脂糖代谢研究

DOI:10.13406/j.cnki.cyxb.001324

慢性炎症加重肥胖小鼠肝糖代谢紊乱机制初探

罗　旋,谭　伟,刘　军,杜琳敏,陈压西,阮雄中,杨　萍
(重庆医科大学脂糖代谢性疾病重庆市重点实验室,重庆　400016)

【摘　要】**目的**:探讨慢性炎症是否可加剧肥胖状态小鼠糖代谢紊乱,及是否影响肝脏糖异生及相关机制。**方法**:野生 C57BL/6J 小鼠随机分为正常饮食组、高脂饮食组、高脂饮食合并炎症组(高脂饮食加酪蛋白注射组)。小鼠巨噬细胞标志物 F4/80 免疫组化染色检测肝脏巨噬细胞浸润情况,实时荧光定量 PCR 检测单核细胞趋化蛋白-1(Mcp1),糖异生相关基因葡萄糖-6-磷酸酶(G-6-pase)和磷酸烯醇式丙酮酸(Pepck)mRNA 相对表达量,过碘酸-希夫染色和蒽酮法检测肝脏糖原含量,蛋白免疫印迹法检测肝脏组织叉头框蛋白 O1(FoxO1),蛋白激酶 B(Akt)及其磷酸化蛋白表达。**结果**:高脂饮食加酪蛋白注射组较高脂饮食组肝脏组织炎症明显升高(P=0.000),且空腹血糖及胰岛素耐量曲线下面积均明显升高(P=0.040,P=0.025),肝脏糖原积聚亦明显增加(P=0.000),肝糖异生相关基因 G-6-pase、Pepck mRNA 表达明显升高(P=0.001,P=0.001),而肝脏 Akt 及 FoxO1 蛋白磷酸化程度均明显下降(P=0.021,P=0.003)。高脂饮食组较正常饮食组肝脏 Akt、FoxO1 蛋白磷酸化降低,糖异生基因表达增加,但血糖仍维持在正常水平。**结论**:慢性炎症可进一步加剧肥胖小鼠肝糖代谢紊乱,诱导肥胖小鼠高血糖。

【关键词】慢性炎症;肥胖;肝脏糖异生
【中图分类号】R589.1　　【文献标志码】A　　【收稿日期】2017-2-21

Chronic inflammation aggravates hepatic glucose metabolism disorder in obese mice

Luo Xuan, Tan Wei, Liu Jun, Du Linmin, Chen Yaxi, Ruan Xiongzhong, Yang Ping
(*Chongqing Key Laboratory of Lipid and Glucose Metabolism, Chongqing Medical University*)

【Abstract】***Objective***: To investigate whether inflammation plays a role in accelerating glucose metabolism disorder in obese mice and whether the mechanism is regulated by liver gluconeogenesis. ***Methods***: The C57BL/6J mice were randomly divided into normal chaw diet group, high fat diet group, high fat diet with chronic inflammation group(high fat diet with casein injection group). The macrophage infiltration in the liver was detected by F4/80 staining. The mRNA relative expression levels of Mcp1, G-6-pase and Pepck were examined using real-time quantitative PCR. The liver glycogen content was detected qualitatively by Periodic acid-Schiff staining and quantitatively by anthrone-sulfuric acid method. The FoxO1 and Akt protein levels were analyzed by Western blot. ***Results***: Casein injection induced obvious liver inflammation in high fat diet-fed mice(P=0.000). The fasting blood glucose levels and the area under the insulin tolerance curve were higher in the casein-injected mice(P=0.040, P=0.025). The liver glycogen content and the gluconeogenesis related gene G-6-pase and Pepck expression were also increased significantly(P=0.001, P=

作者介绍:罗　旋,Email:1510079138@qq.com,
研究方向:脂糖代谢与炎症、肿瘤发生发展关系。
通信作者:杨　萍,Email:yp_apple@yeah.net。
基金项目:国家自然科学基金资助项目(编号:81400786);重庆市科委基础与前沿研究计划资助项目(编号:cstc2015jcyjA10001)。
优先出版:http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.r.20170622.1631.032.html (2017-06-22)

[15] Baylin SB, Jones PA. A decade of exploring the cancer epigenome-biological and translational implications[J]. Nat Rev Cancer, 2011, 11(10): 726-734.
[16] Versteege I, Sevenet N, Lange J, et al. Truncating mutations of hSNF5/INI1 in aggressive paediatric cancer[J]. Nature, 1998, 394(6689): 203-206.
[17] Jones S, Wang TL, Shih IeM, et al. Frequent mutations of chromatin remodeling gene ARID1A in ovarian clear cell carcinoma[J]. Science, 2010, 330(6001): 228-231.
[18] Varela I, Tarpey P, Raine K, et al. Exome sequencing identifies frequent mutation of the SWI/SNF complex gene PBRM1 in renal carcinoma[J]. Nature, 2011, 469(7331): 539-542.
[19] Yaniv M.. Chromatin remodeling: from transcription to cancer[J]. Cancer Genet, 2014, 207(9): 352-357.
[20] You J, Yang H, Lai Y, et al. ARID2, p110α, p53, and β-catenin protein expression in hepatocellular carcinoma and clinicopathologic implications[J]. Hum Pathol, 2015, 46(7): 1068-1077.
[21] Duan Y, Tian L, Gao Q, et al. Chromatin remodeling gene ARID2 targets cyclin D1 and cyclin E1 to suppress hepatoma cell progression [J]. Oncotarget, 2016, 7(29): 45863-45875.

(责任编辑:张辉洁)

0.001), while the phosphorylation of Akt and FoxO1 in the liver decreased obviously (P=0.021, P=0.003) after casein injection. High fat diet alone resulted in higher expression of gluconeogenesis genes (G-6-pase, Pepck), while the blood glucose levels maintained in the normal range. ***Conclusion***: Chronic inflammation can exacerbate glucose metabolism disorder in obese mice fed with high fat diet, resulting in hyperglycemia. It suggests that chronic inflammation may increase the risk of obese patients developing into type 2 diabetes, which provides clinical implications for the obese patients to prevent type 2 diabetes.

【Key words】chronic inflammation; obesity; liver gluconeogenesis

肥胖与糖代谢紊乱及 2 型糖尿病的发生密切相关。尽管如此，有的肥胖并不存在内分泌紊乱或代谢障碍，又称单纯性肥胖。据报道在中国仅 14%~20%的肥胖者罹患 2 型糖尿病[1]，故并非所有肥胖均会导致糖尿病，而能够发展为糖尿病的肥胖患者可能比单纯性肥胖患者多具备其余危险因素。研究发现，体内炎症因子水平升高往往存在于胰岛素抵抗与糖尿病患者中[2]，故本研究推测炎症可能升高肥胖人群患糖尿病的风险。肝脏是最大的糖代谢器官，其糖异生增加可使血糖升高、肝糖原累积，长期过高的血糖可导致糖耐量受损，胰岛素敏感性降低，2 型糖尿病的发生[3]。叉头框蛋白 O1（forkhead box protein O1, FoxO1）是核转录因子，也是肝脏糖异生信号通路中的重要蛋白，可与葡萄糖-6-磷酸酶（glucose 6-phosphatase, G-6-pase）、磷酸烯醇式丙酮酸（phosphoenolpyruvate carboxykinase, Pepck）启动子结合，促进糖异生[4-5]。FoxO1 上游为蛋白激酶 B（protein kinase B, Akt），Akt 丝氨酸磷酸化以后可激活 FoxO1 磷酸化，FoxO1 降解，从而减少肝脏糖异生[6]。本研究旨在利用动物模型，探讨慢性炎症是否作为危险因素促进肥胖小鼠糖尿病的产生，及其是否通过影响肝脏糖异生及相关分子机制。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 动物模型的建立 选择 6 周龄雄性野生 C57BL/6J 小鼠共 18 只，随机分为正常饮食组（正常组）、高脂饮食组（高脂组）、高脂饮食合并炎症组（高脂炎症组）即高脂饮食加酪蛋白注射组，最后一组皮下注射 500 μL 10%酪蛋白，隔日注射，前两组皮下注射等量生理盐水作为对照。每组 6 只，一共喂养 14 周后，以 10%水合氯醛约 200 μL 腹腔注射小鼠进行麻醉，解剖小鼠，灌注后取肝组织迅速冻于液氮后转移至-80 ℃冰箱保存。小鼠由重庆医科大学实验动物中心提供，高脂饮食含 60%能量脂肪，购于美国 Harlan Laboratories 公司，酪蛋白购于美国 Sigma 公司。

1.1.2 实验试剂 抗鼠 F4/80 抗体购于美国 Biolegend 公司，Trizol RNA 提取试剂、逆转录试剂盒及 SYBER Premix 购于日本 Takara 公司，PCR 引物由北京六合华大基因科技公司合成。血糖试纸及血糖检测仪购于 Roche 公司，糖原 PAS 染色液及糖原含量试剂盒购于索莱宝公司。兔多克隆抗体 FoxO1、p-FoxO1（Ser319）购于美国 Abcam 公司，兔单克隆抗体 Akt、p-Akt（Ser473）购于美国 Cell Signaling 公司，兔单克隆抗体 β-Actin 购于美国 Proteintec 公司，二抗辣根过氧化物酶标记山羊抗兔 IgG 购于美国 Bioworld 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 F4/80 免疫组化染色检测肝脏巨噬细胞浸润情况 小鼠肝脏组织经多聚甲醛固定，乙醇脱水，二甲苯透明后石蜡包埋，后经脱蜡、水化、抗原修复，抗鼠 F4/80（mouse EGF-like module-containing mucin-like hormone receptor-like 1）抗体作为一抗（稀释浓度 1:100），设置阴性对照，按照免疫组化常规步骤染色，于显微镜下观察拍照。

1.2.2 qRT-PCR 检测相关基因 mRNA 表达含量 小鼠肝脏组织经匀浆后加入 Trizol 裂解液裂解，提取总 RNA，微量分光光度计检测 RNA 含量与纯度，于 20 μL 逆转录体系中各加 1 000 ng RNA 逆转录为 cDNA。然后取 1 μL cDNA 于 25 μL 扩增体系中进行实时荧光定量 qRT-PCR，加入上下游引物各 0.25 μL（25 pmol/L），SYBER Green mix 12.5 μL，超纯水补齐至总反应体系 25 μL，于 Bio-Rad PCR 仪中扩增。以β-Actin 为内参，用△△Ct 来计算基因的表达水平，计算公式如下：实验组相对于对照组基因表达的水平的倍数=$2^{-\triangle\triangle Q}$，其中△△Ct=实验组△Ct-对照组△Ct，△Ct=目的基因 Ct-β-Actin 基因 Ct。PCR 引物由 qPrimerDepot 设计，NCBI Primer-Blast 验证，序列见表 1。

表 1 qRT-PCR 引物序列

Tab.1 Primer sequences for real-time PCR

基因	引物
Mcp1	正义链：5'-ATTGGGATCATCTTGCTGGT-3'
	反义链：5'-CCTGCTGTTCACAGTTGCC-3'
Pepck	正义链：5'-ATCTCCTTTGGAAGCGGATATG-3'
	反义链：5'-CGCAACGCAAAGCATTTCTT-3'
G-6-pase	正义链：5'-TCGGCCTATCTCGGGTCTT-3'
	反义链：5'-GCCGCCCAACACTTGGT-3'
β-actin	正义链：5'-ATGGAGGGGAATACAGCCC -3'
	反义链：5'-TTCTTTGCAGCTCCTTCGT-3'

1.2.3 小鼠空腹血糖、胰岛素耐量检测 小鼠喂养至 14 周时禁食 12 h 后经心脏采血后行血清生化学检测空腹血糖值。胰岛素耐量实验则通过禁食 4 h，经腹腔注射胰岛素 1 mU/g 体质量后采血记录 0 min（注射前）、15 min、30 min、60 min、120 min 血糖值而检测并绘制血糖-时间曲线，通过近似梯形计算曲线下面积，具体计算如下：曲线下面积=1/2×[($C_{0\ min}$+$C_{15\ min}$)×15 min+($C_{15\ min}$+$C_{30\ min}$)×15 min+($C_{30\ min}$+$C_{60\ min}$)×30 min+($C_{60\ min}$+$C_{120\ min}$)×60 min]，C 代表血糖浓度。

1.2.4 过碘酸-希夫（periodic acid-Schiff，PAS）染色检测肝脏糖原含量 肝脏组织石蜡切片脱蜡、水化后滴加 0.5%过碘酸液，染色 10 min，蒸馏水冲洗后滴加 Schiff 液，染色 15 min，吸弃 Schiff 液，滴加 0.5%偏重亚硫酸钠液等待 2 min，冲洗后苏木精染色 1 min，冲洗，干燥，中性树胶封片，于显微镜下观察。糖原显示为紫红色。

1.2.5 蒽酮法检测肝脏糖原含量 称取小鼠肝脏组织 200 mg，加入 4 mL 三氯醋酸，匀浆 1 min，匀浆液 3 000 r/min 离心 15 min，取上清至另一 EP 管，于沉淀中再次加入 4 mL 三氯醋酸，再次离心得上清于上一次上清液混匀，按照厂家说明书用蒽酮法于 620 nm 波长处测定吸光度，计算肝糖原含量。

1.2.6 蛋白免疫印迹检测肝脏组织蛋白表达 称取等量肝组织，加入 RIPA 裂解液，匀浆离心取上清，冰上裂解约 30 min，离心取上清，用 BCA 法测定蛋白含量并标化，加入上样缓存液，煮沸，保存于-20 ℃。每次上样约 50 μg，于 SDS-PAGE 凝胶中电泳分离，转移至 PVDF 膜，以 3%BSA 封闭，一抗 4 ℃过夜孵育，二抗 37 ℃、1 h 孵育，一抗分别为兔多克隆抗体 FoxO1、p-FoxO1(Ser319)（1:500 稀释），兔单克隆抗体 Akt（1:1 000 稀释）、p-Akt(Ser473)（1:1 000 稀释），及兔单克隆抗体 β-actin（1:3 000 稀释），其中 β-actin 为内参蛋白，二抗为山羊抗兔辣根过氧化物酶标记 IgG（1:4 000 稀释），采用 ECL 光化学法显影并拍照。

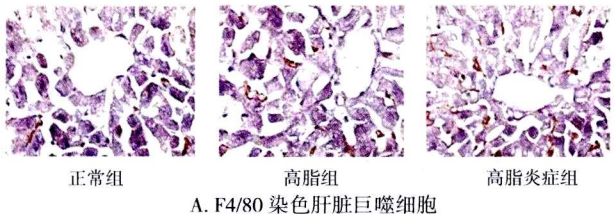
1.3 统计学处理

应用 Graphpadprism5.0 软件统计处理，计量资料采用均数±标准差（$\bar{x}\pm s$）表示。3 组间比较采用单因素方差分析，组间两两比较采用 Turkey's 多重比较检验，检验水准 α=0.05。

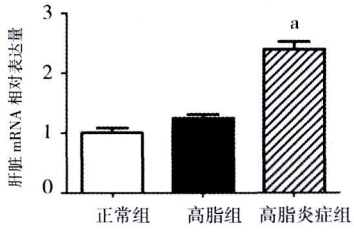
2 结 果

2.1 酪蛋白注射可诱导肥胖小鼠肝脏炎症反应产生

F4/80 染色肝脏组织巨噬细胞（棕色）提示高脂饮食组较正常饮食组无明显巨噬细胞浸润增加，而高脂饮食加酪蛋白注射组较高脂饮食组巨噬细胞浸润明显增加（图 1A）。定量 PCR 检测肝组织炎症因子单核细胞趋化蛋白-1（monocyte chemotactic protein 1，Mcp1）mRNA 表达水平提示高脂饮食加酪蛋白注射组 Mcp1 表达显著高于单纯高脂饮食组（高脂炎症组 vs. 高脂组，q=12.010，P=0.000）（图 1B）。图 1 说明高脂饮食小鼠注射酪蛋白后肝脏炎症明显增加，提示小鼠炎症模型建立成功。



A. F4/80 染色肝脏巨噬细胞



a：高脂炎症组与高脂组比较，P<0.05

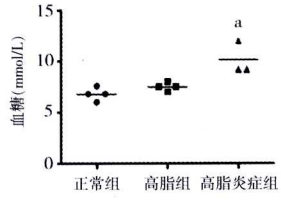
B. qRT-PCR 检测各组肝脏 Mcp1 mRNA 含量

图 1 各组 mRNA 表达比较

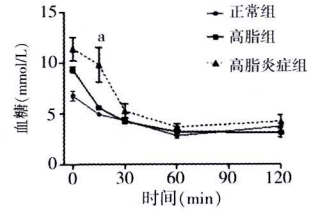
Fig.1 F4/80 staining of the liver tissue(400×) and comparison of mRNA levels of inflamation marker Mcp1 among each group

2.2 慢性炎症加剧肥胖小鼠糖代谢紊乱

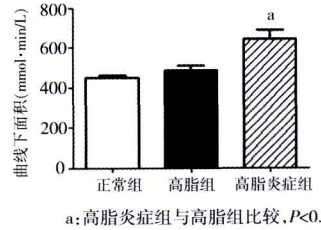
小鼠空腹血糖正常饮食组为（6.800±0.327）mmol/L，高脂饮食组为（7.500±0.204）mmol/L，高脂饮食合并炎症组为（10.130±0.933）mmol/L，高脂饮食组较正常饮食组空腹血糖无统计学差异，而高脂饮食合并炎症组空腹血糖水平明显高于单纯高脂饮食组（q=5.210，P=0.04）（图 2A）。胰岛素耐量曲线可见高脂饮食合并炎症组较高脂饮食组有升高趋势，于 15 min 处最明显（q=5.212，P=0.032）（图 2B），且下降趋势更加趋于平缓，计算胰岛素耐量曲线下面积后高脂饮食合并炎症组亦明显升高（q=5.135，P=0.025）（图 2C）。而高脂饮食组胰岛素耐量曲线下面积较正常饮食组有所升高但无统计学差异（图 2C）。图 2 说明高脂饮食可轻度损害胰岛素耐量，但血糖仍处于代偿范围内，然而高脂饮食合并炎症后糖耐量受损加剧，胰岛素敏感性降低，血糖调节失代偿而出现高血糖。



A. 空腹血糖



B. 胰岛素耐量曲线



a：高脂炎症组与高脂组比较，P<0.05

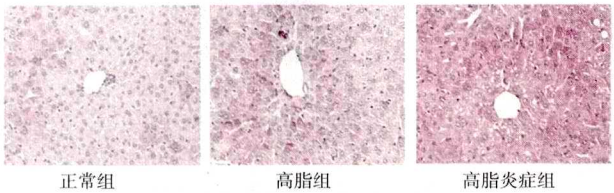
C. 胰岛素耐量曲线下面积

图 2 各组空腹血糖及胰岛素耐量曲线比较

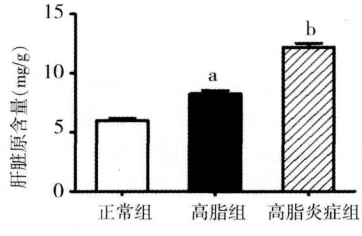
Fig.2 Comparison of fasting blood glucose and insulin tolerance curve and areas under curve among each group

2.3　慢性炎症促进肥胖小鼠肝脏糖异生

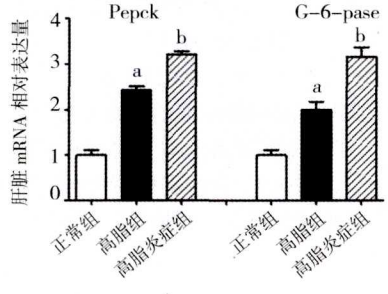
PAS 染色（糖原染为紫红色）可见高脂合并炎症组糖原明显高于单纯高脂饮食组（图 3A）。而蒽酮法检测肝组织糖原含量同样可见高脂饮食合并炎症组明显升高（q=14.080，P=0.000）（图 3B）。定量 PCR 检测提示单纯高脂饮食糖异生基因 G-6-pase、Pepck 较正常组有升高（q=11.810，P=0.000；q=23.360，P=0.004），而高脂饮食合并炎症较高脂饮食组进一步升高（q=6.799，P=0.001；q=8.917，P=0.001）（图 3C）。图 3 说明高脂饮食小鼠本身存在糖异生基因表达异常，而高脂饮食合并炎症可明显加剧肝脏糖异生及肝糖原累积。



A. PAS 染色检测糖原含量



B. 蒽酮法检测肝脏组织糖原含量



a：高脂组与正常组比较，P<0.05；
b：高脂炎症组与高脂组比较，P<0.05

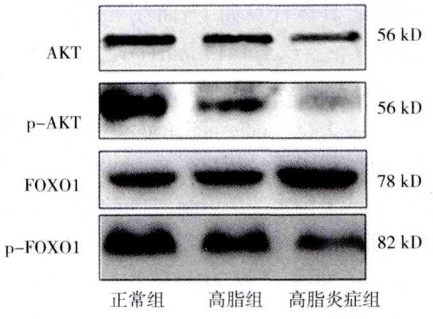
C. qRT－PCR 检测各组肝组织糖异生相关基因 mRNA 含量

图 3　各组肝脏糖原含量测定与肝脏糖异生基因 mRNA 水平检测

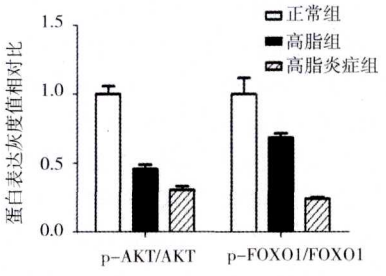
Fig.3　PAS staining of the liver tissue and comparison of liver glycogen and PEPCK and G-6pase mRNA levels among each group

2.4　慢性炎症下调肥胖小鼠肝脏组织 Akt、FoxO1 蛋白磷酸化水平

蛋白免疫印迹提示高脂饮食组及高脂饮食合并炎症组 p-FoxO1、p-Akt 蛋白表达较正常饮食组均有下降，而高脂饮食合并炎症组下降更显著（图 4A）。蛋白表达灰度值相对定量可得 p-Akt/Akt 值：正常组 vs. 高脂组，q=15.900，P=0.000；高脂组 vs. 高脂炎症组，q=2.980，P=0.021；p-FoxO1/FoxO1值：正常组 vs. 高脂组，q=12.480，P=0.031；高脂组 vs. 高脂炎症组，q=7.323，P=0.003（图 4B）。图 4 说明高脂饮食本身可损害肝脏 Akt、FoxO1 磷酸化信号通路，而合并炎症时 Akt 与 FoxO1 磷酸化信号通路进一步损害，从分子表达水平上揭示了高脂饮食合并炎症损害糖耐量，肝脏糖异生增加与 Akt，FoxO1 磷酸化水平下降相关。



A. Western blot 检测相关蛋白表达



a：高脂组与正常组比较，P<0.05；
b：高脂炎症组与高脂组比较，P<0.05

B. 蛋白表达灰度值比值柱状图

图 4　各组 Akt、Foxo1 磷酸化蛋白表达比较

Fig.4　Comparison of Akt and Foxo1 phospharylated protein expression levels among each group

3　讨　论

肥胖可引起糖代谢紊乱、2 型糖尿病发生[7]，饮食过量是肥胖常见原因之一。临床上并非所有肥胖患者都会发展为糖尿病，而发展为糖尿病的肥胖患者体内往往存在着慢性炎症因子的异常。多数研究表明慢性炎症可增加普通人群糖尿病发生危险[8]，而针对肥胖人群研究其对糖尿病发生的影响较少，故研究慢性炎症在肥胖患者发展为 2 型糖尿病过程中扮演的作用十分必要。

本试验中通过高脂饮食喂养诱导小鼠肥胖模型，小鼠体质量重于正常饮食小鼠约 20%，腹腔内脏脂肪明显增多，且血中脂质含量亦明显升高，与之前文献报道相符[9]。但单纯高脂饮食喂养并未引起小鼠全身性慢性炎症反应：可见脂肪组织巨噬细胞

少量浸润，但血清及肝脏炎症因子仍处于正常水平（结果未显示），与相关文献报道相符[9-11]。小鼠酪蛋白注射被常用于建立体内慢性炎症模型[12]，而本研究中通过高脂饮食喂养联合酪蛋白注射可使血清 TNF-a、SAA、Mcp 等炎症因子表达均升高（结果未显示），肝脏可见巨噬细胞浸润，提示小鼠已产生慢性系统性炎症。实验结果显示单纯的高脂饮食可引起一定程度的糖代谢紊乱包括糖耐量轻度受损，胰岛素敏感性轻度下降，肝脏糖异生增加，血清胰岛素含量增加[(276.6 ± 97.5) pg/mL vs. (322.4 ± 86.9) pg/mL]，暗示单纯肥胖的确存在轻度胰岛素抵抗但仍可使血糖维持在正常范围。提示单纯肥胖可通过胰岛细胞代偿分泌胰岛素使空腹血糖处于代偿范围内，与前期文献报道相符[9,13]。尽管有文献报道慢性炎症与糖尿病有关[8]，但我们的前期研究发现单纯的注射酪蛋白诱导慢性炎症小鼠的空腹血糖基本处于正常水平[9]，暗示单纯炎症亦不足以引起糖尿病。然而在本研究中肥胖小鼠合并慢性炎症以后无论空腹血糖、胰岛素耐量都明显超出正常范围，同时肝脏糖原含量明显储积，糖异生明显增加，提示慢性炎症能够促进肥胖小鼠糖尿病的发生和进展。

单纯高脂饮食及高脂饮食合并炎症小鼠肝脏中 FoxO1 蛋白磷酸化水平均显著低于正常饮食组，且高脂饮食合并炎症后 FoxO1 磷酸化表达较单纯高脂饮食组进一步下降，而 FoxO1 磷酸化减少可使 FoxO1 降解减少，从而不断刺激 G-6-pase、Pepck 而促进糖异生。Akt 作为 FoxO1 上游分子，其磷酸化可以促进 FoxO1 磷酸化，在高脂饮食及高脂饮食合并炎症小鼠中 Akt 磷酸化也是降低的，说明 FoxO1 磷酸化的减弱依赖于 Akt 磷酸化的降低。同 FoxO1 一样，高脂饮食合并炎症小鼠的 Akt 磷酸化是进一步下降的，以上提示慢性炎症会进一步损害肥胖小鼠 Akt/FoxO1 信号通路进而影响肝脏糖异生。

综上所述，在肥胖状态下，炎症会进一步降低肝脏 Akt、FoxO1 蛋白磷酸化水平，促进肝脏糖异生和肝糖原累积，加重糖代谢紊乱，从而加速 2 型糖尿病的发生。本研究提示慢性炎症状态可能增加肥胖人群患 2 型糖尿病风险，而文献报道久坐、压力应激均可引起机体慢性炎症[14-15]，而运动锻炼可减轻或预防机体慢性炎症[16]，故本研究为肥胖患者预防 2 型糖尿病提供了一定的临床价值。

参 考 文 献

[1] Chen CM. Overview of obesity in Mainland China[J]. Obesity Reviews, 2008, 9(s1): 14-21.

[2] Saxena M, Modi DR. Inflammation and diabetes[J]. Interdiscip J Microinflammation, 2014, 1(110): 2.

[3] Shen N, Jiang S, Lu JM, et al. The constitutive activation of Egr-1/C/EBPa mediates the development of type 2 diabetes mellitus by enhancing hepatic gluconeogenesis[J]. Am J Pathol, 2014, 185(2): 513-523.

[4] Cheng Z. FoxO1: mute for a tuned metabolism?[J]. Trends Endocrinol Metab, 2015, 26(8): 402-403.

[5] Yadav H, Devalaraja S, Chung S, et al. TGF-β1/Smad3 pathway targets PP2A-AMPK-FoxO1 to regulate hepatic gluconeogenesis[J]. J Biol Chem, 2017, 292(8): 3420-3432.

[6] Mirdamadi Y, Thielitz A, Wiede A, et al. Insulin and insulin-like growth factor-1 can modulate the phosphoinositide-3-kinase/Akt/FoxO1 pathway in SZ95 sebocytes in vitro[J]. Mol Cell Endocrinol, 2015, 415: 32-44.

[7] Bhardwaj S, Misra A, Khurana L, et al. Childhood obesity in Asian Indians: a burgeoning cause of insulin resistance, diabetes and subclinical inflammation[J]. Asia Pac J Clin Nutr, 2008, 17(S1): 172-175.

[8] Duncan BB, Schmidt MI. The epidemiology of low-grade chronic systemic inflammation and type 2 diabetes[J]. Diabetes Technol Ther, 2006, 8(1): 7-17.

[9] Wu Y, Wu T, Wu J, et al. Chronic inflammation exacerbates glucose metabolism disorders in C57BL/6J mice fed with high-fat diet[J]. J Endocrinol, 2013, 219(3): 195-204.

[10] Enos RT, Davis JM, Velázquez KT, et al. Influence of dietary saturated fat content on adiposity, macrophage behavior, inflammation, and metabolism: composition matters[J]. J Lipid Res, 2013, 54(1): 152-163.

[11] Tam CS, Viardot A, Clément K, et al. Short-term overfeeding may induce peripheral insulin resistance without altering subcutaneous adipose tissue macrophages in humans[J]. Diabetes, 2010, 59(9): 2164-2170.

[12] Miura K, Takahashi Y, Shirasawa H. Immunohistochemical detection of serum amyloid A protein in the liver and the kidney after casein injection[J]. Lab Invest, 1985, 53(4): 453-463.

[13] Ashcroft FM, Rorsman P, et al. Diabetes mellitus and the β cell: the last ten years[J]. Cell, 2012, 148(6): 1160-1171.

[14] Alves BC, Silva TR, Spritzer PM. Sedentary lifestyle and high-carbohydrate intake are associated with low-grade chronic inflammation in post-menopause: a cross-sectional study[J]. Rev Bras Ginecol Obstet, 2016, 38(7): 317-324.

[15] Martinac M, Pehar D, Karlović D, et al. Metabolic syndrome, activity of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis and inflammatory mediators in depressive disorder[J]. Acta Clin Croat, 2014, 53(1): 55-71.

[16] Petersen AM, Pedersen BK. The anti-inflammatory effect of exercise[J]. J Appl Physiol, 2005, 98(4): 1154-1162.

（责任编辑：张辉洁）