

MicroRNA在哺乳动物脂肪形成中的调控作用

曾 瑛 唐 蓓 李 影*

(重庆师范大学生命科学学院, 重庆 401331)

摘要 间充质干细胞或前体脂肪细胞向成熟脂肪细胞分化的复杂过程对哺乳动物脂肪组织的形成和脂肪代谢至关重要。脂肪形成受激素和各种生脂转录因子的调控, 这些生脂转录因子以级联转录的方式表达, 促进脂肪细胞分化, 最终导致成熟脂肪细胞表型的形成。microRNAs(miRNAs)属于small RNA家族, 分子长度约为22个核苷酸。近几年研究表明, miRNA参与了许多生物过程的调控, 包括细胞分化、转录因子和/或其他基因的转录后调控。该文对miRNAs在小鼠、人类和家畜体外模型中作为促生脂或抗生脂因子来调节脂肪生成的研究成果进行总结, 以期研究miRNA调控哺乳脂肪生成的相关科研人员提供参考。

关键词 microRNA; 脂肪细胞; 促生脂; 抗生脂

MicroRNA Regulates Adipogenesis in Mammalian

Zeng Ying, Tang Bei, Li Ying*

(College of Life Science, Chongqing Normal University, Chongqing 401331, China)

Abstract The differentiation of adipocyte-derived from mesenchymal stem cells or preadipocytes into mature adipocytes is essential for fat formation and metabolism of adipose tissues in mammals. It is regulated by hormones and various adipogenic transcription factors which are expressed as a transcriptional cascade to promote adipocyte differentiation, leading to the mature adipocyte phenotype. Recent findings indicated that microRNA (miRNA), a family of small RNA molecules of approximately 22 nucleotides in length, were involved in the regulatory network of many biological processes, including cell differentiation, through post-transcriptional regulation of transcription factors and/or other genes. This review summarizes the recent progress about adipogenesis regulation of miRNAs with the proadipogenic or antiadipogenic factors manner in mouse, human and cattle. It may provide a useful reference for researcher's working in this field.

Keywords microRNA; adipocyte; proadipogenic; antiadipogenic

哺乳动物主要含有两种脂肪组织, 即棕色脂肪组织和白色脂肪组织(后文中提到的脂肪组织特指白色脂肪组织)。在成熟个体中, 棕色脂肪组织占机体脂肪组织的比重极少, 它分泌的脂肪细胞因子和炎症因子也较少^[1], 因此不能促进肥胖和胰岛素抵抗的发生。对于后者, 它几乎遍布于整个机体, 不仅

是被动的能量贮存器官和机体最大的内分泌器官, 而且在调节机体胰岛素敏感性和维持能量代谢平衡中起着重要的作用^[2]。白色脂肪组织主要用以储存过多的能量, 以供动物在机体能量不足维持生存时加以利用。然而, 人类食用过量脂肪或过多的饱和脂肪酸均会导致脂肪组织功能障碍, 从而引起各种

收稿日期: 2014-05-29 接受日期: 2014-09-19

国家自然科学基金(批准号: 30800843)、重庆市教育委员会科学技术研究项目(批准号: KJ120605)和重庆师范大学2012年教改项目资助的课题

*通讯作者。Tel: 023-65910315, E-mail: liyingcqu@sohu.com

Received: May 29, 2014 Accepted: September 19, 2014

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.30800843), Chongqing Municipal Education Commission of Science and Technology Research Project (Grant No.KJ120605) and Chongqing Normal University 2012 Teaching Reform Project

*Corresponding author. Tel: +86-23-65910315, E-mail: liyingcqu@sohu.com

网络出版时间: 2014-12-29 11:02 URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20141229.1102.001.html>

潜在疾病,如肥胖、糖尿病、冠心病和代谢综合征等^[3]。另外,机体脂肪蓄积也与家畜肉产品品质和动物生产力密切相关。脂肪组织由多种细胞类型构成,其组成和调控取决于细胞的类型和所处机体的位置^[4]。不论是来源于哪个位置的脂肪组织,都可以在其中找到一种主要的细胞——脂肪细胞。哺乳动物的脂肪生成同时受到遗传和激素的调控。现已确定生脂转录因子调控许多生脂基因的表达,从而导致脂肪细胞的分化^[5],如过氧化物酶体增殖剂激活受体 γ (peroxisome proliferator-activated receptor γ , PPAR γ)、CCAAT增强子结合蛋白(CCAAT-enhancer binding proteins, C/EBPs)、KLFs(Kruppel-like factors)和固醇调控原件结合蛋白(sterol regulatory element-binding proteins, SREBP)^[6-7]。此外,现已确定microRNAs(miRNAs)参与多种生物学过程,包括细胞分化、动物发育、新陈代谢、肿瘤发生、胰岛素抵抗和其他疾病^[8-11]。miRNAs属于非编码小RNAs家族,大约有22个核苷酸序列。研究表明,一些miRNAs在哺乳动物脂肪细胞中表达,参与脂肪生成的调控。miRNA通过作用于转录因子,调控与生脂有关的信号通路来促进或抑制脂肪细胞分化,或通过阻止有丝分裂克隆扩增调控脂肪细胞发育,甚至对脂肪功能障碍的发生具有潜在的影响。本文结合哺乳动物的脂肪生成过程,在简要介绍生脂过程中主要转录调控因子的基础上,对miRNA在生脂过程中的作用及其调控机制作一综述。

1 哺乳动物的脂肪生成

1.1 生脂过程

动物脂肪形成过程是指来自脂肪组织的细胞经过增殖、分化,形成可以累积脂质细胞的过程^[12]。定向和分化是脂肪形成中两个重要的阶段^[13]。定向是指间充质干细胞通过判断对信号做出应答,分化成前体脂肪细胞的过程。分化是由前体脂肪细胞转变为成熟脂肪细胞的过程。在细胞体外培养模型中,前体脂肪细胞必须经历因细胞密度抑制而导致的生长停滞才能进入分化^[7,14]。细胞形状由成纤维形变为球形是终末分化完成即脂肪细胞形成过程中的第一形态学标志。

来源于已建细胞系的生脂模型与原代培养的基质微管(stromal vascular, SV)细胞在发育特点上存在很大差异^[15]。来源于脂肪组织的已建立的原代细

胞培养表明,在原代基质微管细胞培养过程中,细胞发育模式和发育特点都存在着显著的部位依赖性和种属特异性^[16]。

1.2 生脂过程中重要的转录调控因子

以生脂诱导剂处理前体脂肪细胞,激活了细胞中转录因子的级联反应,促进了一系列调控基因的时序性表达,最终导致脂肪细胞表型的形成^[13,16]。在诱导前体脂肪细胞成为成熟脂肪细胞表型的过程中,需进行特定转录因子表达的转换^[6]。然而,观察永生细胞系和来自大鼠、猪及人类的SV细胞的脂肪形成过程中,这种级联转录事件并不明显^[15]。例如,PPAR γ 的mRNA和蛋白质水平,C/EBP家族包括:C/EBP β 、C/EBP α 和C/EBP δ 蛋白质水平都能在大鼠、猪和人的SV细胞分化启动时即存在。另外,牛SV细胞生脂过程中并没有伴随着PPAR γ 和C/EBP α mRNA的表达。在胎儿脂肪组织生脂过程中没有观察到C/EBP α 、C/EBP β 和C/EBP δ 的时序性表达,这与在3T3-L1细胞系中观察到的结果相反^[17]。

PPAR γ 和C/EBP家族的转录因子被认为是脂肪生成中主要的调控因子,而其他的转录因子也对脂肪生成起正调控或负调控的作用。PPAR γ 能激活一些与脂代谢有关的基因,包括脂蛋白酯酶(lipoprotein lipase, LPL)^[18]、酰基辅酶A合成酶(acyl-coenzyme A synthetase, ACS)^[19]、细胞内脂质结合蛋白(fatty acid binding protein 4, FABP4)^[20]和磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶(phosphoenolpyruvate carboxylase, PEPCK)^[20]。在SV培养细胞中调控脂肪的生成主要或部分取决于PPAR γ 蛋白的表达,最终以C/EBP α 和PPAR γ 的相互调控来维持脂肪细胞的分化状态^[12]。级联转录因子是脂肪生成中主要的促生脂基因。在级联反应中首先检测到的是C/EBP δ 和C/EBP β 转录因子,二者诱导KLF的表达,三者共同诱导PPAR γ ; PPAR γ 激活C/EBP α ,而C/EBP α 正反馈调节PPAR γ ,二者保持各自的分化程序来促进终末分化基因的表达,形成成熟脂肪细胞的表型。其他因子在这个网络调控中也可能具有促进脂肪生成或抗脂肪生成的作用,如SREBP-1C能激活PPAR γ 。

2 MiRNA与生物学功能

2.1 MiRNA的分类

最近,关于哺乳动物全基因组测序的研究结果表明,基因组内存在大量非编码基因的遗传物质(约

98%), 其中的大部分被转录成非编码RNAs, 这些非编码RNAs通过参与基因的表达来调控许多细胞过程^[21-22]。

根据miRNAs在基因上存在的位置可将其分为两类, 一类miRNAs存在于编码蛋白质基因的内含子上, 并且同它的宿主基因一起被转录^[23]; 然而, 大多数的miRNAs是基因间miRNAs, 位于无效编码蛋白质基因区, 并且在大多数情况下具有独立的转录单元, 其中包括启动子和终止子^[24]。

2.2 MiRNA的生物合成过程

虽然已经证实, miRNA基因可以通过聚合酶III转录, 但是内含子miRNAs和大部分基因间miRNAs是通过RNA聚合酶II转录的^[24-25]。转录后形成的初级miRNA, 通过Drosha酶和DGCR8的处理形成前体miRNA, 前体miRNA由细胞核输出到细胞质, 通过Dicer的进一步处理形成原始双链成熟的miRNA^[26]。成熟的miRNA双链与miRNA-诱导的沉默复合物(miRNA-induced silencing complex, miRISC)结合, miRNA双链中的一条链(miRNA*)被降解而另一条链则被保留。一旦miRISC与成熟的miRNA结合, 这个复合物就具有活性, 而且miRNA可以通过mRNA降解或翻译抑制来指导这一复合物与其靶mRNA结合, 进而导致基因沉默^[27]。

2.3 MiRNA的多种生物学功能

据报道, miRNAs在多种生物过程中具调控基因表达的重要作用, 其机制主要是通过与靶细胞内的转录调控因子相互作用, 通过影响转录调控因子的转录和翻译来调控细胞的发育、分化、凋亡和代谢等多种生物过程^[10-11, 28-29]。已有报道, miRNAs参与干细胞的分化调控、心脏和骨骼肌发育、胰岛素的分泌、胆固醇的代谢、血细胞生成、神经发生和免疫应答以及脂肪生成^[30]。

3 哺乳动物脂肪形成中的miRNA

第一次发现miRNA参与脂肪生成的调控和脂肪代谢是在果蝇上。与野生型果蝇相比, 敲除miR-14的果蝇促进了甘油三酯和甘油二酯的增多, 而增加这个miRNA的拷贝则是相反的作用^[31]。在哺乳动物中, miRNAs以促生脂因子或抗生脂因子的角色调控脂肪生成过程中的不同阶段。即使同一miRNA, 在不同物种或同一物种的不同脂肪生成部位, 其对机体的生脂作用也不尽相同。表1归纳出了哺乳动

物中调控脂肪生成的miRNA的功能、种类及作用的靶基因。

3.1 MiRNA在小鼠生脂过程中的调控作用

到目前为止, 大多数脂肪生成中miRNA的研究都是以小鼠为实验材料通过在体研究或体外细胞培养模型进行的。miRNA通过作用于转录因子, 调控与生脂有关的信号通路, 进而调节脂肪生成过程中的各个阶段。

3.1.1 MiRNA在细胞有丝分裂克隆扩增中的作用
在细胞培养模型中, 有丝分裂克隆性扩增是3T3-L1细胞分化为脂肪细胞的必经阶段。不同的miRNAs可以促进或抑制这一过程。例如, miR-17-92具有促进作用, 而miR let-7、miR-363具有抑制作用^[9, 32, 40]。miR-17-92是一个聚簇(miR-17-5p、miR-17-3p、miR-18、miR-19a、miR-20、miR-19b和miR-92-1), 在多种癌细胞中促进细胞的增殖。当3T3-L1细胞用激素刺激后, 这一miRNA簇表达被上调, 并且其表达量在有丝分裂克隆扩增期间达到峰值。miR-17-92还可以通过负调控肿瘤抑制蛋白Rb2/p130来调控脂肪生成^[32], Rb2/p130参与了“p130:p107”的转换, 这一环节是有丝分裂克隆扩增的基本环节, 最终导致脂肪细胞终末分化。3T3-L1有丝分裂克隆扩增也受到miRNA let-7的影响。从克隆扩增的第0天到第1天, miR let-7的表达量减少, 而在3T3-L1细胞终末分化时其表达量增加。在3T3-L1中引入这一miRNA(pre-let-7a寡核苷酸), 克隆扩增和终末分化都被抑制。它的作用主要是由于转录因子高泳动族AT-hook2的调节, 在let-7超表达后观察到AT-hook2减少了三倍^[40]。miR-363是新发现的在脂肪细胞分化中具有负调控作用的miRNA。微阵列分析ADSC分化期间miRNA表达图谱的结果表明, miR-363是被显著下调的miRNA之一, 而且在ADSC中超表达miR-363抑制了有丝分裂克隆扩增和细胞的终末分化^[9]。

3.1.2 MiRNA在脂肪细胞分化过程中的促生脂作用
脂肪细胞的分化是指成纤维样的前体脂肪细胞经生脂诱导剂刺激, 转变为圆形的成熟脂肪细胞的过程。在这一过程中, PPAR γ 、C/EBP家族、SERBPs、KLFs和Wnt等转录调控因子以级联反应的方式, 调控其下游靶基因表达, 进而导致甘油三酯在细胞内累积。miRNA通过作用于转录调控因子来调控脂肪细胞的分化。如miR-17-92不仅促进3T3-L1细胞增殖, 同时也促进生脂。转染miR-17-92到经激素诱

表1 涉及调控哺乳动物生脂的miRNAs

Table 1 Experimentally validated miRNAs involved in the regulation of adipogenesis in mammals

功能 Function	微小RNA miRNA	靶基因 Target genes	物种 Species	体外或在体 <i>In vitro</i> or <i>in vivo</i> (cell culture model)	参考文献 References
Proadipogenic	miR-17-92	<i>RB2/P130</i>	M	3T3-L1, Pre-ad, MSC	[32-33]
Proadipogenic	miR-107	–	H/M	3T3-L1, Pre-ad, MSC	[34]
Proadipogenic	miR-143	<i>ERK5</i>	H/M/R	3T3-L1, Pre-ad, MSC, <i>in vivo</i>	[34-36]
Proadipogenic	miR-200	–	M	MSC	[37]
Proadipogenic	miR-210	<i>TCF7/L2</i>	M	3T3-L1	[39-41]
Proadipogenic	miR-355	–	H/M	3T3-L1, MSC	[37,41-42]
Proadipogenic	miR-378	–	M	3T3-L1, MSC, ST2	[39]
Proadipogenic	miR-519d	<i>PPARα</i>	H	PHVP	[43]
Proadipogenic	miR-146b	<i>SIRT1</i>	M	3T3-L1	[38]
Proadipogenic	miR-199a-5	<i>Caveolin-1</i>	P	Pre-ad	[44]
Antiadipogenic	miR-27a/b	<i>PPARγ</i>	H/M	3T3-L1, MSC	[33,41,45-46]
Antiadipogenic	miR-130	<i>PPARγ</i>	H	Pre-ad	[47]
Antiadipogenic	miR-138	<i>EID1</i>	H	MSC	[48]
Antiadipogenic	miR-150	–	M	3T3-L1	[39]
Antiadipogenic	miR-222	–	M	3T3-L1, Pre-ad	[34]
Antiadipogenic	miR-326	–	R	Pre-ad	[37]
Antiadipogenic	miR-448	<i>KLF5</i>	M	3T3-L1	[49]
Antiadipogenic	miR-363	<i>E2F3</i>	M	ADSCs	[9]
Antiadipogenic	miR-33	<i>SREBP-1</i>	M	<i>In vivo</i>	[50]
Antiadipogenic	miR-193a-3p	–	H	<i>In vivo</i>	[51]
Antiadipogenic	miR-193b-5p	–	H	<i>In vivo</i>	[51]
Pro/Antiadipogenic	miR-221	<i>PPARγ</i>	M/H	3T3-L1, Pre-ad, <i>in vivo</i>	[34,51]
Pro/Antiadipogenic	miR-15a	<i>DLK1</i>	M	3T3-L1	[52]
Pro/Antiadipogenic	miR-21	<i>TGFBR2</i>	H/M	3T3-L1	[39-40,53]
Pro/Antiadipogenic	miR-31	<i>C/EBPα</i>	H/M/R	3T3-L1, Pre-ad	[37,39]
Pro/Antiadipogenic	miR-103	<i>PDK1</i>	H/M	3T3-L1, Pre-ad, MSC	[34-35,37,39-40]
Pro/Antiadipogenic	miR-125b	–	H/M	3T3-L1, Pre-ad	[34,39,54]
Pro/Antiadipogenic	miR let-7	<i>HMG2</i>	M/P	3T3-L1	[40,55]

RB2/P130: retinoblastoma 2-protein 130; ERK5: 细胞外信号调节激酶5; TCF7L2: 转录因子7类似物2; SIRT1: sirtuin 1; EID1: 腺病毒早期区域1-A样分化抑制剂1; Caveolin-1: 微囊蛋白-1; HMG2: 高泳动族AT-hook 2; DLK1: Δ 样因子1; ADSCs: 脂肪组织源基质细胞; TGFBR2: 转化生长因子 β 受体2型; PDK1: 磷酸肌醇依赖性激酶1; H: 人; M: 小鼠; R: 大鼠; Pre-ad: 前体脂肪细胞; P: 猪; MSC: 间充质干细胞; ST2: 鼠骨源基质细胞; 3T3-L1: 小鼠样成纤维细胞; PHVP: 原代人腹腔前体脂肪细胞。“–”表示尚未发现其靶基因。

RB2/P130: retinoblastoma 2-protein 130; ERK5: extracellular signal-regulated kinase 5; TCF7L2: transcription factor 7-like 2; SIRT1: sirtuin 1; EID1: adenovirus early region 1-A-like inhibitor of differentiation 1; HMG2: high-mobility group AT-hook 2; DLK1: delta-like factor 1; ADSCs: adipose tissue-derived stromal cells; TGFBR2: transforming growth factor beta receptor type 2; PDK1: phosphoinositide-dependent kinase 1; H: human; M: mouse; R: rat; Pre-ad: preadipocytes; P: porcine; MSC: mesenchymal stem cells; ST2: mouse bone stromal cells; 3T3-L1: mouse adipose-like fibroblasts; PHVP: primary human visceral preadipocytes. “–” indicated that the target gene had not been found yet.

导的细胞中, miR-17-92加速了脂肪细胞的分化,增加了细胞内甘油三酯的累积^[32-33]。在3T3-L1中也观察到miR-103在脂肪细胞发育过程中具有促生脂作用。这一miRNA的异位表达增加了甘油三酯在脂肪细胞中的累积,并且上调了脂肪细胞中重要转录因子*PPAR γ 2*的表达。*PPAR γ 2*是关键的细胞周期调控子,如G₀/G₁开关,也是调控与脂质代谢、糖代谢(葡萄糖转运子-4, glucose transporter-4, GLUT-4)、内分泌功能(脂联素)相关基因表达的调控子。另一个在3T3-L1中具有促生脂作用的miRNA是miR-146b。在细胞中超表达miR-146b,在缺乏生脂促进剂的情

况下,诱导了3T3-L1细胞分化成脂肪细胞,并且脂肪细胞分化标志分子*PPAR γ* 、*C/EBP α* 和*ap2*的蛋白表达水平也有所增加;相反,抑制miR-146b在细胞中的表达,则降低了3T3-L1细胞的分化程度。生物信息学分析表明,miR-146b作用的靶基因是*SIRT1*。*SIRT1*在脂肪细胞生脂期间被下调,通过抑制*PPAR γ* 表达来抑制生脂。miR-146b是*SIRT1*的负调控子,通过直接与*SIRT1*的3'非翻译区结合下调*SIRT1*促进生脂^[38]。miR-378/378*是在ST2细胞中被诱导促生脂的miRNA。miR-378/378*的过量表达增加了细胞中脂滴的体积,同时也增强了*C/EBP α* 和*C/EBP β*

靶基因启动子的转录活性,而敲除miR-378/378*,降低了细胞内甘油三酯的累积^[39]。Wnt信号通路是受miR-8家族的调控,miR-8家族在脊椎动物中由miR-200c/141、miR-200b和a/429基因簇组成^[56]。在培养的ST2骨髓基质细胞中,这一基因簇具有促脂肪生成的作用,它通过潜在抑制Wnt信号通路,使细胞分化为脂肪细胞。因而,miR-8簇的表达能促进脂肪生成。这种促生脂作用表现在促进细胞内脂质累积、增加脂肪酸结合蛋白-4(fatty acid binding protein-4, FABP-4)的表达(脂肪细胞标记物)、部分恢复因Wnt蛋白(Wnt3a)处理而分化受阻的细胞^[56]。

3.1.3 MiRNA在脂肪细胞分化过程中的抑生脂作用 在3T3-L1细胞生脂分化过程中,miRNA27家族(miRNA-27a和miRNA-27b)被下调,这表明,miRNA抑制脂肪生成并间接抑制主要脂肪转录因子PPAR γ 和C/EBP α 的表达。在缺氧条件下培养细胞,miR-27被上调^[33]。在另一项研究中证实,在3T3-L1细胞中miR-27通过直接作用于PPAR γ mRNA 3'端的非翻译区(UTR)来抑制脂肪的生成^[46]。这表明miR-27基因家族是一类参与肥胖形成的负调节因子。KLF5也是参与脂肪生成的重要转录因子,它受miRNA的影响。miR-448靶向抑制KLF5 mRNA。3T3-L1细胞中,miR-448的过量表达使KLF5表达减少和细胞分化降低,这一现象是通过降低生脂基因表达和甘油三酯积累实现的,而减少miR-448的表达,则促进了脂肪细胞分化^[49]。由Wnt-10b蛋白介导的Wnt信号通路中,发现Wnt-10b通过抑制生脂转录因子C/EBP α 和PPAR γ 的表达抑制小鼠脂肪的生成^[57]。

3.1.4 体内研究中,miRNA在小鼠肝脏脂肪生成中的作用 除了脂肪组织外,肝脏也是哺乳动物脂肪生成的另一个重要器官。为了检测肝脏中miRNA对生脂的影响,对小鼠肝脏组织进行高通量miRNA测序,检测到150个miRNAs,发现miRNA-27b是人和小鼠肝脏脂代谢的miRNA调控中心^[58]。miR-33敲除小鼠变得肥胖,并且生成脂肪肝,血糖水平和胰岛素耐量异常。同时发现,miR-33缺陷鼠miR-33野生鼠肝脏和脂肪组织中SREBP-1水平、脂肪酸合成和脂肪酸累积都有所增加,进而证实miR-33的靶基因是SREBP-1^[50]。

3.1.5 MiRNA调控老年大鼠的生脂 随着老龄化,老年人患肥胖症和代谢综合征类疾病的风险增加。患肥胖症和代谢综合征的发生部分是由于腹部脂肪

细胞分泌的细胞因子或前体脂肪细胞功能障碍导致的。随着年龄的增加,前体脂肪细胞出现功能障碍,同时,脂肪组织中细胞组分也发生变化。研究表明,伴随老龄化而发生的脂肪组织功能障碍与由于老年动物miRNA改变而引起的调控生脂通路变化有关。miR-143和miR-204是新发现的与老年脂肪功能障碍有关的miRNAs。miR-143作用于其靶基因,通过ERK5-PPAR γ 信号通路促进生脂和肥胖。miR-204通过直接抑制Runx2来抑制间充质干细胞的成骨分化。从老龄(30月龄)雌性大鼠腹部脂肪组织中分离SVF细胞,发现miRNA的变化与生脂分化通路ERK5-PPAR γ 有关,而不是与成骨信号通路有关。来源于老龄大鼠(30月龄)的SVF细胞与年轻大鼠(6月龄)相比,miR-143水平显著降低。另外,超表达或删除细胞中的miR-143,年轻大鼠的ERK5(extracellular signal-regulated kinase 5) mRNA水平发生变化,而老龄大鼠ERK5的蛋白表达仅发生微小变化。ERK5负责由胰岛素诱导的生脂过程。来源于6月龄大鼠SVF细胞中的ERK5、PPAR γ 、ap2和adiponectin的mRNA和蛋白水平都比来源于30月龄大鼠SVF细胞的高,也支持ERK5在年轻SVF细胞中具有促生脂作用。同时,在30月龄大鼠SVF细胞中比6月龄大鼠SVF细胞中Runx2 mRNA水平高^[36]。这解释了老龄SVF细胞生脂程序的破坏部分与成骨程序的介入有关,进而使老龄脂肪细胞的表型呈现长梭形而非圆形,与成骨细胞表型相似。

3.2 MiRNA在人类生脂过程中的调控作用

体外前体脂肪细胞培养和体内脂肪组织的研究都表明,miRNA与人类生脂和肥胖密切相关。

3.2.1 MiRNA在脂肪细胞生脂过程中的作用 人体中第一个被报道调控脂肪生成的miRNA是miR-143,在生脂过程中其表达被上调,充当的是促生脂调节因子。为了评估miR-143在生脂过程中的作用,在人前体脂肪细胞培养中将miR-143反义寡核苷酸(antisense oligonucleotide, ASO)用于抑制miR-143,结果表明,随着4种脂肪细胞标志基因GLUT4、aP2、激素敏感酯酶(hormone-sensitive lipase, HSL)和PPAR- γ 2的抑制,脂肪细胞的分化也受到抑制;同时,甘油三酯降低达75%,这取决于细胞中ASO miR-143的浓度^[41]。miR-143还可以抑制细胞外信号调节激酶5(ERK5)基因的表达,其在生脂过程中的作用目前还未完全确定^[35]。类似于在人细胞中观察到的,

miR-143在小鼠细胞中也有相似的作用^[34]。

在人脂肪细胞生脂中发现的第二个 miRNA 是 miRNA-27b。在人多潜能脂肪干细胞 (human multipotent adipose-derived stem, hMADS) 中, miRNA-27b 起抗生脂作用^[45]。在 hMADS 的生脂过程中观察到 miR-27b 被下调。为了测定 miR-27b 在生脂中的作用, 在 hMADS 中超表达 miR-27b, 结果抑制了 *PPAR γ* 和 *C/EBP α* 的表达, 同时降低了甘油三酯在脂肪细胞分化晚期的累积^[49]。与 Lin 等^[33] 研究小鼠细胞中 miR-27a、miR-27b 得出的结论不同, Karbiener 等^[45] 报道在 hMADS 生脂过程中, miR-27 直接作用于 *PPAR γ* 的 3'UTR, 因 *PPAR γ* 的表达减少进而抑制了 *C/EBP α* 的表达。miRNA-130 也通过作用于 *PPAR γ* mRNA 3'非翻译区和编码区来强效抑制 *PPAR γ* 的表达。这一 miRNA 影响人原代前体脂肪细胞向脂肪细胞分化; 当其过量表达时, 生脂降低; 当其表达量减少时, 生脂增强, 暗示 miR-130 可能与人类肥胖有关。

不仅单个 miRNA 在人脂肪生成过程中起作用, 而且许多 miRNAs 也参与这一过程。通过对培养的人前体脂肪细胞进行 miRNA 微阵列研究表明, 在人脂肪细胞生脂过程中共有 70 个 miRNAs 被上调或下调^[57], 说明 miRNA 不仅作为调节因子参与脂肪生成, 而且许多 miRNAs 也参与这一过程。

3.2.2 体内研究中, miRNA 与人类肥胖的相关性 miRNA 与人类肥胖有关。研究表明, 瘦个体和肥胖个体的一些 miRNA 表现出显著的表达差异。在来源于瘦者和肥胖者皮下脂肪组织的细胞培养中观察到, 一些 miRNA 不论在前体脂肪细胞还是在成熟脂肪细胞中的表达均呈现显著差异。如前体脂肪细胞中表达 miR-34a、miR-100 和 miR-30a, 成熟脂肪细胞中表达 miR-99a 和 miR-210, 以及同时存在于前体脂肪细胞和成熟细胞中的 miR-10a^[54]。另一项研究发现, 在肥胖女性脂肪组织中, 当 miR-130 低水平时, *PPAR γ* 呈现高水平, 而在非肥胖女性个体中观察到相反的状况^[47]。*PPAR α* 是 *PPARs* 家族中另一个成员, *PPAR α* 3'UTR 区域被 miR-519d 靶向作用; 与非肥胖个体相比, 在肥胖个体中 miRNA 被下调^[57]。分别以 miR-519d 和 anti-miR-519d 处理人内脏原代前体脂肪细胞, 相应导致生脂的增加和减少。同时, 严重肥胖者体内 miR-519d 的表达抑制了 *PPAR α* 的表达, 这可能与代谢障碍和皮下脂肪组织中脂肪细胞过度肥大

有关^[58]。

最新的一项研究成果表明了 miRNA 与体重指数的相关性。miR-221 的表达水平与比马印第安人体重指数 (尤其是女性) 和空腹后胰岛素浓度呈正相关, 而 miR-193a-3p 和 miR-193b-5p 的表达水平与体重指数呈负相关。在肥胖状态下, 瘦素和 TNF- α 的表达水平都有所增加。培养的人前体脂肪细胞以瘦素和 TNF- α 处理, miR-221 的表达水平被下调, 而超表达 miR-221, 参与脂代谢的数个蛋白被上调, 激活了 *PPAR γ* 的活性, 证明其靶基因为 *PPAR γ* ^[51]。

3.3 MiRNA 在家畜生脂过程中的调控作用

在家畜上, 脂肪细胞生理学的研究在很大程度上还不是很清楚^[4]。由于家畜脂肪分布和脂肪量与动物的肉质和生产力 (如猪和牛) 等方面密切相关^[59], 因此研究家畜体内 miRNAs 在调节脂肪生成和脂肪代谢中的作用具有非常重要的意义。

皮下脂肪组织是家畜体内最大的脂肪组织。脂肪组织来源不同, 其生脂特性也不同。用来源于生脂细胞系或血管基质细胞培养, 阐明了家畜生脂过程的一般标记物和阶段^[4]。来源于不同肉类动物的脂肪细胞生物学特性表现出一定程度的种属差异^[4,12,59], 这样的差异之一体现在机体对瘦素产生的反应上。瘦素是一种抑制食物摄入和促进能量消耗的脂肪因子, 它的水平与个体脂肪总量相关。啮齿类动物能对瘦素的影响作出反应而家畜对其影响是很难作出反应的^[4]。来源于家畜不同部位脂肪组织的脂肪细胞在细胞大小、基因表达和脂肪细胞标志物表达上都呈现出差异^[4,12,55]。在动物发育期间, 生脂干细胞能够给任何来源的脂肪组织提供大量的新的脂肪细胞; 如果需要, 家畜成熟的脂肪细胞仍然会保留其再增殖能力。

3.3.1 MiRNA 在牛脂肪生成中的作用 牛的皮下脂肪组织与肌肉脂肪组织具有不同的调节作用, 肌肉脂肪 (大理石脂肪) 与肉质密切相关, 并且其也影响动物的生产力。miRNAs 在牛脂肪组织中特征的相关研究结果表明, 即使在相同类型的脂肪组织内 (如皮下脂肪组织), 脂肪组织的调控也会因调节因子的不同而改变; 牛皮下脂肪组织的位置不同, 则 miRNAs 的表达谱也不同。在腹部、背部和臀部皮下脂肪组织中鉴定的 miRNAs 数量分别为 80、66 和 63。从三组杂交牛的皮下脂肪组织 (背部) 获得 89 个 miRNAs。各组动物中均有不同的背膘厚 (或高或

低)的个体。在这89个miRNAs中,有86个miRNAs在所有的样品中均被发现。在三组杂交牛中有42个miRNAs呈现差异性表达。在背膘厚高与低这个指标上有15个miRNAs有差异表达,7个miRNAs在高背脂厚度中高度表达(分别是miR-378、miR-143、miR-760、miR-98、miR-196a、miR-196b和miR-107),8个miRNAs在低背脂厚中高度表达(分别是miR-93、miR-151-5p、miR-214、miR-151-3p、miR-199a-3p、miR-191、miR-142-5p和miR-186)。在miRNA中具有最大(高1.99倍)差异表达的miRNA是miR-378^[60],暗示其在牛背部脂肪生成中具有重要的作用。有趣的是,miR-378也被报道在小鼠脂肪细胞中调控脂肪的生成^[39],表明这一miRNA在小鼠和牛中是保守的且均具有促脂肪生成作用,在小鼠细胞内miR-378的过度表达使脂滴增加,上调牛miRNA-378的表达,背部皮下脂肪显著增加。然而,考虑到鼠和牛生脂的差异,目前尚不清楚它们是否具有完全相同的调控机制。

3.3.2 MiRNA在猪脂肪生成中的作用 猪不仅是哺乳动物中脂肪沉积能力最强的动物,其脂肪蓄积能力不仅与动物的产肉力和肉质有关,同时由于猪在解剖学、生理学、病理学等方面与人有着诸多相似之处,因而可作为研究人类肥胖及其相关疾病的动物模型。最近几年关于miRNA在猪脂肪生成中的作用取得了突破性的进展。Cho等^[61]在对猪的脂肪和肌肉组织中进行了miRNAs差异性表达研究,鉴定出15个新的miRNA,共发现有89个miRNAs。在脂肪组织中,发现有两个高频的miRNAs家族,它们是miR-199(21.3%)和miR-let-7(14.4%)家族。有趣的是,后者被报道在3T3-L1生脂中具有抗脂肪生成的作用^[40]。Cai等^[62]研究了去势公猪皮下脂肪组织中miRNAs的表达差异。与正常公猪相比,去势公猪脂肪细胞体积增大,总体脂和背部脂肪厚度都有所增加,同时确定了18个miRNAs为去势猪和正常猪脂肪组织中的差异表达候选基因;进一步的功能分析表明,这些差异miRNAs及其靶基因主要与脂肪酸代谢有关。Bai等^[63]对去势公猪背部脂肪组织中miRNAs以高通量测序的方法进行了全面的表达分析,确定了366个miRNAs,其中174个是已知的miRNAs前体,192个为新的miRNAs前体。与来自全同胞正常公猪相比,去势公猪的背部脂肪组织miRNAs出现了超过2倍的差异显著性表达,这些差异性表达的miRNAs

包括影响细胞增殖、分化、凋亡、迁移、脂肪组织发育和其他重要生物学功能的miRNAs。这项研究不仅拓展了在猪上与脂肪沉积有关的miRNAs的数目,同时也提示去势能显著地影响公猪脂肪相关的miRNAs的表达模式,miRNAs的差异性表达在去势后的脂肪沉积中起着重要作用。一项体外研究表明,在体外培养的猪前体脂肪细胞中超表达miR-199a-5p,显著地促进了前体脂肪细胞的增殖,减少了脂肪细胞内的脂类累积,证实miR-199a-5p的靶基因是微囊蛋白1(*caveolin-1*)^[64]。另有研究表明,miR-130b通过抑制PPAR γ 和miR-374b通过抑制*C/EBP- β* 基因的表达参与了梅山猪母猪妊娠期及哺乳期日粮蛋白水平对仔猪脂代谢的影响仔猪体重和背膘厚^[65]。Ma等^[66]通过对猪内脏脂肪组织和皮下脂肪组织进行miRNA测序,获得了219个已知猪miRNAs,97个新miRNAs。与其他哺乳动物比较,124个miRNAs是保守的,miR-148a-3p、miR-143-3p、miR-27b-3p、miR-let-7a-1-5p和miR-let-7f-5p是一组在生脂过程中起持家作用的重要miRNAs。聚类分析表明,皮下脂肪与内脏脂肪miRNAs表达上存在显著差异,大网膜脂肪组织中的miRNAs富含与炎症和免疫相关的miRNAs,如miR-17-92家族和miR-181家族。预测miRNA靶基因分析表明,腹部脂肪组织所富含的特异miRNAs与免疫和炎症反应有关,提示腹部脂肪组织中的miRNA与代谢综合征的发生密切相关。

4 展望

MiRNA是一类相对较新的分子,是动物各种生物过程中(包括脂肪形成)的重要调节因子。多项利用细胞培养模型的研究表明,一些miRNAs通过影响生脂过程中重要转录调控因子mRNA和蛋白的表达参与到脂肪细胞的发育调控,进而促进或抑制脂肪细胞的分化,这都支持miRNA是哺乳动物脂肪生成中的调节因子这一结论。关于脂肪组织调控的研究无论对人类健康还是在动物生产领域都有着不可否认的重要性。同时,关于脂肪生成中miRNA的研究也是非常前景的,因为它可能为解决在人类和动物脂肪组织中出现的問題提供新的治疗靶点和治疗策略。目前,我们还不是很清楚miRNA在转录后调控生脂过程中的复杂性和作用;大多数的研究都是基于细胞培养模型的基础上的,为了阐明miRNAs的功能,必须进行大量的体内研究。由于这种小

RNA的调节可能在蛋白质水平上更加明显,因此蛋白质组学的研究将更有助于阐明miRNA的功能。在具有不同脂肪组织特性的家畜上,miRNA在正常生理状态和功能失调状态两种生脂条件下存在差异性表达,这将使miRNA成为诊断和分析人类脂肪组织功能障碍的生物标记,同时也可作为基于所需特征脂肪进行家畜选择的生物标记。

参考文献 (References)

- 1 鞠大鹏, 詹丽杏. 脂肪细胞分化及其调控的研究进展. 中国细胞生物学学报 (Ju Dapeng, Zhan Lixing. Developments in regulation of adipocytes differentiation. Chinese Journal of Cell Biology) 2010; 32(5): 690-5.
- 1 Ju DP, Zhan LX. Developments in regulation of adipocytes differentiation. Chin J Cell Biol 2010; 32(5): 690-5.
- 2 Rosen ED, Spiegelman BM. Adipocytes as regulators of energy balance and glucose homeostasis. Nature 2006; 444(7121): 847-53.
- 3 Poulos SP, Hausman DB, Hausman GJ. The development and endocrine functions of adipose tissue. Mol Cell Endocrinol 2010; 323(1): 20-34.
- 4 Hausman GJ, Dodson MV, Ajuwon K, Azain M, Barnes KM, Guan LL, *et al.* Board-invited review: the biology and regulation of preadipocytes and adipocytes in meat animals. J Anim Sci 2009; 87(4): 1218-46.
- 5 White UA, Stephens JM. Transcriptional factors that promote formation of white adipose tissue. Mol Cell Endocrinol 2010; 318(1): 10-4.
- 6 Rosen ED, Walkey CJ, Puigserver P, Spiegelman BM. Transcriptional regulation of adipogenesis. Genes Dev 2000; 14(11): 1293-307.
- 7 Gregoire FM. Adipocyte differentiation: From fibroblast to endocrine cell. Exp Biol Med 2001; 226(11): 997-1002.
- 8 Alvarez-Garcia I, Miska EA. MicroRNA functions in animal development and human disease. Development 2005; 132(21): 4653-62.
- 9 Chen L, Cui J, Hou J, Long J, Li C, Liu L. A novel negative regulator of adipogenesis: MicroRNA-363. Stem Cells 2014; 32(2): 510-20.
- 10 Hilton C, Neville MJ, Karpe F. MicroRNAs in adipose tissue: Their role in adipogenesis and obesity. Int J Obesity 2013; 37(3): 325-32.
- 11 Krützfeldt J, Stoffel M. MicroRNAs: A new class of regulatory genes affecting metabolism. Cell Metab 2006; 4(1): 9-12.
- 12 Fernyhough ME, Okine E, Hausman G, Vierck JL, Dodson MV. PPAR γ and GLUT-4 expression as developmental regulators/markers for preadipocyte differentiation into an adipocyte. Domes Anim Endocrinol 2007; 33(4): 367-78.
- 13 Otto TC, Lane MD. Adipose development: From stem cell to adipocyte. Crit Rev Biochem Mol Biol 2005; 40(4): 229-42.
- 14 Tang QQ, Otto TC, Lane MD. Mitotic clonal expansion: A synchronous process required for adipogenesis. Proc Natl Acad Sci USA 2003; 100(1): 44-9.
- 15 Poulos SP, Dodson MV, Hausman GJ. Cell line models for differentiation: Preadipocytes and adipocytes. Exp Biol Med 2010; 235(10): 1185-93.
- 16 Rosen ED, MacDougald OA. Adipocyte differentiation from the inside out. Nat Rev Mol Cell Biol 2006; 7(12): 885-96.
- 17 Lee H, Lee YJ, Choi H, Ko EH, Kim JW. Reactive oxygen species facilitate adipocyte differentiation by accelerating mitotic clonal expansion. J Biol Chem 2009; 284(16): 10601-9.
- 18 Schoonjans K, Peinado-Onsurbe J, Lefebvre AM, Heyman RA, Briggs M, Deeb S, *et al.* PPARalpha and PPARgamma activators direct a distinct tissue-specific transcriptional response via a PPRE in the lipoprotein lipase gene. EMBO J 1996; 15(19): 5336-48.
- 19 Schoonjans K, Watanabe M, Suzuki H, Mahfoudi A, Krey G, Wahli W, *et al.* Induction of the acyl-coenzyme A synthetase gene by fibrates and fatty acids is mediated by a peroxisome proliferator response element in the C promoter. J Biol Chem 1995; 270(33): 19269-76.
- 20 Tontonoz P, Hu E, Graves RA, Budavari AI, Spiegelman BM. mPPAR gamma 2: Tissue-specific regulator of an adipocyte enhancer. Genes Dev 1994; 8(10): 1224-34.
- 21 Lander ES, Linton LM, Birren B, Nusbaum C, Zody MC, Baldwin J, *et al.* Initial sequencing and analysis of the human genome. Nature 2001; 409(6822): 860-921.
- 22 Venter JC, Adams MD, Myers EW, Li PW, Mural RJ, Sutton GG, *et al.* The sequence of the human genome. Science 2001; 291(5507): 1304-51.
- 23 Lin S L, Miller JD, Ying SY. Intronic microRNA (miRNA). J Biomed Biotechnol 2006; 2006(4): 1-13.
- 24 Li S C, Tang P, Lin WC. Intronic microRNA: Discovery and biological implications. DNA Cell Biol 2007; 26(4): 195-207.
- 25 Borchert GM, Lanier W, Davidson BL. RNA polymerase III transcribes human microRNAs. Nat Struct Mol Biol 2006; 13(12): 1097-101.
- 26 Wahid F, Shehzad A, Khan T, Kimm YY. MicroRNAs: Synthesis, mechanism, function, and recent clinical trials. Biochim Biophys Acta 2010; 1803(11): 1231-43.
- 27 Kim VN, Han J, Siomi MC. Biogenesis of small RNAs in animals. Nat Rev Mol Cell Biol 2009; 10(2): 126-39.
- 28 Song L, Tuan RS. MicroRNAs and cell differentiation in mammalian development. Birth Defects Res C Embryo Today 2006; 78(2): 140-9.
- 29 Chen L, Song J, Cui J, Hou J, Zheng X, Li C, *et al.* microRNAs regulate adipocyte differentiation. Cell Biol Int 2013; 37(6): 533-46.
- 30 Williams AE. Functional aspects of animal microRNAs. Cell Mol Life Sci 2008; 65(4): 545-62.
- 31 Xu P, Vernooy SY, Guo M, Hay BA. The *Drosophila* microRNA mir-14 suppresses cell death and is required for normal fat metabolism. Curr Biol 2003; 13(9): 790-5.
- 32 Wang Q, Li YC, Wang J, Kong J, Qi Y, Quigg RJ, *et al.* miR-17-92 cluster accelerates adipocyte differentiation by negatively regulating tumor-suppressor Rb2/p130. Proc Natl Acad Sci USA 2008; 105(8): 2889-94.
- 33 Lin Q, Gao Z, Alarcon RM, Ye J, Yun Z. A role of miR-27 in the regulation of adipogenesis. Febs J 2009; 276(8): 2348-58.
- 34 Xie H, Lim B, Lodish HF. MicroRNAs induced during adipogenesis that accelerate fat cell development are downregulated in obesity. Diabetes 2009; 58(5): 1050-7.
- 35 Esau C, Kang X, Peralta E, Hanson E, Marcusson EG, Ravichandran LV, *et al.* MicroRNA-143 regulates adipocyte differentiation. J Biol Chem 2004; 279(50): 52361-5.

- 36 Fei J, Tamski H, Cook C, Santanam N. MicroRNA regulation of adipose derived stem cells in aging rats. *PLoS One* 2013; 8(3): e59238.
- 37 Kennell JA, Gerin I, MacDougald OA, Candigan KM. The microRNA miR-8 is a conserved negative regulator of Wnt signaling. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008; 105(40): 15417-22.
- 38 Ahn J, Lee H, Jung CH, Jeon TI, Ha TY. MicroRNA-146b promotes adipogenesis by suppressing the SIRT1-FOXO1 cascade. *EMBO Mol Med* 2013; 5(10): 1602-12.
- 39 Gerin I, Bommer GT, McCoin CS, Sousa KM, Krishnan V, MacDougald OA. Roles for miRNA-378/378* in adipocyte gene expression and lipogenesis. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2010; 299(2): E198.
- 40 Sun T, Fu M, Bookout AL, Kliewer SA, Mangelsdorf DJ. MicroRNA let-7 regulates 3T3-L1 adipogenesis. *Mol Endocrinol* 2009; 23(6): 925-31.
- 41 Qin L, Chen Y, Niu Y, Chen W, Wang Q, Xiao S, *et al.* A deep investigation into the adipogenesis mechanism: Profile of microRNAs regulating adipogenesis by modulating the canonical Wnt/ β -catenin signaling pathway. *BMC Genomics* 2010; 11(1): 320.
- 42 Nakanishi N, Nakagawa Y, Tokushige N, Aoki N, Matsuzaka T, Ishii K, *et al.* The up-regulation of microRNA-335 is associated with lipid metabolism in liver and white adipose tissue of genetically obese mice. *Biochem Biophys Res Commun* 2009; 385(4): 492-6.
- 43 Yang Z, Bian C, Zhou H, Huang S, Wang S, Liao L, *et al.* MicroRNA hsa-miR-138 inhibits adipogenic differentiation of human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells through adenovirus EID-1. *Stem Cells Dev* 2010; 20(2): 259-67.
- 44 Shi XE, Li YF, Jia L, Ji HL, Song ZY, Cheng J, *et al.* MicroRNA-199a-5p affects porcine preadipocyte proliferation and differentiation. *Int J Mol Sci* 2014; 15(5): 8526-38.
- 45 Karbiener M, Fischer C, Nowitsch S, Opriessnig P, Papak C, Ailhaud G, *et al.* microRNA miR-27b impairs human adipocyte differentiation and targets PPAR γ . *Biochem Biophys Res Commun* 2009; 390(2): 247-51.
- 46 Kim SY, Kim AY, Lee HW, Son YH, Lee GY, Lee JW, *et al.* miR-27a is a negative regulator of adipocyte differentiation via suppressing PPAR γ expression. *Biochem Biophys Res Commun* 2010; 392(3): 323-8.
- 47 Lee EK, Lee MJ, Abdelmohsen K, Kim W, Kim MM, Srikantan S, *et al.* miR-130 suppresses adipogenesis by inhibiting peroxisome proliferator-activated receptor expression. *Mol Cell Biol* 2011; 31(4): 626-38.
- 48 Sam S, Haffner S, Davidson MH, D'Agostino RB Sr, Feinstein S, Kondos G, *et al.* Relationship of abdominal visceral and subcutaneous adipose tissue with lipoprotein particle number and size in type 2 diabetes. *Diabetes* 2008; 57(8): 2022-7.
- 49 Tang YF, Zhang Y, Li XY, Li C, Tian W, Liu L, *et al.* Expression of miR-31, miR-125b-5p, and miR-326 in the adipogenic differentiation process of adipose-derived stem cells. *OMICS* 2009; 13(4): 331-6.
- 50 Horie T, Nishino T, Baba O, Kuwabara Y, Nakao T, Nishiga M, *et al.* MicroRNA-33 regulates sterol regulatory element-binding protein 1 expression in mice. *Nat Commun* 2013; 4: 2883.
- 51 Meerson A, Traurig M, Ossowski V, Fleming JM, Mullins M, Baier LJ. Human adipose microRNA-221 is upregulated in obesity and affects fat metabolism downstream of leptin and TNF-alpha. *Diabetologia* 2013; 56(9): 1971-9.
- 52 Kinoshita M, Ono K, Horie T, Nagao K, Nishi H, Kuwabara Y, *et al.* Regulation of adipocyte differentiation by activation of serotonin (5-HT) receptors 5-HT2AR and 5-HT2CR and involvement of microRNA-448-mediated repression of KLF5. *Mol Endocrinol* 2010; 24(10): 1978-87.
- 53 Andersen DC, Jensen CH, Schneider M, Nossent AY, Eskildsen T, Hansen JL *et al.* MicroRNA-15a fine-tunes the level of Delta-like 1 homolog (DLK1) in proliferating 3T3-L1 preadipocytes. *Exp Cell Res* 2010; 316(10): 1681-91.
- 54 Kim YJ, Hwang SJ, Bae YC, Jung JS. MiR-21 regulates adipogenic differentiation through the modulation of TGF- β signaling in mesenchymal stem cells derived from human adipose tissue. *Stem Cells* 2009; 27(12): 3093-102.
- 55 Taniguchi M, Guan LL, Zhang B, Dodson MV, Okine E, Moore SS. Gene expression patterns of bovine perimuscular preadipocytes during adipogenesis. *Biochem Biophys Res Commun* 2008; 366(2): 346-51.
- 56 Ross SE, Hemati N, Longo KA, Bennett CN, Lucas PC, Erickson RL, *et al.* Inhibition of adipogenesis by Wnt signaling. *Science* 2000; 289(5481): 950-3.
- 57 Ortega FJ, Moreno-Navarrete JM, Pardo G, Sabater M, Hummel M, Ferrer A *et al.* MiRNA expression profile of human subcutaneous adipose and during adipocyte differentiation. *PLoS One* 2010; 5(2): e9022.
- 58 Martinelli R, Nardelli C, Pilone V, Buonomo T, Liguori R, Castanò I, *et al.* miR-519d overexpression is associated with human obesity. *Obesity* 2010; 18(11): 2170-6.
- 59 Dodson MV, Jiang Z, Chen J, Hausman GJ, Guan LL, Novakofski J, *et al.* Allied industry approaches to alter intramuscular fat content and composition in beef animals. *J Food Sci* 2010; 75(1): R1-R8.
- 60 Jin W, Dodson MV, Moore SS, Basarab JA, Guan LL. Characterization of microRNA expression in bovine adipose tissues: A potential regulatory mechanism of subcutaneous adipose tissue development. *BMC Mol Biol* 2010; 11(1): 29.
- 61 Cho I S, Kim J, Seo HY, Limdo H, Hong JS, Park YH, *et al.* Cloning and characterization of microRNAs from porcine skeletal muscle and adipose tissue. *Mol Biol Rep* 2010; 37(7): 3567-74.
- 62 Cai Z, Zhang L, Chen M, Jiang X, Xu N. Castration-induced changes in microRNA expression profiles in subcutaneous adipose tissue of male pigs. *J Appl Genet* 2014; 55(2): 259-66.
- 63 Bai Y, Huang JM, Liu G, Zhang JB, Wang JY, Liu CK, *et al.* A comprehensive microRNA expression profile of the backfat tissue from castrated and intact full-sib pair male pigs. *BMC Genomics* 2014; 15: 47.
- 64 Shi XE, Li YF, Jia L, Ji HL, Song ZY, Cheng J, *et al.* MicroRNA-199a-5p affects porcine preadipocyte proliferation and differentiation. *Int J Mol Sci* 2014; 15(5): 8526-38.
- 65 Pan S, Zheng Y, Zhao R, Yang X. MicroRNA-130b and microRNA-374b mediate the effect of maternal dietary protein on offspring lipid metabolism in Meishan pigs. *Br J Nutr* 2013; 109(10): 1731-8.
- 66 Ma J, Jiang Z, He S, Liu Y, Chen L, Long K, *et al.* Intrinsic features in microRNA transcriptomes link porcine visceral rather than subcutaneous adipose tissues to metabolic risk. *PLoS One* 2013; 8(11): e80041.