

文章编号: 1004-0374(2011)08-0796-08

脂肪组织蛋白质组学研究进展

刘春东, 王宇祥, 王 宁, 李 辉*

(东北农业大学动物科学技术学院, 哈尔滨 150030)

摘要: 脂肪组织不仅是机体的能量储存库, 而且也是重要的内分泌器官。脂肪组织分泌多种激素和细胞因子, 参与调节机体多种生理和病理过程。目前飞速发展的蛋白质组学技术, 为深入研究脂肪发育的分子机制及其代谢紊乱发生的遗传机理提供了有力的工具。对蛋白质组学在脂肪组织中的研究进展进行了综述, 为脂肪组织的发育调控及代谢疾病的治疗提供了新的思路。

关键词: 脂肪组织; 蛋白质组学; 脂肪细胞分化; 肥胖症

中图分类号: Q542; Q503; Q813 **文献标志码:** A

Research advances on proteomics of adipose tissue

LIU Chun-Dong, WANG Yu-Xiang, WANG Ning, LI Hui*

(College of Animal Science and Technology, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China)

Abstract: Adipose tissue not only maintains energy balance, but also functions as a crucial endocrine organ. It can secrete different kinds of hormones and cytokines that involved in many physiological and pathological processes. The rapid developing proteomic technologies provides powerful tools for our understanding of the mechanisms of adipose development and obesity. This review summarizes research progresses on molecular mechanisms of adipose tissue development, which provide new ideas for the regulation development of adipose tissue and treatment of metabolic disease.

Key words: adipose tissue; proteomics; adipocyte differentiation; obesity

脂肪组织不仅是体内贮存能量的主要场所, 维持着机体的能量平衡。同时, 脂肪组织还具有强大的内分泌功能, 能够分泌多种激素和细胞因子, 从而发挥着广泛而重要的生物学功能^[1]。脂肪组织代谢异常则会引起一系列的重要疾病, 如脂肪在机体内过度沉积所导致的肥胖症, 目前已成为继心脑血管病和癌症之后威胁人类健康的第三大疾病^[2]。

随着蛋白质组学的发展, 不少研究者尝试直接从生命功能的执行者——蛋白质入手, 研究脂肪的形成、发育以及肥胖发生时蛋白质种类、数量、功能的变化, 进而探索脂肪组织发育的机制和相关疾病的治疗策略。

目前脂肪蛋白质组学研究已取得较大的进展(表1), 其研究内容主要包括在生理和病理条件下, 脂肪组织、脂肪细胞或脂肪细胞亚细胞器中蛋白质表达谱的建立及差异比较, 以及脂肪细胞分化和脂

肪代谢紊乱状态下, 差异表达蛋白的挖掘及鉴定等方面^[3]。本文详细阐述了蛋白质组学在脂肪组织生长发育和脂肪组织代谢紊乱等方面的研究进展。

1 脂肪组织蛋白质组学

1.1 脂肪蛋白质组学图谱的建立

尽管脂肪组织富含大量的脂质, 蛋白质含量相对较少, 样品制备比较困难, 但在科研人员的不懈努力下, 不同物种的脂肪组织蛋白质图谱已逐步建立。

Cortón 等^[4]通过添加羟乙基二硫化物提高了

收稿日期: 2011-04-03; 修回日期: 2011-05-10

基金项目: 现代农业产业技术体系建设项目(nycytx-42); 黑龙江省高等学校科技创新团队建设计划项目

*通信作者: E-mail: lihui@neau.edu.cn; Tel: 0451-55191516

脂肪蛋白质碱性 pH 区域的分辨率, 第一次显示了人类脂肪组织蛋白质的双向电泳图谱。在此基础上, Cortón 等^[5]又运用荧光差异双向电泳技术 (two-dimensional difference gel electrophoresis, 2D-DIGE) 分析了人的腹部脂肪组织, 检测出 1 840 个蛋白点。Lanne 等^[6]通过在裂解液中添加硫脲的方法, 极大地增加了脂肪组织蛋白质的溶解性, 提高了疏水性蛋白、高分子量蛋白和低丰度蛋白的检出率, 建立了小鼠白色脂肪组织的双向电泳图谱, 并通过质谱鉴定了 140 个蛋白质, 这一实验为脂肪组织在肥胖、血脂代谢障碍等代谢疾病方面的研究奠定了基础。

随后, 猪、牛、鸡等畜禽的脂肪组织蛋白质图谱也逐步建立。何强^[7]建立并优化了香猪脂肪组织蛋白质的制备方法, 获得了较好的双向电泳图谱, 分离了约 1 000 个蛋白点。Ikegami 等^[8]建立了牛的白色脂肪组织双向电泳图谱, 分离了约 879 个蛋白点。Wang 等^[9]第一次建立了高、低脂系肉鸡腹部脂肪组织蛋白质图谱, 分离了约 1 000 多个蛋白点。

脂肪组织蛋白质图谱的建立为进一步研究脂肪组织生长发育的调控机制奠定了基础; 但采用双向电泳技术 (two-dimensional electrophoresis, 2-DE) 进行的蛋白质组学分析具有一定的缺陷, 主要原因是 2-DE 很难分析出低丰度、极酸性、极碱性的蛋白。然而, 随着 2-DE 技术的改进及蛋白质组学技术的飞速发展, 脂肪组织蛋白质图谱必将更加完善。

1.2 脂肪组织功能蛋白质组学

1.2.1 正常生理条件下的脂肪组织功能蛋白质组学

脂肪组织分泌蛋白因子参与能量代谢、免疫和炎症反应、发育和生殖等生理、病理活动。通过蛋白质组学全面分析研究这些分泌因子, 有利于系统了解脂肪组织的功能, 并为脂肪代谢紊乱的治疗提供帮助。

Alvarez-Llamas 等^[10]运用细胞培养条件下稳定同位素标记技术 (stable isotope labeling with amino acids in cell culture, SILAC) 研究了人内脏脂肪组织的分泌蛋白质组, 一共鉴定了 259 个蛋白, 其中有 108 个包含相同的一个分泌信号肽, 被认为是分泌蛋白; 这 108 个蛋白中有 70 个与培养液中添加的标记相吻合, 被认为是真正由脂肪组织分泌的蛋白。这 70 个分泌蛋白根据功能分为五类: 39% 的蛋白参与调节细胞外基质, 27% 的蛋白与信号调节有关, 14% 的蛋白参与降解, 11% 的蛋白执行免疫功能, 其余一些蛋白执行其他功能。Birner-Gruenberger 等^[11]采用荧光活性标签模拟脂类酶作用底物来标记小

鼠脂肪组织的蛋白质组, 然后通过 2-DE 和液相色谱结合串联质谱技术来鉴定细胞内所有已知的脂肪酶及一些新的候选脂肪酶。该研究共鉴定出了 23 个脂解酶, 构建了小鼠脂肪组织的第一张脂解蛋白质图谱, 并为脂肪组织的功能研究奠定了基础。

1.2.2 非正常生理条件下的脂肪组织功能蛋白质组学

Von Eyben 等^[12]采用高通量芯片技术研究了皮下和腹部内脏脂肪的 mRNA 和蛋白质表达谱, 发现内脏脂肪在代谢综合征 (主要包括肥胖、2 型糖尿病等) 的发病中起主导作用。因此, 对代谢紊乱的脂肪组织进行蛋白质组学分析, 寻找其分子标记物或者新的药物靶点, 可以为治疗肥胖、2 型糖尿病提供更多帮助。

1.2.2.1 蛋白质组学在肥胖症研究中的应用

目前对肥胖患者与正常人, 或者高、低脂系动物模型的脂肪组织进行比较蛋白质组学分析是研究肥胖的总体策略^[13-15]。凌雁等^[14]采用 2-DE 技术研究肥胖者与非肥胖者腹部皮下及内脏脂肪组织的差异蛋白质组, 结果鉴定出膜联蛋白 II、单酰甘油脂肪酶等 8 个差异蛋白, 它们主要参与细胞信号转导、代谢以及生长分化过程, 推测这些差异表达的蛋白可能与肥胖的发生有一定的关系。Takahashi 等^[15]通过 2-DE 等方法, 分析了新西兰肥胖鼠与 C57BL/6J 低脂系鼠皮下脂肪组织的差异蛋白, 发现细胞色素 b5、超氧化物歧化酶以及两个与碳酸酐酶 III 同源的蛋白发生了表达变化, 实验表明, 这 4 种蛋白都与脂类代谢有关。Wang 等^[9]通过 2-DE 分析了高脂系与低脂系肉鸡腹部脂肪组织, 筛选出 20 个差异表达的蛋白点, 质谱鉴定出包括突触融合蛋白 2、鸟嘌呤核苷酸结合蛋白、酰基辅酶 A 脱氢酶长链、热休克蛋白 I、端粒末端转移酶、脂肪酸结合蛋白 4、波形蛋白等 15 个蛋白, 这些差异蛋白主要参与脂肪细胞骨架的形成、脂类代谢以及氧化还原等生物学过程。

在肥胖症治疗方面, Claret 等^[16]首次证实钨酸盐作用于棕色脂肪组织, 可以增加全身能量的消散, 抑制体重的增加。在此基础上 Barcel-Batllo 等^[17]运用 2D-DIGE 的方法, 分析钨酸盐处理的肥胖组小鼠和正常肥胖小鼠的蛋白质组, 以及钨酸盐处理的低脂系小鼠和正常低脂系小鼠的蛋白质组, 发现钨酸盐可以直接作用于 PGC-1 α (peroxisome proliferator-activated receptor γ coactivator 1 α) 蛋白并使其上调。

1.2.2.2 蛋白质组学在 2 型糖尿病研究中的应用

尹晓等^[18]比较分析了 2 型糖尿病患者和正常对照

者的脂肪组织蛋白谱,发现3个差异极其显著的蛋白,推测它们与2型糖尿病相关。List等^[19]通过高脂饲养C57BL/6J小鼠,诱导其成为2型糖尿病模型,然后分析处理组与对照组小鼠的皮下脂肪组织蛋白质组,结果发现17个与能量代谢相关的差异表达蛋白。这种非侵袭性的方法为我们提供了新的研究思路,可利用皮肤的活组织检查,并结合蛋白质组学分析技术来研究2型糖尿病。Lynch等^[20]运用2-DE和激光密度测定法分析了5~7周龄Zucker胖鼠和瘦鼠的脂肪蛋白质,结果发现碳酸酐酶III这种胞浆蛋白的浓度与肥胖呈负相关。另外该研究用免疫印记的方法还证实了热休克蛋白27磷酸丝氨酸亚型、晶体蛋白 α 磷酸纤维素亚型的存在,这一结果暗示热休克蛋白家族可能参与了2型糖尿病的形成。

2 脂肪细胞蛋白质组学

2.1 脂肪细胞分化的蛋白质组学研究

脂肪细胞是由起源于胚胎期中胚层的多能干细胞逐步分化发育而来的^[21]。在脂肪细胞分化过程中,蛋白质的表达、修饰、种类及表达部位不断发生变化,从而影响着细胞的功能^[22]。通过研究脂肪细胞分化过程中的蛋白质变化,有望揭示脂肪细胞分化的机制和某些蛋白质的功能。

Lee等^[23]通过2-DE技术分析了人间充质干细胞向脂肪细胞分化过程中的差异表达蛋白,发现32个蛋白表达水平不同。通过质谱鉴定了表达量上调5倍以上的8个蛋白点,推测其中突触融合蛋白3、氧类固醇结合相关蛋白3、过氧化物酶体增殖激活受体 γ 和血型糖蛋白这4种蛋白质与脂肪形成有关。Chen等^[24]运用同位素标记相对和绝对定量(iTRAQ)技术,分析了人前脂肪细胞向成熟脂肪细胞分化的过程,发现了420个分泌蛋白,此实验为后续的脂肪功能研究奠定了基础。Choi等^[25]在研究3T3-L1前体脂肪细胞向脂肪细胞分化时发现了分泌性蛋白(脂联素)、蛋白水解酶(组织蛋白酶D)等8个表达差异蛋白。同时发现 $\alpha 2$ 巨球蛋白片段在前脂肪细胞中大量存在,但在成熟脂肪细胞中却检测不到,研究证实细胞内的 $\alpha 2$ 巨球蛋白可以抑制脂肪细胞分化。

综合上述研究结果,可以发现一些细胞骨架蛋白、氧化还原蛋白和伴侣蛋白都参与了脂肪细胞分化这一复杂的生理学过程。

2.2 脂肪细胞亚细胞器的蛋白质组学

亚细胞结构在细胞的生命活动中都与特定的细

胞功能相联系。分离、鉴定其在不同生理状态下的蛋白质表达情况对于全面了解细胞的功能具有重要意义^[26]。直接分析脂肪细胞亚细胞器的蛋白质表达变化,能更容易的诠释脂肪细胞的功能。

Bartz等^[27]绘制了脂滴的全蛋白质组学图谱,鉴定出125个蛋白,其中70个蛋白是第一次发现的。同时他们对脂滴进行了磷酸化蛋白质组学分析,鉴定了7个蛋白,包括1个与脂肪分化相关的ADRP/ADFD蛋白、2个RAB蛋白和4个脂类代谢关联蛋白。Aboulaich等^[28]从人皮下脂肪组织中分离出细胞质膜微囊,通过蛋白质组学分析发现聚合酶I和转录释放因子——PTRF(polymerase I and transcript release factor)及它们的水解碎片都以磷酸化的形式固定在细胞质膜微囊表面,此实验暗示脂肪细胞质膜微囊具有将蛋白磷酸化的功能。Adachi等^[1]对3T3-L1前体脂肪细胞的细胞核、线粒体、细胞膜、胞质溶液的蛋白质组进行了大规模分析,并鉴定出3287个蛋白。这些蛋白参与代谢,催化,氧化还原,蛋白质转录、翻译、转运,降解,脂肪酸代谢,脂质合成等。

2.3 脂肪细胞功能蛋白质组学

2.3.1 脂肪细胞代谢相关的功能蛋白质组学

蛋白质组学在脂肪细胞代谢相关的分泌蛋白方面的研究能为脂肪代谢紊乱的治疗提供理论支持^[29]。

Zvonic等^[30]通过2-DE技术,比较了人皮下脂肪源干细胞在未诱导和向脂肪细胞诱导两种条件下分泌蛋白的表达水平变化,结果发现包括脂联素和纤溶酶原激活抑制剂等80多个蛋白点显现出2倍以上的表达量差异。该研究还发现了丝氨酸蛋白酶抑制剂的存在,暗示丝氨酸蛋白酶抑制剂家族可能参与了肥胖症和2型糖尿病的形成。Morak等^[31]发明了可以比较两种状态下脂解酶或酯酶活性差异的DABGE(differential activity-based gel electro-phoresis)技术。在此基础上,Schicher等^[32]运用DABGE技术比较分析了人皮下和腹部脂肪组织中脂解酶的活性差异,发现4种脂解酶在皮下脂肪组织中高表达,推测这4种酶的表达差异可能与皮下和腹部脂肪组织的不同代谢功能有关。

2.3.2 脂肪细胞氧化应激相关的功能蛋白质组学

氧化应激容易造成脂肪细胞线粒体、内质网的损伤,导致细胞发生炎症,最终影响脂肪细胞的功能^[33]。研究脂肪氧化应激为了解脂肪肝的发生机制奠定基础^[33]。

Choi等^[34]运用(isobaric tag for relative and absolute

quantitation, iTRAQ) 技术对缺氧和正常条件下小鼠的 3T3-L1 脂肪细胞分泌的蛋白进行定量研究分析, 最终发现有 96 个蛋白在缺氧条件下表达量上调, 暗示这些蛋白参与了脂肪氧化的应激反应, 起到了去除线粒体中活性氧、保护细胞对低氧的应激、保护线粒体不被氧化破坏的作用。随后 Choi 等^[35] 又运用无标记定量法分析在氧化应激条件下小鼠 3T3-L1 脂肪细胞所分泌的蛋白, 发现有 8 个蛋白表达量发生变化, 其中基质金属蛋白酶 2(MMP-2)、基质细胞衍生因子 1(stromal cell-derived factor-1)、抵抗素(resistin)、补体因子 D(CFD) 表达量降低, 而醛缩酶 A、金属蛋白酶 2(TIMMP-2) 表达量增加, 暗示这些蛋白参与了脂肪细胞的氧化应激作用。

3 展望

综上所述, 蛋白质组学在脂肪发生、分化等分子机制方面的研究已经取得较大的进展, 如利用蛋白质组图谱对不同生理和病理状态下的脂肪组织及脂肪细胞进行差异显示分析, 寻找各种生理状态下的分子标记物及潜在的调控通路等。然而, 与肝脏等蛋白质组学相比, 脂肪组织蛋白质组学研究仍处于初级阶段, 如在差异蛋白的修饰、功能、亚细胞定位及蛋白互作等方面的研究较少, 而且一些低丰度但具有重要作用的蛋白常常被忽略。此外, 脂肪组织代谢紊乱所引起的疾病(如肥胖、2 型糖尿病)是多因素共同参与的复杂疾病, 其发病机制不可能只依靠蛋白质组学方法就能完全解决, 需要基因组学、代谢组学、生物信息学等多学科相互辅助, 相互支撑。因此, 今后的脂肪蛋白组学研究应该在增加蛋白质翻译后修饰、低丰度蛋白富集及功能研究的前提下, 加强多学科交叉, 以获得更大的突破。相信随着蛋白质组学技术及其他学科的发展, 脂肪组织及肥胖相关疾病的研究将会更加深入及系统。

[参 考 文 献]

- [1] Adachi J, Kumar C, Zhang Y, et al. In-depth analysis of the adipocyte proteome by mass spectrometry and bioinformatics. *Mol Cell Proteomics*, 2007, 6(7): 1257-73
- [2] 杨晓光. 中国居民2002年营养与健康状况调查. *中华流行病学杂志*, 2005, 26(7): 478-83
- [3] Barceló-Batllori S, Gomis R. Proteomics in obesity research. *Proteomics Clin Appl*, 2009, 3(2): 263-78
- [4] Cortón M, Villuendas G, Botella JI, et al. Improved resolution of the human adipose tissue proteome at alkaline and wide range pH by the addition of hydroxyethyl disulfide. *Proteomics*, 2004, 4(2): 438-41

表1 脂肪蛋白质组学的研究成果

种属	实验模型	脂肪组织/细胞/细胞器	方法	主要成果	文献
脂肪组织蛋白质图谱					
Human	Female	皮下脂肪组织	2-DE、MS	第一次建立了人类脂肪组织蛋白质图谱	Cortón 等 ^[4]
Mouse	Obese ob/ob	白色脂肪组织	2-DE、MALDI-TOF、LC/ESI-MS/MS	建立了小鼠白色脂肪组织的蛋白质图谱, 并质谱鉴定了140个蛋白	Lanne 等 ^[6]
Mouse	Lean C57Bl/6J	白色/棕色脂肪组织	2-DE、MALDI-TOF	补充了SWISS-2D PAGE数据库的信息	Sanchez 等 ^[36]
Pig	Xiang-pig	皮下脂肪组织	2-DE、MALDI-TOF-MS	建立香猪脂肪组织蛋白质图谱, 并推断ApoR参与克伦特罗的下游作用	何强 ^[7]
Cattle	Black Beef Cattle	白色脂肪组织	2-DE、MALDI-TOF-TOF	建立肉牛白色脂肪组织蛋白质图谱, 并发现97个蛋白与脂类代谢关联	Ikegami 等 ^[8]
Gallus	broiler	腹部脂肪组织	2-DE、MALDI-TOF-TOF	建立肉鸡腹部脂肪组织蛋白质图谱, 并发现15个脂肪组织发育相关蛋白	Wang 等 ^[9]
Mouse	Mouse	3T3-L1脂肪细胞	Subcellular fractionation、SDS-PAGE、LC-MS/MS	鉴定出3 287个蛋白, 构建了脂肪细胞基本蛋白库	Adachi 等 ^[37]
脂肪组织(Adipose tissue)					

续表

种属	实验模型	脂肪组织/细胞/细胞器	方法	主要成果	文献
Human	Caucasian men/ women (BMI>30 kg/m ²)	皮下脂肪组织 网膜脂肪组织	2D-DIGE、MS	发现43个蛋白在两种脂肪组织中差异表达, 这些蛋白主要参与脂类代谢、脂类运输、蛋白合成及修饰、炎症应激反应等, 并暗示网膜脂肪组织代谢活性高于皮下脂肪组织	Pérez-Pérez 等 ^[38]
Human	Female lean	内脏脂肪组织分泌物	SDS-PAGE、LC-MS/MS	鉴定了259个蛋白, 其中70个蛋白为脂肪组织分泌蛋白	Alvarez-Llamas 等 ^[10]
Human	Lean /obese male	网膜脂肪组织及间隙碎片	isotopic labelling Human cytokine antibody array	发现growth-related oncogen factor、RANTES、MIP-1b、IL-7、TIMP-1、thrombopoietin等6个脂肪分泌因子与脂肪代谢紊乱相关	Maury 等 ^[39]
Rat	Male Wistar obese cafeteria diet	白色脂肪组织	2-DE、MALDI-TOF MS	与对照组相比, 诱导肥胖后, 发现29个蛋白差异表达, 通过tungstate治疗, 70%差异表达蛋白复原	Barceló-Batlloiri 等 ^[40]
Rat	Male Wistar obese cafe-teria diet	白色脂肪组织	2-D DIGE、bioinformatics	发现20个Tungstate直接作用的蛋白, 这些蛋白参与氧化、能量平衡过程	Barceló-Batlloiri 等 ^[41]
Rat	CD rat adipocytes	网膜、附睾、腹股沟处脂肪组织	MALDI-TOF-MS/MS、 ¹⁸ O incorporation、2-D LC-MS/MS	发现84个脂肪细胞分泌因子	Chen 等 ^[24]
Rat	3T3-L1 3T3-F442A adipocytes	正常及胰岛素抵抗条件下的脂肪细胞分泌物	¹⁸ O incorporation、2-D LC-MS/MS	在胰岛素抵抗条件下, 脂肪细胞因子HCNP、Quiescin Q6、Angiotensin、LPL、MMP2、slit homologue 3 发生差异表达	Lim 等 ^[42]
Mouse	C57Bl/6J lean mice and obese-Insulin Resistant high fat diet mice	附睾的白色脂肪组织	Enrichment of Carbonylated proteins、MALDI-TOF MS/MS、LC-ESI MS/MS	GSTA4 在 obese mice 表达量降低, 同时发现 GSTM1、peroxi-redoxin 1、glutathione peroxidase 1、eEF1a1、filamin A、FABP 等羧基化蛋白	Grimrud 等 ^[43]
Mouse	Lep/lep mice	白色/棕色脂肪组织	2-DE、nanoESI-MS/MS	与对照组相比, 34个蛋白在胖鼠中差异表达。其中11个蛋白受到罗格列酮(rosiglitazone)调节	Sanchez 等 ^[44]
Mouse	Lean and obese (high-fat diet) C57 BL/6	棕色脂肪组织 白色脂肪组织	2-DE、LC-MS/MS	发现50个蛋白在瘦鼠和胖鼠之间差异表达, 这些蛋白参与了氧化还原反应、三羧酸循环等过程	Schmid 等 ^[45]
脂肪细胞(Adipocyte cell)	Female	皮下脂肪组织的 原代培养细胞	2-DE、LC-nanoESI-MS/MS (Q-TOF)	鉴定出PAI-1、PEDF、placental thrombin inhibitor、pregnancy zone protein、protease C1 inhibitor等脂肪细胞因子, 同时发现HSP27等40个蛋白上调, 13个蛋白下调	Zvonice 等 ^[30]

续表

种属	实验模型	脂肪组织/细胞/细胞器	方法	主要成果	文献
Mouse	FIRKO lean and resistant to diet induced obesity	来源于白色脂肪组织的脂肪细胞	Subcellular fractionation SDS-PAGE, MALDI-TOF MS ESI-MS/MS	发现胰岛素影响了 vimentin、GRP78、EH-domain-containing protein 2、elongation factor 2、TK、succinyl-CoA Transferase 等蛋白表达	Blüher 等 ^[46]
Human	Human mesenchymal stem cell line (hMSC)	未分化的hMSC 分化后的hMSC	2-DE, MALDI-TOF MS	发现 Syntaxin binding protein 3、OSBP-related protein 3、glycophorin、PPAR- γ 与脂肪生成相关	Lee 等 ^[23]
Mouse	3T3-L1 adipocytes	3T3-L1 的前脂肪细胞及成熟脂肪细胞	2-DE, Edmansequencing-MALDI-TOF MS	发现 8 个差异表达蛋白, 其中巨球蛋白 $\alpha 2$ 负调控脂肪分化	Choi 等 ^[25]
Mouse	3T3-L1 adipocytes	3T3-L1 的前脂肪细胞及成熟脂肪细胞	2-DE, MALDI-TOF MS, ESI-MS/MS	发现包括 RhoGDI-1、RhoGDI-2、EHD1、NEDD5 等 300 个蛋白发生修饰	Welsh 等 ^[47]
Mouse	3T3-L1 adipocytes	罗格列酮处理的 3T3-L1 的前脂肪细胞及成熟脂肪细胞	Fractionation by sucrose Gradient SDS-PAGE, MALDI-TOF MS, ESI-MS/MS	发现罗格列酮处理的脂肪细胞线粒体增加, 同时差异表达蛋白参与了脂类代谢	Wilson-Fritch 等 ^[48]
Mouse	3T3-L1 adipocytes	3T3-L1 前脂肪细胞及成熟脂肪细胞的分泌物	SDS-PAGE, nanoESI-MS/MS LC-MS/MS	发现了新的脂肪细胞分泌因子。同时发现在脂肪分化过程中 PEDF 表达量上调; hippocampal cholinergic neurostimulating peptide、neutrophil gelatinase-associated lipocalin、haptoglobin 表达量下调	Kratchmarova 等 ^[49]
Mouse	3T3-L1 adipocytes	3T3-L1 前脂肪细胞及成熟脂肪细胞的分泌物	2-DE, MALDI-TOF, LC-MS/MS	鉴定出新的脂肪细胞分泌因子, 包括 procollagen C-proteinase enhancer protein、galectin-1、cyclophilin A、cyclophilin C、IL25	Wang 等 ^[29]
Mouse	3T3-L1 adipocytes	胰岛素处理的 3T3-L1 前脂肪细胞及成熟脂肪细胞的分泌物	SDS-PAGE, 2-DE, MALDI-TOF	发现胰岛素处理的脂肪细胞 collagens、nidogen、MMP2、MMPI-2 表达上调; complement C3、adipsin、SPARC、PEDF galectin-1 表达下调	Wang 等 ^[50]
脂肪细胞亚细胞器(Organelles)	Female	来源皮下脂肪细胞的质膜微囊	SDS-PAGE, MALDI-TOF MS, ESI-MS/MS	polymerase I and transcript release factor (PTRF) 的定位及磷酸化分析	Aboulaich 等 ^[51]
Mouse	3T3-L1 adipocytes	来源 3T3-L1 脂肪细胞的脂肪滴	Cellular fractionation, SDS-PAGE, micro-HPLC-MS/MS	差异表达蛋白多为结构蛋白	Brasamle 等 ^[52]
Mouse	3T3-L1 adipocytes	包含 Glut4 的小囊泡	SDS-PAGE, MALDI-TOF MS/MS	波形蛋白和微管蛋白是胰岛素敏感的 Glut4 小囊泡必需组成部分	Guilherme 等 ^[53]

- [5] Cortón M, Botella-Carretero JI, López JA, et al. Proteomic analysis of human omental adipose tissue in the polycystic ovary syndrome using two-dimensional difference gel electrophoresis and mass spectrometry. *Hum Reprod*, 2008, 23(3): 651-61
- [6] Lanne B, Potthast F, Höglund A, et al. Thiourea enhances mapping of the proteome from *murine* white adipose tissue. *Proteomics*, 2001, 1(7): 819-28
- [7] 何强. 饲喂克伦特罗后香猪脂肪组织差异蛋白质组学的初步研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2005
- [8] Ikegami H, Sono Y, Nagai K, et al. Discovery of a protein biomarker candidate related to carcass weight in Japanese *Black beef cattle* (Wagyu). *J Proteomics Bioinform*, 2008, 2: 259-60
- [9] Wang D, Wang N, Li N, et al. Identification of differentially expressed proteins in adipose tissue of divergently selected *broilers*. *Poult Sci*, 2009, 88: 2285-92
- [10] Alvarez-Llamas G, Szalowska E, de Vries MP, et al. Characterization of the human visceral adipose tissue secretome. *Mol Cell Proteomics*, 2007, 6(4): 589-600
- [11] Birner-Gruenberger R, Susani-Etzerodt H, Waldhuber M, et al. The lipolytic proteome of *mouse* adipose tissue. *Mol Cell Proteomics*, 2005, 4(11): 1710-7
- [12] Von Eyben FE, Kroustrup JP, Larsen JF, et al. Comparison of gene expression in intra-abdominal and subcutaneous fat: a study of men with morbid obesity and nonobese men using microarray and proteomics. *Ann NY Acad Sci*, 2004, 1030: 508-36
- [13] 尹晓, 刘志芬, 王璇, 等. 肥胖症脂肪组织表达蛋白差异筛选初步研究. *实用医学杂志*, 2003, 19(11): 1193-5
- [14] 凌雁, 高鑫, 陆志强. 肥胖与非肥胖者腹部皮下及内脏脂肪组织蛋白质组差异的四例研究. *上海医学*, 2003, 26(1): 31-4
- [15] Takahashi H, Oh-Ishi M, Shimizu H, et al. Detection and identification of subcutaneous adipose tissue protein related to obesity in New Zealand obese mouse. *Endocrinology*, 2001, 48: 205-11
- [16] Claret M, Corominola H, Canals I, et al. Tungstate decreases weight gain and adiposity in obese rats through increased thermogenesis and lipid oxidation. *Endocrinology*, 2005, 146(10): 4362-9
- [17] Barcel-Batlloiri S, Kalko SG, Esteban Y, et al. Integration of DIGE and bioinformatics analyses reveals a role of the antiobesity agent tungstate in redox and energy homeostasis pathways in brown adipose tissue. *Mol Cell Proteomics*, 2008, 7(2): 378-93
- [18] 尹晓, 孙超, 崔颖. 2型糖尿病患者脂肪组织蛋白谱差异研究. *山东医药*, 2006, 46(7): 4-5
- [19] List EO, Berryman DE, Palmer AJ, et al. Analysis of mouse skin reveals proteins that are altered in a diet induced diabetic state: a new method for detection of type 2 diabetes. *Proteomics*, 2007, 7(7): 1140-9
- [20] Lynch CJ, Brennan WA Jr, Vary TC, et al. Carbonic anhydrase III in obese Zucker rats. *Am J Physiol*, 1993, 264(4): E621-30
- [21] Chen X, Hess S. Adipose proteome analysis: focus on mediators of insulin resistance. *Expert Rev Proteomics*, 2008, 5(6): 827-39
- [22] Van Eyk JE. Proteomics: unraveling the complexity of heart disease and striving to change cardiology. *Curr Opin Mol Ther*, 2001, 3(6): 546-53
- [23] Lee HK, Lee BH, Park SA, et al. The proteomic analysis of an adipocyte differentiated from human mesenchymal stem cells using two dimensional gel electrophoresis. *Proteomics*, 2006, 6(4): 1223-9
- [24] Chen X, Cushman SW, Pannell LK, et al. Quantitative proteomic analysis of the secretory proteins from rat adipose cells using a 2D liquid chromatography-MS/MS approach. *J Proteome Res*, 2005, 4(2): 570-7
- [25] Choi KL, Wang Y, Tse CA, et al. Proteomic analysis of adipocyte differentiation: evidence that $\alpha 2$ macroglobulin is involved in the adipose conversion of 3T3 L1 preadipocytes. *Proteomics*, 2004, 4(6): 1840-8
- [26] 李茂玉, 陈主初. 亚细胞蛋白质组学研究. *中国医师杂志*, 2004, 6(5): 718-9
- [27] Bartz R, Zehmer JK, Zhu M, et al. Dynamic activity of lipid droplet: protein phosphorylation and GTP-mediated protein translocation. *J Proteome Res*, 2007, 6(8): 3256-65
- [28] Aboulaich N, Vainonen JP, Stralfors P, et al. Vectorial proteomics reveal targeting, phosphorylation and specific fragmentation of polymerase I and transcript release factor (PTRF) at the surface of caveolae in human adipocytes. *Biochem J*, 2004, 383(2): 237-48
- [29] Wang P, Marimana E, Keijer J, et al. Profiling of the secreted proteins during 3T3-L1 adipocyte differentiation leads to the identification of novel adipokines. *Cell Mol Life Sci*, 2004, 61(18): 2405-17
- [30] Zvonic S, Lefevre M, Kilroy G, et al. Secretome of primary cultures of human adipose-derived stem cells: modulation of serpins by adipogenesis. *Mol Cell Proteomics*, 2007, 6(1): 18-28
- [31] Morak M, Schmidinger H, Krempl P, et al. Differential activity-based gel electrophoresis for comparative analysis of lipolytic and esterolytic activities. *J Lipid Res*, 2009, 50: 1281-92
- [32] Schicher M, Morak M, Birner-Gruenberger R, et al. Functional proteomic analysis of lipases and esterases in cultured human adipocytes. *J Proteome Res*, 2010, 9(12): 6334-44
- [33] 刘江, 厉有名. 线粒体、内质网与脂肪性肝炎的关系. *肝脏*, 2006, 11(6): 443-4
- [34] Choi S, Cho K, Kim J, et al. Comparative proteome analysis using amine-reactive isobaric tagging reagents coupled with 2D LC/MS/MS in 3T3-L1 adipocytes following hypoxia or normoxia. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009, 383(1): 135-40
- [35] Choi S, Kim J, Yea K, et al. Targeted label-free quantitative analysis of secretory proteins from adipocytes in response to oxidative stress. *Anal Biochem*, 2010, 401(2): 196-202
- [36] Sanchez JC, Chiappe D, Converset V, et al. The mouse SWISS-2 D PAGE database: a tool for proteomics study of diabetes and obesity. *Proteomics*, 2001, 1: 136-63
- [37] Adachi J, Kumar C, Zhang Y, et al. In-depth analysis of

- the adipocyte proteome by mass spectrometry and bioinformatics. *Mol Cell Proteomics*, 2007, 6(7): 1257-73
- [38] Pérez-Pérez R, Ortega-Delgado FJ, García-Santos E, et al. Differential proteomics of omental and subcutaneous adipose tissue reflects their unlike biochemical and metabolic properties. *J Proteome Res*, 2009, 8 (4): 1682-93
- [39] Maury E, Ehala-Aleksejev K, Guiot Y, et al. Adipokines oversecreted by omental adipose tissue in human obesity. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2007, 293(3): 656-65
- [40] Barceló-Batllori S, Corominola H, Claret M, et al. Target identification of the novel antiobesity agent tungstate in adipose tissue from obese rats. *Proteomics*, 2005, 5(18): 4927-35
- [41] Barceló-Batllori S, Kalko SG, Esteban Y, et al. Integration of DIGE and bioinformatics analyses reveals a role of the antiobesity agent tungstate in redox and energy homeostasis pathways in brown adipose tissue. *Mol Cell Proteomics*, 2008, 7(2): 378-93
- [42] Lim JM, Sherling D, Teo CF, et al. Defining the regulated secreted proteome of rodent adipocytes upon the induction of insulin resistance. *J Proteome Res*, 2008, 7(3): 1251-63
- [43] Grimsrud PA, Picklo MJ Sr, Griffin TJ, et al. Carbonylation of adipose proteins in obesity and insulin resistance: identification of adipocyte fatty acid-binding protein as a cellular target of 4-hydroxynonenal. *Mol Cell Proteomics*, 2007, 6(4): 624-37
- [44] Sanchez JC, Converset V, Nolan A, et al. Effect of rosiglitazone on the differential expression of obesity and insulin resistance associated proteins in *lep/lep* mice. *Proteomics*, 2003, 3(8): 1500-20
- [45] Schmid GM, Converset V, Walter N, et al. Effect of high-fat diet on the expression of proteins in muscle, adipose tissues, and liver of C57BL/6 mice. *Proteomics*, 2004, 4(8): 2270-82
- [46] Blüher M, Wilson-Fritch L, Leszyk J, et al. Role of insulin action and cell size on protein expression patterns in adipocytes. *J Biol Chem*, 2004, 279(30): 31902-9
- [47] Welsh GI, Griffiths MR, Webster KJ, et al. Proteome analysis of adipogenesis. *Proteomics*, 2004, 4(4): 1042-51
- [48] Wilson-Fritch L, Burkart A, Bell G, et al. Mitochondrial biogenesis and remodeling during adipogenesis and in response to the insulin sensitizer rosiglitazone. *Mol Cell Biol*, 2003, 23(3): 1085-94
- [49] Kratchmarova I, Kalume DE, Blagoev B, et al. A proteomic approach for identification of secreted proteins during the differentiation of 3T3-L1 preadipocytes to adipocytes. *Mol Cell Proteomics*, 2002, 1(3): 213-22
- [50] Wang P, Keijer J, Bunschoten A, et al. Insulin modulates the secretion of proteins from mature 3T3-L1 adipocytes: a role for transcriptional regulation of processing. *Diabetologia*, 2006, 49(10): 2453-62
- [51] Aboulaich N, Vainonen JP, Stralfors P, et al. Vectorial proteomics reveal targeting, phosphorylation and specific fragmentation of polymerase I and transcript release factor (PTRF) at the surface of caveolae in human adipocytes. *Biochem J*, 2004, 383(pt2): 237-48
- [52] Brasaemle DL, Dolios G, Shapiro L, et al. Proteomic analysis of proteins associated with lipid droplets of basal and lipolytically stimulated 3T3-L1 adipocytes. *J Biol Chem*, 2004, 279(45): 46835-42
- [53] Guilherme A, Emoto M, Buxton JM, et al. Perinuclear localization and insulin responsiveness of GLUT4 requires cytoskeletal integrity in 3T3-L1 adipocytes. *J Biol Chem*, 2000, 275(49): 38151-9