

GLP-1 受体激动剂对小鼠棕色脂肪细胞基因表达和细胞分化的研究

沈山梅 石欢 毕艳 冯文煊 王维敏 金玺 韩小娟 胡明玥 朱大龙

【摘要】 目的 研究胰升糖素样肽 1 (GLP-1) 受体激动剂对小鼠棕色脂肪细胞功能基因表达和分化的作用。方法 体外培养小鼠棕色脂肪前体细胞, 诱导分化前分 4 组: GLP-1 (10^{-8} mol/L) 组、GLP-1 (10^{-9} mol/L) 组、L-NAME (一氧化氮合酶抑制剂, 10^{-3} mol/L) 组和对照组。干预结束后对细胞进行形态学观察研究, 应用荧光定量 PCR 检测棕色脂肪细胞基因的表达, 采用单因素方差分析进行多组间均数比较。结果 形态学研究发现 GLP-1 组细胞内脂滴数目较对照组明显增加, 荧光定量 PCR 检测显示 GLP-1 组棕色脂肪特异性基因[解耦连蛋白 1 (UCP1)、细胞死亡介导的 DNA 碎片因子受体 a (Cidea)、过氧化物酶增殖物激活受体 γ 共激活因子 1 α (PGC1- α)]、分化基因[PR 包含域 16 区 (PRDM16)、过氧化物酶增殖物激活受体 γ (PPAR- γ)]、一氧化氮途径基因[内皮型一氧化氮合酶 (eNOS)、诱导型一氧化氮合酶 (iNOS)] 的表达均高于对照组, F 值分别为 17.36、29.57、66.76、13.78、4.14、105.47、346.57 (均 $P < 0.05$)。结论 GLP-1 受体激动剂可能通过某些途径促进棕色脂肪细胞功能基因表达的增加, 增强棕色脂肪组织的功能, 促进棕色脂肪前体细胞向成熟的棕色脂肪细胞分化, 且高浓度 GLP-1 的作用更明显。

【关键词】 胰升糖素样肽 1; 棕色脂肪; 艾塞那肽; 解耦连蛋白 1; 白色脂肪; 一氧化氮合酶

Research on glucagon-like peptide-1 receptor agonist on the function and differentiation of brown adipocytes in mice SHEN Shan-mei, SHI Huan, BI Yan, FENG Wen-huan, WANG Wei-min, JIN Xi, HAN Xiao-juan, HU Ming-yue, ZHU Da-long. Department of Endocrinology, Nanjing Drum Tower Hospital, the Affiliated Hospital of Nanjing University Medical School, Nanjing 210008, China

Corresponding author: ZHU Da-long, Email: zhudalong@nju.edu.cn

【Abstract】 Objective To investigate the effects of glucagon-like peptide-1 (GLP-1) receptor agonist on the function and differentiation of brown adipocytes in mice. **Methods** Primary brown adipocytes in mice were cultivated in vitro. Before the induction, brown adipocytes were assigned to four groups: GLP-1 10^{-8} mol/L group, GLP-1 10^{-9} mol/L group, L-NAME 10^{-3} mol/L group, and control group. Finally, adipocytes were put under morphological observation. The expression levels of genes of brown adipocytes in different groups were detected by RT-PCR. The single factor analysis was used for data analysis. **Results** The lipid droplets of brown adipocytes in GLP-1 group increased significantly compared with the control group under morphological observation. The expressions of specific genes [uncoupling protein 1 (UCP1), cell death-inducing DFFA (DNA fragmentation factor a)-like effector a (Cidea), peroxisome proliferator-activated receptor γ coactive 1 α (PGC1- α)], differentiation genes [PRD1-BF1-RIZ1 homologous domain containing 16 (PRDM16), peroxisome proliferators-activated receptor- γ (PPAR- γ)], nitric oxide pathway genes [endothelial nitric oxide synthase (eNOS), inducible nitric oxide synthase (iNOS)] in brown adipocytes in GLP-1 group were significantly increased as compared with the control group, F values were 17.36, 29.57, 66.76, 13.78, 4.14, 105.47, 346.57 respectively (all $P < 0.05$). **Conclusions** GLP-1 receptor agonist may improve the differentiation and function of brown adipocytes in mice, thereby enhance the function and induce the differentiation of brown adipocytes, the effect is more evident in high concentration of GLP-1.

【Key words】 Glucagon-like peptide-1; Brown adipose tissue; Exenatide; Uncoupling protein 1; White adipose tissue; Nitric oxide synthase

(Chin J Endocrinol Metab, 2013, 29; 895-899)

体内脂肪组织可分为棕色脂肪组织 (brown adipose tissue) 和白色脂肪组织 (white adipose tissue)。

机体内白色脂肪堆积过多会造成肥胖。不同于白色脂肪, 棕色脂肪可在人体摄食或受寒冷刺激时, 散发热量, 分解产热, 维持体温。艾塞那肽 (exenatide), 胰升糖素样肽 1 (GLP-1) 受体激动剂, 多用于治疗肥胖的 2 型糖尿病患者。既往研究证实, GLP-1 及其受体激动剂可以抑制肝糖原输出, 通过不依赖于胰岛素和胰升

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1000-6699.2013.10.018

基金项目: 国家自然科学基金项目 (81270906)

作者单位: 210008 南京医科大学附属南京鼓楼医院内分泌科

通信作者: 朱大龙, Email: zhudalong@nju.edu.cn

糖素的分泌促进外周组织对葡萄糖的利用,并作用于中枢食欲控制系统,增加饱感,降低体重^[1]。同时 GLP-1 具有内皮依赖性血管舒张作用,即一氧化氮(NO)介导的血管内皮保护作用^[2]。棕色脂肪组织可以通过 NO 促进脂肪细胞线粒体的生物合成,分解产热,维持体温^[3]。增加体内的棕色脂肪组织,可以发挥改善肥胖,增加能量代谢,从而改善糖脂代谢紊乱的作用^[4]。目前,对于 GLP-1 在脂肪组织中作用的研究主要集中在其对成熟脂肪细胞葡萄糖摄取能力的改变及其对成熟脂肪细胞脂质合成和水解作用的影响。在人白色脂肪细胞的中,低浓度 GLP-1 (10^{-12} mol/L) 以促进脂质生成作用为主,而较高浓度 (10^{-10} mol/L) 则表现为脂解作用,但其脂解作用可被胰岛素扭转。而 GLP-1 是否对棕色脂肪组织细胞功能、分化这一过程存在影响尚不清楚。本研究使用 GLP-1 受体激动剂艾塞那肽干预体外培养的小鼠棕色脂肪细胞,旨在研究不同浓度的 GLP-1 受体激动剂对小鼠棕色脂肪细胞分化和功能基因表达的作用,并明确其作用通路,为 GLP-1 受体激动剂的作用机制补充进一步的理论基础。

材料和方法

一、材料

C57BL/6J 小鼠(雄性,4 周龄,安徽蚌埠蓝晶生物科技有限公司),2 型胶原酶(美国 Sigma 公司),DMEM 高糖培养基、DMEM-F12 高糖培养基、胎牛血清(美国 Gibco 公司),艾塞那肽(百泌达,美国礼来公司),L-NAME、地塞米松(美国 Sigma 公司),Trizol、RNA 提取试剂盒及引物(美国 Invitrogen 公司),逆转录试剂盒(日本 Takara 公司),PCR 试剂盒(美国 Invitrogen 公司)。(1)棕色脂肪组织消化液;2 型胶原酶 1.5 g/L,牛血清白蛋白 20 g/L,HEPES 酸 1.2 g/L,并使用 PBS 定容调制 pH 7.4,用时 37℃ 预热;(2)棕

色脂肪细胞培养液:44% DMEM 高糖培养液 + 44% DMEM-F12 高糖培养液 + 10% 胎牛血清 + 50 UI 青霉素 + 50 μg/ml 链霉素 + 20 nmol/L 胰岛素 + 10 mmol/L HEPES(诱导分化后再加 1 nmol/L T3);(3)棕色脂肪细胞诱导液:44% DMEM 高糖培养液 + 44% DMEM-F12 高糖培养液 + 10% 胎牛血清 + 50 UI 青霉素 + 50 μg/ml 链霉素 + 0.25 mmol/L IBMX + 0.2 μmol/L 地塞米松。

二、方法

1. 棕色脂肪细胞原代培养^[5]:4 周龄 C57BL/6J 雄鼠断颈处死,取出肩胛间区、腋窝下棕色脂肪组织,剪成约 1 mm³ 的小块。棕色脂肪组织消化液进行消化,37℃ 水浴振荡约 1 h。消化液分别用孔径 30 目、300 目的筛网过滤。离心,收集细胞悬液,细胞计数,稀释成 3×10^4 /ml ~ 5×10^4 /ml 后将棕色脂肪前体细胞悬液接种到细胞培养瓶中,并用反复贴壁法除去其中的成纤维细胞。倒置显微镜下观察后置 37℃ 5% CO₂ 孵育箱中培养。2 d 后,将细胞悬浊液平均分入 6 孔板,保持最终数量为 1 只小鼠/孔,培养液换成诱导液,并分别加入 GLP-1 和 L-NAME。将细胞分为:A 组:GLP-1 10^{-8} mol/L;B 组:GLP-1 10^{-9} mol/L;C 组:L-NAME 10^{-3} mol/L;D 组:对照组。2 d 后冲洗细胞,换成棕色脂肪细胞培养液。

2. 棕色脂肪细胞干预 4 d 后,收集细胞,提 RNA,逆转录为 DNA,使用荧光定量 PCR 检测棕色脂肪细胞在不同药物的作用下解耦连蛋白 1(UCP1)、细胞死亡介导的 DNA 碎片因子样受体 a(Cidea)、过氧化物酶增殖物激活受体 γ 共激活因子 1α(PGC1-α)、PR 包含域 16 区(PRDM16)、过氧化物酶增殖物激活受体 γ(PPAR-γ)、内皮型一氧化氮合酶(eNOS)、诱导型一氧化氮合酶(iNOS)基因的表达量。

荧光定量 PCR 中各基因引物序列见表 1。

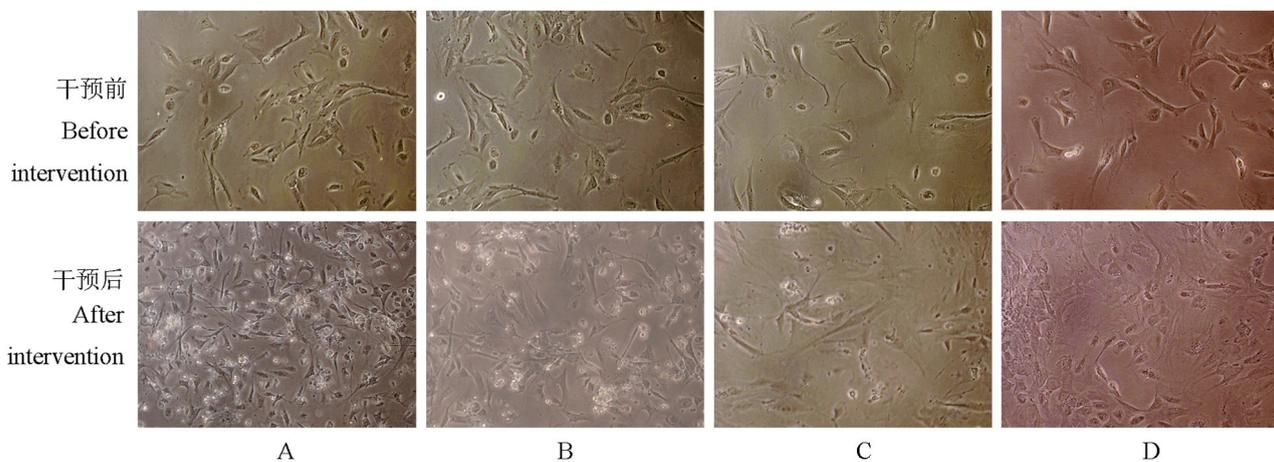
三、统计学处理

表 1 引物序列

Tab 1 Primer sequence

基因 Gene	上游引物 Forward primer (5'-3')	下游引物 Reverse primer (3'-5')
UCP1	GTGAAGGTCAGAATGCAAGC	AGGCCCCCTTCATGAGGTC
Cidea	ATCACAACTGGCCTGGTTACG	TACTACCCGGTGTCATTTCT
PGC1-α	CCCTGCCATTGTTAAGACC	TGCTGCTGTTCCTGTTTTT
PPAR-γ	GCTGTTATGGGTGAAAACCTG	ATAAGGTGGAGATGCAGGTTG
PRDM16	CAGCACGGTGAAGCCATTC	GCGTGCATCCGCTTGTG
eNOS	CAGCTGGGCTGTACAAACCTT	TGCAGGGCAAGTTAGGATCA
iNOS	CAGCTGGGCTGTACAAACCTT	CATTGGAAGTGAAGCGTTTCG

注:UCP1:解耦连蛋白-1 Uncoupling protein 1;Cidea:细胞死亡介导的 DNA 碎片因子样受体 a Cell death-inducing DFFA (DNA fragmentation factor a)-like effector a;PGC1-α:过氧化物酶增殖物激活受体 γ 共激活因子 1α Peroxisome proliferator-activated receptor γ coactivator 1α;PPAR-γ:过氧化物酶增殖物激活受体 γ Peroxisome proliferators-activated receptor-γ;PRDM16:PR 包含域 16 区 PRD1-BF1-RIZ1 homologous domain containing 16;eNOS:内皮型一氧化氮合酶 Endothelial nitric oxide synthase;iNOS:诱导型一氧化氮合酶 Inducible nitric oxide synthase



注:GLP-1:胰升糖素样肽 1 Glucagon-like peptide-1;A:GLP-1 10^{-8} mol/L;B:GLP-1 10^{-9} mol/L;C:L-NAME 10^{-3} mol/L;D:对照 Control
图 1 原代棕色脂肪细胞干预前后比较

Fig 1 Cytological features of primary brown adipocytes in mice before and after the intervention

采用 SPSS 13.0 统计软件进行处理,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。各组间均值比较采用单因素方差分析,样本间比较采用 *t* 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结果

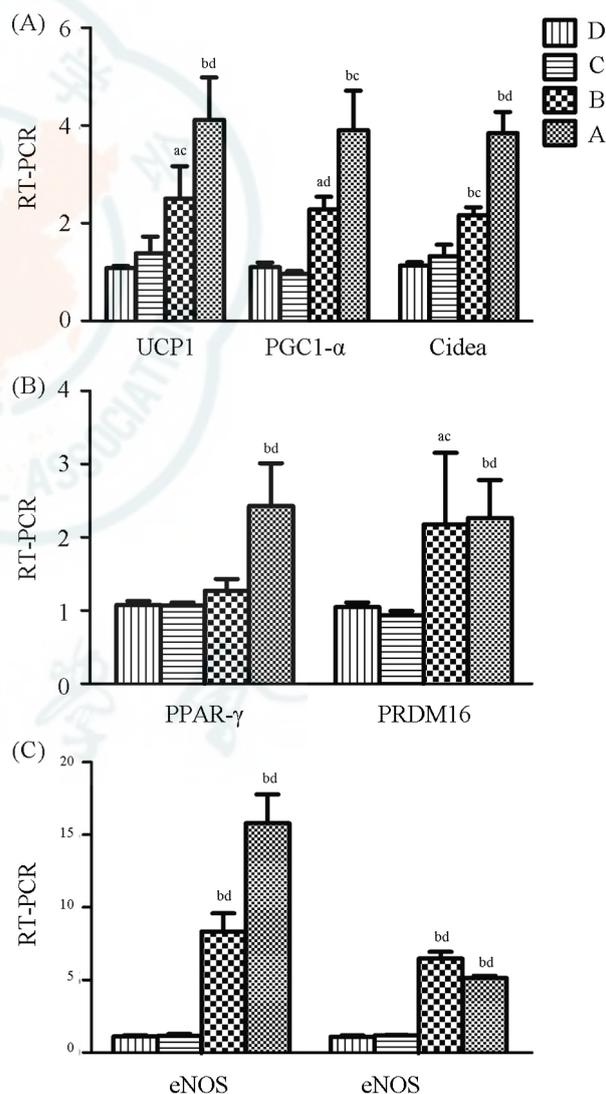
一、细胞形态学研究

诱导分化前,棕色脂肪前体细胞呈梭形的纺锤样,当细胞融合后,则排列形成长梭形。细胞胞浆内无脂滴,表现为纤维母样的前脂肪细胞的形态。诱导分化 2 d 后,部分细胞变大,变圆,并出现分散的细小脂滴;加药干预 4 d 后,部分细胞分化为成熟的棕色脂肪细胞,表现为细胞体积增大,呈类圆形,胞浆内含有大量小脂滴,且脂滴体积小,数目多,脂滴聚集于细胞核周(图 1)。

二、荧光定量 PCR 检测棕色脂肪细胞基因表达

1. GLP-1 增加棕色脂肪细胞特异性基因 UCP1、PGC1- α 、Cidea 的表达(图 2A):GLP-1 (10^{-8} mol/L)、GLP-1 (10^{-9} mol/L) 干预 4 d, A 组、B 组与 D 组相比,UCP1、PGC1- α 、Cidea 表达量明显升高,差异有统计学意义($P < 0.01$),且高浓度 GLP-1 组的作用更加明显。提示,GLP-1 可以增加棕色脂肪细胞特异性基因的表达,从而增强棕色脂肪组织的功能,且高浓度 GLP-1 的作用更加明显。

2. GLP-1 促进棕色前体脂肪细胞分化为成熟的棕色脂肪细胞(图 2B):在药物干预 4 d 后,A 组中棕色脂肪分化基因 PPAR- γ 、PRDM16 与 D 组相比表达量升高,差异有统计学意义($P < 0.01$),且 PRDM16 对 GLP-1 刺激的反应比 PPAR- γ 明显,提示 GLP-1 可以通过某些途径,增加 PPAR- γ 、PRDM16 的表达,进而促进棕色脂肪前体细胞向棕色脂肪细胞分化。而 B 组中,PPAR- γ 的表达量与 D 组相比,差异无统计学意



注:(A)棕色脂肪细胞特异性基因 Specific genes of brown adipocytes;(B)棕色脂肪分化基因 Differentiation genes of brown adipocytes;(C)一氧化氮途径基因 Specific genes of nitric oxide signal pathway;D:对照组 Control;C:L-NAME 10^{-3} mol/L;B:GLP-1 10^{-9} mol/L;A:GLP-1 10^{-8} mol/L;vs D, ^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$; vs C, ^c $P < 0.05$, ^d $P < 0.01$

图 2 干预后各组基因水平

Fig 2 Different gene levels after the intervention in each groups

义,考虑 GLP-1 剂量较低,高浓度的 GLP-1 效果明显。

3. GLP-1 可以通过激活一氧化氮合酶(NOS)的活性,促进下游基因表达增加(图 2C):A、B 组的 NO 途径特异性基因 eNOS、iNOS 的表达与对照组相比明显升高,差异有统计学意义。以上结果提示,GLP-1 可能通过 NO 途径促进下游基因表达增加,且高浓度 GLP-1 的作用更明显。

4. 抑制一氧化氮合酶(NOS)废除了 GLP-1 诱导的棕色脂肪细胞基因表达升高和细胞棕色化的分化途径:使用 NOS 抑制剂 L-NAME 干预细胞。L-NAME 使得棕色脂肪细胞特异性基因、分化通路基因水平下调,进而不能促进棕色脂肪组织功能增强和脂肪棕色化。而这些改变伴随着 eNOS、iNOS 水平的显著降低。L-NAME 的干预导致 GLP-1 促进棕色脂肪组织功能增强和脂肪棕色变的能力丧失。证明 GLP-1 在诱导棕色脂肪组织功能增强和脂肪棕色化的过程中 NO 起了必不可少的重要作用。

讨 论

脂肪组织在机体的胰岛素敏感性和能量代谢平衡等方面起着至关重要的作用。白色脂肪组织主要功能为储存多余的能量,而棕色脂肪组织具有代谢活性,在抵抗肥胖上具有潜在的作用^[6],其特异性基因有 UCP1、Cidea、PGC1- α 。因此,为了改善能量代谢紊乱,需要进一步了解棕色脂肪细胞分化与代谢的调节机制,寻求促进棕色脂肪细胞高表达特异性基因和诱导棕色脂肪前体细胞向成熟的棕色脂肪细胞分化的方法。棕色脂肪细胞的分化调控机制较为复杂。PRDM16(PRDM1-BF1-RIZ1 homologous domain containing 16)是公认的调节棕色脂肪细胞形成的关键转录因子,是调控棕色和白色脂肪细胞特异性基因表达程序的分子开关,其机制是 C 末端结合蛋白和过氧化物酶体增殖剂活性受体 γ (PPAR- γ)辅助激活子 1(PPAR- γ -coactivator-1 α and β ,PGC-1 α / β)竞争性结合 PRDM16,分别形成 PRDM16/CtBPs 和 PRDM16/PGC-1s 转录复合物,前者可激活棕色脂肪特异基因的表达,后者可抑制白色脂肪特异基因的表达^[7]。棕色脂肪组织分化途径中还有许多重要的转录因子,如 PGC-1 α 和 PPAR γ 。PPAR γ 是体外脂肪细胞形成的关键调控因子,在白色脂肪组织和棕色脂肪组织的形成过程中至关重要。PGC-1 α 作为 PPAR γ 、PPAR α 和 ERR α 共协调因子,可以驱动产热过程基因的产生^[8],与 UCP1、Cidea 共同参与棕色脂肪组织产热过程。

GLP-1 受体激动剂(艾塞那肽)因其对肥胖和高脂血症的靶向作用,对肥胖的 2 型糖尿病患者有较好的

治疗效果^[9]。GLP-1 已被证实小鼠和人体内应用后均可改善胰岛 β 细胞,增加肝糖原的摄取,葡萄糖浓度依赖性降糖,改善血脂代谢,延迟胃排空,减轻体重^[10]。GLP-1 在人及多种动物的多种组织器官中均存在受体,包括胰腺、脑、肺、心脏、肾脏等组织器官。然而,在葡萄糖利用的主要外周组织脂肪、肝脏、肌肉中,目前,只能证实其结合位点的存在而未能检测出已知的受体序列^[11]。随着对 GLP-1 日益深入的认识,多种证据均提示在这些组织中可能存在与已知受体不同的特殊受体或结合位点。

业已证明,GLP-1 及其受体激动剂不仅可以改善血糖等代谢指标,还对血管内皮功能障碍具有直接的有益效应,且该效应是通过 eNOS(endothelial NOS)由 NO 所介导的^[12]。Gu 等^[13]通过向高脂饮食诱导的肥胖小鼠注射 GLP-1 类似物,发现小鼠肝脏中 PGC1- α 、PPAR- γ 等棕色脂肪组织特异性分泌的蛋白表达增加,且在棕色脂肪组织中葡萄糖摄取率增加,推测 GLP-1 可以通过某些途径促进棕色脂肪组织的功能增强,但其具体机制尚不明确。Lockie 等^[14]通过向小鼠脑室注射 GLP-1,发现 GLP-1 受体的活化可以介导小鼠肩胛区棕色脂肪组织的产热活动的增加,进而减轻小鼠体重,说明中枢神经系统的 GLP-1 受体信号通路可直接调控棕色脂肪组织的产热作用。本研究发现 GLP-1 可以通过某种途径促进棕色脂肪组织功能增加。

本研究通过培养原代棕色脂肪前体细胞,证明了 GLP-1 可以通过某些途径促进棕色脂肪特异性基因和分化途径基因水平的上调,且该作用部分是通过 eNOS 介导的 NO 途径。在使用 GLP-1 受体激动剂艾塞那肽干预 4 d 后,A 组和 B 组细胞棕色脂肪组织特异性基因(UCP1、Cidea、PGC1- α)表达量与对照组相比,明显升高,且 A 组高于 B 组,提示高浓度的 GLP-1 对棕色脂肪细胞表现出更强的作用,在棕色脂肪组织细胞表面可能存在 GLP-1 结合位点,GLP-1 与其结合可发挥增强棕色脂肪细胞功能的作用,增加其下游基因的表达,在高浓度组中尤为明显,这与前人研究结果一致。A 组和 B 组细胞分化基因(PRDM16、PPAR- γ)与 D 组相比,也呈上升趋势,提示 GLP-1 可以通过某种途径促进上游分化基因的表达,从而促进棕色脂肪前体细胞向成熟的棕色脂肪细胞分化。同时,A 组和 B 组的 eNOS、iNOS mRNA 表达明显升高,考虑 GLP-1 可以促进内皮细胞表达 NO,细胞外的 GLP-1 可以促使细胞内 NOS 的产生,且呈浓度依赖性。NO 可以刺激 PGC1- α 的表达^[3],并抑制白色脂肪组织细胞的产生^[15]。PGC-1 α 是肾上腺素信号途径的下游靶点,也

是决定体外培养细胞在寒冷刺激下棕色脂肪细胞定向分化的关键调节因子。PGC1- α 等转录因子与 PRDM16 结合成转录复合物,诱导棕色脂肪细胞 UCP1 等特异性基因高表达。另外,GLP-1 与受体结合后,鸟苷酸环化酶可上调,抑制磷酸二酯酶 3,从而激活腺苷酸环化酶(cAMP)^[12],而 cAMP 的上调可激活 cAMP 依赖的蛋白激酶,进而磷酸化反应元件结合蛋白,参与相关基因的转录,所以推测 NO-cGMP 通过 cAMP 上调 PGC1- α ,促进棕色脂肪前体细胞的分化^[16]。而用 L-NAME 干预后,下游特异性基因及上游分化基因的表达均明显下降,说明 L-NAME 抑制 NOS 系统,从而废除了 GLP-1 诱导的棕色脂肪细胞基因表达升高和细胞棕色化的分化途径。

综上所述,GLP-1 及其受体激动剂可以作用于棕色脂肪组织前体细胞,通过某些途径,增加信号转导下游棕色脂肪细胞特异性基因的表达,进一步促进棕色脂肪前体细胞向棕色脂肪细胞的分化,增强棕色脂肪组织的功能,最后通过快速消耗葡萄糖和脂肪来产热,改善糖脂代谢及胰岛素抵抗,减轻体重。本研究的结果进一步补充了 GLP-1 减轻体重的作用机制。相信随着研究的深入,加深对各种调控因子作用机制的进一步探讨,从而为开发和研制更为安全有效的 2 型糖尿病及肥胖症药物提供新的理论依据。

参 考 文 献

- [1] van Genugten RE, van Raalte DH, Diamant M. Does glucagon-like peptide-1 receptor agonist therapy add value in the treatment of type 2 diabetes? Focus on exenatide. *Diabetes Res Clin Pract*, 2009, 86 (Suppl 1):S26-S34.
- [2] Ussher JR, Drucker DJ. Cardiovascular biology of the incretin system. *Endocr Rev*, 2012, 33:187-215.
- [3] Nisoli E, Clementi E, Paolucci C, et al. Mitochondrial biogenesis in mammals: the role of endogenous nitric oxide. *Science*, 2003, 299:

896-899.

- [4] Fruhbeck G, Becerril S, Sainz N, et al. BAT: a new target for human obesity? *Trends Pharmacol Sci*, 2009, 30:387-396.
- [5] Cannon B, Nedergaard J. Cultures of adipose precursor cells from brown adipose tissue and of clonal brown-adipocyte-like cell lines. *Methods Mol Biol*, 2001, 155:213-224.
- [6] Cannon B, Nedergaard J. Brown adipose tissue: function and physiological significance. *Physiol Rev*, 2004, 84:277-359.
- [7] Seale P, Bjork B, Yang W, et al. PRDM16 controls a brown fat/skeletal muscle switch. *Nature*, 2008, 454:961-967.
- [8] Puigserver P. Tissue-specific regulation of metabolic pathways through the transcriptional coactivator PGC1-alpha. *Int Obes (Lond)*, 2005, 29 (Suppl 1):S5-S9.
- [9] Cuthbertson DJ, Irwin A, Gardner CJ, et al. Improved glycaemia correlates with liver fat reduction in obese, type 2 diabetes, patients given glucagon-like peptide-1 (GLP-1) receptor agonists. *PLoS one*, 2012, 7:e50117.
- [10] Vaidya HB, Goyal RK. Glucagon like peptides-1 modulators as newer target for diabetes. *Curr Drug Targets*, 2008, 9:911-920.
- [11] Sivertsen J, Rosenmeier J, Holst JJ, et al. The effect of glucagon-like peptide 1 on cardiovascular risk. *Nat Rev Cardiol*, 2012, 9:209-222.
- [12] Forst T, Weber MM, Pflutzner A, et al. Cardiovascular benefits of GLP-1-based therapies in patients with diabetes mellitus type 2: effects on endothelial and vascular dysfunction beyond glycemic control. *Exp Diabetes Res*, 2012:635472.
- [13] Gu W, Lloyd DJ, Chinookswong N, et al. Pharmacological targeting of glucagon and glucagon-like peptide 1 receptors has different effects on energy state and glucose homeostasis in diet-induced obese mice. *J Pharmacol Exp Ther*, 2011, 338:70-81.
- [14] Lockie SH, Heppner KM, Chaudhary N, et al. Direct control of brown adipose tissue thermogenesis by central nervous system glucagon-like peptide-1 receptor signaling. *Diabetes*, 2012, 61:2753-2762.
- [15] Kajimura S, Seale P, Spiegelman BM, et al. Transcriptional control of brown fat development. *Cell metab*, 2010, 11:257-262.
- [16] Wu Z, Satterfield MC, Bazer FW, et al. Regulation of brown adipose tissue development and white fat reduction by L-arginine. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 2012, 15:529-538.

(收稿日期:2013-04-09)

(本文编辑:朱梅华)