

SH2B1 调控 JAK2/IRS2 在肥胖症发病中的分子机制

段朝军^{1,2}, 汤参娥^{1,2}, 廖岚³, 李萃², 苏涛¹, 陈主初²

(中南大学湘雅医院 1. 卫生部肿瘤蛋白质组学重点实验室, 长沙 410008;

2. 医学实验研究中心, 长沙 410008; 3. 内分泌科, 长沙 410008)

[摘要] 目的:研究 JAK2 接头蛋白 SH2B1 调控 JAK2/IRS2 在肥胖症发病中的作用及其分子机制。方法:采用高效稳定表达瘦素受体的细胞株 HEK239^{LRb} 和 SH2B1 基因缺失小鼠, Western 印迹、 $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]$ -ATP 体外激活分析法分析瘦素信号通路关键分子 JAK2 和 IRS2 的酪氨酸磷酸化水平; ELISA 法测定小鼠血清瘦素水平; 检测出生后至 27 周小鼠体质量。结果:在高效稳定表达瘦素受体细胞株 HEK239^{LRb} 中, SH2B1 显著增强瘦素刺激的 JAK2 激酶活性和 IRS2 磷酸化; 在 SH2B1 基因缺失小鼠中, 瘦素刺激 JAK2 激酶活性和 IRS2 酪氨酸磷酸化水平均显著降低; 无论空腹还是随机给食, SH2B1 基因缺失小鼠血清瘦素水平均升高并发展为高瘦素血症, 其血清瘦素水平与同窝野生型小鼠相比分别增加 3.2 倍和 5.1 倍。5 周后, SH2B1 基因缺失小鼠体质量逐渐增加, 21 周龄时, 大约为同窝野生型小鼠 2 倍。结论: JAK2 接头蛋白 SH2B1 是内源性瘦素敏感性增强子, 通过瘦素 JAK2/IRS2 信号通路参与瘦素对体质量的调节, SH2B1 基因缺失小鼠易发展为高瘦素血症及肥胖。

[关键词] SH2B1; 肥胖症; 胰岛素受体底物-2; 瘦素信号通路

DOI: 10.3969/j.issn.1672-7347.2010.03.004

Molecular mechanism of SH2B1 in regulating JAK2/IRS2 during obesity development

DUAN Chaojun^{1,2}, TANG Can'e^{1,2}, LIAO Lan³, LI Cui², SU Tao¹, CHEN Zhuchu²

(1. Key Laboratory of Cancer Proteomics, Ministry of Health of China, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410008; 2. Medical Research Center, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410008; 3. Department of Endocrinology, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410008, China)

Abstract: **Objective** In order to investigate the effect of SH2B1 on leptin signal transduction JAK2/IRS2 and its biological function. **Methods** Vitro kinase assay and Western blot were used to analyse tyrosine phosphorylation of key molecule JAK2 and insulin receptor substrate-2 (IRS2). ELISA was used to measure the plasma leptin levels in mice. The postnatal growth of mice was monitored over 27 weeks. **Results** SH2B1 dramatically enhanced the leptin-stimulated tyrosine phosphorylation of JAK2 and IRS2 in HEK293 cells stably expressing LRb (HEK239^{LRb}). Leptin-stimulated activation of hypothalamic JAK2 and phosphorylation of hypothalamic IRS2 were significantly impaired in SH2B1^{-/-} mice. The deletion of SH2B1 led to leptin resistance, and fasting and randomly

收稿日期 (Date of reception) 2009-06-29

作者简介 (Biography) 段朝军, 硕士, 副研究员, 主要从事糖尿病、肥胖症及恶性肿瘤方面的研究。

通信作者 (Corresponding author) 段朝军, E-mail: duancjxy@126.com

基金项目 (Foundation items) 国家自然科学基金 (30670990, 30871189). This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (30670990, 30871189).

fed plasma leptin levels were respectively 3.2 times and 5.1 times higher in *SH2B1*^{-/-} males than wild-type littermates at 15 weeks of age. *SH2B1*^{-/-} males gained body weight rapidly and exceeded wild-type littermates from 5th week. *SH2B1*^{-/-} (at 21 weeks) was approximately twice heavier than wild-type littermates. **Conclusion** SH2B1 is an endogenous enhancer of leptin sensitivity and required for maintaining normal bodyweight in mice via leptin JAK2/IRS2 pathway.

Key words: SH2B1; obesity; insulin receptor substrate-2; leptin signal pathway

瘦素(leptin)由脂肪组织分泌,随血液循环至下丘脑,通过神经细胞膜上瘦素长型受体(long form of the leptin receptor, Ob-Rb)参与能量代谢、维持体质量稳定等生物学效应^[1]。瘦素与受体结合后,与受体相连的信号通路启动,限速关键分子 JAK2 首先被活化,活化的 JAK2 使瘦素受体多个酪氨酸残基磷酸化并募集胰岛素受体底物(insulin receptor substrate-2, IRS2)和转录激活因子 3(signal transducer and activators of transcription-3, STAT3)等瘦素信号通路下游分子,参与能量平衡和体质量的调节^[2]。胞浆 JAK2 接头蛋白 SH2B1(adaptor protein with a Src homology 2 domain, SH2B1)包含 SH2 和 PH 结构域及多个酪氨酸残基位点,高表达于下丘脑等瘦素靶组织中^[3-4]。已有研究^[5]表明:SH2B1 通过 SH2 结构域与 JAK2 结合,增强瘦素 JAK2/STAT3 信号通路,参与瘦素的敏感性及体质量的调节;而 IRS2 系瘦素信号通路与瘦素控制食欲和能量相关关键分子^[6-7], SH2B1 能否通过增强瘦素 JAK2/IRS2 信号通路并参与瘦素的敏感性和体质量的调节,目前仍不清楚。因此,本实验利用笔者所在研究组已建立的高效稳定表达瘦素受体细胞株 HEK239^{Lrb}和 *SH2B1* 基因敲除小鼠模型,研究 SH2B1 作为内源性增强子能否增强瘦素 JAK2/IRS2 信号通路并参与瘦素对体质量的调节。这一研究有助于揭示肥胖症发生的机制,并为研发控制肥胖症及其相关疾病的新药提供了新的方向。

1 材料与方法

1.1 实验试剂

兔抗 IRS2 抗体、鼠抗 Myc-tag 抗体、兔抗 JAK2 抗体购自美国 Santa Cruz 公司,鼠抗 phosphotyrosine 抗体(PY20)购自美国 Upstate Biotechnology 公司,瘦素 ELISA 酶联免疫吸附试剂盒系

瑞士 Crystal Chem 公司产品,蛋白酶抑制剂混合物(proteinase inhibitor cocktail)、小鼠瘦素购自美国 Sigma-Aldrich 公司, Lipofect AMINETM 2000 系美国 Invitrogen 公司产品;辣根过氧化物酶(HRP)标记的羊抗兔 IgG、增强化学发光(ECL)检测试剂盒、PVDF 膜、蛋白质分子质量 Marker、Triton X-100 为瑞典 Amersham Biosciences 公司产品。

1.2 细胞株与细胞转染

高效稳定表达瘦素受体细胞株 HEK239^{Lrb}系美国密歇大学医学院 Rui 博士惠赠^[8]。用含 10% 新生小牛血清 DMEM 高糖培养液培养,含 100 U/mL 青霉素,100 μg/mL 链霉素。转染时按 2×10^5 /孔将细胞接种于 6 孔培养板,24 h 后按 Lipofect AMINETM 2000 说明书共转染细胞,共转染不同质粒 DNA 24 h 后再换无血清培养液过夜,随后瘦素(100 ng/mL)处理细胞 10 min。不同时间收集细胞,用细胞裂解液提取蛋白。

1.3 动物实验

笔者所在研究组已经制备了 *SH2B1* 基因敲除小鼠(*SH2B1*^{-/-})模型^[4], *SH2B1*^{-/-} 小鼠和同窝野生型(*SH2B1*^{+/+})小鼠采用普通饲料(9% 脂肪量)饲养,自由进水,12 h 昼/12 h 夜明暗控制。采集随机给食和饥饿状态 *SH2B1*^{-/-} 小鼠和同窝野生型 *SH2B1*^{+/+} 小鼠尾静脉血,按瘦素 ELISA 试剂盒说明书测定血浆瘦素浓度。另外 *SH2B1*^{-/-} 小鼠和同窝野生型小鼠饥饿 24 h 后腹腔注射瘦素(1 mg/kg),对照组腹腔注射 PBS。45 min 后断颈处死小鼠,取下小鼠头颅,冰上开颅,分离下丘脑。

1.4 细胞或组织总蛋白提取

将 HEK239^{Lrb} 细胞或小鼠下丘脑加入预冷的蛋白质抽提缓冲液中(50 mmol/L Tris-HCl pH 7.5, 5 mmol/L EDTA, 10 mmol/L Na₄P₂O₇, 100 mmol/L NaF, 250 mmol/L sucrose, 1% NP40, 蛋白酶抑制剂),冰上裂解 30 min(组织先匀浆),4 ℃ 下

12 000 r/min 离心 20 min 去除细胞碎片,吸取上清液即为细胞或组织总蛋白质,用 Bradford 蛋白浓度测定试剂盒测定蛋白质浓度,立即用于蛋白质印迹分析。

1.5 Western 印迹

蛋白质 20 μg 在 10 % SDS 聚丙烯酰胺凝胶中电泳分离,电转移至 PVDF 膜,丽春红 S 染液染膜以确认蛋白质已转移至印迹膜上,用含 5 % 脱脂奶粉或 1 % BSA 的 TBS 缓冲液封闭 1 h;分别在抗 phosphotyrosine (PY20), IRS2, Myc-tag (SH2B1) 和 JAK2 的一抗溶液(抗体用含 5 % 脱脂奶粉或 1 % BSA 的 TBS 缓冲液 1:1 000 ~ 1:2 000 稀释)中 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 12 h, TBS 缓冲液漂洗膜 3 次;在 HRP 标记的羊抗兔或羊抗鼠二抗溶液(抗体用含 5 % 脱脂奶粉的 TBS 缓冲液 1:5 000 稀释)中室温孵育 2 h, TBS 缓冲液漂洗膜 3 次;ECL 检测试剂盒显带,曝光、显影和定影。X 线片上的信号用图像分析仪进行光密度扫描分析。当同一印迹膜用于多次蛋白质印迹分析时,在完成前一次实验后,可用抗体洗脱液(100 mmol/L β -巯基乙醇, 2 % SDS, 62.5 mmol/L Tris-HCl pH 7.6) 56 $^{\circ}\text{C}$ 漂洗印迹膜 1 h、接着用 TBST 漂洗 2 次,每次 10 min,以去除膜上已结合的抗体,再从封闭开始进行另一个蛋白质印迹分析。实验重复 3 次。

1.6 JAK2 体外激酶分析

取 *SH2B1*^{-/-} 小鼠和同窝野生型 *SH2B1*^{+/+} 小鼠下丘脑组织,按照文献[9]方法纯化和富集 JAK2 蛋白,加入含激酶反应液(50 mmol/L

HEPES pH 7.6, 10 mmol/L MgCl_2 , 0.5 mmol/L DTT, 100 mmol/L NaCl, 1 mmol/L Na_3VO_4 , 20 $\mu\text{mol/L}$ ATP, 11.1 GBq [γ -³²P]-ATP/mL) 孵育 15 min, 10 % SDS 聚丙烯酰胺胶分离, X 线片曝光、显影和定影。X 线片上的信号用图像分析仪进行光密度扫描分析。同一印迹膜, JAK2 为一抗, HRP 标记的羊抗兔为二抗, Western 印迹分析获得 JAK2 总蛋白量。

1.7 统计学处理

数据以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,采用 SPSS 10.0 统计软件包进行统计学处理,两样本均数比较采用 *t* 检验, $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 体外 SH2B1 增强瘦素信号通路 JAK2/IRS2 转导

为探讨接头蛋白 SH2B1 能否增强瘦素信号通路 JAK2/IRS2 转导, *SH2B1* (myc-tagged) 和 *JAK2* 或 *IRS2* 基因共转染 HEK239^{Lrh}, Western 印迹分析瘦素处理 HEK239^{Lrh} 细胞 JAK2 和 IRS2 酪氨酸磷酸化水平。结果显示:瘦素使转染与未转染 *SH2B1* 基因的 HEK239^{Lrh} 的 JAK2 (图 1A) 和 IRS2 (图 1B) 磷酸化,且与未转染 *SH2B1* 基因细胞相比,转染组 JAK2 和 IRS2 酪氨酸磷酸化显著增加 ($P < 0.05$),说明在体外培养的细胞中 SH2B1 能显著增强瘦素信号通路 JAK2/IRS2 转导。

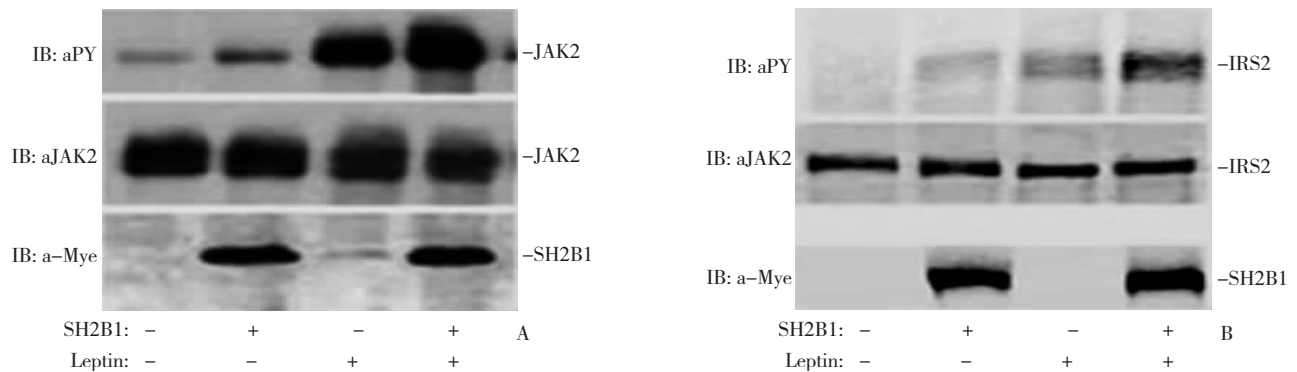


图 1 SH2B1 增强瘦素诱导 JAK2 和 IRS2 的磷酸化。A: JAK2 磷酸化; B: IRS2 磷酸化。

Fig. 1 SH2B1 enhances leptin-stimulated phosphorylation of JAK2 and IRS2. A: JAK2 phosphorylation; B: IRS2 phosphorylation.

2.2 体内干扰 *SH2B1* 基因的表达削弱瘦素信号通路 JAK2/STAT3 转导

在体外培养的稳定表达瘦素受体的细胞株 HEK239^{LRb} 中, *SH2B1* 能增强和激活 JAK2 的活性并增强瘦素信号通路 JAK2/IRS2 转导, 为进一步探讨内源性 *SH2B1* 对瘦素信号通路 JAK2/IRS2 转导的影响, 笔者采用基因同源重组技术, 获得 *SH2B1* 基因敲除小鼠, 并应用 [γ -³²P]-ATP 体外激活分析法测定小鼠下丘脑 JAK2 激酶活性。结果显示: 瘦素使 *SH2B1*^{+/+} 小鼠与 *SH2B1*^{-/-} 小鼠下丘脑 JAK2 激酶激活(图 2A)。与 *SH2B1*^{+/+} 相比, *SH2B1*^{-/-} 小鼠的 JAK2 激酶活性降低近 10 倍

(*SH2B1*^{+/+} 小鼠: 21.0 ± 2.0 , $n = 8$; *SH2B1*^{-/-} 小鼠: 2.0 ± 0.6 , $n = 7$)。Western 印迹分析瘦素处理后 *SH2B1*^{+/+} 小鼠和 *SH2B1*^{-/-} 小鼠下丘脑 IRS2 磷酸化水平, 结果显示: 瘦素使 *SH2B1*^{+/+} 小鼠和 *SH2B1*^{-/-} 小鼠下丘脑 IRS2 酪氨酸磷酸化增加(图 2B)。与 *SH2B1*^{+/+} 小鼠相比, *SH2B1*^{-/-} 小鼠 IRS2 酪氨酸磷酸化水平降低近 3 倍(*SH2B1*^{+/+} 小鼠: 15.8 ± 1.5 , $n = 8$; *SH2B1*^{-/-} 小鼠: 4.0 ± 0.7 , $n = 7$)。说明内源性 *SH2B1* 同样具有增强瘦素信号通路 JAK2/IRS2 转导的作用。

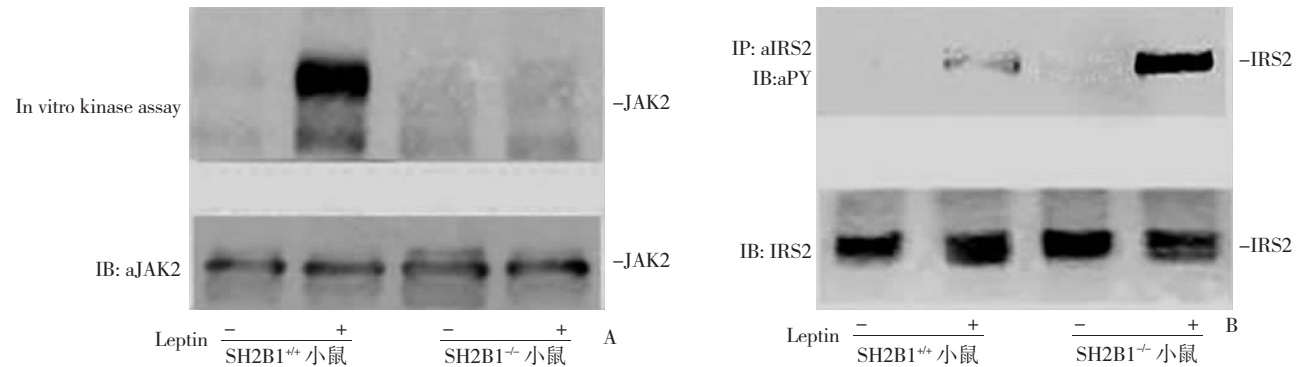


图 2 在下丘脑 *SH2B1* 增强瘦素诱导 JAK2 活性和 IRS2 磷酸化。A: *SH2B1* 增强瘦素诱导 JAK2 活性; B: *SH2B1* 增强瘦素诱导 IRS2 磷酸化。

Fig. 2 *SH2B1* enhances leptin-stimulated JAK2 activation and phosphorylation of IRS2 in the hypothalamus. A: *SH2B1* enhances leptin-stimulated JAK2 activation; B: *SH2B1* enhances leptin-stimulated phosphorylation of IRS2.

2.3 *SH2B1* 基因缺失小鼠发展为高瘦素血症

为确定缺失 *SH2B1* 基因是否导致小鼠高瘦素血症即瘦素抵抗, ELISA 法测定空腹和随机给食血清瘦素水平, 结果显示: 不管空腹还是随机给食,

SH2B1^{-/-} 小鼠血清瘦素水平均升高, 与 *SH2B1*^{+/+} 小鼠相比分别增加 3.2 倍和 5.1 倍(图 3), 说明缺失 *SH2B1* 基因导致小鼠瘦素抵抗。

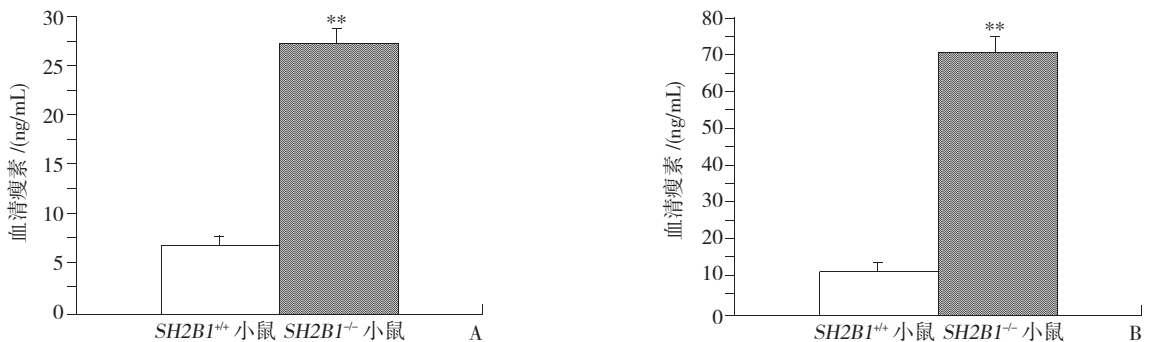


图 3 *SH2B1* 基因缺失小鼠发展为高瘦素血症。A: 空腹; B: 饱食。 *SH2B1*^{-/-} 小鼠组: $n = 7$; *SH2B1*^{+/+} 小鼠组: $n = 8$ 。与野生型小鼠(*SH2B1*^{+/+})比较, * * $P < 0.01$ 。

Fig. 3 Disruption of the *SH2B1* gene induces leptin resistance. A: Fast; B: Fed. *SH2B1*^{-/-} mice: $n = 7$; *SH2B1*^{+/+} mice: $n = 8$. Compared with wild type mice(*SH2B1*^{+/+}), * * $P < 0.01$.

2.4 SH2B1 基因缺失小鼠发展为肥胖

为确定 SH2B1 是否参与瘦素调节机体体质量,对出生后小鼠体质量进行监测即每周称量体质量,为期 27 周。SH2B1^{+/+} 小鼠和 SH2B1^{-/-} 小鼠均用普通饲料饲养。结果显示:出生后前 6 周,SH2B1^{-/-} 小鼠与 SH2B1^{+/+} 小鼠相比,其体质量无明显差异 ($P > 0.05$),随后体质量逐渐增加,至 21 周龄时,大约为 SH2B1^{+/+} 小鼠的 2 倍 [SH2B1^{+/+} 小鼠: (28.4 ± 1.1) g, $n = 8$; SH2B1^{-/-} 小鼠: (55.9 ± 1.2) g, $n = 7$] (图 4)。说明缺失 SH2B1 基因小鼠因瘦素信号转导受阻,进而其调节体质量功能受抑,导致小鼠肥胖。

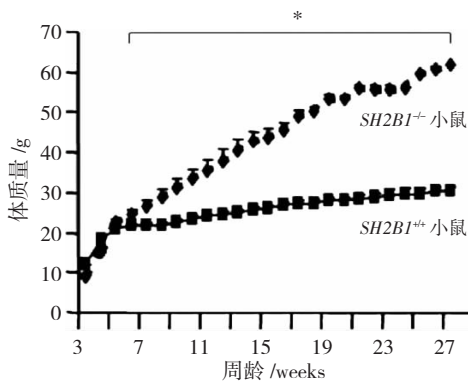


图 4 SH2B1 基因缺失小鼠发展为肥胖。雄性 SH2B1^{-/-} 小鼠: $n = 10$; 雄性 SH2B1^{+/+} 小鼠: $n = 8$ 。与野生型小鼠 (SH2B1^{+/+}) 比较, * $P < 0.05$ 。

Fig. 4 Disruption of the SH2B1 gene causes obesity. Male SH2B1^{-/-}: $n = 10$; Male SH2B1^{+/+}: $n = 8$. Compared with wild type mice (SH2B1^{+/+}), * $P < 0.05$.

3 讨 论

SH2B1 是采用双酵母杂交筛选系统分离鉴定的一种 JAK₂ 接头蛋白,内含有 PH 和 SH2 结构域,全长 632 位氨基酸^[9-10]。SH2B1 通过其 SH2 结构域与包括胰岛素、胰岛素样生长因子、纤维母细胞生长因子等多种酪氨酸受体结合,介导和增强其信号转导和相应功能^[11-13]。另外,SH2B1 还能通过其 SH2 结构域与 JAK2 Tyr⁸¹³ 结合,介导并增强生长激素及多种细胞因子信号转导^[14],提示 SH2B1 可能通过 JAK2 参与对瘦素信号转导通路的调节并影响瘦素相应功能,SH2B1 能否像

增强生长激素及多种细胞因子信号转导样增强瘦素 JAK2/IRS2 信号通路并参与瘦素对体质量的调节?为此,本文利用高效稳定表达瘦素受体细胞株 HEK239^{Lrh} 和 SH2B1 基因敲除小鼠模型,分别从体内外来探讨 JAK2 接头蛋白 SH2B1 能否增强瘦素 JAK2/IRS2 信号通路并参与瘦素对体质量的调节。

JAK2 被认为是瘦素信号通路启动和激活的“限速”分子^[15],胰岛素受体底物 IRS2 是瘦素信号通路下游关键分子之一,在体外培养的高效稳定表达瘦素受体的细胞株 HEK239^{Lrh} 中,SH2B1 能增强 JAK2 及 IRS2 的酪氨酸磷酸化。为进一步探讨内源性 SH2B1 对瘦素信号通路 JAK2/IRS2 转导的影响,笔者检测和比较了瘦素处理后 SH2B1 基因敲除小鼠和同窝野生型小鼠 JAK2 的活性和 IRS2 磷酸化水平。结果显示:缺失 SH2B1 基因的小鼠下丘脑 JAK2 的活性及 IRS2 酪氨酸磷酸化水平均降低,表明 SH2B1 不管在体外培养的细胞还是在体小鼠均具有增强瘦素信号通路 JAK2/IRS2 转导的作用。

瘦素抵抗在肥胖的发病中起非常重要的作用,然而其产生的分子机制仍不清楚。研究^[15-17]显示:瘦素抵抗始动原因可能是下丘脑瘦素受体介导的信号转导削弱了抑制和干扰瘦素受体下游的信号,降低了瘦素的敏感性,产生了瘦素抵抗。有研究^[5]报道:在下丘脑神经元和外周靶细胞中,瘦素能激活 IRS2 下游靶分子磷酸肌醇 3-激酶 (PI3K),若抑制下丘脑中 PI3K 活性就能降低瘦素对食物摄入量的抑制;另有报道^[6],在缺失 IRS2 基因小鼠中瘦素诱导 PI3K 活性显著降低并导致小鼠瘦素抵抗和肥胖。因此 SH2B1 分子及其介导的瘦素信号通路 JAK2/IRS2 在瘦素敏感性调节和体质量的稳定中起重要作用。

食物摄入增加和/或消耗减少均有可能造成能量代谢不平衡致使体质量增加。下丘脑神经肽 Y (neuropeptide Y, NPY) 能增加小鼠摄食量、降低能量消耗;促黑素细胞激素 (α -MSH) 是阿片黑素促皮质激素原 (proopiomelanocortin, POMC) 水解产物,它通过结合黑皮素受体 (MC4R) 抑制食欲和促进能量消耗^[15,17]。研究表明:瘦素通过抑制 NPY 和/或增加 POMC 表达水平来降低食欲和促进能量消耗,从而降低机体体质量。因此 SH2B1 基因缺失后,JAK2/IRS2 信号通路转导受阻,瘦素下游靶分子 NPY 表达水平可能因此而增

加, POMC 表达水平因此而降低, 致使小鼠食欲增加和/或能量消耗减少, 进而体质量增加。另外, 瘦素信号通路的关键分子 JAK2 除受 SH2B1 的正性调节外还受内源性负性调节分子 PTP1B 等分子的作用^[18-20]。因此缺失 *SH2B1* 基因后, SH2B1 对 JAK2 正性调节作用消失, 致使瘦素信号通路平衡被打破, 下丘脑瘦素信号通路 JAK2/IRS2 转导降低或受抑、瘦素的敏感性降低(瘦素抵抗)进而引起瘦素调节体质量功能障碍。

本研究表明: JAK2 接头蛋白 SH2B1 能增强瘦素诱导信号通路 JAK2/IRS2 的转导, 并参与瘦素对体质量的调节。这一研究有助于揭示肥胖症发生的机制, 为研发控制肥胖症及其相关疾病新药提供靶分子。

参考文献:

- [1] Friedman J M, Halaas J L. Leptin and the regulation of body weight in mammals [J]. *Nature*, 1998, 395 (6704): 763-770.
- [2] Banks A S, Davis S M, Bates S H, et al. Activation of downstream signals by the long form of the leptin receptor [J]. *J Biol Chem*, 2000, 275 (19): 14563-14572.
- [3] Riedel H, Wang J, Hansen H, et al. PSM, an insulin dependent, pro-rich, PH, SH2 domain containing partner of the insulin receptor [J]. *J Biochem (Tokyo)*, 1997, 122 (6): 1105-1113.
- [4] Duan C, Yang H, White M F, et al. Disruption of the SH2B1 Identification and gene causes age-dependent insulin resistance and glucose intolerance [J]. *Mol Cell Biol*, 2004, 24 (17): 7435-7443.
- [5] 段朝军, 李萃, 汤参娥, 等. SH2B1 调控 JAK2/Stat3 在肥胖症发病中的分子机制研究 [J]. *中华内分泌代谢杂志*, 2009, 25 (1): 90-91.
DUAN Chaojun, LI Cui, TANG Can'e, et al. Molecular mechanism of SH2B1 in regulating JAK2/STAT3 during development of obesity [J]. *Chinese Journal of Endocrinology and Metabolism*, 2009, 25 (1): 90-91.
- [6] Kellerer M, Koch M, Metzinger E, et al. Leptin activates PI-3 kinase in C2C12 myotubes via janus kinase-2 (JAK-2) and insulin receptor substrate-2 (IRS-2) dependent pathways [J]. *Diabetologia*, 1997, 40 (11): 1358-1362.
- [7] Suzuki R, Tobe K, Aoyama M, et al. Both insulin signaling defects in the liver and obesity contribute to insulin resistance and cause diabetes in *Irs2* (-/-) mice [J]. *J Biol Chem*, 2004, 279 (15): 25039-25049.
- [8] Duan C, Li M, Rui L. SH2B1 promotes insulin receptor substrate 1 (IRS1)- and IRS2-mediated activation of the phosphatidylinositol 3-kinase pathway in response to leptin [J]. *J Biol Chem*, 2004, 279 (42): 43684-43691.
- [9] Rui L, Mathews, L S, Hotta K, et al. Identification of SH2B1 beta as a substrate of the tyrosine kinase JAK2 involved in growth hormone signaling [J]. *Mol Cell Biol*, 1997, 17 (11): 6633-6644.
- [10] Rui L, Carter-Su C. Identification of SH2B1 as a potent cytoplasmic activator of the tyrosine kinase Janus kinase 2 [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, 96 (13): 7172-7177.
- [11] Ahmed Z, Pillay T S. Adapter protein with a pleckstrin homology (PH) and an Src homology 2 (SH2) domain (APS) and SH2B1 enhance insulin-receptor autophosphorylation, extracellular-signal-regulated kinase and phosphoinositide 3-kinase-dependent signalling [J]. *Biochem J*, 2003, 371 (Pt 2): 405-412.
- [12] Wang J, Riedel H. Insulin-like growth factor-I receptor and insulin receptor association with a Src homology-2 domain-containing putative adapter [J]. *J Biol Chem*, 1998, 273 (6): 3136-3139.
- [13] Kong M, Wang C S, Donoghue D J. Interaction of fibroblast growth factor receptor 3 and the adapter protein SH2B1. A role in STAT5 activation [J]. *J Biol Chem*, 2002, 277 (18): 15962-15970.
- [14] Kurzer J H, Argetsinger L S, Zhou Y J, et al. Tyrosine 813 is a site of JAK2 autophosphorylation critical for activation of JAK2 by SH2B1 beta [J]. *Mol Cell Biol*, 2004, 24 (10): 4557-4570.
- [15] Schwartz M W, Porte D Jr. Diabetes, obesity, and the brain [J]. *Science*, 2005, 307 (5708): 375-379.
- [16] Burks D J, Font de Mora J, Schubert M, et al. IRS-2 pathways integrate female reproduction and energy homeostasis [J]. *Nature*, 2000, 407 (6802): 377-382.
- [17] Schwartz M W, Woods S C, Porte D Jr, et al. Central nervous system control of food intake [J]. *Nature*, 2000, 404 (6778): 661-671.
- [18] Bence K K, Delibegovic M, Xue B, et al. Neuronal PTP1B regulates body weight, adiposity and leptin action [J]. *Nat Med*, 2006, 12 (8): 917-924.
- [19] Lund I K, Hansen J A, Andersen H S, et al. Mechanism of protein tyrosine phosphatase 1B-mediated inhibition of leptin signalling [J]. *J Mol Endocrinol*, 2005, 34 (2): 339-351.
- [20] Cheng A, Uetani N, Simoncic P D, et al. Attenuation of leptin action and regulation of obesity by protein tyrosine phosphatase 1B [J]. *Dev Cell*, 2002, 2 (4): 497-503.