

徐谷莉, 黎镜聪, 顾婷, 等. *FSTL1* 基因促进猪前体脂肪细胞分化成脂的机制 [J]. 华南农业大学学报, 2020, 41(1): 54-60.
XU Guli, LI Jingcong, GU Ting, et al. Mechanism of *FSTL1* gene promoting porcine preadipocyte differentiation and lipogenesis[J]. Journal of South China Agricultural University, 2020, 41(1): 54-60.

FSTL1 基因促进猪前体脂肪细胞分化成脂的机制

徐谷莉, 黎镜聪, 顾婷, 蒋方毅, 王 翀

(国家生猪种业工程技术研究中心/广东省动物基因组学与分子育种重点实验室/

华南农业大学 动物科学学院, 广东 广州 510642)

摘要:【目的】构建猪 *FSTL1* 基因过表达载体和 RNAi 载体, 探究 *FSTL1* 基因对猪前体脂肪细胞分化成脂的作用及机制。【方法】通过构建 *FSTL1* 基因过表达载体和 RNAi 载体, 在猪前体脂肪细胞中过表达、干扰 *FSTL1* 基因并诱导其分化, 测定细胞中甘油三酯含量以及脂肪细胞分化相关调节基因的 mRNA 表达量。【结果】成功克隆得到猪 *FSTL1* 基因 cDNA 序列, 其开放阅读框全长 924 bp, 并将序列提交到 GenBank, 登录号为 KF021281。成功构建猪 *FSTL1* 基因的过表达载体 pcDNA3.1-*FSTL1* 和 RNAi 载体 pSilencer 4.1-491 以及 pSilencer 4.1-530。过表达 *FSTL1* 基因促进了猪前体脂肪细胞中甘油三酯生成, 干扰 *FSTL1* 基因抑制了猪前体脂肪细胞中甘油三酯的生成。*FSTL1* 在猪前体脂肪细胞中使 *PPAR γ 2* 和 *AP2* 基因表达分别上调了 73% 和 113%, 使 *LPL*、*Adiponectin* 和 *FASN* 等基因表达分别下调了 44%、79% 和 16%。【结论】*FSTL1* 基因通过上调 *PPAR γ 2* 和 *AP2* 基因, 下调 *LPL*、*Adiponectin* 及 *FASN* 基因的表达, 促进猪前体脂肪细胞的分化, 提高猪前体脂肪细胞中甘油三酯的含量。

关键词: *FSTL1* 基因; 猪; 前体脂肪细胞; 分化成脂; 甘油三酯
中图分类号: S813.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-411X(2020)01-0054-07

Mechanism of *FSTL1* gene promoting porcine preadipocyte differentiation and lipogenesis

XU Guli, LI Jingcong, GU Ting, JIANG Fangyi, WANG Chong

(National Engineering Research Center for Breeding Swine Industry/Guangdong Provincial Key Laboratory of Agro-Animal Genomics and Molecular Breeding/College of Animal Science, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract: 【Objective】To construct the overexpression vector and RNAi vector for porcine *FSTL1* gene, and investigate the role and mechanism of *FSTL1* gene on the differentiation of porcine preadipocytes. 【Method】We constructed the overexpression vector and RNAi vectors of *FSTL1* gene, transfected the vectors into porcine preadipocytes, and then induced differentiation of preadipocytes. Triglyceride content and the mRNA expression levels of adipocyte differentiation-associated genes were measured. 【Result】The cDNA sequence of porcine *FSTL1* gene was successfully cloned, the length of open reading frame was 924 bp, and the sequence has been submitted to GenBank with the login ID of KF021281. The overexpression vector pcDNA3.1-*FSTL1* and the

RNAi vectors pSilencer 4.1-491 and pSilencer 4.1-530 of the porcine *FSTL1* gene were successfully constructed. Overexpressed *FSTL1* gene promoted triglyceride content in porcine preadipocytes, whereas triglyceride content was reduced after *FSTL1* gene was interfered. *FSTL1* up-regulated the mRNA expression level of *PPAR γ 2*, *AP2* genes by 73% and 113% respectively, and down-regulated *LPL*, *Adiponectin* and *FASN* genes by 44%, 79%, and 16% respectively. 【Conclusion】 The *FSTL1* gene promotes the differentiation of porcine preadipocytes through up-regulating the mRNA expression of *PPAR γ 2* and *AP2* genes and down-regulating *LPL*, *Adiponectin* and *FASN* genes, and increases triglyceride content in porcine preadipocytes.

Key words: *FSTL1* gene; porcine; preadipocyte; differentiation and lipogenesis; triglyceride

卵泡抑素相似蛋白 1(Follistatin-like protein 1, *FSTL1*) 基因, 又名转化生长因子 β 1 诱导蛋白 36(TGF- β 1-stimulated clone 36, *TSC-36*) 基因, 该基因编码的蛋白与卵泡抑素蛋白 (一种 BMP-4 结合蛋白) 相似, 最初是从小鼠成骨细胞系 MC3T3-E1 克隆而来^[1]。最近, *FSTL1* 被鉴定为一种新型炎症蛋白^[2], 能促进免疫细胞合成促炎细胞因子和趋化因子^[3-4]。*FSTL1* 在炎症疾病的动物模型中介导促炎症事件^[5-6], 尤其在胶原诱导的小鼠关节炎中^[7], 血清 *FSTL1* 的水平与关节炎的严重程度相关。*FSTL1* 在炎症条件下表达量升高并在治疗后表达量降低^[4]。也有研究发现 *FSTL1* 蛋白对心脏具有保护作用, 在心脏压力超负荷后能减轻心脏肥大症状^[8], 并可预防心脏缺血性损伤, 其机理可能是通过 AMP 依赖的蛋白激酶 (Adenosine 5'-monophosphate-activated protein kinase, AMPK) 抑制血管平滑肌细胞 (Vascular smooth muscle cell, VSMC) 的增殖和迁移, 而 *FSTL1* 能通过激活 AMPK 磷酸化, 抑制促炎因子表达引起的细胞凋亡^[8-9]。此外, 在肥胖者的血清中, *FSTL1* 的表达水平高于正常人血清中的水平^[10], 表明 *FSTL1* 可能是肥胖者炎症反应的潜在因子, 参与调控肥胖相关性脂肪组织慢性炎症和胰岛素抵抗的发生。刘锐等^[11]发现, *FSTL1* 基因在猪中编码的蛋白是除苏门答腊猩猩和黑猩猩外, 与人的 *FSTL1* 基因编码的蛋白相似性最高的蛋白序列, 另外, *FSTL1* 基因在 1 日龄长白猪的皮下脂肪组织中表达量较高, 但其在脂肪发育中的作用机制尚不清楚。

前体脂肪细胞的分化受到一系列转录因子的精细调控, 其成功分化为脂肪细胞的标志是脂滴的产生, 而脂肪细胞中的脂滴是由甘油三酯和胆固醇酯组成的^[12]。过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (Peroxisome proliferator-activated receptor gamma, *PPAR γ*) 和脂肪细胞蛋白 2(Adipocyte protein 2, *AP2*) 是前体脂肪细胞转化为脂肪细胞的重要标志

蛋白^[13]; 脂蛋白脂肪酶 (Lipoprotein lipase, *LPL*) 可以将甘油三酯分解成 2 种游离脂肪酸和 1 种单酰甘油分子^[14]; 脂联素 (*Adiponectin*) 在糖脂代谢中有着重要的作用, 主要参与脂肪酸分解^[15]; 脂肪酸合酶 (Fatty acid synthase, *FASN*) 的表达也会促进细胞甘油三酯的降解^[16-17]。

本研究以猪前体脂肪细胞为模型, 在体外过表达和干扰 *FSTL1* 基因, 利用甘油三酯测定试剂盒和 RT-qPCR 检测 *FSTL1* 基因对猪前体脂肪分化成脂的影响, 为进一步研究 *FSTL1* 基因在猪机体脂肪组织生长发育中的功能奠定基础, 为后续 *FSTL1* 基因对脂肪累积相关代谢疾病等研究提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1 日龄长白小公猪购自广州市良种猪场; 胎牛血清 (FBS)、胰酶等细胞培养试剂均购于 GIBCO 公司; Lipofectamine™ 3000 在 Invitrogen 公司购买; 氨苄青霉素 (Amp)、胰岛素 (INS) 等小分子试剂均购于 Sigma 公司; 大肠埃希菌 *Escherichia coli* DH5 α 感受态细胞购于天根生化科技有限公司; T4 DNA 连接酶、限制性内切酶购于 Fermentas (MBI) 公司; 质粒相关试剂盒均购于 Omega 公司; 反转录试剂和定量试剂购于 TaKaRa 公司; 组织甘油三酯酶法测定试剂盒购于普利莱基因技术有限公司。

1.2 猪前体脂肪细胞体外培养和诱导分化

将小猪处死后采集背部皮下脂肪组织。用含体积分数为 1% 双抗的 PBS 缓冲液清洗, 剪碎, 经 I 型胶原酶消化 1 h, 过 40 μ m 筛, 离心后用完全培养液吹打均匀, 将细胞悬液接种于底面积为 75 cm² 的培养瓶, 置于 37 $^{\circ}$ C、湿度为 95%、CO₂ 体积分数为 5% 的培养箱中培养, 24 h 后换液。

将猪前体脂肪细胞接板培养, 每 2 d 换液 1 次。待细胞生长融合 2 d 后, 用 DMEM / F12 培养

基+10%(φ)FBS+0.5%(φ) 双抗+5 $\mu\text{g/mL}$ INS+0.5 mmol/L 3-异丁基-1-甲基黄嘌呤 (IBMX)+1 $\mu\text{mol/L}$ 地塞米松 (DEX)+0.1 $\mu\text{mol/L}$ 罗格列酮 (RSG) 诱导分化 4 d, 每 2 d 换液 1 次, 随后用 DMEM/ F12+10%(φ) FBS+0.5%(φ) 双抗+5 $\mu\text{g/mL}$ INS+0.1 $\mu\text{mol/L}$ RSG 继续培养到第 8 天, 每 2 d 换液 1 次。

1.3 载体的构建

1.3.1 pcDNA3.1-FSTL1 载体构建 以 1 日龄长白公猪肺部组织 cDNA 为模板扩增过表达片段, 片段长度 1 342 bp, 上游引物: 5'-CCCACCTTCCC TTAGAGC-3'; 下游引物: 5'-TCACTGCCTGC ACTCCCT-3'。继而在引物两端添加酶切位点: 在上游引物的 5'端添加酶切位点 *EcoR* I (识别位点为 GAATTC) 及在下游引物 5'端添加酶切位点 *Xho* I

(识别位点为 CTCGAG), 酶切引物序列如下: 上游引物: 5'-CCGGAATTCCCCACCTTCCCTTAGAGC-3'; 下游引物: 5'-CCGCTCGAGTCACTGCCTGCACTCC CT-3'。用限制性内切酶 *EcoR* I 和 *Xho* I 将 *FSTL1* 基因回收片段及质粒 pcDNA3.1 (+) 双酶切后连接得到 pcDNA3.1-FSTL1 质粒。利用菌液 PCR、双酶切及测序进行质粒鉴定。

1.3.2 pSilencer 4.1-491 和 pSilencer 4.1-530 沉默子构建 首先利用在线设计软件 [<http://www.ambion.com>(Ambion 公司)], 根据干扰载体 pSilencer 4.1-CMV neo 中 RNAi 的设计原则设计 2 段 shRNA, 其目标干扰位点分别为 491:CCAGCGAATTTCTGAAA TT 和 530:CCATCAACATCACTACCTA, BLAST 后证实与 *FSTL1* 基因以外的其他基因无同源性。靶基因 *FSTL1* 的 shRNA 干扰片段序列如表 1 所示。

表 1 *FSTL1* 基因 shRNA Oligo 序列
Table 1 shRNA Oligo sequence of *FSTL1* gene

Oligo 名称 Oligo name	Oligo 序列 ¹⁾ (5'→3') Oligo sequence
shRNA-491 Top	<i>GATCC</i> <u>CCAGCGAATTTCTGAAATTTCAAGAGAAATTCAGAAATTCGCTGGAGA</u>
shRNA-491 Bottom	<i>AGCTTCT</i> <u>CCAGCGAATTTCTGAAATTTCTCTTGAAATTTTCAGAAATTCGCTGGG</u>
shRNA-530 Top	<i>GATCC</i> <u>CCATCAACATCACTACCTATTCAAGAGATAGGTAGTGATGTTGATGGCAA</u>
shRNA-530 Bottom	<i>AGCTTTG</i> <u>CCATCAACATCACTACCTATCTCTTGAAATAGGTAGTGATGTTGATGGG</u>

1) 斜体部分为酶切位点, 下划线部分为靶序列, 粗体部分为连接的loop结构
1) The italicized parts are the enzyme digestion sites, the underlined parts are the target sequences, and the bold parts are the connecting loop structures

Oligo 序列退火后形成 DNA 双链, 将 DNA 片段和 pSilencer 4.1-CMV neo 质粒用限制性内切酶 *Bam*H I 和 *Hind*III 进行酶切后, 用 T4 连接酶连接得到 pSilencer 4.1-491 和 pSilencer 4.1-530 载体。测序鉴定。

1.4 RT-qPCR

按 Invitrogen 的 Lipofectamine™ 3000 转染试剂说明书分别将质粒 pcDNA3.1、pcDNA3.1-FSTL1、pSilencer 4.1-NC、pSilencer 4.1-491 和 pSilencer 4.1-530 转染到猪前体脂肪细胞中, 24 h 后提取 RNA, RT-qPCR 检测 *FSTL1* 基因的表达。

根据猪 *FSTL1* 基因及 NCBI 网站上猪的基因编码序列, 应用 Primer Premier 5.0 软件, 按照 RT-qPCR 引物设计要求设计相应的引物, 由华大基因合成。各基因引物参数见表 2。RT-qPCR 结果采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法进行基因相对表达量分析。

1.5 数据统计与分析

利用 SPSS17.0 进行单因素方差分析, 结果取 3 个重复的平均值±标准误用于分析, 并采用 Duncan's

法和 *t* 检验进行差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 猪前体脂肪细胞中成功过表达 *FSTL1*

将重组质粒 pcDNA3.1-FSTL1 载体进行菌液 PCR 验证, 得到与预期大小相符合的 PCR 产物; 将阳性菌的重组质粒 pcDNA3.1-FSTL1 进行双酶切验证, 发现 *FSTL1* 基因片段已经成功插入到表达载体 pcDNA3.1(+); 将双酶切鉴定正确的 pcDNA3.1-FSTL1 质粒进行测序, 测序结果同样表明猪 *FSTL1* 基因过表达载体 pcDNA3.1-FSTL1 构建成功, 可应用于后续试验。将猪 *FSTL1* 基因序列提交到 GenBank, 登录号为 KF021281。

在体外培养猪前体脂肪细胞中转染过表达载体 pcDNA3.1-FSTL1, RT-qPCR 结果显示, 过表达组 *FSTL1* 基因的 mRNA 表达量显著升高至对照组的 24 倍, 说明在猪前体脂肪细胞中成功过表达 *FSTL1* 基因 (图 1)。

表 2 RT-qPCR 引物序列和扩增产物长度
Table 2 RT-qPCR primer sequences and product length

基因 Gene	引物序列(5'→3') Primer sequence	产物长度/bp Product length
<i>FSTL1</i>	F: ATCCATCTTTCAACCCTCC R: TCCCGTTCTGATTCTTTCC	156
<i>GAPDH</i>	F: TCCCGCCAACATCAAAT R: CACGCCCATCACAAACAT	163
<i>PPARγ1</i>	F: CATTTCGCATCTTTCAGGG R: GGACGCCATACTTTAGGA	134
<i>PPARγ2</i>	F: TGGTTGACACCGAGATGC R: TGGAGTGGAAATGCTGGA	137
<i>AP2</i>	F: GACAGGAAAGTCAAGAGCACCA R: CGGGACAATACATCCAACAGAGT	228
<i>LPL</i>	F: TGCCCTGTAACCTTCTACCCCA R: GGCAAGTGTCCTCAACTGTGTC	208
<i>Adiponectin</i>	F: TACCCCAGGCCGTGATGGCA R: ACCCGAGTCTCCAGGCCAC	213
<i>FASN</i>	F: GGGCCCAGCATCACCATAGACA R: GTTCGTGCCCCGATTGAGGAT	228

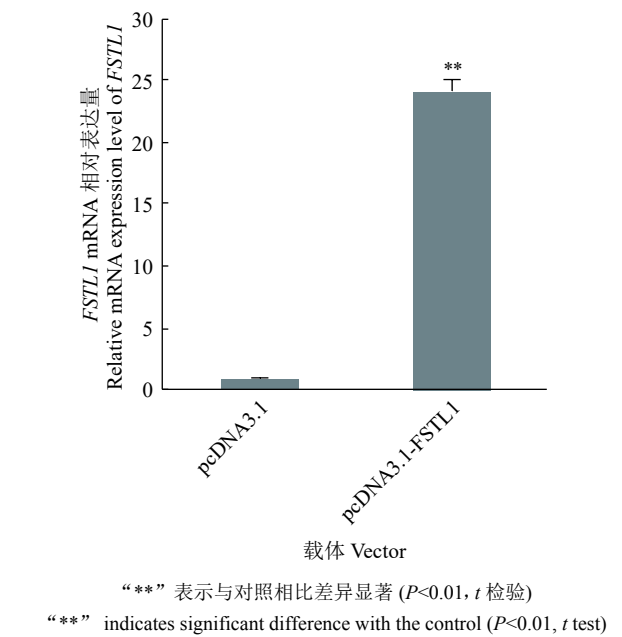


图 1 RT-qPCR 检测 *FSTL1* 基因过表达
Fig. 1 Overexpression of *FSTL1* gene detected by RT-qPCR

2.2 成功干扰猪前体脂肪细胞中 *FSTL1* 基因的表达

重组质粒 pSilencer 4.1-491 和 pSilencer 4.1-

530 经测序鉴定, 其 shRNA 序列与设计的序列完全一致, 表明猪 *FSTL1* 基因 RNAi 载体构建成功。

将阴性对照质粒 pSilencer 4.1-NC 及重组质粒 pSilencer 4.1-491 和 pSilencer 4.1-530 进行转染, 以未处理的猪前体脂肪细胞作为空白对照组。RT-qPCR 结果显示, 与空白对照组相比, 阴性对照质粒 pSilencer 4.1-NC 对 *FSTL1* 基因的相对表达量无影响; 重组质粒 pSilencer 4.1-491 和 pSilencer 4.1-530 组的 *FSTL1* 基因相对表达量与阴性对照组相比分别降低了 52% 和 49%, 差异显著, 表明重组质粒 pSilencer 4.1-491 和 pSilencer 4.1-530 成功干扰猪前体脂肪细胞中 *FSTL1* 基因的 mRNA 表达 (图 2), 其中重组质粒 pSilencer 4.1-491 干扰组 *FSTL1* 基因的 mRNA 相对表达量更低。

将干扰效率较高的重组质粒 pSilencer 4.1-491 转染猪前体脂肪细胞, RT-qPCR 检测结果显示, 与 0 h(即未转染时) 相比, 转染后 24、48、72 和 96 h 时 *FSTL1* 基因 mRNA 的相对表达量分别降低了 61%、52%、57% 和 69%, 与未转染时相比差异极显著, 表明重组质粒 pSilencer 4.1-491 能稳定干扰 *FSTL1* 基因的表达 (图 3)。

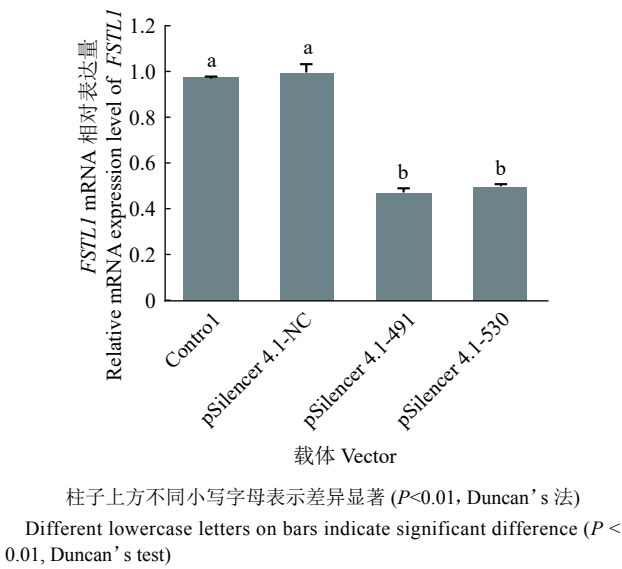


图 2 RNAi 载体干扰结果

Fig. 2 Results of RNAi vector interference

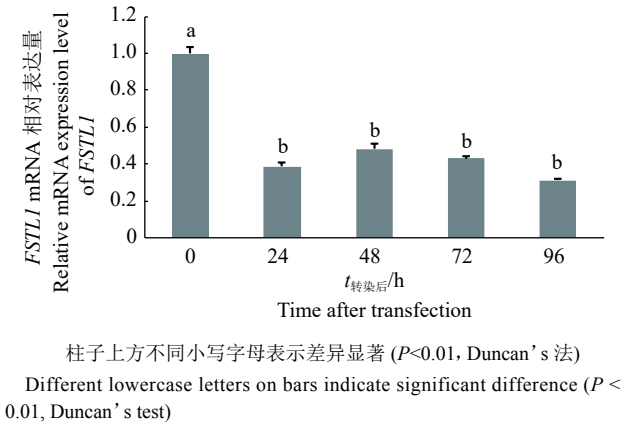


图 3 pSilencer 4.1-491 干扰后不同时间 *FSTL1* 基因的 mRNA 相对表达量
Fig. 3 Relative mRNA expression of *FSTL1* gene after pSilencer 4.1-491 interference

2.3 *FSTL1* 促进脂肪细胞甘油三酯蓄积

在猪前体脂肪细胞中过表达和干扰 *FSTL1* 基因 2 d, 诱导分化, 测定第 8 天细胞内甘油三酯含量。结果 (图 4) 显示, 过表达 *FSTL1* 基因显著提高细胞中甘油三酯的含量; 干扰后则显著降低细胞内甘油三酯的含量。表明, *FSTL1* 基因促进猪前体脂肪细胞内甘油三酯的蓄积。

2.4 *FSTL1* 促进脂肪细胞分化并抑制脂解相关基因表达

在猪前体脂肪细胞中转染过表达和干扰 *FSTL1* 载体 2 d, 诱导分化, 收集分化 2 d 后的样品, RT-qPCR 检测脂肪细胞分化相关调节基因 *PPAR γ 1*、*PPAR γ 2*、*AP2*、*LPL*、*Adiponectin* 及 *FASN* 的 mRNA 相对表达量。结果表明, 过表达 *FSTL1* 基因后,

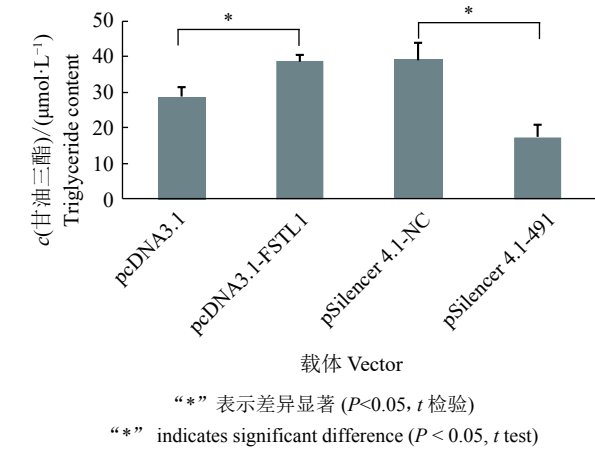
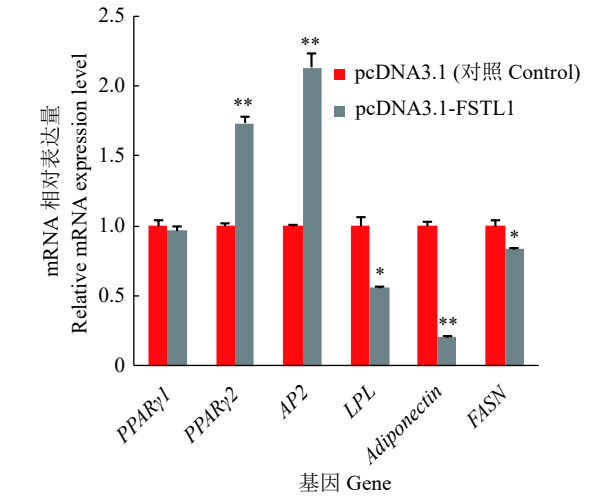


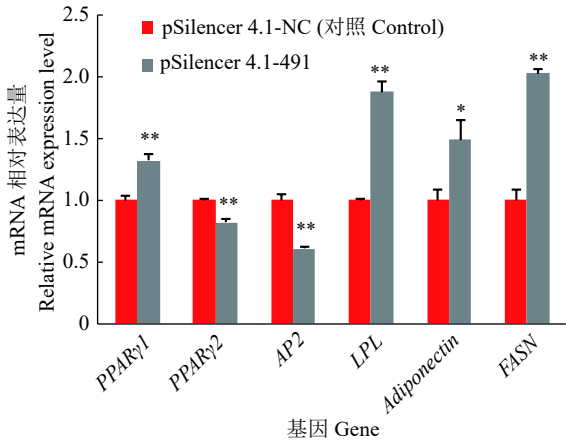
图 4 脂肪细胞甘油三酯含量
Fig. 4 Porcine adipocytes triglyceride content

PPAR γ 2 和 *AP2* 基因的 mRNA 表达量和对照组相比分别上调了 73% 和 113%, 差异极显著; *LPL* 与 *FASN* 基因的 mRNA 表达量和对照组相比下调了 44% 和 16%, 差异显著; *Adiponectin* 基因的 mRNA 表达量和对照组相比下调了 79%, 差异极显著 (图 5)。干扰 *FSTL1* 基因后, *PPAR γ 1*、*LPL*、*FASN* 基因的 mRNA 表达量和对照组相比分别上调了 32%、88%、103%, 差异极显著; *Adiponectin* 基因的 mRNA 表达量上调了 49%, 差异显著; 而 *PPAR γ 2* 和 *AP2* 基因的 mRNA 表达量和对照组相比下调了 18% 和 39%, 差异极显著 (图 6)。



"*" 和 "**" 分别表示与对照相比差异达到 0.05 和 0.01 的显著水平 (t 检验)
"*" and "**" indicate significant difference with the control at 0.05 and 0.01 significance levels, respectively (t test)

图 5 过表达 *FSTL1* 基因后脂肪细胞分化相关基因的 mRNA 相对表达量
Fig. 5 Relative mRNA expression of adipocyte differentiation related genes after overexpression of *FSTL1* gene



“*”和“***”分别表示与对照相比差异达到 0.05 和 0.01 的显著水平 (*t* 检验)

“*” and “***” indicate significant difference with the control at 0.05 and 0.01 significance levels, respectively (*t* test)

图 6 干扰 *FSTL1* 基因后脂肪细胞分化相关基因的 mRNA 相对表达量

Fig. 6 Relative mRNA expression of adipocyte differentiation related genes after interference of *FSTL1* gene

3 讨论与结论

2013 年 Fan 等^[10]发现,相较于野生型的正常小鼠来说,肥胖小鼠中 *FSTL1* 的 mRNA 和蛋白表达量都显著上调,说明 *FSTL1* 促进小鼠肥胖。但 2018 年 Horak 等^[18]根据对肥胖与非肥胖中欧人群调查研究,发现肥胖受试者的血浆中 *FSTL1* 糖蛋白水平显著低于非肥胖受试者, *FSTL1* 蛋白的表达量与肥胖明显呈负相关,这与之前 Fan 等^[10]的研究结果相反。Horak 等^[18]推断,因为他们采用的肥胖受试者是超级肥胖者 (Super obese),与 Fan 等^[10]的研究相比,被检测机体的肥胖程度不同,过度肥胖导致脂肪形成减少,因此无需持续表达 *FSTL1* 来促进甘油三酯的合成。本试验发现,过表达 *FSTL1* 基因能够促进猪前体脂肪细胞中甘油三酯合成,该结果与前期 Fan 等^[10]的研究结果类似,说明 *FSTL1* 能够促进机体脂肪的合成。

2010 年 Wu 等^[19]将 3T3-L1 小鼠前体脂肪细胞诱导分化后,2 d 内 *FSTL1* 基因的 mRNA 表达量显著上调,第 3 天 *FSTL1* 基因表达量开始下调, *PPAR γ* 和 *AP2* 基因的表达显著上调,故提出糖蛋白 *FSTL1* 的下调是前脂肪细胞向脂肪细胞成功转化的强有力标志。我们研究发现过表达 *FSTL1* 基因后,猪前体脂肪细胞诱导分化 2 d 后 *PPAR γ 2*和 *AP2* 基因的表达上调,与 Wu 等^[19]研究结果类似;同时在 2017 年有报道发现敲除 3T3-L1 前脂肪细胞中的 *FSTL1* 基因会损害分化^[20],本研究中干扰 *FSTL1* 基因后, *PPAR γ 2*和 *AP2* 基因表达下调,抑制分化,与

该报道结果一致,说明 *FSTL1* 有利于前体脂肪细胞分化成脂。

小鼠缺乏 *LPL* 会导致血液中甘油三酯含量的升高^[21];过表达 *Adiponectin* 基因会导致脂肪细胞分化受损,敲除 *Adiponectin* 基因则会促进脂肪细胞脂滴蓄积^[22];2009 年又有研究发现 *LPL* 和 *Adiponectin* 基因表达下调增强脂肪 3T3-L1 细胞分化^[23]。本研究过表达 *FSTL1* 基因和干扰 *FSTL1* 基因后,发现 *FSTL1* 基因使 *LPL* 和 *Adiponectin* 基因表达下调,该结果与前期 Bauche 等^[22]研究结果类似,说明 *FSTL1* 基因通过下调 *LPL* 和 *Adiponectin* 基因表达促进脂肪细胞分化。

较低的 *FASN* mRNA 表达水平有利于肥胖个体甘油三酯的转移、脂肪细胞脂质的积累和脂肪的存储^[24]。本研究通过过表达 *FSTL1* 基因和干扰 *FSTL1* 基因发现, *FSTL1* 基因能抑制 *FASN* 表达,与上述研究结果类似,说明 *FSTL1* 基因通过抑制 *FASN* 的表达促进脂肪的蓄积。

综上所述,本研究发现 *FSTL1* 基因可通过上调 *PPAR γ 2*和 *AP2* 基因,下调 *LPL*、*Adiponectin*、*FASN* 基因的表达,促进猪前体脂肪细胞的分化成脂,抑制细胞甘油三酯的降解,从而提高脂肪细胞中甘油三酯含量。

参考文献:

- [1] SHIBANUMA M, MASHIMO J, MITA A, et al. Cloning from a mouse osteoblastic cell line of a set of transforming-growth-factor-beta 1-regulated genes, one of which seems to encode a follistatin-related polypeptide[J]. *Eur J Biochem*, 1993, 217(1): 13-19.
- [2] 陈超群, 蒋涛. 卵泡抑素样蛋白 1 的研究进展 [J]. *医学综述*, 2018, 24(1): 40-45.
- [3] LEE S, KIM D, KYUNG K, et al. High circulating follistatin-like protein 1 as a biomarker of a metabolically unhealthy state[J/OL]. *Endoc J*, 2019. <https://doi.org/10.1507/endocrj.EJ18-0352>.
- [4] CHALY Y, HOSTAGER B, SMITH S, et al. Follistatin-like protein 1 and its role in inflammation and inflammatory diseases[J]. *Immunol Res*, 2014, 59(1/2/3): 266-272.
- [5] 陈媛媛, 陈亚芬, 孙学然, 等. 糖基化终末产物调控糖尿病合并动脉粥样硬化中 *FSTL1* 表达的机制研究 [J]. *国际心血管病杂志*, 2019, 46(1): 31-35.
- [6] GENG Y, DONG Y, YU M, et al. Follistatin-like 1 (Fstl1) is a bone morphogenetic protein (BMP) 4 signaling antagonist in controlling mouse lung development[J]. *P Natl Acad Sci USA*, 2011, 108(17): 7058-7063.
- [7] KAWABATA D, TANAKA M, FUJII T, et al. Ameliorative effects of follistatin-related protein/TSC-36/*FSTL1* on joint inflammation in a mouse model of arthritis[J]. *Arthritis Rheumat*, 2004, 50(2): 660-668.

- [8] CHALY Y, FU Y, MARINOV A, et al. Follistatin-like protein 1 enhances NLRP3 inflammasome-mediated IL-1 β secretion from monocytes and macrophages[J]. *Eur J Immunol*, 2014, 44(5): 1467-1479.
- [9] MIYABE M, OHASHI K, SHIBATA R, et al. Muscle-derived follistatin-like 1 functions to reduce neointimal formation after vascular injury[J]. *Cardiovasc Res*, 2014, 103(1): 111-120.
- [10] FAN N, SUN H, WANG Y, et al. Follistatin-like 1: A potential mediator of inflammation in obesity[J]. *Mediat Inflamm*, 2013, 2013: 752519.
- [11] 刘锐, 黎镜聪, 侯连杰, 等. 猪 *FSTL1* 基因克隆、鉴定及组织 mRNA 表达水平分析 [J]. 黑龙江畜牧兽医, 2017(21): 9-12.
- [12] POOL R. Fat: Fighting the obesity epidemic[M]. Oxfordshire: Oxford University Press, 2001: 68.
- [13] BAXA C, SHA R, BUELT M, et al. Human adipocyte lipid-binding protein: Purification of the protein and cloning[J]. *Biochemistry*, 1989, 28(22): 8683-8690.
- [14] MEAD J, IRVINE S, RAMJI, D. Lipoprotein lipase: Structure, function, regulation, and role in disease[J]. *JMM*, 2002, 80(12): 753-769.
- [15] GAO Y, LI F, ZHANG Y, et al. Silencing of ADIPOQ efficiently suppresses preadipocyte differentiation in porcine[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2013, 31(2/3): 452-461.
- [16] RUAN H, HACOEN N, GOLUB T, et al. Tumor necrosis factor- α suppresses adipocyte-specific genes and activates expression of preadipocyte genes in 3T3-L1 adipocytes: Nuclear factor- κ B activation by TNF- α is obligatory[J]. *Diabetes*, 2002, 51(5): 1319-1336.
- [17] RUAN H, MILES P, LADD C, et al. Profiling gene transcription *in vivo* reveals adipose tissue as an immediate target of tumor necrosis factor- α : Implications for insulin resistance[J]. *Diabetes*, 2002, 51(11): 3176-3188.
- [18] HORAK M, KURUCZOVA D, ZLAMAL F, et al. Follistatin-like 1 is downregulated in morbidly and super obese central-European population[J]. *Dis Markers*, 2018, 2018: 1-7.
- [19] WU Y, ZHOU S L, SMAS C M. Downregulated expression of the secreted glycoprotein follistatin-like 1 (Fstl1) is a robust hallmark of preadipocyte to adipocyte conversion[J]. *Mech Develop*, 2010, 127(3/4): 183-202.
- [20] PRIETO-ECHAGUE V, LODH S, COLMAN L, et al. BBS4 regulates the expression and secretion of FSTL1, a protein that participates in ciliogenesis and the differentiation of 3T3-L1[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 9765.
- [21] OKUBO M, HORINISHI A, SAITO M, et al. A novel complex deletion-insertion mutation mediated by Alu repetitive elements leads to lipoprotein lipase deficiency[J]. *Mol Genet Met*, 2007, 92(3): 229-233.
- [22] BAUCHE B, EI M, POTTIER A, et al. Overexpression of adiponectin targeted to adipose tissue in transgenic mice: Impaired adipocyte differentiation[J]. *Endocrinology*, 2007, 148(4): 1539-1549.
- [23] CHOI S, CHA B, LEE Y, et al. Magnolol enhances adipocyte differentiation and glucose uptake in 3T3-L1 cells[J]. *Life Sci*, 2009, 84(25/26): 908-914.
- [24] HUDGINS L, BADAY A, HELLERSTEIN M, et al. The effect of dietary carbohydrate on genes for fatty acid synthase and inflammatory cytokines in adipose tissues from lean and obese subjects[J]. *J Nutr Biochem*, 2008, 19(4): 237-245.

【责任编辑 庄 延】