

Wnt5a 在肥胖合并肝细胞癌中表达的初步研究^{*}

何 詠¹, 梁利波², 王 霞¹, 王秀轩³, 吴伊恬¹, 李双庆², 安振梅^{4△}

1. 四川大学华西医院 实验医学科(成都 610041); 2. 四川大学华西医院 全科医学科(成都 610041);

3. 四川大学华西医院 生物治疗国家重点实验室(成都 610041); 4. 四川大学华西医院 内分泌代谢科(成都 610041)

【摘要】 目的 探讨肥胖合并肝细胞癌中 Wnt5a 和 β -连环蛋白(β -catenin)的表达情况。**方法** 6 周龄 C57BL/6J 小鼠分别给予普通饲料和高脂饲料喂养至 14 周龄(共 8 周),肥胖模型造模成功后采用尾静脉注射法将 Hepal-6 肝癌细胞株(对照组注射生理盐水)分别接种于体质量正常小鼠和肥胖小鼠,18 周龄时处死小鼠,眼眶取血分析相关血清学指标,麻醉下取肝组织后 HE 染色观察肝脏脂肪变性和肝细胞癌定植情况,免疫组化染色观察 Wnt5a 和 β -catenin 的表达情况。**结果** 18 周龄时,高脂饲料喂养的肥胖小鼠肝脏细胞发生脂肪变性;接种肝癌细胞、体质量正常和肥胖小鼠肝组织中均查见肿瘤细胞团,在接种肝癌细胞的肥胖小鼠中可见肝组织灶状坏死。不同处理组小鼠血清总蛋白、天冬氨酸氨基转移酶、谷丙转氨酶、胆固醇和甲胎蛋白差异均有统计学意义($P < 0.05$)。免疫组化染色结果显示,Wnt5a 相对表达量为正常肝组织>肥胖小鼠肝组织>接种肝癌细胞后的体质量正常小鼠肝组织>接种肝癌细胞后的肥胖小鼠肝组织($P < 0.05$); β -catenin 的相对表达量为接种肝癌细胞后的肥胖小鼠肝组织>肥胖小鼠肝组织和接种肝癌细胞后的体质量正常小鼠肝组织>正常肝组织($P < 0.05$)。**结论** 在肥胖小鼠中 Wnt5a 的表达下调, β -catenin 异常蓄积,可能与肝细胞癌的形成和进展密切相关。

【关键词】 肥胖 肝细胞癌 Wnt5a Wnt/ β -catenin

Preliminary Study on the Wnt5a Expression in Obese Mice with Hepatocellular Carcinoma HE He¹, LIANG Li-bo², WANG Xia¹, WANG Xiu-xuan³, WU Yi-tian¹, LI Shuang-qing², AN Zhen-mei^{4△}. 1. Department of Laboratory Medicine, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 2. Department of General Practice, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 3. State Key Laboratory of Biotherapy, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 4. Department of Endocrine and Metabolism, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China

△ Corresponding author, E-mail: anzm1997@sina.com

【Abstract】 Objective To investigate the Wnt5a expression in obese mice with hepatocellular carcinoma. **Methods** Two groups of 6-week C57BL/6J mice were fed with chow-diet and high-fat-diet for 8 weeks respectively, to establish obesity model in the latter group. Mice in Hepal-6 group (including normal-body mass mice and obese mice) were injected with Hepal-6 hepatocarcinoma cell lines through caudal vein, while the controls were given NS. Serum and tissue samples were taken at the age of 18 weeks for serological and morphological study. The expression of Wnt5a and β -catenin in liver were examined by immunohistochemistry. **Results** At the age of 18-week, fatty degeneration was observed in the livers of obese control mice. Tumor cell masses were found in the livers of both obese and (including normal-body mass mice and obese mice) control mice by inoculation with Hepal-6, while focal necrosis was only observed in the obese+Hepal-6 group. The levels of serum transaminases, cholesterol and alpha-fetoprotein (AFP) were significantly different between groups ($P < 0.05$). The immunohistochemistry showed that the highest expression of Wnt5a was observed in liver tissues of normal control group, followed in sequence by obese control group, normal+Hepal-6 group, and obese+Hepal-6 group ($P < 0.05$). The expression of β -catenin was just opposite ($P < 0.05$). **Conclusion** The expression of Wnt5a was decreased, and the β -catenin was abnormal accumulation. It may be closely related to the formation and progression of hepatocellular carcinoma.

【Key words】 Obesity Hepatocellular carcinoma Wnt5a Wnt/ β -catenin

肥胖与癌症之间的相关性近年来备受关注,它

可能是多种癌症发生的重要危险因素,有研究发现,肥胖与癌症的发生、发展有共同的信号传递通路[包括哺乳动物雷帕霉素靶蛋白复合物(mTORC1)、Wnt等]。而一些参与脂肪代谢的激素[如胰岛素、

^{*} 四川省科技厅科技支撑计划项目(No. 2014SZ0170)资助

△ 通信作者, E-mail: anzm1997@sina.com

胰岛素样生长因子-1(IGF-1)等〕同时与细胞的增殖和活化相关^[1],其是否可能加速肿瘤细胞的增殖与迁移目前尚未得知。近年来随着我国经济的飞速发展,肥胖相关的非酒精性脂肪肝病已然成为原发性肝细胞癌(hepatic carcinoma, HCC)发生的重要原因,未来十年可能超过乙型肝炎成为终末期肝病和肝移植的主要原因^[2-3]。

研究发现,Wnt5a 是一个高度特异的自分泌及旁分泌的巨噬细胞来源的效应分子,参与了炎症反应过程^[4]。传统的观点认为 Wnt5a 通过参与非经典的 Wnt 信号途径参与细胞极性改变、细胞骨架的变形运动等,同时由于其转化能力弱被认为与肿瘤的发生无关。但是,近年来研究发现在多种肿瘤中都检测到 Wnt5a 的表达上调,且影响肿瘤细胞的迁移和侵袭能力,呈现癌基因的特性。另一方面,有研究发现,Wnt5a 还可以通过拮抗经典 Wnt/ β -连环蛋白(β -catenin)信号途径作为某些肿瘤(如乳腺癌和甲状腺癌)的生长抑制因子,同时其低表达还可作为预后不良的独立危险因素^[5-6]。

本研究拟通过在肥胖的小鼠模型上接种肝癌细胞系观察肝细胞癌的定植,以及 Wnt5a 和经典 Wnt 信号通路标志蛋白 β -catenin 的表达,探讨 Wnt5a 与肥胖相关肝细胞癌的相关性及其在肥胖相关肝细胞癌中的作用。

1 材料和方法

1.1 实验动物、细胞、主要试剂和仪器

6 周龄雄性 C57BL/6J 小鼠 24 只,饲料购自北京华阜康生物科技股份有限公司,生产许可证号:SCXK(京)2014-0008。Hepa1-6 细胞购自武汉博士德生物工程有限公司。小鼠甲胎蛋白试剂盒购自上海通蔚实业有限公司,Wnt5a 和 β -catenin 抗体购自 Abcam,SPN-9001 抗兔免疫组化试剂盒及 DAB 染色试剂盒购自北京中杉公司,血脂、肝功、同型半胱氨酸的检测采用罗氏 Cobas8000 全自动生化分析系统。

1.2 方法

1.2.1 实验分组和小鼠肥胖模型构建 6 周龄 C57BL/6J 小鼠采用随机分组的方法分为高脂饲料组($n=11$)、普通饲料组($n=13$),饲养于 SPF 级环境。分别采用高脂饲料(脂肪含量 60%)、普通饲料(脂肪含量 10%)喂养至 14 周龄,肥胖模型建立成功后〔肥胖标准:肥胖度大于 20%,肥胖度(%)=(高脂饲料组平均体质量-普通饲料组平均体质量)/普通饲料组平均体质量 $\times 100\%$ 〕,随机选取肥胖小鼠(肥胖+ Hepa1-6 组, $n=5$)和体质量正常小鼠(正常体质量+ Hepa1-6 组, $n=6$)尾静脉注射 Hepa1-6 细胞 $100\ \mu\text{L}$ (1.5×10^6 个细胞),并分别以未注射 Hepa1-6 细胞的肥胖小鼠(肥胖组, $n=6$)和体质量正常的小鼠(正常组, $n=7$)为对照,每周测量小鼠体质量。继续喂养 4 周,于小鼠 18 周龄麻醉后处死,取肝脏组织行苏木精-伊红(HE)染色观察小鼠肝脏脂肪变性、纤维化程度及癌变情况,免疫组化检测肝组织中 Wnt5a 和 β -catenin 表达,眼眶取血检测相关血清学指标。

1.2.2 HE 染色观察肝脏脂肪变性及纤维化 德国 Leica 石蜡切片仪切片,4 μm 厚,60 $^{\circ}\text{C}$ 烤箱烤片 2 h 后 HE 染色,镜下(400 $\times$)连续观察整张组织切片细胞脂肪变性和纤维化情况。

1.2.3 免疫组化检测肝组织中 Wnt5a 和 β -catenin 的表达 Wnt5a 抗体稀释比例为 1:200, β -catenin 抗体稀释比例为 1:100,免疫组化具体操作步骤按照 SPN-9001 试剂盒说明书进行。结果判断:每张切片高倍镜下随机选取 10 个视野共纪录 1 000 个细胞,综合染色强度和阳性细胞数量进行判定。①按切片中细胞着色深浅评分:0 分为细胞无显色;1 分为淡黄色;2 分为棕黄色;3 分为棕褐色。②按阳性细胞占同类细胞的百分比评分:0 分为阴性;1 分为阳性细胞占同类细胞的百分比 $\leq 10\%$;2 分为 $10\% <$ 阳性细胞占同类细胞的百分比 $\leq 50\%$;3 分为 $50\% <$ 阳性细胞占同类细胞的百分比 $\leq 75\%$;4 分为阳性细胞占同类细胞的百分比 $> 75\%$ 。取①、②两项评分乘积作为总积分:0~3 分为-;3 分 $<$ 总积分 ≤ 7 分为+;7 分 $<$ 总积分 ≤ 9 分为++,9 分 $<$ 总积分 ≤ 12 分为+++。

1.2.4 血清学指标检测 ELISA 方法测甲胎蛋白(alpha-fetoprotein, AFP),比色法〔美国临床化学协会(AACC)推荐方法〕检测天冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, AST),国际临床化学和实验室医学联盟(IFCC)推荐方法检测谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT),酶比色法检测三酰甘油(triglyceride, TG)和胆固醇(cholesterol, CHOL),比色法(双缩脲)检测总蛋白(total protein, TP),比色法(溴甲酚绿)检测白蛋白(albumin, Alb)。

1.2.5 统计学方法 采用配对 t 检验比较不同周龄小鼠体质量的变化,采用成组设计的两样本比较的秩和检验比较 Wnt5a、 β -catenin 表达的组间差

异,采用成组设计的两样本均数的 t 检验比较血清学指标的组间差异。 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 各组小鼠体质量的变化

结果见表 1。6 周龄时将小鼠随机分为正常饲料组和高脂饲料组,此时两组小鼠的体质量差异无统计学意义($P>0.05$)。14 周龄时高脂饲料组小鼠

表 1 不同处理组小鼠体质量变化/g

Table 1 The body mass changes in mice by age/g

Group	<i>n</i>	6-week	14-week	18-week
Normal control	7	22.7±1.34	29.7±2.03 [#]	32.5±1.73 ^{\$}
Normal+Hepa1-6	6			29.9±1.83 [*]
Obese control	6	22.1±2.18	38.5±5.6 [#]	41.5±6.97 [*]
Obese+Hepa1-6	5			40.9±4.40 [*]
<i>P</i>		0.179	0.008	0.002

* $P<0.05$, vs. normal group at the same time point; [#] $P<0.05$, vs. 6-week in the same group; ^{\$} $P<0.05$, vs. 14-week in the same group

的体质量高于普通饲料组($P<0.05$),高脂饲料组小鼠体质量最低增长为 32%,肥胖模型建模成功。正常小鼠接种 Hepa1-6 肝癌细胞株 4 周后(18 周龄),体质量与 14 周龄比较差异无统计学意义($P>0.05$),而未接种肿瘤细胞的正常小鼠体质量与 14 周龄相比有所增加($P<0.05$)。同时,肥胖小鼠无论是否接种 Hepa1-6 细胞,其体质量增加均无统计学意义($P>0.05$)。18 周龄时,与正常组小鼠相比,肥胖小鼠(无论是否接种 Hepa1-6 细胞)体质量增加,而接种肝癌细胞的正常小鼠体质量降低,差异均有统计学意义($P<0.05$)。

2.2 HE 染色观察肝脏脂肪变性和肝细胞癌的形成

如图 1 所示,18 周龄时,体质量正常小鼠肝细胞形态正常,未见脂肪变性,高脂饲料喂养的肥胖小鼠肝细胞出现脂肪变性,接种 Hepa1-6 肝癌细胞株

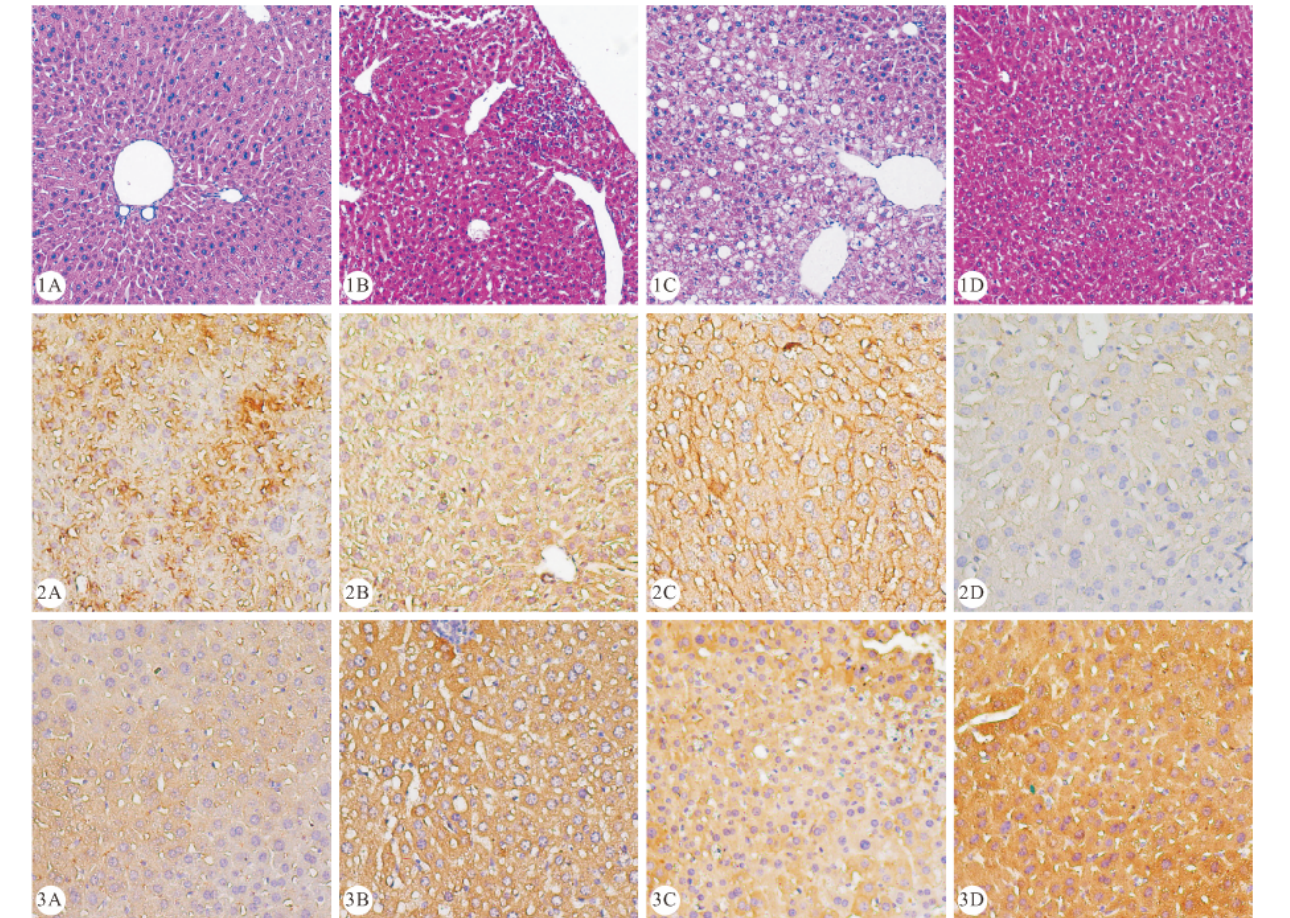


图 1 18 周龄时,不同处理组小鼠肝组织 HE 染色结果。×100

图 2 18 周龄时,Wnt5a 在不同处理组小鼠肝脏组织中的表达。过氧化物酶法 ×400

图 3 18 周龄时, β -catenin 在不同处理组小鼠肝脏组织中的表达。过氧化物酶法 ×400

A: Normal control group; B: Normal+Hepa1-6 group; C: Obese group; D: Obese+Hepa1-6 group

小鼠肝组织中查见肿瘤细胞团,同时,在接种肝癌细胞的肥胖小鼠中可见肝组织灶状坏死。

2.3 Wnt5a 和 β -catenin 在肝组织中的表达

免疫组化染色结果显示,18 周龄时,Wnt5a 和 β -catenin 在肝细胞核阳性表达不典型,其肝组织表达阳性分布特点为:细胞胞浆呈弥漫性均匀分布的棕黄色,在视野清晰的高倍镜下可见部分细胞胞浆中存在大小不等的非规则形态棕黄色颗粒,见图 2、图 3。秩和检验结果显示,Wnt5a 在肝组织中的表达量依次为正常组>肥胖组>正常体质量+Hepal-6 组>肥胖+Hepal-6 组,组间比较差异有统计学意义($P<0.05$); β -catenin 在肝组织的表达量依次为肥胖+Hepal-6 组>肥胖组和正常体质量+Hepal-

b 组>正常组,组间比较差异有统计学意义($P<0.05$),见表 2。

2.4 肥胖小鼠和体质量正常小鼠接种肝癌细胞后血清学指标的比较

结果见表 3。18 周龄时,不同处理组小鼠血清总蛋白、肝酶、CHOL 和甲胎蛋白差异有统计学意义($P<0.05$)。普通饲料喂养的体质量正常小鼠中,接种肝癌细胞后 AFP、ALT 和 TG 水平升高,差异有统计学意义($P<0.05$);高脂饲料喂养的肥胖小鼠中,接种肝癌细胞后 AFP 和 ALT 水平升高,差异有统计学意义($P<0.05$)。接种肝癌细胞后,与体质量正常小鼠相比,肥胖小鼠 ALT、AST 和 CHOL 水平升高,差异有统计学意义($P<0.05$)。

表 2 Wnt5a 和 β -catenin 在不同处理组小鼠肝脏组织中的表达比较(平均秩次)

Table 2 The expressions of Wnt5a and β -catenin in different groups of mice (mean rank)

Item	Normal control (n=7)	Normal+Hepal-6 (n=6)	Obese control (n=6)	Obese control+Hepal-6 (n=5)	P
Wnt5a	12.50	7.20	11.83	4.75	0.041
β -catenin	4.80	9.00	9.00	14.25	0.013

表 3 不同处理组小鼠血清学指标比较

Table 3 The serological indexes in different groups of mice

Item	Normal control (n=7)	Normal+Hepal-6 (n=6)	Obese control (n=6)	Obese control+ Hepal-6 (n=5)	P
AFP/(μ g/L)	0.60 $\pm$ 0.22	4.86 $\pm$ 1.23*	0.89 $\pm$ 0.20	6.27 $\pm$ 2.72#	<0.000 1
Alb/(g/L)	33.0 $\pm$ 0.9	32.4 $\pm$ 2.2	29.5 $\pm$ 0.2	33.0 $\pm$ 2.3	0.063
TP/(g/L)	50.6 $\pm$ 1.6	48.8 $\pm$ 3.6	44.3 $\pm$ 1.2	46.4 $\pm$ 1.9	0.015
ALT/(IU/L)	27 $\pm$ 3	30 $\pm$ 5*	35 $\pm$ 4	160 $\pm$ 10*,\$	<0.000 1
AST/(IU/L)	132 $\pm$ 20	157 $\pm$ 37	144 $\pm$ 41	236 $\pm$ 63\$	0.013
CHOL/(mmol/L)	2.22 $\pm$ 0.13	2.11 $\pm$ 0.20	4.24 $\pm$ 0.44	5.25 $\pm$ 0.58\$	<0.000 1
TG/(mmol/L)	0.42 $\pm$ 0.07	0.62 $\pm$ 0.19*	0.63 $\pm$ 0.03	0.63 $\pm$ 0.11	0.138

AFP: Alpha-fetoprotein; Alb: Albumin; TP: Total protein; ALT: Alanine aminotranferase; AST: Aspartate aminotranferase; CHOL: Cholesterol; TG: Triglyceride. * $P<0.05$, vs. normal control group; # $P<0.05$, vs. obese control group; \$ $P<0.05$, vs. normal+Hepal-6 group

3 讨论

据相关调查显示,在美国肥胖相关的非酒精性脂肪肝的发病率为 25%,其中约 8%的人群会发展成不同程度的非酒精性脂肪肝,这部分人群中 25%会发展成肝硬化或肝癌,由肥胖相关引起的肝硬化仅次于丙型肝炎引起的肝硬化,发病率分别为 2.6%、4.0%^[7-8]。目前有很多研究报道了肥胖可导致肝癌。DYAL 等^[9]调查研究显示,糖尿病、体质量指数增加、脂肪肝可能增加肝细胞癌的患病风险,但具体机制尚未阐明。YOSHIMOTO 等^[10]的研究指出高脂饮食会改变肠道菌群的组成,导致“脱氧胆酸”的生成增多,造成 DNA 损伤,从而增加小鼠肝癌的发生。大多数情况下,肥胖患者脂肪蓄积

或分布异常可能导致脂肪肝,进一步发展为脂肪肝性肝炎、肝硬化,最终发展为脂肪肝性肝细胞癌,与病毒性肝炎、肝硬化、肝炎病毒相关肝细胞癌病程演变相似;但另一方面,肥胖在小鼠模型中在没有出现纤维化或肝硬化的情况下,可能直接诱导肝细胞增殖,减少凋亡,从而导致肝细胞异常增生^[11]。提示肥胖合并肝细胞癌与肝炎病毒相关肝细胞癌可能有不同的发病机制。本研究通过 C57BL/6J 小鼠建造肥胖模型后尾静脉注射 Hepal-6 肝癌细胞株,通过肝脏 HE 染色比较体质量正常小鼠和肥胖小鼠肝癌细胞在肝脏的定植情况,结果显示肥胖小鼠在接种肝癌细胞后出现肝脏的灶性坏死,而相同周龄的正常体质量小鼠肝脏仅出现肿瘤细胞团,肝脏酶学和血脂水平均低于接种肿瘤细胞的肥胖小鼠,提示血

脂水平升高引起脂质毒性作用可能与肿瘤细胞共同作用加重对肝细胞的损伤,由此猜测肥胖可能是肝细胞癌预后不良的危险因素之一。

CATALAN 等^[12]针对肥胖患者血清和内脏脂肪组织中 Wnt5a 水平的研究发现,初发的肥胖患者中血清 Wnt5a 水平升高,肥胖患者中 Wnt5a mRNA 水平在内脏脂肪组织中表达上升。然而,本研究发现在肥胖和接种肝癌细胞后的肝组织中 Wnt5a 都出现表达下调而 β -catenin 表达上调,与 CATALAN 的研究结果存在差异,考虑可能的原因为 CATALAN 的研究针对的是初发的肥胖患者,而本研究在肥胖模型建模成功后,继续喂养 4 周才处死小鼠,两项研究之间除存在种属的差异外还可能肥胖病程的影响,随着肥胖的发展,Wnt5a 的表达可能出现改变。但本研究结果与 ZHONG 和 KREMENEVSKAJA 等^[5-6]针对 Wnt5a 对乳腺癌和甲状腺癌的调控途径的研究结果类似,在这类疾病中 Wnt5a 可能仍然发挥着抑制的作用。基于文献资料以及课题组研究结果推测,Wnt5a 可能参与肥胖与肝细胞癌的共同发病机制,同时可能与肥胖的病程相关,随着肥胖病程延长 Wnt5a 表达下调从而失去对经典 Wnt 信号通路的抑制作用, β -catenin 过度蓄积,Wnt/ β -catenin 信号通路异常活化,进而导致肥胖相关的并发症。其机制可能与脂肪组织巨噬细胞浸润有关,Wnt5a 作为巨噬细胞来源的炎症效应分子通过影响胰岛素抵抗,调控 Wnt/ β -catenin 信号途径影响血管内皮细胞炎症反应参与肥胖相关的肿瘤的发生与发展^[12-13]。因此,进一步探讨 Wnt5a 信号途径在肥胖合并肝细胞癌中的作用机制具有重要研究价值,可能为肥胖患者远期发生肝细胞癌的风险及预后进行早期评估,从而尽早预防,延缓甚至避免肝细胞癌的发生,同时,可能为肝细胞癌的治疗寻找新的有效的作用靶点。

综上,Wnt5a 可能与肥胖及肝细胞癌的发生发展相关,是联系肥胖和肝细胞癌之间的重要介质。研究 Wnt5a 在肥胖合并肝细胞癌中的表达情况,可能为肥胖合并肝细胞癌的发病机制及临床诊治提供新的思路和理论依据。

参 考 文 献

- [1] FORD NA, LASHINGER LM, ALLOTT EH, *et al.* Mechanistic targets and phytochemical strategies for breaking the obesity-cancer link. *Front Oncol*,2013(3):209[2016-09-16]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC23967401/>. doi: 10.3389/fonc.2013.00209.
- [2] THAN NN, NEWSOME PN. A concise review of non-alcoholic fatty liver disease. *Atherosclerosis*,2015,239(1):192-202.
- [3] 张帆,黄一沁,保志军.非酒精性脂肪性肝病在我国城市地区的流行现状. *中华消化杂志*,2014,34(6):430-432.
- [4] SATO A, YAMAMOTO H, SAKANE H, *et al.* Wnt5a regulates distinct signalling pathways by binding to Frizzled2. *EMBO J*,2010,29(1):41-54.
- [5] ZHONG Z, SHAN M, WANG J, *et al.* Decreased Wnt5a Expression is a Poor Prognostic Factor in Triple-Negative Breast Cancer. *Med Sci Moni*,2016(22):1-7[2016-09-16]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC26721633/>.
- [6] KREMENEVSKAJA N, VON WASIELEWSKI R, RAO AS, *et al.* Wnt-5a has tumor suppressor activity in thyroid carcinoma. *Oncogene*,2005,24(13):2144-2154.
- [7] LAZO M, HERNAEZ R, EBERHARDT MS, *et al.* Prevalence of nonalcoholic fatty liver disease in the United States: the Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1994. *Am J Epidemiol*,2013,178(1):38-45.
- [8] ASCHA MS, HANOUNEH IA, LOPEZ R, *et al.* The incidence and risk factors of hepatocellular carcinoma in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology*,2010,51(6):1972-1978.
- [9] DYAL HK, AGUILAR M, BARTOS G, *et al.* Diabetes mellitus increases risk of hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis C virus patients: a systematic review. *Dig Dis Sci*,2016,61(2):636-645.
- [10] YOSHIMOTO S, LOO TM, ATARASHI K, *et al.* Obesity-induced gut microbial metabolite promotes liver cancer through senescence secretome. *Nature*,2013,499(7456):97-101.
- [11] YANG S, LIN HZ, HWANG J, *et al.* Hepatic hyperplasia in noncirrhotic fatty livers: is obesity-related hepatic steatosis a premalignant condition? *Cancer Res*,2001,61(13):5016-5023.
- [12] CATALAN V, GOMEZ-AMBROSI J, RODRIGUEZ A, *et al.* Activation of noncanonical Wnt signaling through WNT5A in visceral adipose tissue of obese subjects is related to inflammation. *J Clin Endocrinol Metab*,2014,99(8):E1407-E1417[2016-05-11]. <http://dx.doi.org/10.1210/jc.2014-1191>.
- [13] LUMENG CN, DEYOUNG SM, BODZIN JL, *et al.* Increased inflammatory properties of adipose tissue macrophages recruited during diet-induced obesity. *Diabetes*,2007,56(1):16-23.

(2016-11-06 收稿,2016-11-16 修回)

编辑 余琳