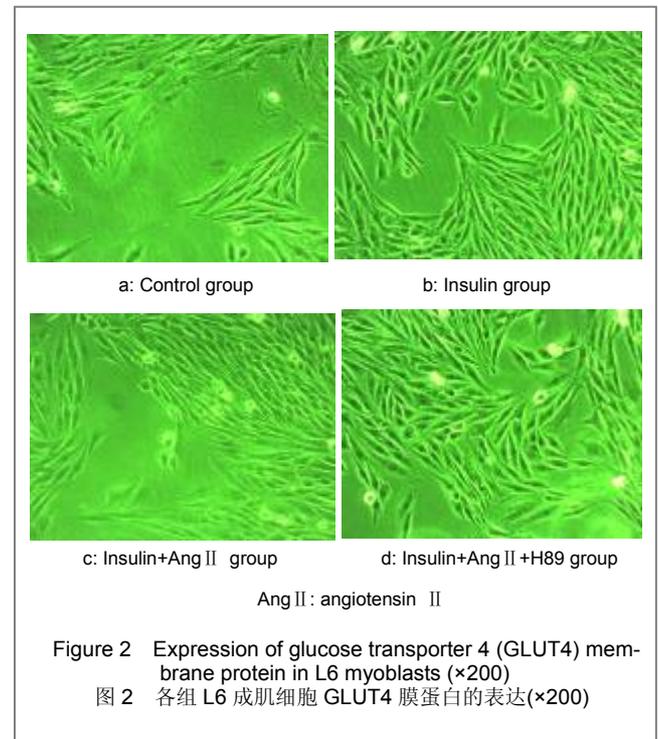
2.2 L6 大鼠成肌细胞经 Ang II 和 H89 作用后 IRS1, P^{tyr}-IRS1, GLUT4 蛋白的表达 Ins 组、Ins+Ang II 组、Ins+Ang+H89 组的 IRS1, P^{tyr}-IRS1, GLUT4 (膜蛋白) 表达较对照组显著升高 ($P < 0.05$), 而此 3 组间 IRS1 蛋白表达差异无显著性意义 ($P > 0.05$), Ins+Ang II 组 P^{tyr}-IRS1 和 GLUT4 较 Ins 组膜蛋白表达显著下降 ($P < 0.05$), Ins+Ang II+H89 组较 Ins+Ang II 组 P^{tyr}-IRS1、GLUT4 膜蛋白表达显著增加 ($P <$

0.05), 见表 2 和图 2。

表 2 免疫荧光检测 Ang II 和 H89 对 L6 成肌细胞 IRS1, P^{tyr}-IRS1 和 GLUT4 蛋白表达的影响
Table 2 Effects of angiotensin II (Ang II) and H89 on expressions of insulin receptor substance 1 (IRS1), P^{tyr}-IRS1 and glucose transporter 4 (GLUT4) membrane protein in L6 myoblasts ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Group	IRS1	P ^{tyr} -IRS1	GLUT4
Control	31.99±6.81 ^{abcd}	38.33±6.47 ^{abcd}	54.75±5.98 ^{abcd}
Insulin	20.19±4.79 ^a	21.62±3.61 ^{acd}	40.7±2.58 ^{acd}
Insulin+Ang II	22.37±8.64 ^a	31.23±3.45 ^{abd}	50.4±1.97 ^{abd}
Insulin+Ang II+H89	24.83±3.79 ^a	26.52±4.13 ^{abc}	45.71±1.32 ^{abc}

^a $P < 0.05$, vs. control group; ^b $P < 0.05$, vs. insulin group; ^c $P < 0.05$, vs. insulin+Ang II; ^d $P < 0.05$, vs. insulin+Ang II+H89 group



3 讨论

胰岛素抵抗是指胰岛素在周围组织摄取和清除葡萄糖的作用减低, 导致代偿性胰岛素分泌增多引起。肥胖、氧化应激、细胞内功能缺陷与微量元素缺乏引起胰岛素抵抗的主要原因^[6]。近年来胰岛素受体后信号转导通路机制逐渐受到学者的重视, 认为胰岛素受体后缺陷是胰岛素抵抗的主要机制之一^[7]。

也有文献报道^[8]在血管内皮细胞中, Ang II 可通过 cAMP 激活 JAK2, 进而激活 PKA, 导致 IRS1 酪氨酸磷酸化受阻, 进而影响下游通路中 PKB 等的表达, 致使葡萄糖利用障碍。Mario 等^[4]试验表明在血管平滑肌细胞中, 如果使用 JAK2-PKA 抑制剂 H-89, 可显著抑制胰岛素介导的胰岛素受体的酪氨酸磷酸化, 说明 Ang II 可通过

JAK2-PKA途径影响了胰岛素的作用。

实验采用Ang II 作用于L6成肌细胞, 观察到 Ins组、Ins+Ang II 组PI3K mRNA表达无显著性意义, 提示Ang II 参与诱导胰岛素抵抗的发生的机制可能为非PI3K依赖性或者是PI3K活性下降而非PI3KmRNA和量的改变引起的葡萄糖利用障碍。初永丽等^[9]研究显示多囊卵巢综合征胰岛素抵抗患者中PI3K mRNA及蛋白表达无下降, 而PI3K活性下降, 可能是引起胰岛素抵抗的原因之一。

实验还观察到Ang II 与H89作用于L6成肌细胞中后, 四组细胞间PKB mRNA表达无明显改变, 与刘慧霞等^[10]等报道的PKB蛋白水平无明显变化相一致, 考虑其可能在mRNA水平上表达无差异, 发生胰岛素抵抗只是由于PKB丝氨酸水平下降所致。这一结论需要在以后的实验中加以证实。PKB上游分子PI3K通过调节亚单位上的SH2与IRS1结合而被激活, 然后使PKB的丝氨酸残基磷酸化, 导致GLUT4从胞内易位至胞膜而促进葡萄糖的利用。Cho等^[11]利用同种系基因重组技术培育出一种无PKB β 靶基因鼠, 研究显示PKB作为胰岛素受体和PI3K的下游分子对胰岛素代谢、激素信号转导和葡萄糖转运起重要作用。蒋奕等^[12]研究表明大鼠创伤后致胰岛素抵抗的模型中, 创伤后大鼠葡萄糖利用率下降, IRS1酪氨酸磷酸化下降47%, PKB磷酸化亦相应下降48%。也有文献报道在胰岛素抵抗小鼠细胞中, 过氧亚硝酸化可以激活PKB磷酸化, 使组织有效利用葡萄糖^[13]。在L6肌细胞中, Alfredo Csibi等^[14]研究表明Ang II 作用后胰岛素信号传导通路后, 使GLUT4转位异常, 其机制是由于Ang II 使胰岛素介导的蛋白激酶B丝氨酸的磷酸化下降所致。王双等^[15]研究表明老年大鼠的PI3K/Akt信号通路障碍早于血糖异常出现, PKB的磷酸化障碍可能是早期干预的靶点。

采用免疫荧光检测IRS1, GLUT4和P^{tyr}-IRS1蛋白表达, 观察到加入Ang II 后, GLUT4(膜蛋白)、P^{tyr}-IRS1表达减少, 加入H89后, GLUT4(膜蛋白)、P^{tyr}-IRS1表达较加Ang II 组表达增加, 与Marrero等^[4]报道一致, 说明Ang II 抑制胰岛素介导的GLUT4的转位, 发生胰岛素抵抗。有研究表明在长期慢性运动刺激下GLUT4的含量增加, MacLean等^[16]在几种转基因鼠上发现运动增加GLUT4基因的表达^[17-20]。

实验结果表明Ang II 可在骨骼肌细胞中通过JAK2-PKA通路引起胰岛素下游信号传导受阻, 葡萄糖转运障碍, 进而导致胰岛素抵抗; 而胰岛素下游通路的受损可能是非PI3K依赖的GLUT4的转运障碍。

4 参考文献

[1] Henriksen EJ. Improvement of insulin sensitivity by antagonism of the renin-angiotensin system. *Am J Physiol Regulatory Integrative Comp Physiol*. 2007;293(3):974-980.
 [2] Wei Y, Sowers JR, Nistala R, et al. Angiotensin II-induced NADPH oxidase activation impairs insulin signaling in skeletal muscle cells. *J Biol Chem*. 2006;281(46): 35137-35146.

[3] Feng XL, Luo ZD, Ma LQ, et al. *Shanghai Yixue*. 2009;32(5): 418-420.
 冯晓丽, 罗志丹, 马丽群, 等. 替米沙坦阻断血管紧张素 II 作用促进骨骼肌细胞糖摄取[J]. *上海医学*. 2009,32(5):418-420.
 [4] Marrero MB, Fulton D, Stepp D, et al. Angiotensin II-induced insulin resistance and protein tyrosine phosphatases. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2004;4(11):2009-2013.
 [5] Park SY, Choi GH, Choi HI, et al. Depletion of mitochondrial DNA causes impaired glucose utilization and Insulin Resistance in L6 GLUT4myc myocytes. *Biological Chemistry*. 2005;280(11): 9855-9864.
 [6] Dou M, Ma AG. *Guowai Yixue (Weishengxue Fence)*. 2009;36(3): 174-179.
 窦梅, 马爱国. 胰岛素抵抗主要原因及机制的研究进展[J]. *国外医学 (卫生学分册)*. 2009,36(3):174-179.
 [7] Huang JY, Chen BJ. *Jilin Zongyiyao*. 2008;28(9):700-701.
 黄金阳, 陈宝瑾. 中医药抗胰岛素抵抗机制研究进展[J]. *吉林中医药*. 2008,28(9):700-701.
 [8] Ogihara T, Asano T, Ando K, et al. Angiotensin II-induced insulin resistance is associated with enhanced insulin signaling. *Hypertension*. 2002;40(6):872-879.
 [9] Chu YL, Qiu HY, Sun YY, et al. *Zonghua Fuchanke Zazhi*. 2006; 41(7):455-458.
 初永丽, 邱红玉, 孙永玉, 等. 多囊卵巢综合征和并胰岛素抵抗患者脂肪组织中磷脂酰肌醇3激酶的检测及其意义[J]. *中华妇产科杂志*. 2006;41(7):455-458.
 [10] Liu HX, Li LR. *Zhonghua Neifenmi Daixie Zazhi*. 2002;18(5): 391-394.
 刘慧霞, 李莉蓉. 高糖对大鼠脂肪细胞胰岛素信号蛋白磷酸化的影响[J]. *中华内分泌代谢杂志*. 2002,18(5):391-394.
 [11] Cho H, Mu J, Kim JK, et al. Insulin resistance and a diabetes mellitus-like syndrome in mice lacking the Protein kinase Akt2 (pKb β). *Science*. 2001;292(5522): 1728-1731.
 [12] Jiang Y, Wu GH. *Zhonghua Putongwaike Zazhi*. 2007;22(4): 284-287.
 蒋奕, 吴国豪. 大鼠创伤后胰岛素抵抗与胰岛素信号转导关系的研究[J]. *中华普通外科杂志*. 2007,22(4):284-287.
 [13] Duplain H, Sartori C, Dessen P, et al. Stimulation of peroxynitrite catalysis improves insulin sensitivity in high fat diet-fed mice. *Physiol*. 2008;586(16):4011-4016.
 [14] Alfredo Csibi, David Communi, Nathalie Müller, et al. Angiotensin II inhibits insulin-stimulated GLUT4 translocation and Akt activation through tyrosine nitration-dependent mechanisms. *PLoS ONE*. 2010;5(4):e10070.
 [15] Wang S, Meng ZM, Li XJ. *Sichuan Daxue Xuebao:Yixueban*. 2009;40(3):426-429.
 王双, 蒙张敏, 李秀钧. 老龄大鼠肝脏和骨骼肌胰岛素受体底物1及磷酸化蛋白激酶B的表达[J]. *四川大学学报:医学版*. 2009;40(3): 426-429.
 [16] MacLean PS, Zheng D, Jones JP, et al. Exercise-induced transcription of the muscle glucose transporter (GLUT4) gene. *Biochem Biophys Res Commun*. 2002;292(2): 409-414.
 [17] Bernard JR, Reeder DW, Herr HJ, et al. High-fat feeding effects on components of the CAP/Cbl signaling cascade in Sprague-Dawley rat skeletal muscle. *Metabolism*. 2006;55(2): 203-212.
 [18] Prada PO, Pauli JO, Ropelle ER, et al. Selective modulation of the CAP/Cbl pathway in the adipose tissue of high fat diet treated rats. *FEBS Lett*. 2006;580(20):4889-4894.
 [19] Liu L, Zhang Y, Chen N, et al. Upregulation of myocellular DGAT1 augments triglyceride synthesis in skeletal muscle and protects against fat-induced insulin resistance. *J Clin Invest*. 2007;117(6): 1679-1689.
 [20] Bernard JR, Saito M, Liao YH, et al. Exercise training increases components of the c-Cbl-associated protein/c-Cbl signaling cascade in muscle of obese Zucker rats. *Metabolism*. 2008; 57(6):858-866.

来自本文课题的更多信息—

基金资助: 课题受春晖计划(Z2007-1-01008)和内蒙古医学院第一附属医院重大课题(NYFYZD 201005)资助。

作者贡献: 实验设计为第一、第二作者, 干预实施为第一作者, 评估为第一、二、三、四作者。收集资料为第一作者、第一作者成文、第二、四、五、六作者审核, 第一、第二作者对文章负责。

致谢: 首先向导师闫朝丽教授表示感谢, 感谢李彩萍教授对我的指导。感谢内蒙古医学院临床医学研究中心的贾淑芹, 闫美荣, 刘桂荣, 苏依拉·其木格, 崔宏伟和苏丽娅老师的帮助。