

## 代谢综合征大鼠肠系膜脂肪组织中肾素-血管紧张素系统的变化<sup>△</sup>

马丽群, 张莉莉, 张雅萍, 王利娟, 李志冰, 曹廷兵, 刘道燕<sup>#</sup>, 祝之明

(第三军医大学 大坪医院高血压内分泌科, 重庆 400042)

**摘要:** **目的** 探讨代谢综合征 (MS) 大鼠肠系膜脂肪组织中肾素-血管紧张素系统 (RAS) 变化及拮抗血管紧张素 II (Ang II) 对脂肪细胞成脂作用的影响。**方法** 30 只 8 周龄健康雄性 Wistar 大鼠随机分为 MS 组和正常对照组, 分别给予高脂饲料和普通饲料喂养 24 周, 造成 MS 模型后, 取出肠系膜脂肪组织, 应用 RT-PCR 和 Western blot 法检测脂肪组织中 mRNA 和蛋白质表达。同时, 将前脂肪细胞 (3T3-L1) 进行诱导分化, 油红 O 染色观察脂滴形成情况, 比率荧光倒置显微镜检测脂肪细胞内钙水平 ( $[Ca^{2+}]_i$ )。给予 Ang II 刺激, 并观察血管紧张素 II 受体阻断剂 (ARB) 坎地沙坦或血管紧张素转换酶抑制剂 (ACEI) 巯甲丙脯酸对脂滴形成及细胞内钙水平 ( $[Ca^{2+}]_i$ ) 的作用。**结果** MS 大鼠肠系膜脂肪组织的血管紧张素原 (AGT)、血管紧张素转换酶 (ACE) 和血管紧张素 II 受体亚型 1 (AT1R) 表达均显著高于正常对照组 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ); 未诱导前脂肪细胞和经 Ang II 处理的成熟脂肪细胞未见明显脂滴形成, 给予 ACEI 和 ARB 的成熟脂肪细胞有明显的脂滴形成; Ang II 可致前脂肪细胞内钙水平 ( $[Ca^{2+}]_i$ ) 显著增加 ( $P < 0.01$ ), 巯甲丙脯酸和坎地沙坦可阻断其效应, 而对成熟脂肪细胞, Ang II 介导的细胞内钙水平 ( $[Ca^{2+}]_i$ ) 升高受到抑制, 但坎地沙坦能恢复 Ang II 的效应, 巯甲丙脯酸与 Ang II 组比较细胞内钙水平 ( $[Ca^{2+}]_i$ ) 差异无显著性。**结论** 代谢综合征大鼠肠系膜脂肪组织中 RAS 系统处于激活状态, 拮抗 RAS 能恢复脂肪细胞的基本功能。

**关键词:** 肾素-血管紧张素系统; 血管紧张素 II; 3T3-L1 前脂肪细胞; 脂肪组织; 细胞内钙

**中图分类号:** R589 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-503X(2006)06-0770-06

## Renin-Angiotensin System in Mesenteric Adipose Tissues in Rats with Metabolic Syndrome<sup>△</sup>

MA Li-qun, ZHANG Li-li, ZHANG Ya-ping, WANG Li-juan, LI Zhi-bing,  
CAO Ting-bing, LIU Dao-yan<sup>#</sup>, ZHU Zhi-ming

(Department of Hypertension and Endocrinology, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400042, China)

**ABSTRACT: Objective** To investigate the renin-angiotensin system (RAS) in mesenteric adipose tissues and effect of angiotensin II on adipocyte differentiation. **Methods** Thirty normal 8-week-old male Wistar rats were divided into groups on normal diet and high-fat diet. The rats on high-fat diet for 24 weeks developed the metabolic syndrome respectively. The mRNA and protein expression of mesenteric adipose tissue were measured by reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) and Western blot. Lipid drop in 3T3-L1 preadipocytes and mature adipocytes were observed using oil-red O staining. The fluorescence microscope was used to detect cytosolic-free calcium in 3T3-L1 preadipocytes and mature adipocytes. **Results** The expressions of angiotensinogen, angiotensin converting enzyme, angiotensin II receptor type 1 in mesenteric adipose tissue were significantly increased in rats with metabolic syndrome compared with those in rats on normal diet ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ). After administration of angiotensin II, no lipid droplet in 3T3-L1 preadipocytes and adipocytes were observed, however, intensive lipid droplet in adipocyte was found after administration of

<sup>△</sup>基金项目: 国家自然科学基金 (30270537) Supported by the National Natural Sciences Foundation of China (30270537); <sup>#</sup> Corresponding author Tel: 023-68757745, E-mail: ldy\_liudaoyan@yahoo.com

captopril and candesartan. Angiotensin II increased the intracellular-free calcium concentration in preadipocytes ( $P < 0.01$ ), which was blocked by captopril and candesartan; in contrast, angiotensin II effect was blunt in mature adipocyte. Captopril and candesartan partially recovered the angiotensin II-mediated increase of cytosolic-free calcium. **Conclusion** RAS in the mesenteric adipose tissues is active in rats with metabolic syndrome, and antagonization of RAS can recover the lipogenesis of adipocyte.

**Key words:** renin-angiotensin system; angiotensin II; 3T3-L1 preadipocyte; adipose tissue; intracellular  $Ca^{2+}$  level

*Acta Acad Med Sin*, 2006, 28(6): 770-775

肾素-血管紧张素系统 (renin-angiotensin system, RAS) 在调节机体血压及水、电解质平衡中发挥重要作用, 有关 RAS 在心血管病和糖尿病中的作用, 及应用血管紧张素转换酶抑制剂 (angiotensin converting enzyme inhibitor, ACEI) 和血管紧张素 II 受体阻断剂 (angiotensin II receptor blocker, ARB) 治疗心血管病和糖尿病已有大量报道<sup>[1,2]</sup>。除循环 RAS 外, 局部组织如心脏、血管壁、脑、肾等均具有独立的 RAS 系统, 后者参与了心肾血管的重塑和功能调节。近年发现脂肪组织中也有局部 RAS 系统的存在<sup>[2-4]</sup>, 但脂肪的 RAS 在各种生理和病理状态下的作用仍不十分清楚, 尤其代谢综合征 (metabolic syndrome, MS) 时脂肪中的 RAS 有何变化, 拮抗血管紧张素 II (angiotensin II, Ang II) 对脂肪细胞功能的影响报道较少。本研究主要探讨 MS 大鼠肠系膜脂肪组织 RAS 的变化, 及 Ang II、ACEI 和 ARB 对脂肪细胞功能的影响, 旨在为 MS 的治疗提供新的依据。

## 材料和方法

**材料** Wistar 大鼠由第三军医大学附属大坪医院动物实验中心提供。3T3-L1 前脂肪细胞购自中国医学科学院上海细胞生物研究所; 3-异丁基-1-甲基黄嘌呤购自美国 Sigma 公司; 基因工程人胰岛素为美国 Lilly 公司产品; 血管紧张素 II 受体亚型 1 (angiotensin II receptor type 1, AT1R)、血管紧张素转化酶 (angiotensin converting enzyme, ACE)、 $\beta$ -actin 抗体购自北京中山金桥生物公司。PCR 引物由上海博亚生物公司合成。

**动物处理与分组** 8 周龄健康雄性 Wistar 大鼠 30 只随机分为 MS 组 ( $n = 15$ ) 和正常对照组 ( $n = 15$ ), 分别予以高脂饲料和普通饲料喂养, 饲料的具体配制方法见文献 [5]。大鼠分笼饲养, 自由进食水, 昼夜采光, 室温 20 ~ 24℃, 喂养时间 24 周。MS 成模标准参照人的 MS 标准<sup>[6-11]</sup>: 即体重大于正

常对照组 20% 的肥胖大鼠, 并符合以下两项标准者: 收缩压 (systolic blood pressure, SBP)  $\geq 130$  mmHg (17.74 kPa), 舒张压 (diastolic blood pressure, DBP)  $\geq 85$  mmHg (11.6 kPa), 或胰岛素抵抗/糖耐量减低 (部分动物行高胰岛素-正常葡萄糖钳夹试验和糖耐量试验)、空腹血糖升高、高甘油三酯 (triglyceride, TG) / 高密度脂蛋白胆固醇 (high-density lipoprotein cholesterol, HDL-C) 血症 (与正常对照组比较差异具有显著性)。

**细胞分组培养与处理** 3T3-L1 前脂肪细胞用 DMEM 培养基 (含胎牛血清 10%) 常规培养; 按照下述方法进行诱导分化: 细胞生长至完全融合 2 d 后, 于培养基中加入 3-异丁基-1-甲基黄嘌呤 (500  $\mu$ mol/L)、胰岛素 (5  $\mu$ g/ml) 和地塞米松 (1  $\mu$ mol/L) 诱导 3 d 后, 换含胰岛素 (5  $\mu$ g/ml) 的新鲜 DMEM 培养基继续培养 5 d。将细胞分为未诱导 (3T3-L1) 和诱导成熟脂肪细胞两组, 每组再进一步分为: Con 组 (对照组); Ang II 组 (DMEM 培养基中加入 Ang II, 浓度为  $10^{-6}$  mol/L); Ang II + ARB 组 (DMEM 培养基中加入 Ang II 和 ARB 坎地沙坦, 终浓度  $10^{-6}$  mmol/L); Ang II + ACEI 组 (DMEM 培养基中加入 Ang II 和 ACEI 巯甲丙脯酸, 终浓度  $10^{-6}$  mmol/L); 上述各组的处理时间均为 8 d。处理 8 d 后应用 0.4% 台盼兰溶液检测细胞活力。

**RT-PCR** 按照文献 [12] 所述方法提取组织 RNA。引物序列见表 1。PCR 反应条件: 94℃ 预变性 5 min, 94℃ 变性 50 s, 退火 (温度见表 1) 50 s, 72℃ 延伸 1 min, 循环 32 次, 72℃ 再延伸 8 min。产物经琼脂糖凝胶电泳, 紫外荧光灯下观察, 凝胶成像系统分析光密度值 (optical density, OD)。每个基因的表达强度用其 mRNA 光密度值与内参照 GAPDH 光密度值的比值表示。

**放射免疫法测定肾素、Ang II 水平** 脂肪组织中加入 1 ml 0.05 mol/L 三氯乙酸, 匀浆后 4℃、3 500 r/min, 离心 5 min, 转子半径为 6 cm, 取上清置于含

0.3 mol/L EDTA 50  $\mu$ l、0.34 mol/L 8-羟基喹啉 50  $\mu$ l 及 0.32 mol/L 2-巯基乙醇 25  $\mu$ l 的试管中，混匀后，

4 $^{\circ}$ C、15 000 r/min 离心 15 min，转子半径为 6 cm，取上清用放射免疫法测定 Ang II 及肾素含量。

表 1 RT-PCR 引物序列

Table 1 Primers sequences used for quantification of gene expression by RT-PCR

Gene		Primers sequences	Annealing temperature ( $^{\circ}$ C)	Product size (bp)
AGT	Sense	5'-TTCAGGCCAAGACCTCCC-3'	53	312
	Anti-sense	5'-CCAGCCGGGAGGTGCAGT-3'		
AT1R	Sense	5'-GCATGTTCCCTTTCCTTATC-3'	55	385
	Anti-sense	5'-GCTTGAACCTGTCACTCCACC-3'		
ACE	Sense	5'-CAGCTTCATCATCCAGTTCC-3'	53	407
	Antisense	5'-CTAGGAAGAGCAGCACCCAC-3'		
GAPDH	Sense	5'-ACGGCAAATTCAACGGCACAGTCA-3'	57	231
	Antisense	5'-TGGGGGCATCGGCAGAAGG-3'		

RT-PCR: reverse transcription-polymerase chain reaction; AGT: angiotensinogen; AT1R: angiotensin II receptor type 1; ACE: angiotensin converting enzyme; GAPDH: glyceraldehyde phosphate dehydrogenase

**Western blot 方法** 常规方法提取脂肪组织蛋白并精确定量。蛋白质经聚丙烯酰胺凝胶电泳后，电转移至 PVDF 膜上。5% 脱脂奶粉封闭 4 $^{\circ}$ C 过夜，分别加入 1:1 000 稀释的 ACE 和 AT1R 抗体，37 $^{\circ}$ C 孵育 4 h，再加入相应的二抗 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜。化学发光法显色，凝胶成像系统进行图像分析。

**油红 O 染色** 各组细胞用 PBS 洗涤 3 次，10% 多聚甲醛固定 15 min。去除多聚甲醛，加入 0.5% 油红 O 工作液（异丙醇配制），闭光染色 30 ~ 60 min。60% 异丙醇稍洗去多余染液，蒸馏水洗涤。镜下观察。

**细胞内游离钙的测定** 细胞接种于 2 cm  $\times$  2 cm 玻片上，待细胞融合后换用无血清培养基，去除培养液，PSS 洗涤 2 次；加入 4  $\mu$ mol/L 特异性钙敏感指示剂 Fura2/AM，37 $^{\circ}$ C 孵箱避光孵育 30 min，PTI-104B 比率荧光倒置显微镜下观察，荧光激发波长为 340/380 nm，发射波长为 510 nm。以细胞内游离钙与结合钙荧光强度之比（Ratio）反映细胞内钙信号的变化，计算升高幅度（升高幅度 = 最高值 - 基础值），每组至少 5 个样本。

**统计学处理** 采用 SPSS10.0 统计软件分析。实验数据以均数  $\pm$  标准误表示，两组间比较采用 *t* 检验，多组间比较采用方差分析，*P* < 0.05 为差异具有显著性。

## 结 果

**大鼠 MS 成模情况** 与正常对照组比较，MS 组大鼠呈现明显的腹型肥胖，体重增加、血压、血糖、

血浆胰岛素、血清甘油三酯水平均显著升高（*P* < 0.01），糖耐量试验示糖耐量减低，高胰岛素-正常血糖钳夹试验显示 MS 组大鼠有明显的胰岛素抵抗，表现出典型的人类 MS 特征（表 2）。

表 2 MS 组大鼠基本特征

Table 2 Basic data of MS rats

Item	MS group	NC group
Weight (g)	557 $\pm$ 57 *	442 $\pm$ 26
SBP (mmHg)	152 $\pm$ 11 *	132 $\pm$ 6
DBP (mmHg)	108 $\pm$ 16 *	85 $\pm$ 7
FPG (mmol/L)	5.5 $\pm$ 0.4 *	4.6 $\pm$ 0.3
FINS (mU/L)	64.8 $\pm$ 28.50 *	35.6 $\pm$ 21.0
GIR (mg $\cdot$ kg $^{-1}$ $\cdot$ min $^{-1}$ )	1.26 $\pm$ 0.82 *	7.03 $\pm$ 1.68
TG (mmol/L)	1.48 $\pm$ 0.4 *	1.08 $\pm$ 0.35

1 mmHg = 0.133 kPa

SBP: systolic blood pressure; DBP: diastolic blood pressure; FPG: fasting blood glucose; FINS: fasting insulin; GIR: glucose input rate; TG: tri-glyceride; MS: metabolic syndrome; NC: normal control

\* *P* < 0.01 compared with NC group

**大鼠肠系膜脂肪组织中 RAS 的变化** MS 大鼠肠系膜脂肪组织中 AGT、ACE 和 AT1R 的 mRNA 表达显著高于正常对照组（*P* < 0.05，*P* < 0.01）（图 1）；ACE 和 AT1R 的蛋白质表达显著高于正常对照组（*P* < 0.05，*P* < 0.01）（图 2）。

**大鼠肠系膜脂肪组织中 Ang II 水平及肾素活性** MS 大鼠肠系膜脂肪组织匀浆中 Ang II 浓度（454.8  $\pm$  47.1）ng/L 显著高于正常对照组的（243.8  $\pm$  17.6）ng/L（*P* < 0.05）；而肾素活性 MS 组及正常对照组均未检测出。

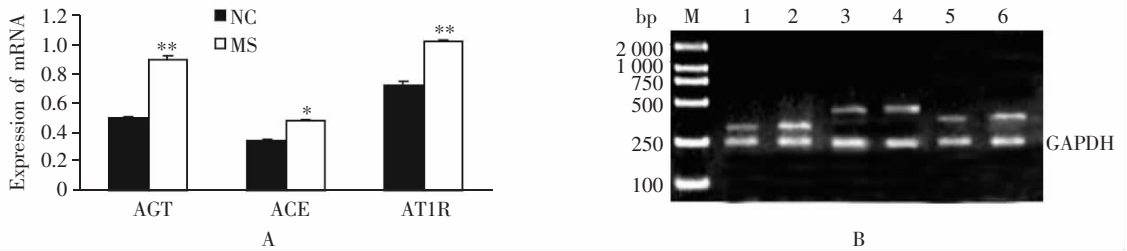


图1 大鼠肠系膜脂肪组织中RAS各组分的基因表达

Fig 1 mRNA expressions of principal components of RAS in mesenteric adipose tissues of rats

A. levels of mRNA expressions of principal components of RAS; B. result of electrophoresis by reverse transcription-polymerase chain reaction

M. Marker; 1. NC-AGT; 2. MS-AGT; 3. NC-ACE; 4. MS-ACE; 5. NC-AT1R; 6. MS-AT1R

RAS: renin-angiotensin system;

\*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$  compared with NC group

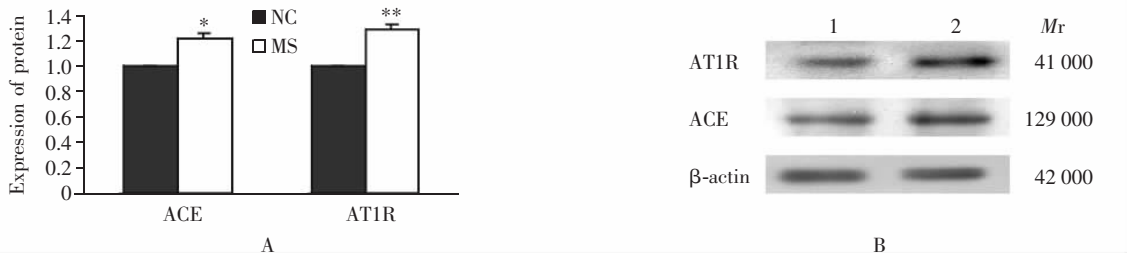


图2 大鼠肠系膜脂肪组织中RAS各组分的蛋白质表达

Fig 2 Expression of principal components protein of RAS in mesenteric adipose tissues of rats

A. levels of protein expressions of principal components of RAS; B. result of electrophoresis by Western blot

1. NC; 2. MS

Mr: relative molecular mass

\*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$  compared with NC group

**Ang II 对脂肪细胞成脂作用的影响** 前脂肪细胞 (3T3-L1) 组细胞油红 O 染色胞浆中未见明显红色脂滴; 成熟脂肪细胞组则形态变圆, 体积增大, 围绕胞核出现大量红色脂滴; 成熟脂肪细胞经 Ang II 处理后胞浆中的红色脂滴较对照组显著减少, 而经 ARB 类药物坎地沙坦或 ACEI 类药物巯甲丙脯酸处理后可恢复脂肪细胞的成脂作用 (图 3)。

**Ang II 对脂肪细胞内钙的作用** Ang II 能显著增加 3T3-L1 细胞内钙, 且 Ang II 的效应可被 ARB 类药物

坎地沙坦和 ACEI 类药物巯甲丙脯酸阻断 ( $P < 0.01$ ); 而 Ang II 抑制了成熟脂肪细胞钙内流, 但坎地沙坦能恢复 Ang II 的效应 ( $P < 0.01$ ), 巯甲丙脯酸与 Ang II 组相比细胞内钙水平 ( $[Ca^{2+}]_i$ ) 差异无显著性 (图 4)。

## 讨 论

MS 的基本特征为多种心血管和代谢危险因素聚集, 其中腹型肥胖是其最重要的病理生理基础<sup>[1]</sup>。应用 ACEI 和 ARB 能有效改善心血管病的预后和糖尿病的肾脏损害<sup>[2]</sup>。近年研究显示脂肪组织中也有完整的 RAS, 它可通过自分泌、旁分泌、内分泌的形式参与调节脂肪细胞功能<sup>[3,4,13]</sup>。另有研究显示敲除血管紧张素原基因能减轻体重, 降低血压和增加小鼠活动能力; 敲除 AT1R 能防止高脂诱导的肥胖, 减小脂肪细胞, 增加小鼠的能量消耗<sup>[14]</sup>; 敲除血管紧张素 II 受体亚型 2 (AT2R) 可防止高脂诱导的肥胖, 并减小脂肪细胞, 增加肌肉的脂肪酸氧化, 改

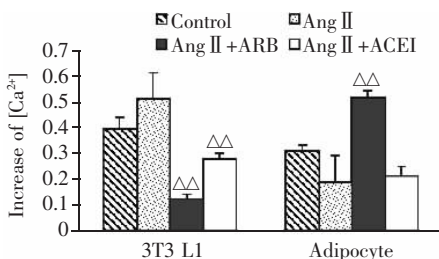


图4 Ang II 致 3T3-L1 和成熟脂肪细胞内钙水平增加

Fig 4 Ang II induced the increase of intracellular free calcium in 3T3-L1 preadipocyte and mature adipocyte

$\Delta\Delta P < 0.01$  compared with Ang II

善胰岛素敏感性<sup>[15]</sup>。这些研究提示 RAS 对肥胖的发生发展和相关的代谢有重要影响。Sugimoto 等<sup>[16]</sup>报道某些 ARB, 如替米沙坦, 能显著增加组织的过氧化氢增殖体激活受体  $\gamma$  的表达, 这可能是其提高组织胰岛素敏感性的机制之一, 此外替米沙坦能防止高脂诱导的肥胖, 减少内脏和皮下脂肪的生成, 增加能量消耗, 提示药物干预 RAS 也能有效地减肥和改善代谢。

本研究证实脂肪组织分泌产生的 Ang II 能作用于自身的 ATR 促使脂肪组织分泌多种炎症因子, 脂肪因子和血管活性物质, 这些因子通过旁分泌作用致血管产生氧化应激和炎症反应, 促使动脉粥样病变的发生和发展<sup>[17]</sup>。因此, 内脏脂肪组织 RAS 的激活可能在脂肪组织功能紊乱和相关血管病变中起重要作用。

Ang II 对心血管细胞的作用主要为促进细胞增殖肥厚和增加心血管细胞的收缩反应, 但 Ang II 对脂肪细胞的生物学作用不同于其对心血管细胞的影响, Grandl 等<sup>[18]</sup>报道 Ang II 刺激人前脂肪细胞, 导致细胞周期的 G1 期加速, 增加了细胞周期调节子 Cyclin D1 的表达。Janke 等<sup>[19]</sup>报道 Ang II 可促进脂肪细胞的脂质形成, 而 Ang II 的促脂质合成作用可被 ARB 所抑制。本研究显示未诱导前脂肪细胞 3T3-L1 细胞予 Ang II 或 Ang II 与坎地沙坦刺激, 细胞中均未出现明显的脂滴, 而诱导分化的脂肪细胞予 Ang II 刺激细胞中亦未见明显的脂滴, 但是同时加用坎地沙坦或疏甲丙脯酸, 则可见细胞中大量脂滴聚集, 提示 Ang II 可抑制诱导分化的前脂肪细胞 3T3-L1 细胞中脂滴的形成, 而予坎地沙坦或疏甲丙脯酸则能逆转这一作用。

Ang II 通过 ATR 致细胞内钙增加是 Ang II 信号通路的基本特征, Ang II 的生物学作用主要通过其受体介导的细胞内钙变化来实现, 本研究 Ang II 能致前脂肪细胞 3T3-L1 中的钙信号明显增加, 且能被坎地沙坦和疏甲丙脯酸阻断, 但在诱导分化的脂肪细胞中, Ang II 的这种效应明显受到损害, 坎地沙坦能恢复 Ang II 的作用。研究表明细胞钙与肥胖有关, 钙能调节脂质代谢, 在脂肪细胞的分化和细胞内脂质的沉积过程中起重要的作用, Ntambi 等<sup>[20]</sup>报道在啮齿类动物脂肪细胞分化早期提高细胞内钙浓度可抑制脂肪分化, 并伴有 PPAR $\gamma$  表达明显降低, 而在脂肪细胞分化晚期提高细胞内钙浓度则促进甘油三酯聚集和脂肪细胞成熟。因此, 细胞内钙对于脂肪细

胞分化起到双向调节作用。本研究 Ang II 对诱导分化的脂肪细胞的成脂作用减弱, 可能与 Ang II 介导的钙信号通路受到损害有关。Ang II 对脂肪细胞作用的病理生理学意义有不同的解释, Yvan-Charvet<sup>[15]</sup>认为 Ang II 抑制脂肪细胞的成脂作用, 并促进其脂质在肌肉和肝脏的异位分布, 导致胰岛素抵抗, 也有学者推测 Ang II 通过减少脂肪细胞的成脂作用, 而增加脂肪细胞的分泌功能<sup>[2]</sup>。因此, 其具体机制仍有待进一步研究探讨。

MS 既有脂肪病变, 又有心血管损害, 在目前无特效的治疗药物的情况下, 应用 ACEI 和 ARB 不失为现实的选择, 至于拮抗脂肪组织的 RAS 后增加其成脂作用, 笔者认为这有助于脂肪细胞恢复其成脂的基本功能, 增加其胰岛素敏感性, 可能减少其炎症因子等分泌。另外, 予 ARB 后能增加能量消耗, 这也许能解释为何阻断 RAS 不导致肥胖。

(本文图 3 见插图第 1 页)

## 参 考 文 献

- 1 祝之明. 代谢综合征病因探索与临床实践. 北京: 人民军医出版社, 2005. 328-335.
- 2 Pantanetti P, Garrapa GG, Mantero F, *et al.* Adipose tissue as an endocrine organ? A review of recent data related to cardiovascular complications of endocrine dysfunctions clinical and experimental. *Hypertension*, 2004, 26(4):387-398.
- 3 Hauner H. Secretory factors from human adipose tissue and their functional role. *Proc Nutr Soc*, 2005, 64(2):163-169.
- 4 Schling P, Mallow H, Trindl A, *et al.* Evidence for a local renin angiotensin system in primary cultured human preadipocytes. *Int J Obes Relat Metab Disord*, 1999, 23:336-341.
- 5 曹廷兵, 闫振成, 沈成义, 等. 代谢综合征大鼠模型的建立及其相关基因表达变化的研究. *解放军医学杂志*, 2005, 30(8):702-705.
- 6 Shimamoto UN. Mechanisms of insulin resistance in hypertensive rats. *Clin Exp Hypertens*, 2006, 28(6):543-552.
- 7 Hiraoka-Yamamoto J, Nara Y, Yasui N, *et al.* Establishment of a new animal model of metabolic syndrome: SHRSP fatty (fa/fa) rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2004, 31(1-2):107-109.
- 8 Shen CY, Zhu ZM, Yan ZC, *et al.* High fat plus high salt diet induced metabolic syndrome in Wistar rat. *Ame J Hypertension*, 2004, 17(5):513.
- 9 Grundy SM, Brewer HB Jr, Cleeman JI, *et al.* Definition of metabolic syndrome: Report of the National Heart, Lung, and Blood Institute/American Heart Association conference on sci-

- entific issues related to definition. *Circulation*, 2004, 109 (3):433-438.
- 10 Grundy SM, Cleeman II, Daniels SR, *et al.* Diagnosis and management of the metabolic syndrome: an American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement. *Circulation*, 2005, 112(17):2735-2752.
- 11 Qi NR, Wang J, Zidek V, *et al.* A new transgenic rat model of hepatic steatosis and the metabolic syndrome. *Hypertension*, 2005, 45(5):1004-1011.
- 12 卢圣栋. 现代分子生物学技术. 北京: 高等教育出版社, 1993. 59.
- 13 Carine MB, Kalyani BJ, Alan D, *et al.* Activation of the systemic and adipose renin-angiotensin system in rats with diet-induced obesity and hypertension. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2004, 287(4):R943-R949.
- 14 Kouyama R, Suganami T, Nishida J, *et al.* Attenuation of diet-induced weight gain and adiposity through increased energy expenditure in mice lacking angiotensin II type 1 receptor. *Endocrinology*, 2005, 146(8):3481-3489.
- 15 Yvan-Charvet L, Even P, Bloch-Faure M, *et al.* Deletion of the angiotensin type 2 receptor (AT2R) reduces adipose cell size and protects from diet-induced obesity and insulin resistance. *Diabetes*, 2005, 54(4):991-999.
- 16 Sugimoto K, Qi NR, Kazdova L, *et al.* Telmisartan but not valsartan increases caloric expenditure and protects against weight gain and hepatic steatosis. *Hypertension*, 2006, 47:1003-1009.
- 17 Daugherty A, Manning MW, Cassis LA, *et al.* Angiotensin II promotes atherosclerotic lesions and aneurysms in apolipoprotein E-deficient mice. *J Clin Invest*, 2000, 105:1605-1612.
- 18 Crandall DL, Armellino DC, Busler DE, *et al.* Angiotensin II receptors in human preadipocytes: role in cell cycle regulation. *Endocrinology*, 1999, 140:154-158.
- 19 Janke J, Engeli S, Gorzelniak K, *et al.* Mature adipocytes inhibit *in vitro* differentiation of human preadipocytes via angiotensin type 1 receptors. *Diabetes*, 2002, 51:1699-1707.
- 20 Ntambi JM, Takova T. Role of Ca<sup>2+</sup> in the early stages of murine adipocyte differentiation as evidenced by calcium mobilizing agents. *Differentiation*, 1996, 60(3):151-158.

(2006-06-27 收稿)