

# 性激素对 3T3-L1 脂肪细胞 Visfatin 表达的影响

温宇, 杨姗姗, 刘婧, 胡秀芬

(华中科技大学同济医学院附属同济医院儿科, 湖北省武汉市 430030)

[关键词] 3T3-L1 脂肪细胞; 性激素; Visfatin; 胰岛素抵抗

[摘要] **目的** 观察雌二醇、睾酮和孕酮对 3T3-L1 脂肪细胞 Visfatin mRNA 和蛋白表达的影响。**方法**  $10^{-8}$  mol/L ~  $10^{-6}$  mol/L 雌二醇、睾酮或孕酮作用于 3T3-L1 成熟脂肪细胞和前脂肪细胞, 孵育过夜后收集细胞, 分别采用 RT-PCR 和 Western blot 检测 Visfatin mRNA 和蛋白的表达情况。**结果** 在 3T3-L1 成熟脂肪细胞, 与对照组相比, 雌二醇和睾酮分别使 Visfatin mRNA 表达增加 24% ( $1.74 \pm 0.31$  比  $1.40 \pm 0.18$ ,  $P < 0.05$ ) 和 28% ( $1.65 \pm 0.90$  比  $1.29 \pm 0.69$ ,  $P < 0.05$ ); 而孕酮不影响成熟脂肪细胞 Visfatin mRNA 表达。雌二醇轻度增加成熟脂肪细胞 Visfatin 蛋白表达, 但无统计学差异;  $10^{-6}$  mol/L 睾酮使成熟脂肪细胞 Visfatin 蛋白表达增加 134% ( $0.61 \pm 0.40$  比  $0.26 \pm 0.05$ ,  $P < 0.05$ )。与雌二醇和睾酮不同, 孕酮使成熟脂肪细胞 Visfatin 蛋白表达下调 32% ( $0.19 \pm 0.02$  比  $0.28 \pm 0.02$ ,  $P < 0.05$ )。在前脂肪细胞, 与对照组相比,  $10^{-7}$  mol/L 和  $10^{-6}$  mol/L 雌二醇使 Visfatin mRNA 表达增加 70% ( $1.04 \pm 0.38$  比  $0.61 \pm 0.16$ ,  $P < 0.01$ ) 和 123% ( $1.36 \pm 0.41$  比  $0.61 \pm 0.16$ ,  $P < 0.01$ ); 睾酮使 Visfatin mRNA 表达增加 76% ( $1.02 \pm 0.24$  比  $0.58 \pm 0.36$ ,  $P < 0.05$ ); 孕酮使前脂肪细胞 Visfatin mRNA 表达增加 2.6 倍 ( $1.53 \pm 1.01$  比  $0.42 \pm 0.14$ ,  $P < 0.05$ )。**结论** 性激素通过促进或抑制脂肪细胞 Visfatin 基因或蛋白的表达, 参与调节上述激素引起的脂肪细胞胰岛素抵抗的病理生理过程。

[中图分类号] R36

[文献标识码] A

## Regulation of Sex Steroid Hormone on Visfatin Expression in Adipocytes and Preadipocytes

WEN Yu, YANG Shan-Shan, LIU Jing, and HU Xiu-Fen

(Department of Pediatrics, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan, Hubei 430030, China)

[KEY WORDS] 3T3-L1 Adipocytes; Sex Steroid Hormones; Visfatin; Insulin Resistance

[ABSTRACT] **Aim** To examine the effect of estradiol, testosterone and progesterone on Visfatin gene and protein expression in cultured 3T3-L1 adipocytes and preadipocytes. **Methods** 0 mmol/L (sex hormones-free DMEM/F12),  $10^{-8}$  mol/L,  $10^{-7}$  mol/L and  $10^{-6}$  mol/L estradiol or testosterone or progesterone were added to cultured 3T3-L1 adipocytes or preadipocytes overnight. Total RNA and proteins were extracted. Then the expression of Visfatin mRNA and protein was measured by RT-PCR and Western blot, respectively. **Results** Overnight incubation with estradiol increased Visfatin mRNA expression in both adipocytes (24% to 21%,  $P < 0.05$ ) at the concentration of  $10^{-8}$  mol/L to  $10^{-7}$  mol/L and preadipocytes (70% to 123%,  $P < 0.01$ ) at  $10^{-7}$  mol/L to  $10^{-6}$  mol/L, respectively. Visfatin mRNA expression increased by 28% ( $P < 0.05$ ) at  $10^{-8}$  mol/L testosterone in adipocytes, 76% ( $P < 0.05$ ) at  $10^{-7}$  mol/L testosterone in preadipocytes. Progesterone did not affect Visfatin mRNA expression on adipocytes, but had a marked increase in Visfatin expression in preadipocytes by 2.6-fold ( $P < 0.05$ ). In 3T3-L1 adipocytes, estradiol had small but insignificant effects on Visfatin protein expression, whereas testosterone had a much greater effect, increasing Visfatin protein by 134% at  $10^{-6}$  mol/L ( $P < 0.05$ ). However, progesterone significantly decreased Visfatin protein by 32% at  $10^{-6}$  mol/L ( $P < 0.05$ ). **Conclusions** These data suggest that Visfatin may play a physiological role in the insulin resistance caused by estradiol, testosterone or progesterone in 3T3-L1 adipocytes and preadipocytes.

[收稿日期] 2011-11-15

[基金项目] 国家自然科学基金青年科学基金项目(30800385);教育部博士点基金项目-新教师类(200804871059)

[作者简介] 温宇, 博士, 主治医师, 研究方向为心血管与脂肪代谢性疾病, E-mail 为 ywen79@yahoo.com.cn. 通讯作者胡秀芬, 副教授, 研究方向为心血管与脂肪代谢性疾病。

脂肪组织具有活跃内分泌功能,脂肪组织功能失调被认为是肥胖和胰岛素抵抗发生的中心环节<sup>[1]</sup>。由 Fukuhala 等<sup>[2]</sup>发现的新型脂肪细胞因子 Visfatin 可促进前脂肪细胞的分化和脂肪蓄积,参与糖脂代谢平衡调节。许多研究表明,生理浓度范围内性激素有助于维护机体正常的胰岛素敏感性,然而在高于或低于生理浓度范围时,这些激素可促进胰岛素抵抗<sup>[3]</sup>,但目前对其引起糖、脂代谢紊乱的机制,尤其是对 Visfatin 在其中作用的研究尚少。本研究观察雌二醇、睾酮和孕酮诱导 3T3-L1 脂肪细胞产生胰岛素抵抗状态下的 Visfatin mRNA 和蛋白表达规律,旨在对 Visfatin 在脂肪细胞胰岛素抵抗中的作用做进一步探讨。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

3T3-L1 前脂肪细胞株购于美国 ATCC 公司,分化诱导剂 1-甲基 3-异丁基黄嘌呤(1-methyl-3-isobutylxanthine, IBMX)、地塞米松(dexamethasone, DEX)、胰岛素(insulin, INS)、雌二醇、睾酮和孕酮购于 Sigma 公司。引物由北京奥科生物有限公司合成,100 bp DNA Ladder 购自北京天为时代科技有限公司。RT-PCR 试剂盒购于 TaKaRa 公司。兔抗 Visfatin 多克隆抗体购自 Abcam 公司。兔抗  $\beta$ -actin 多克隆抗体和辣根酶标记山羊抗兔 IgG 购自北京博奥森公司。辣根酶标记山羊抗兔 IgG(H + L)和 ECL 化学发光试剂盒购自美国 Pierce 公司。

### 1.2 细胞培养、诱导分化

3T3-L1 前脂肪细胞置于含 10% 胎牛血清的 DMEM/F12 培养基中培养,2 天换液 1 次,细胞汇合达 70% 时,0.25% 胰蛋白酶消化,传代至培养瓶,当细胞完全汇合后 2 天(诱导分化第 0 天),加入 0.5 mmol/L IBMX、1  $\mu$ mol/L DEX、10 mg/L INS,2 天后换用含 10% 胎牛血清和 10 mg/L INS 继续培养 2 天,然后换成仅含 10% 胎牛血清的 DMEM/F12 至诱导分化第 7~8 天。

### 1.3 性激素干预

将融合时前脂肪细胞和诱导分化成熟脂肪细胞置于无血清的雌二醇、睾酮或孕酮培养液中孵育过夜(18 h)后收集细胞,浓度分别为 0 mol/L、 $10^{-8}$  mol/L、 $10^{-7}$  mol/L 和  $10^{-6}$  mol/L。

### 1.4 总 RNA 的提取和测定

严格按照 TRI reagent 试剂说明书步骤和条件提取上述状态下细胞总 RNA,测定其吸光度(A)

值, $A_{260}/A_{280} = 1.8 \sim 2.0$ 。

### 1.5 Visfatin mRNA 表达水平的测定

以 RNA 为模板,以 Oligo(dT)为引物进行逆转录,然后按照说明书进行 PCR 扩增。Visfatin 上游引物序列 5'-CAG TGC CTG TGT CTG TGG TCA-3',下游引物序列 5'-CTA ATG AGG TGC CAC GTC CTG-3',产物 665 bp;内参  $\beta$ -actin 上游引物序列 5'-ATG GGT CAG AAG GAC TCC TAT G-3',下游引物序列 5'-ATC TCC TGC TCG AAG TCT AGA G-3',产物 542 bp。RT 体系 20  $\mu$ L,PCR 体系 25  $\mu$ L。PCR 反应条件为:94 $^{\circ}$ C 预变性 2 min,94 $^{\circ}$ C 变性 30 s,60 $^{\circ}$ C 退火 30 s,72 $^{\circ}$ C 延伸 1 min,循环 35 次,72 $^{\circ}$ C 终末延伸 5 min。PCR 产物经 2% 琼脂糖凝胶电泳,紫外灯观察并照相,利用英国 UVP 公司 GDS8000 型凝胶成像分析系统测定电泳条带吸光度值,以 Visfatin/ $\beta$ -actin 条带吸光度比值表示 Visfatin mRNA 表达的相对含量。实验重复 4 次。

### 1.6 免疫印迹法检测细胞 Visfatin 表达

提取细胞总蛋白,取 40  $\mu$ g 蛋白进行 SDS-PAGE 电泳,转膜,封闭,加入抗 Visfatin(1:500)和  $\beta$ -actin(1:500)的抗体,4 $^{\circ}$ C 过夜;洗涤后加入辣根酶标记的二抗,避光孵育 120 min,充分洗涤后与 ECL 化学发光试剂反应,在底片上曝光,洗片后对结果进行吸光度扫描分析,以特异性目的条带吸光度值与  $\beta$ -actin 条带吸光度值的比值表示目的蛋白表达相对含量。

### 1.7 统计学方法

实验数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,组间比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 3T3-L1 成熟脂肪细胞形态学观察

3T3-L1 前脂肪细胞表现为成纤维细胞样长梭形,胞浆中无脂滴;分化成熟后,细胞变大、变圆,胞浆可见明显的脂滴,呈“戒环”状。

### 2.2 雌二醇对 3T3-L1 前脂肪细胞和成熟脂肪细胞 Visfatin mRNA 表达的调节

雌二醇刺激后 3T3-L1 成熟脂肪细胞和前脂肪细胞 Visfatin mRNA 表达明显上升。在成熟脂肪细胞, $10^{-8}$  mol/L 和  $10^{-7}$  mol/L 雌二醇分别使 Visfatin mRNA 表达增加 24% 和 21% ( $P < 0.05$ );而在前脂肪细胞, $10^{-7}$  mol/L 和  $10^{-6}$  mol/L 雌二醇分别使 Visfatin mRNA 表达分别增加 70% 和 123% ( $P < 0.01$ ;表 1 和图 1)。

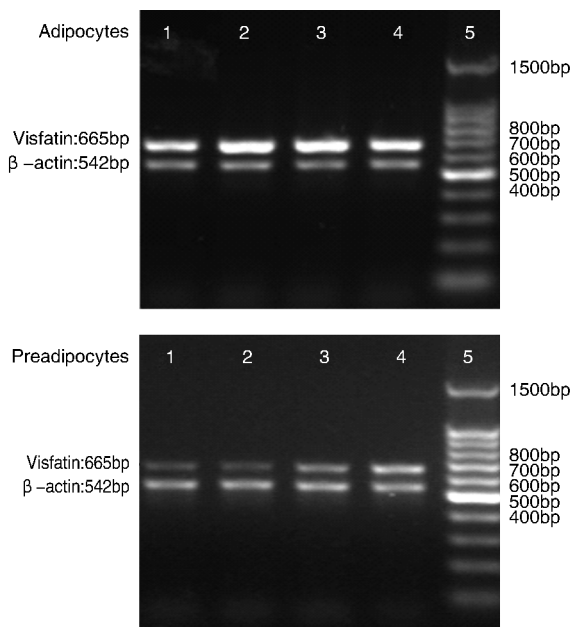


图 1. 雌二醇对 3T3-L1 成熟脂肪细胞和前脂肪细胞 Visfatin mRNA 表达的影响 1 为 0 mol/L 组, 2 为  $10^{-8}$  mol/L 组, 3 为  $10^{-7}$  mol/L 组, 4 为  $10^{-6}$  mol/L 组, 5 为 100 bp DNA Marker。

Figure 1. Estradiol effects on Visfatin mRNA expression in adipocytes and preadipocytes

### 2.3 睾酮对 3T3-L1 前脂肪细胞和成熟脂肪细胞 Visfatin mRNA 表达的调节

$10^{-8}$  mol/L、 $10^{-7}$  mol/L 和  $10^{-6}$  mol/L 睾酮孵育过夜后, 成熟脂肪细胞 Visfatin mRNA 表达对分别是对照组的 1.28 倍 ( $P < 0.05$ ), 1.12 倍 ( $P > 0.05$ ) 和 0.91 倍 ( $P > 0.05$ );  $10^{-8}$  mol/L 不影响前脂肪细胞 Visfatin mRNA 表达,  $10^{-7}$  mol/L 和  $10^{-6}$  mol/L 睾酮使前脂肪细胞 Visfatin mRNA 表达分别增加了 76% ( $P < 0.05$ ) 和 29% ( $P > 0.05$ ; 表 1 和图 2)。

### 2.4 孕酮对 3T3-L1 前脂肪细胞和成熟脂肪细胞 Visfatin mRNA 表达的调节

孕酮轻度抑制成熟脂肪细胞 Visfatin mRNA 表达, 但无统计学差异, 却显著增加前脂肪细胞 Visfatin mRNA 表达,  $10^{-7}$  mol/L 孕酮使 Visfatin 表达增加了 2.6 倍 ( $P < 0.05$ ; 表 1 和图 3)。

### 2.5 雌二醇、睾酮和孕酮对 3T3-L1 成熟脂肪细胞 Visfatin 蛋白表达的调节

$10^{-8}$  mol/L、 $10^{-7}$  mol/L、 $10^{-6}$  mol/L 雌二醇孵育过夜后, 3T3-L1 成熟脂肪细胞 Visfatin 蛋白表达分别为对照组的 1.08、1.38 和 1.77 倍, 但无统计学差异 ( $P > 0.05$ )。  $10^{-6}$  mol/L 睾酮使 3T3-L1 成熟脂肪细胞 Visfatin 蛋白表达显著增加 1.34 倍 ( $P < 0.05$ )。与雌二醇和睾酮不同,  $10^{-8}$  mol/L、 $10^{-7}$

mol/L、 $10^{-6}$  mol/L 孕酮刺激后, Visfatin 蛋白表达分别下调 13% ( $P > 0.05$ )、26% ( $P > 0.05$ ) 和 32% ( $P < 0.05$ ; 表 2、图 4 和图 5)。

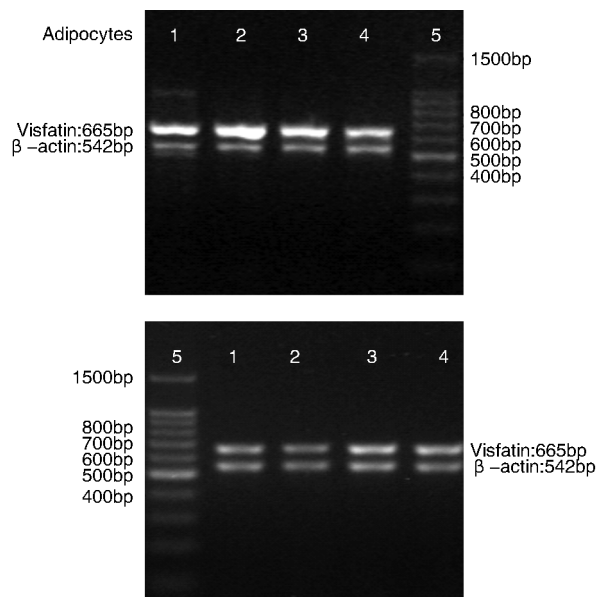


图 2. 睾酮对 3T3-L1 成熟脂肪细胞和前脂肪细胞 Visfatin mRNA 表达的影响 1 为 0 mol/L 组, 2 为  $10^{-8}$  mol/L 组, 3 为  $10^{-7}$  mol/L 组, 4 为  $10^{-6}$  mol/L 组, 5 为 100 bp DNA Marker。

Figure 2. Testosterone effects on Visfatin mRNA expression in adipocytes and preadipocytes

表 1. 雌二醇、睾酮和孕酮对 3T3-L1 成熟脂肪细胞和前脂肪细胞 Visfatin mRNA 表达的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 4$ )

Table 1. Sex steroid hormone effect on Visfatin mRNA expression in 3T3-L1 adipocytes and preadipocytes

	浓度 (mol/L)	成熟脂肪细胞	前脂肪细胞
雌二醇	0	1.40 ± 0.18	0.61 ± 0.16
	$10^{-8}$	1.74 ± 0.31 <sup>a</sup>	0.56 ± 0.21
	$10^{-7}$	1.69 ± 0.45 <sup>a</sup>	1.04 ± 0.38 <sup>b</sup>
	$10^{-6}$	1.43 ± 0.29	1.36 ± 0.41 <sup>b</sup>
睾酮	0	1.29 ± 0.69	0.58 ± 0.36
	$10^{-8}$	1.65 ± 0.90 <sup>a</sup>	0.58 ± 0.25
	$10^{-7}$	1.44 ± 0.73	1.02 ± 0.24 <sup>a</sup>
	$10^{-6}$	1.17 ± 0.66	0.75 ± 0.35
孕酮	0	0.90 ± 0.26	0.42 ± 0.14
	$10^{-8}$	0.89 ± 0.23	0.81 ± 0.45
	$10^{-7}$	0.86 ± 0.18	1.53 ± 1.01 <sup>a</sup>
	$10^{-6}$	0.70 ± 0.09	0.59 ± 0.23

a 为  $P < 0.05$ , b 为  $P < 0.01$ , 与对照组 (0 mol/L 组) 比较。

表 2. 性激素对 3T3-L1 成熟脂肪细胞 Visfatin 蛋白表达的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=3$ )

Table 2. Sex steroid hormone effect on Visfatin protein expression in 3T3-L1 adipocytes

浓度 (mol/L)	成熟脂肪细胞 Visfatin 蛋白	
雌二醇	0	0.26 ± 0.05
	10 <sup>-8</sup>	0.28 ± 0.04
	10 <sup>-7</sup>	0.36 ± 0.13
	10 <sup>-6</sup>	0.46 ± 0.23
睾酮	0	0.26 ± 0.05
	10 <sup>-8</sup>	0.35 ± 0.13
	10 <sup>-7</sup>	0.44 ± 0.17
	10 <sup>-6</sup>	0.61 ± 0.40 <sup>a</sup>
孕酮	0	0.28 ± 0.02
	10 <sup>-8</sup>	0.25 ± 0.07
	10 <sup>-7</sup>	0.21 ± 0.07
	10 <sup>-6</sup>	0.19 ± 0.02 <sup>a</sup>

a 为  $P < 0.05$ , 与对照组 (0 mol/L 组) 比较。

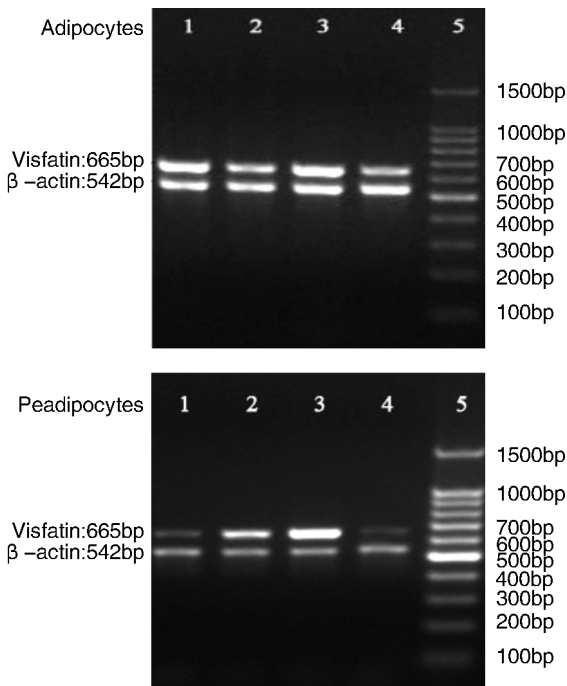


图 3. 孕酮对 3T3-L1 成熟脂肪细胞和前脂肪细胞 Visfatin mRNA 表达的影响 1 为 0 mol/L 组, 2 为 10<sup>-8</sup> mol/L 组, 3 为 10<sup>-7</sup> mol/L 组, 4 为 10<sup>-6</sup> mol/L 组, 5 为 100 bp DNA Marker。

Figure 3. Progesterone effects on Visfatin mRNA expression in adipocytes and preadipocytes

### 3 讨论

Visfatin 是 2005 年由日本科学家 Fukuhara 等在腹部脂肪组织中发现并命名。尽管报道 Visfatin 模

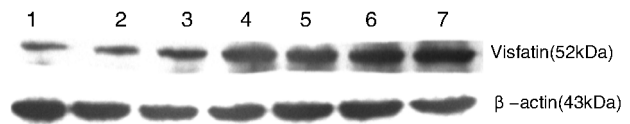


图 4. 雌二醇和睾酮对 3T3-L1 成熟脂肪细胞 Visfatin 蛋白表达的影响 1 为对照组, 2~4 为 10<sup>-8</sup> mol/L ~ 10<sup>-6</sup> mol/L 雌二醇组, 5~7 为 10<sup>-8</sup> mol/L ~ 10<sup>-6</sup> mol/L 睾酮组。

Figure 4. Estradiol and testosterone effect on Visfatin protein expression in 3T3-L1 adipocytes

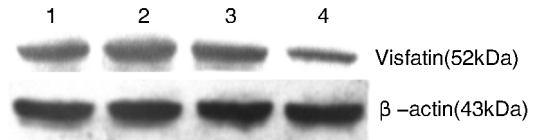


图 5. 孕酮对 3T3-L1 成熟脂肪细胞 Visfatin 蛋白表达的影响 1 为对照组, 2~4 为 10<sup>-8</sup> mol/L ~ 10<sup>-6</sup> mol/L 孕酮组。

Figure 5. Progesterone effects on Visfatin protein expression in 3T3-L1 adipocytes

拟胰岛素生物学作用的文章被撤回<sup>[4]</sup>, 但对 Visfatin 与肥胖症、胰岛素抵抗的相关性研究已取得一定进展。Visfatin 显著促进小鼠胰岛 beta 细胞分泌胰岛素和增强胰岛素受体的磷酸化水平<sup>[5]</sup>, 诱导 3T3-L1 脂肪细胞葡萄糖转运体 4 (GLUT4) 从胞浆向胞膜转位<sup>[6]</sup>; 肥胖症和 2 型糖尿病患者血浆 Visfatin 浓度升高, 并与胰岛素水平正相关<sup>[7-9]</sup>; 这些研究表明 Visfatin 参与糖代谢和胰岛素抵抗的调节。大量研究证实性激素也与糖代谢、胰岛素敏感性密切相关<sup>[3]</sup>。性激素主要通过调节胰岛素介导的信号通路影响胰岛素的敏感性, 生理浓度的性激素有利于胰岛素受体、胰岛素受体底物、磷脂酰肌醇-3 激酶和 GLUT4 的激活, 高浓度作用则相反<sup>[10-12]</sup>。目前, 性激素与胰岛素敏感性的关系已经得到充分肯定。Visfatin 与性激素均参与调节机体糖、脂代谢, 它们之间可能存在一定的关系。大量研究证实, 妊娠期妇女存在胰岛素抵抗, 这种胰岛素抵抗的发生与妊娠后体内孕激素和/或雌激素水平升高有关, 至少部分相关。本研究中, 雌二醇显著增强 3T3-L1 脂肪细胞和前脂肪细胞 Visfatin mRNA 表达, 尽管蛋白表达有增强的趋势, 但无统计学差异。孕酮促进前脂肪细胞 Visfatin 表达, 却抑制成熟脂肪细胞 Visfatin 表达。在 Zhou 等<sup>[6]</sup> 研究中, 16 μg/L (10<sup>-8</sup> mol/L) 雌二醇和 190 μg/L (10<sup>-7</sup> mol/L) 孕酮仅轻度增加 3T3-L1 脂肪细胞 Visfatin mRNA 表达 (无统计学差异), 但模拟孕期雌二醇, 雌三醇和孕酮同时刺激 3T3-L1 脂肪细胞, Visfatin mRNA 表达增加了 13 倍,

提示体内性激素之间存在协同作用。虽然妊娠期妇女 Visfatin 水平受多种因素影响,而临床研究证实妊娠期血浆 Visfatin 水平显著升高<sup>[13]</sup>,Visfatin 的升高可能代偿胰岛素敏感性的下降和促进胎儿糖的利用以利于胎儿的生长需要。

高胰岛素血症和高雄激素血症是多囊卵巢综合征(polycystic ovary syndrome, PCOS)的两大基本特征。相关机制尚未明确。本研究中,  $10^{-8}$  mol/L ~  $10^{-6}$  mol/L 睾酮在一定成程度上促进 3T3-L1 成熟脂肪细胞和前脂肪细胞 Visfatin 的 mRNA 和/或蛋白表达,与临床上 PCOS 患者同时存在高血清睾酮水平和高 Visfatin 水平相符<sup>[14]</sup>。研究表明,睾酮抑制一氧化氮合酶的生成从而减少一氧化氮的合成,而后者抑制 Visfatin 的表达,最终使 Visfatin 的表达增加<sup>[15]</sup>,与本研究结果一致,具体机制还需要进一步的证实。此外,PCOS 时雌二醇生成增加,而本研究证实雌二醇促进脂肪细胞 Visfatin 的表达。一方面,高浓度睾酮抑制脂肪细胞乃至机体葡萄糖利用,损害胰岛素敏感性<sup>[14,16]</sup>;另一方面,高雄激素可导致脂肪沉积<sup>[17]</sup>,合成更多 Visfatin 以代偿胰岛素敏感性下降,并进入血液循环,引起高 Visfatin 血症。由此推测,在高睾酮状态,如 PCOS 和绝经后妇女等,Visfatin 和胰岛素水平升高,但其下游信号分子 GLUT4 蛋白等活性的下降,最终导致 Visfatin 和胰岛素功能的损害,引起胰岛素抵抗,甚至 Visfatin 抵抗,但尚有待深入研究。而我们前期研究表明睾酮可引起促酰化蛋白功能抵抗<sup>[16]</sup>,由此可见胰岛素抵抗和促酰化蛋白抵抗甚至可能瘦素、Visfatin 等其它脂肪因子抵抗共同参与高雄激素诱导的脂肪细胞功能失调。

综上,在某些高性激素状态下,如性激素替代治疗、妊娠、PCOS 或体外研究等,Visfatin 表达的变化,可能代偿胰岛素敏感性下降,也可能性激素导致 Visfatin 功能受损,参与高性激素导致的糖、脂代谢紊乱状态。

#### [参考文献]

[1] Virtue S, Vidal-Puig A. Adipose tissue expandability, lipotoxicity and the Metabolic Syndrome--an allostatic perspective[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2010, 1801 (3): 338-349.

[2] Fukuhara A, Matsuda M, Nishizawa M, et al. Visfatin: a protein secreted by visceral fat that mimics the effects of insulin [J]. *Science*, 2005, 307 (5708): 426-430.

[3] Livingston C, Collison M. Sex steroids and insulin resistance[J]. *Clin Sci*, 2002, 102 (2): 151-166.

[4] Fukuhara A, Matsuda M, Nishizawa M, et al. Retraction. *Science*, 2007, 318 (5850): 565.

[5] Brown JE, Onyango DJ, Ramanjaneya M, et al. Visfatin regulates insulin secretion, insulin receptor signalling and mRNA expression of diabetes-related genes in mouse pancreatic beta-cells[J]. *J Mol Endocrinol*, 2010, 44 (3): 171-178.

[6] Zhou J, Seidel ER. Estrogens induce visfatin expression in 3T3-L1 cells[J]. *Peptides*, 2010, 31 (2): 271-274.

[7] Davutoglu M, Ozkaya M, Guler E, et al. Plasma visfatin concentrations in childhood obesity: relationships with insulin resistance and anthropometric indices[J]. *Swiss Med Wkly*, 2009, 139 (1-2): 22-27.

[8] Esteghamati A, Alamdari A, Zandieh A, et al. Serum visfatin is associated with type 2 diabetes mellitus independent of insulin resistance and obesity[J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2011, 91 (2): 154-158.

[9] El-Mesallamy HO, Kassem DH, El-Demerdash E, et al. Vaspin and visfatin/Nampt are interesting interrelated adipokines playing a role in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus[J]. *Metabolism*, 2011, 60 (1): 63-670.

[10] Nagira K, Sasaoka T, Wada T, et al. Altered subcellular distribution of estrogen receptor alpha is implicated in estradiol-induced dual regulation of insulin signaling in 3T3-L1 adipocytes[J]. *Endocrinology*, 2006, 147 (2): 1 020-028.

[11] 陈鑫, 李昕, 黄海艳, 等. 睾酮对胰岛素敏感细胞胰岛素受体底物 1 和葡萄糖转运载体 4 表达的影响[J]. *中华医学杂志*, 2006, 6 (21): 1 471-477.

[12] Ordonez P, Moreno M, Alonso A, et al. Insulin sensitivity in streptozotocin-induced diabetic rats treated with different doses of 17beta-oestradiol or progesterone [J]. *Exp Physiol*, 2007, 92 (1): 241-249.

[13] Mazaki-Tovi S, Romero R, Kusanovic JP, et al. Maternal visfatin concentration in normal pregnancy[J]. *J Perinat Med*, 2009, 37 (3): 206-217.

[14] Kalyani RR, Franco M, Dobs AS, et al. The association of endogenous sex hormones, adiposity, and insulin resistance with incident diabetes in postmenopausal women[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2009, 94 (11): 4 127-135.

[15] Duckles SP, Miller VM. Hormonal modulation of endothelial NO production[J]. *Pflugers Arch*, 2010, 459 (6): 841-851.

[16] Wen Y, Wang H, MacLaren R, et al. Sex steroid hormones induce acylation stimulating protein resistance in 3T3-L1 adipocytes[J]. *J Cell Biochem*, 2008, 105 (2): 404-413.

[17] Gen R, Akbay E, Muslu N, et al. Plasma visfatin level in lean women with PCOS: relation to proinflammatory markers and insulin resistance[J]. *Gynecol Endocrinol*, 2009, 25 (4): 241-245.

(此文编辑 文玉珊)