

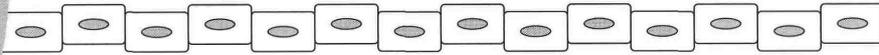
AMCoR

Asahikawa Medical University Repository <http://amcor.asahikawa-med.ac.jp/>

分子消化器病 (2009.12) 6巻4号:375～382.

消化管上皮細胞の機能分子とその解析法(第12回)
消化管上皮および脂肪細胞におけるlipinの機能と発現解析

高橋伸彦, 土屋慶容, 藤谷幹浩, 高後 裕



消化管上皮および脂肪細胞における lipin の機能と発現解析

高橋伸彦* 土屋慶容** 藤谷幹浩*** 高後 裕***

SUMMARY

腸管は解剖学的に脂肪組織に接していることから、腸管および脂肪組織の生理機能調節やさまざまな病態において、腸管と脂肪組織間に相互作用の存在が示唆されている。本稿では、まずそのような相互作用を示唆する報告として、消化管ホルモンである gastric inhibitory polypeptide の作用、クローン病 (Crohn's disease : CD) における脂肪組織の肥厚、アディポサイトカインの関与などを例にあげ概説した。つぎに脂肪細胞や腸管などに発現し、脂質代謝調節、脂肪細胞分化、転写調節など多彩な作用をもつ分子である lipin について解説した。最後に、最近われわれがおこなった、肥満の病態における lipin の関与に関して、その解析法を含めて紹介した。今後、腸管と脂肪組織の相互作用は、代謝、炎症、腫瘍などさまざまな病態において重要なテーマになるものと思われる。

はじめに

消化管の機能は単に消化・吸収をおこなうだけでなく、粘膜防御や消化管ホルモンの産生を通じて全身の代謝調節をつかさどるなど、多彩な機能を有している。また消化管には炎症、腫瘍をはじめとした医学的に重要な疾患が発生することは論を待たない。これらの生理機能調節や種々の病態において、腸管は解剖学的に脂肪組織に接していることから、腸管-脂肪組織間で何らかの相互作用が存在するのではないかと想定されるが、十分にわかってはいない。

そこで本稿では、はじめに腸管-脂肪組織間の相互作用に関していくつか概説してみたい。

腸管ペプチドが脂肪細胞にはたらく例として、小腸の K 細胞より分泌される gastric inhibitory polypeptide / glucose-dependent insulinotropic polypeptide (GIP) があげられる。GIP は脂肪細胞に直接作用し、糖の取り込みや lipoprotein lipase 活性を亢進させ、脂肪細胞での栄養素の蓄積を通じて肥満を引き起こす作用が報告されている¹⁾。そのほか興味深い事例として、炎症性腸疾患 (inflammatory bowel disease : IBD) の代表であるクローン病 (Crohn's disease : CD) における腸間膜脂肪組織の肥厚がある。CD では病変部の腸管を脂肪組織が取りまくように肥厚する“fat wrapping”という現象を認めることが古くから知られている²⁾。これまでに部分的では

Key Words

脂肪細胞
Lipin
TNF- α
Jak2

* TAKAHASHI Nobuhiko/旭川医科大学医学部消化管再生修復医学講座, ** TSUCHIYA Yoshihiro/旭川医科大学病院総合診療部, *** FUJIIYA Mikihiro, KOHGO Yutaka/旭川医科大学医学部内科学講座消化器・血液腫瘍制御内科学分野

あるがCDにおける腸管炎症と脂肪組織の関係について解析されており³⁾, 実際にCDの肥厚した脂肪組織からは, 炎症誘発性サイトカインである腫瘍壊死因子 (tumor necrosis factor : TNF)- α の過剰な分泌が認められている⁴⁾. 脂肪組織は脂肪細胞と間質細胞とで構成されるが, 間質細胞はさらに前駆脂肪細胞, 血管内皮細胞, 血管平滑筋細胞, 線維芽細胞, マクロファージなどで構成されている. CDの過剰なTNF- α 分泌がどの構成細胞に由来するのかについて, *in situ* ハイブリダイゼーション法による検討では, 脂肪細胞に強く発現していることがわかった. この事実は, 腸管を取りまく脂肪組織(脂肪細胞)がTNF- α を分泌することにより, CDの病態を修飾することを示唆している. またCDで肥厚した脂肪組織では, 脂肪細胞数の増加が認められることや, 脂肪細胞分化のマスターレギュレーターである peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR)- γ の発現亢進が認められるなど, 形態的・機能的変化が起きていることがわかっている⁴⁾.

脂肪組織はレプチン, アディポネクチンに代表される多様なアディポサイトカインを分泌し全身の代謝機能を調節しているが, CDの肥厚した脂肪組織ではアディポネクチンの分泌が亢進していると報告されている⁵⁾. アディポネクチンは脂肪細胞より分泌され, 全身の糖代謝を改善する作用のほかに, マクロファージや内皮細胞に対する抗炎症作用も報告されている⁶⁾. アディポネクチンノックアウトマウスにおける実験的腸炎の影響を検討した報告では, 増悪⁷⁾, 改善⁸⁾と相反する結果が示されており, 現時点では生体内におけるアディポネクチンは腸炎に対して抗炎症性にはたらくのか, 催炎症性にはたらくのか一定の見解は得られていない.

以上のような観点から, 脂肪細胞と腸管はダイナミックな変化を共有する可能性があるのではないかと予想させるが, その全貌はいまだよくわかっていない. 今後, 腸管と脂肪細胞の関連を明確にする研究は, 重要な位置を占めるものと思われる. われわれは最近, 消化管や脂肪組織に発現している遺伝子である lipin に関して研究を進めており, 本稿ではその一部を紹介したい. なお, 本解析対象は脂肪細胞であるが, その手法の大部分は腸管でも共通していると考え.

肥満, メタボリックシンドロームと lipin

Lipin-1は脂肪萎縮症のモデルである fatty liver dystrophy (fld) マウスの原因遺伝子としてクローニングされた分子であるが⁹⁾, 2006年に phosphatidic acid を diacylglycerol に変換する酵素である phosphatidic acid phosphatase として, 中性脂肪合成促進にはたらくことが発見された¹⁰⁾. その後, lipin-1は脂肪細胞の分化を促進する作用¹¹⁾や, 肝臓での脂肪酸酸化に関与する転写因子である PPAR- α の転写共役因子としてはたらく¹²⁾といったことが判明し, lipin-1は単なる酵素を超えた多機能分子であると考えられている.

Lipinには lipin-1, -2, -3の3つのアイソフォームが存在するが, 組織発現パターンの解析から, lipin-1はおもに脂肪細胞に, lipin-3はおもに腸管に多く発現している(図1)¹³⁾. Lipin-1はオルタナティブスプライシングにより lipin-1A, lipin-1Bに分けられ, アイソフォーム特異的な発現解析から, lipin-1Aは adipogenic (脂肪細胞分化)にはたらく, lipin-1Bは lipogenic (脂肪合成)にはたらくと報告されている.

これまでに肥満や耐糖能異常, メタボリックシンドロームにおいて, 脂肪細胞の lipin-1 遺伝子発現は低下すること, さらにその低下した lipin-1 遺伝子発現はダイエットや減量手術で回復することが報告されている. 一方, 脂肪細胞特異的 lipin-1 遺伝子の過剰発現マウスでは, 肥満を呈するものの, 興味深いことに全身の糖代謝は改善していた¹⁴⁾. つまり, 脂肪細胞における lipin-1 の遺伝子発現と全身の糖代謝には相関が認められている. しかしながら, 肥満や代謝異常における脂肪細胞の lipin-1 遺伝子発現低下がどのようなメカニズムで起こるのかは不明であった.

そこでわれわれは, 肥満の病態における脂肪細胞での lipin-1 遺伝子発現低下メカニズムの解明を目的として *in vitro* による解析をおこなった.

近年肥満の病態に炎症が関与していることが注目され, そのなかで TNF- α は肥満の病態形成に重要なサイトカインであることが知られている¹⁵⁾. そのため, 本研究では TNF- α が脂肪細胞の lipin-1 遺伝子発現を低下させるのではないかと仮説を立て検証をおこなった.

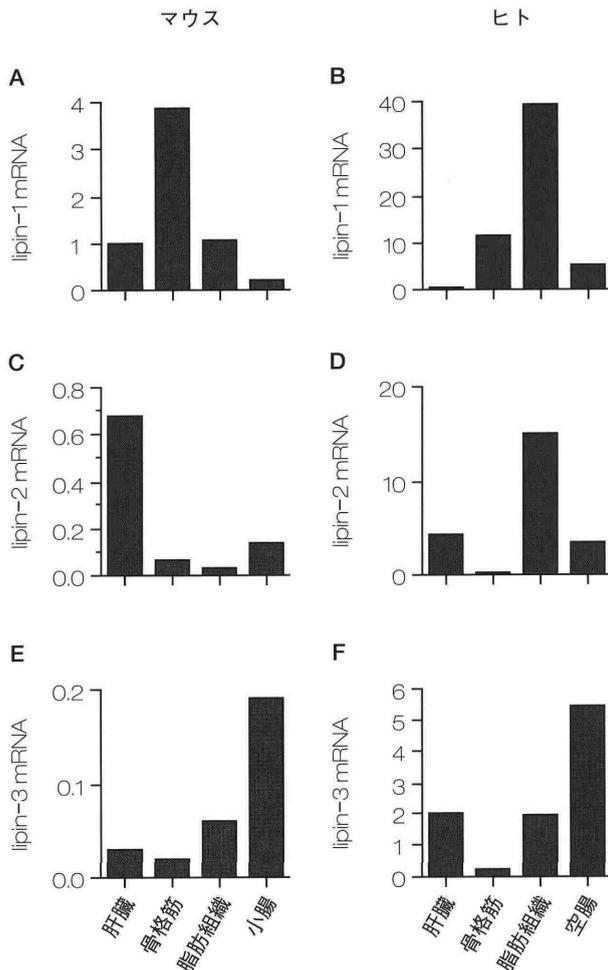


図1 マウスとヒト組織における lipin アイソフォーム発現パターン
 C57BL/6 マウス (A, C, E) とヒト (B, D, F) の各臓器 (肝臓, 骨格筋, 脂肪組織, 小腸) において, lipin-1 (A, B), lipin-2 (C, D), lipin-3 (E, F) の遺伝子発現を示した. 発現量は定量的 PCR 法にて測定され, hypoxanthine phosphoribosyltransferase と β_2 -microglobulin で補正した相対量を示している.
 (Donkor J *et al.*, 2007¹³) より改変引用)

Lipin-1 遺伝子発現の解析

実験には, 脂肪細胞のモデルとして頻用されている 3T3-L1 細胞 (前駆脂肪細胞: 線維芽細胞の形態をとっている) を用いた. 定法にしたがい 3T3-L1 細胞を脂肪細胞として十分に分化させた後, TNF- α を添加し, lipin-1A, lipin-1B の遺伝子発現の変化をリアルタイム PCR 法を用いて測定した. また, 各種シグナル阻害剤を TNF- α 処置 1 時間前に添加し, TNF- α による lipin-1 遺伝子発現変化にどのように影響を及ぼすのかを検討した.

1) 脂肪細胞の分化

3T3-L1 細胞は, American Type Culture Collection (ATCC) より購入した. 細胞の供給元によっては分化率が低いものもあるので注意が必要である. 3T3-L1 細胞は, 10% bovine serum/Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) (high) で培養をおこなう. 細胞が 100% confluent になった状態で, 分化誘導 2 日前 (day -2) とし, 10% fetal bovine serum/DMEM (high) に培地を交換し, confluent の状態で待つ. 分化誘導当日 (day 0) にはインスリン, デキサメタゾン, 3-isobutylmethylxanthine (IBMX) のカクテルで 2 日間分化誘導をおこない, 2 日後 (day 2) はインスリンのみ添加した培地を用いる. さらに 2 日後 (day 4) からは, 10% fetal bovine serum/DMEM (high) に戻して培養を継続する. この時点で小型の脂肪滴が見えてくる. おおよそ day 8~10 の細胞を用いるとインスリン感受性がよい. 長期に培養するとインスリン感受性が低下するため, そのような変化を観察する研究以外は, 分化後の日数をそろえて使用するべきである. 本研究では, 誘導後十分に脂肪滴を蓄えた脂肪細胞を実験に供した. なお, 使用する血清は線維芽細胞の状態と分化誘導 2 日前以降では, 異なることに注意する. また, インスリンは塩酸で溶解し, IBMX はアルカリ (NaOH または KOH) で溶解する. これらの試薬を添加する際には, 培地の pH が大きく変化しないか, 培地の色調変化に注意すべきである.

2) リアルタイム PCR 法

アプライドバイオシステムズ社による TaqMan[®]Gene Expression Assays を用いた. 同社では, 数多くの遺伝子定量に適したアッセイを販売しており, ウェブサイトで検索可能である. おのおのの増幅効率はほぼ近似していることから, ΔCt を計算の後 $2^{-\Delta\text{Ct}}$ 法で定量し比較した. なお, 内部標準として 18S ribosomal RNA (18S rRNA) を用いた.

3) 試薬調整

TNF- α は endotoxin-free water で溶解した. そのほか, 阻害剤は dimethyl sulfoxide (DMSO) で溶解し, DMSO 終濃度は 0.1% にそろえている. この濃度の

DMSO は, lipin-1 遺伝子発現に影響を与えないことを確認している。

研究結果

1) TNF- α は 3T3-L1 細胞における lipin-1 A, lipin-1B の遺伝子発現を濃度依存的および時間依存的に低下させる

十分に分化させた 3T3-L1 脂肪細胞に, TNF- α を 0.002, 0.02, 0.2, 2 nM 作用させ, 8 時間後に RNA を抽出し, complementary DNA (cDNA) を合成した後, lipin-1A, lipin-1B の遺伝子発現を定量した。その結果, 両者とも 0.2 nM で有意に遺伝子発現の低下を認めた。さらに, 0.2 nM の TNF- α を作用させ, 経時的に lipin-1 A および lipin-1B の遺伝子発現を定量したところ, 作用後 2 時間で低下を認め, 4 時間で両者とも有意

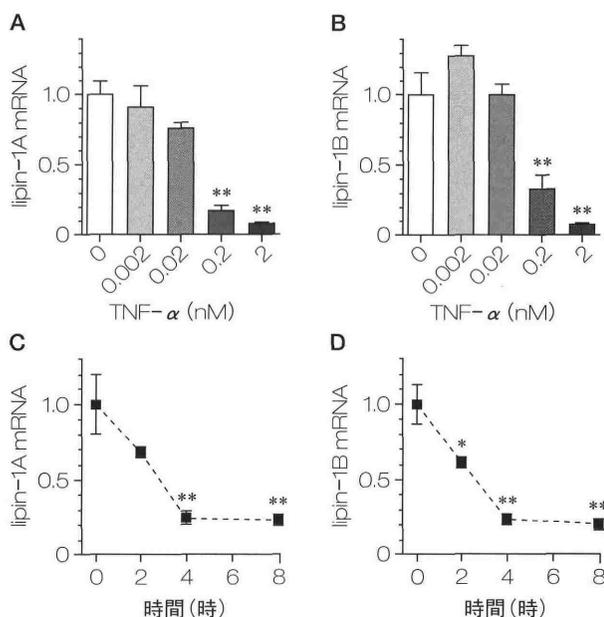


図2 TNF- α は 3T3-L1 脂肪細胞において lipin-1A, lipin-1B 遺伝子発現を低下させる

脂肪細胞のモデルである 3T3-L1 細胞を脂肪細胞に分化させ, 実験に用いた。Lipin-1A および lipin-1B 特異的アッセイによる定量的 PCR 法を用いて, 遺伝子発現量を測定した。TNF- α は濃度依存的 (A, B), かつ時間依存的 (C, D) に lipin-1A および lipin-1B の遺伝子発現を有意に低下させた。

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ 対 対照群単独 (A, B) または 0 時間 (C, D)。

(Tsuchiya Y *et al*, 2009¹⁶)より引用)

な低下を認めた¹⁶⁾(**図2**)。

2) シグナル阻害剤を用いたメカニズムの解析

TNF- α は脂肪細胞にはたらき, さまざまな細胞内シグナル分子を活性化することが知られている¹⁷⁾。そこで, TNF- α による lipin-1 の遺伝子発現低下がどのようなシグナルを経るのか, おおのこの阻害剤による検討をおこなった。

TNF- α の細胞内シグナル伝達に参与する nuclear factor kappa B (NF- κ B), mitogen-activated protein kinase (MAPK) (**図3**), セラミド (**図4**), glycogen synthase kinase 3 β (GSK3 β) (**図5**) の検討では, TNF- α による lipin-1 の遺伝子発現低下作用に影響を及ぼさなかった¹⁶⁾。

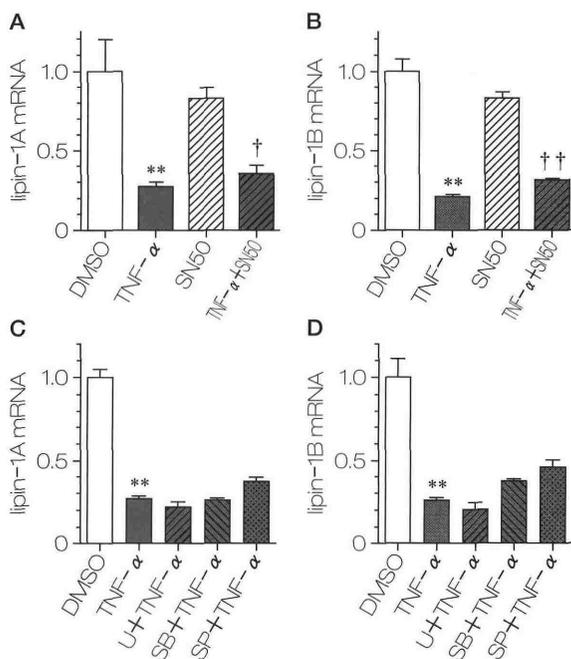


図3 NF- κ B, MAPK シグナルは TNF- α による lipin-1 遺伝子発現低下作用に影響を与えない

A) B) NF- κ B 活性化阻害剤 SN50 (18 μ M) を TNF- α (0.2 nM, 8 時間) 処置 1 時間前に添加し, **図2**と同様の方法で lipin-1 遺伝子発現を定量した。

C) D) 同様に MAPK 阻害剤による検討をおこなった (U0126 [U, 10 μ M], SB202190 [SB, 10 μ M], SP600125 [SP, 20 μ M])。それぞれの阻害剤は lipin-1 遺伝子発現に影響を与えなかった。

** $p < 0.01$ 対 DMSO, † $p < 0.05$, †† $p < 0.01$ 対 SN 50 単独。

(Tsuchiya Y *et al*, 2009¹⁶)より引用)

TNF- α は脂肪細胞にはたらき, Janus kinase 2 (Jak2) を活性化することが知られている¹⁸⁾が, Jak2 遺伝子発現そのものも上昇させ (図6), TNF- α は Jak2 シグナルを変化させることがわかる. そこで Jak2 の関与を検討

するために, Jak2 阻害剤 AG490 の前処置をおこなうと, TNF- α による lipin-1A および lipin-1B の遺伝子発現低下は阻害された¹⁶⁾ (図7).

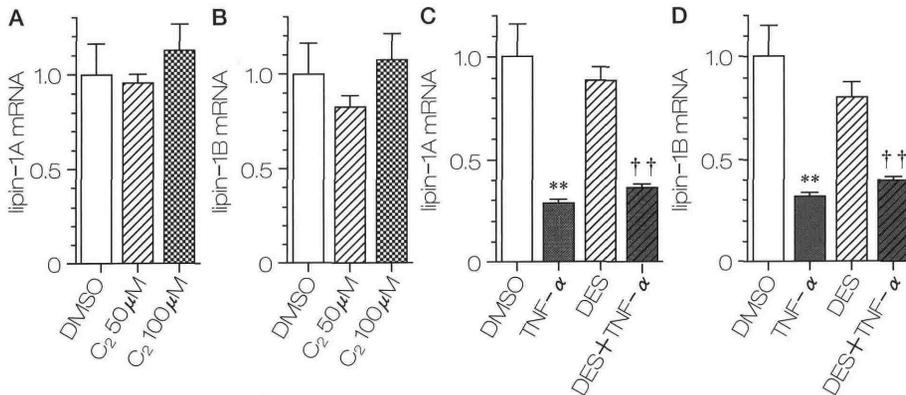


図4 セラミドシグナルは TNF- α による lipin-1 遺伝子発現低下作用に影響を与えない
 A) B) 細胞透過性セラミドアナログ C₂-セラミド (C₂, 50 μ M または 100 μ M) の添加による lipin-1 遺伝子発現に変化は認めなかった。
 C) D) さらに, 内因性セラミド合成阻害剤 desipramine (DES, 20 μ M) の前処置にても, TNF- α による lipin-1 遺伝子発現低下作用を阻害しなかった。
 **p<0.01 対 DMSO, ††p<0.01 対各対照群。

(Tsuchiya Y *et al*, 2009¹⁶⁾より引用)

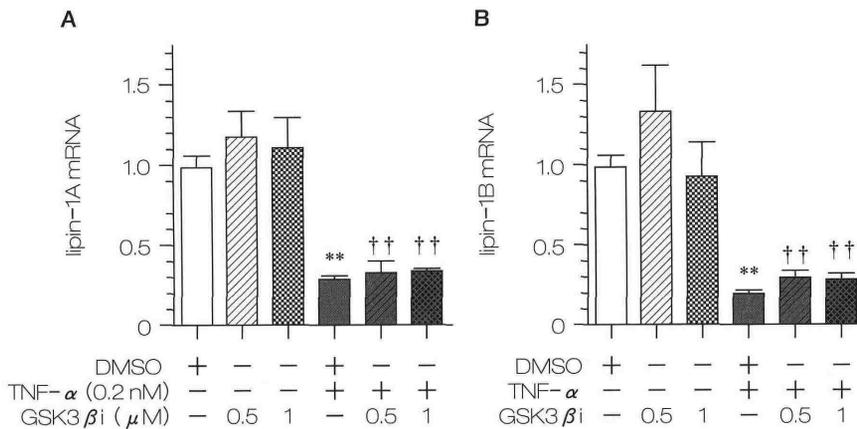


図5 GSK3 β の阻害は lipin-1 遺伝子発現に影響を与えない
 TNF- α は脂肪細胞分化抑制にはたらくが, そのメカニズムの一つに Wnt/ β -catenin/TCF4 系が関与している. GSK3 β は β -catenin をリン酸化し, リン酸化された β -catenin はユビキチン化による分解を受ける. そこで, Wnt/ β -catenin/TCF4 の関与を検証する目的で, GSK3 β の阻害剤 GSK3 β inhibitor VIII (GSK3 β i, 0.5 μ M または 1 μ M) を作用させ lipin-1 遺伝子発現を検討した. この経路が lipin-1 遺伝子発現にどのように影響を及ぼすのか予想はできないが, 少なくとも GSK3 β は, 単独もしくは TNF- α 併用による lipin-1 遺伝子発現に影響を与えなかった。
 **p<0.01 対 DMSO, ††p<0.01 対各対照群。

(Tsuchiya Y *et al*, 2009¹⁶⁾より引用)

考察

本研究から肥満やメタボリックシンドロームにおける、脂肪細胞での lipin-1 の遺伝子発現低下に TNF- α

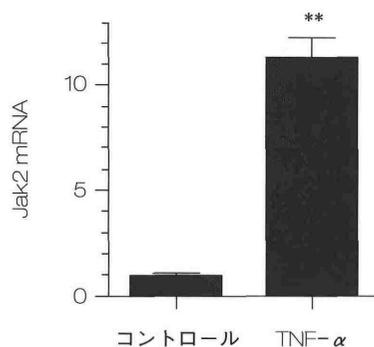


図6 TNF- α は 3T3-L1 脂肪細胞において Jak2 遺伝子発現を増加させる

脂肪細胞における TNF- α のシグナルのなかで、Jak2 はまれな経路であるが、これまでの報告では、TNF- α は Jak2 を活性化させること¹⁸⁾がわかっている。また、われわれは、脂肪細胞に TNF- α (0.2 nM) を 8 時間作用させ、Jak2 の遺伝子発現を定量したところ、対照に比較し約 11 倍の上昇を確認した。

** $p < 0.01$ 対コントロール。

が関与し、さらに細胞内の Jak2 シグナルが関与することが示唆された(図8)。今回の検討は *in vitro* モデルでの検討であるが、*in vivo* での証明のためには、抗 TNF- α 抗体で処置した肥満個体の脂肪細胞において、lipin-1 遺伝子発現が回復していることを確認することが必要となる。

TNF- α は脂肪細胞にはたらき種々の遺伝子発現を変化させるが、TNF- α により発現が低下する遺伝子の 98% に NF- κ B が関与するとの報告がある¹⁹⁾。本研究結果ではその NF- κ B は関与せず、Jak2 というまれな経路を介する可能性が示唆された。考え方をかえると、Jak2 を lipin-1 遺伝子発現低下回復のターゲットとして考えたときに、ほかの遺伝子発現への影響を最小限にして、lipin-1 の遺伝子発現を調節できる可能性が示唆され、大変興味深い結果と思われる。

Jak2 は細胞内では、転写因子である signal transducer and activator of transcription (STAT) をリン酸化し、転写活性を調節していることが知られており、STAT が lipin-1 の遺伝子発現変化に関与している可能性が考えられる。STAT は STAT1-6 のアイソフォームを有し、遺伝子発現への関与も多様であることが知られている。今後、本実験系で STAT がどのように関与するのかに

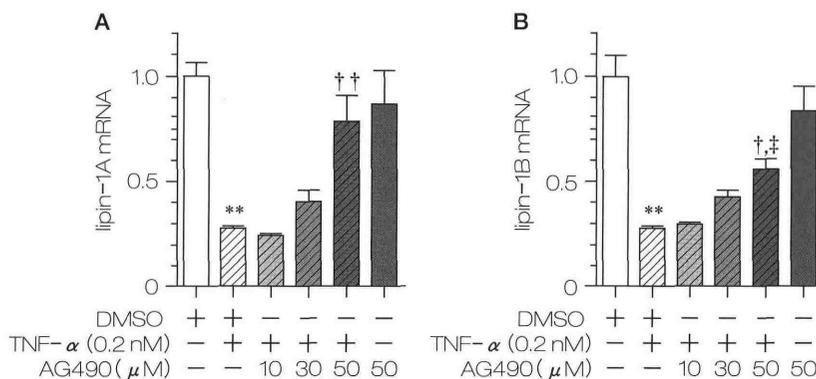


図7 TNF- α による lipin-1 遺伝子発現低下作用は Jak2 阻害剤 AG490 で阻害された

Jak2 阻害剤 AG490 (50 μ M) の前処置は、TNF- α による lipin-1 遺伝子発現低下作用を阻害した。Lipin-1A では AG490 単独の対照群と同等に回復していたが (A)、lipin-1B の回復の程度は低かった (B)。この違いが生じた原因に関して、詳細は明らかではない。

** $p < 0.01$ 対 DMSO, † $p < 0.05$, †† $p < 0.01$ 対 TNF- α 単独, †‡ $p < 0.05$ 対 AG490 (50 μ M) 単独。

(Tsuchiya Y *et al*, 2009¹⁶⁾より引用)

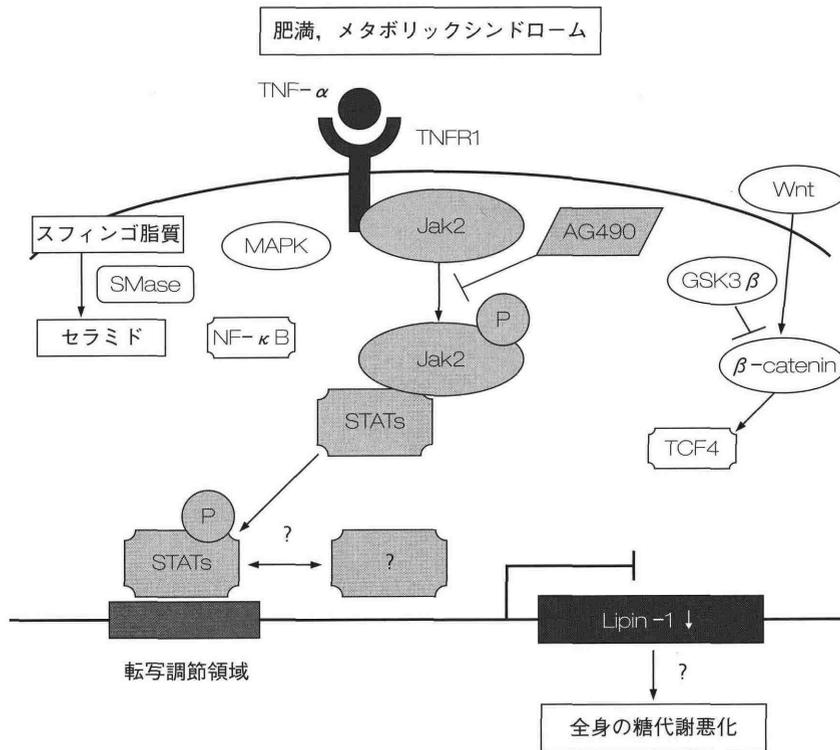


図6 TNF-αによる lipin-1 遺伝子発現抑制のメカニズム (仮説)

肥満やメタボリックシンドロームにおいて、脂肪細胞における lipin-1 の遺伝子発現は低下する。また *in vivo* の検討から、詳細な分子メカニズムは明らかではないが、脂肪細胞の lipin-1 遺伝子発現と全身の糖代謝は相関することが知られている。一方、TNF-αはさまざまな細胞内シグナルを介して脂肪細胞の機能を変化させる。本研究から、TNF-αは lipin-1 遺伝子発現を低下させ、そのメカニズムに Jak2 の関与が示唆された。Jak2 は転写因子である STAT を直接リン酸化し、活性を調節することが知られているため、今後、STAT の関与を検討することが課題となる。

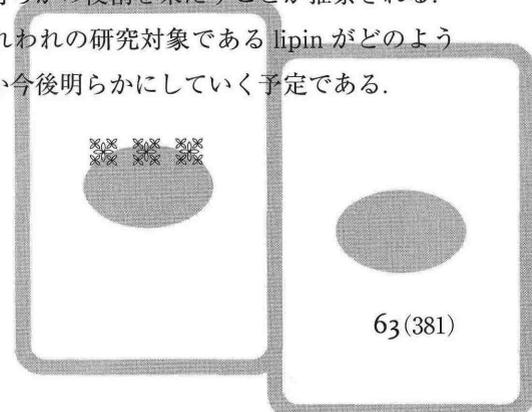
興味もたれる。

これまでの報告より、脂肪細胞の lipin-1 の遺伝子発現を上昇させると代謝異常が改善されることがわかっている。そこで、肥満で遺伝子発現が低下した lipin-1 を何らかの方法で上昇させることができれば、「たっても代謝異常は悪化しない」状態が作り出せるかもしれないと考えられる。本研究成果は、その治療のターゲットとして Jak2 経路が候補となることを示すものと考えている。

おわりに

本稿では、腸管と脂肪組織の関係について概説し、lipin に関するわれわれの知見を紹介した。近年、臓器間

連携に関する研究が盛んになりつつあるが、腸管と脂肪組織の相互作用に関する検討は今後更なる解明の余地を残す研究分野である。腸管が栄養吸収のファーストステップであること、インスリン抵抗性状態において腸管上皮のインスリンシグナルの変化²⁰⁾や脂質代謝の変化²¹⁾を認めること、CDでは内臓脂肪の増大が認められることなどを考えると、肥満やメタボリックシンドロームの病態に腸管が何らかの役割を果たすことが推察される。そのなかでわれわれの研究対象である lipin がどのようにかかわるのか今後明らかにしていく予定である。



文献

- 1) Miyawaki K, Yamada Y, Ban N *et al* : Inhibition of gastric inhibitory peptide signaling prevents obesity. *Nat Med* **8** : 738-742, 2002
- 2) Crohn BB, Ginzburg L, Openhimer GD : Regional ileitis : a clinical and pathological entity. *JAMA* **99** : 1323-1329, 1932
- 3) Peyrin-Biroulet L, Chamaillard M, Gonzalez F *et al* : Mesenteric fat in Crohn's disease : a pathogenetic hallmark or an innocent bystander? *Gut* **56** : 577-583, 2005
- 4) Desreumaux P, Ernst O, Geboes K *et al* : Inflammatory alterations in mesenteric adipose tissue in Crohn's disease. *Gastroenterology* **117** : 73-81, 1999
- 5) Yamamoto K, Kiyohara T, Murayama Y *et al* : Production of adiponectin, an anti-inflammatory protein, in mesenteric adipose tissue in Crohn's disease. *Gut* **54** : 789-796, 2005
- 6) Nedvidkova J, Smitka K, Kopsky V *et al* : Adiponectin, an adipocyte-derived protein. *Physiol Res* **54** : 133-140, 2005
- 7) Nishihara T, Matsuda M, Araki H *et al* : Effect of adiponectin on murine colitis induced by dextran sulfate sodium. *Gastroenterology* **131** : 853-861, 2006
- 8) Fayad R, Pini M, Sennello JA *et al* : Adiponectin deficiency protects mice from chemically induced colonic inflammation. *Gastroenterology* **132** : 601-614, 2007
- 9) Péterfy M, Phan J, Xu P *et al* : lipodystrophy in the *fld* mouse results from mutation of a new gene encoding a nuclear protein, lipin. *Nat Genet* **27** : 121-124, 2001
- 10) Han G, Wu W, Carman GM : The *saccharomyces cerevisiae* lipin homolog is a Mg^{2+} -dependent phosphatidate phosphatase enzyme. *J Biol Chem* **281** : 9210-9218, 2006
- 11) Phan J, Péterfy M, Reue K : Lipin expression preceding peroxisome proliferator-activated receptor- γ is critical for adipogenesis *in vivo* and *in vitro*. *J Biol Chem* **279** : 29558-29564, 2004
- 12) Finck BN, Gropler MC, Chen Z *et al* : Lipin 1 is an inducible amplifier of the hepatic PGC-1 α /PPAR α regulatory pathway. *Cell Metab* **4** : 199-210, 2006
- 13) Donkor J, Sariahmetoglu M, Dewald J *et al* : Three mammalian lipins act as phosphatidate phosphatase with distinct tissue expression patterns. *J Biol Chem* **282** : 3450-3457, 2007
- 14) Phan J, Reue K : Lipin, a lipodystrophy and obesity gene. *Cell Metab* **1** : 73-78, 2005
- 15) Lazar MA : The humoral side of insulin resistance. *Nat Med* **12** : 43-44, 2006
- 16) Tsuchiya Y, Takahashi N, Yohizaki T *et al* : A Jak2 inhibitor, AG490, reverses lipin-1 suppression by TNF- α in 3T3-L1 adipocytes. *Biochem Biophys Res Commun* **382** : 348-352, 2009
- 17) Cawthorn WP, Sethi JK : TNF- α and adipocyte biology. *FEBS Lett* **582** : 117-131, 2008
- 18) Guo D, Dunbar JD, Yang CH *et al* : Induction of Jak/STAT signaling by activation of the type 1 TNF receptor. *J Immunol* **160** : 2742-2750, 1998
- 19) Ruan H, Hacoheh N, Golub TR *et al* : Tumor necrosis factor- α suppresses adipocyte-specific genes and activates expression of preadipocyte genes in 3T3-L1 adipocytes nuclear factor- κ B activation by TNF- α is obligatory. *Diabetes* **51** : 1319-1336, 2002
- 20) Fedrico LM, Naples M, Taylor D *et al* : Intestinal insulin resistance and aberrant production of apolipoprotein B48 lipoproteins in an animal model of insulin resistance and metabolic dyslipidemia. *Diabetes* **55** : 1316-1326, 2006
- 21) Duez H, Lamarche B, Uffelman KD *et al* : Hyperinsulinemia is associated with increased production rate of intestinal apolipoprotein B-48-containing lipoproteins in humans. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **26** : 1357-1363, 2006