

# 17-베타 에스트라디올이 OLETF 쥐의 지방세포 Lipin-1 발현에 미치는 영향

강은석<sup>1,2,3</sup> · 김인숙<sup>4,5</sup> · 고석진<sup>2,4</sup> · 김철훈<sup>2,4</sup> · 전성완<sup>6</sup> · 안철우<sup>1,2,3</sup> · 차봉수<sup>1,2,3</sup> · 이현철<sup>1,2,3</sup>

연세대학교 의과대학 내과학교실<sup>1</sup> · BK21 사업단<sup>2</sup> · 내분비연구소<sup>3</sup> · 약리학교실<sup>4</sup>, 국립보건연구원<sup>5</sup>, 순천향대학교 의과대학 내분비내과학교실<sup>6</sup>

## Effect of 17-beta Estradiol on Adipocyte Lipin-1 Expression in OLETF Rat

Eun Seok Kang<sup>1,2,3</sup>, In Sook Kim<sup>4,5</sup>, Seok Jin Ko<sup>2,4</sup>, Chul Hoon Kim<sup>2,4</sup>, Sung Wan Chun<sup>6</sup>, Chul Woo Ahn<sup>1,2,3</sup>, Bong Soo Cha<sup>1,2,3</sup>, Hyun Chul Lee<sup>1,2,3</sup>

Department of Internal Medicine<sup>1</sup> · BK21 Project for Medical Science<sup>2</sup> · Institute of Endocrine Research<sup>3</sup> · Department of Pharmacology<sup>4</sup>, Yonsei University College of Medicine, Seoul; National Institute of Health<sup>5</sup>, Seoul; Department of Endocrinology<sup>6</sup>, Soonchunhyang University College of Medicine, Seoul, Korea

**Background:** 17 beta-estradiol is known to play an important role in glucose homeostasis. Lipin-1 is a nuclear protein that is essential in adipocyte differentiation and it is considered to play a role in ectopic fat deposition and the redistribution of fat. The aim of this study was to evaluate the effect of 17 beta-estradiol on the lipin-1 expression in the adipocytes of OLETF rats, which is an animal model of diabetes.

**Methods:** The OLETF rats were divided into 3 groups, 1) the sham-operation group (SHAM) 2) the castrated group (CAST) and 2) the castrated and estradiol treatment group (EST), and all the rats were at 6 weeks of age. LETO rats were used as a control group (LETO). 0.1 mg of estradiol valerate was injected subcutaneously every 4 weeks in the rats of the EST group. The visceral and subcutaneous tissues were isolated to evaluate the lipin-1 protein expression. The lipin-1 expression was measured in human visceral and subcutaneous preadipocytes.

**Results:** Less body weight gain was observed in the EST group compared with that of the SHAM group. In addition, improvement in the glucose tolerance was observed in the EST group. The lipin-1 expression in visceral fat was decreased in the SHAM and CAST groups, but it was but recovered in the EST group. The lipin-1 expression in the subcutaneous fat was decreased in the SHAM, CAST, and EST groups.

**Conclusion:** Long term estradiol treatment in OLETF rats reduces the body weight gain and improves the glucose tolerance. Estradiol enhances the lipin-1 protein expression in the visceral adipocytes, but not in the subcutaneous adipocytes. (*Endocrinol Metab* 25:199-205, 2010)

**Key Words:** Estradiol, Lipin-1, Visceral fat, Subcutaneous fat, Adipocyte, OLETF rat

## 서론

제2형 당뇨병은 현재 폭발적으로 증가하고 있으며 20년 후에는 당뇨병 인구가 현재의 두 배가 될 것으로 예측되고 있다[1,2]. 현재 당뇨병의 병태생리학적 기전은 명확하지 않으나 서구식 식사와 운동부

족으로 인해 지방 이외의 조직에 포화지방산이 축적되는 것이 하나의 기전으로 제시되고 있다[3]. 이렇게 지방 이외의 조직에 지방산이 축적되면 골격근에서 포도당섭취가 감소하고 간의 포도당신생이 억제되지 않으며 췌장베타세포에서 포도당에 의한 인슐린분비에 이상이 발생하는 것으로 알려져 있다[3].

이러한 배경에서 17베타-에스트라디올(E2)이 포도당 항상성유지에 중요한 역할을 한다는 것은 30년 전부터 동물실험과 임상시험을 통해 꾸준히 보고되고 있으나 아직 명확한 기전은 밝혀지지 않았다. 실제 임상에서 보면 여성은 남성에 비해 골격근의 양은 2/3정도이며 지방의 양은 두 배 정도이지만 폐경이 될 때까지는 당뇨병의 발생률

Received: 27 March 2010, Accepted: 20 July 2010

Corresponding author: Hyun Chul Lee

Department of Internal Medicine, Yonsei University College of Medicine, 250 Seongsan-ro, Seodaemun-gu, Seoul 120-752, Korea

Tel: +82-2-2228-1943, Fax: +82-2-393-6884, E-mail: endohclee@yuhs.ac

This work was supported by BumSuk Academic Research Fund of 2007.

이 남성과 차이가 없다[4]. 에스트로겐과 당뇨병과의 관계는 많이 보고되었는데 폐경 후의 건강한 여성에서 에스트로겐 보충요법은 인슐린 저항성을 호전시키고 혈당을 낮추는 효과가 있으며[5-8] 폐경 후의 당뇨병여성에서 에스트로겐 보충요법은 인슐린 저항성과 혈당에 좋은 효과를 보여주었다[9-11]. 그러나 에스트로겐의 혈당강화 효과 자체는 크지 않고 당뇨병 상태를 정상혈당으로 되돌릴 수는 없으나 당뇨병 전단계에서 당뇨병으로 진행되는 것을 예방하는 효과가 있으리라 사료되고 있다[12]. 당뇨병 동물모델인 Otsuka Long Evans Tokushima Fatty (OLETF) 쥐는 자연적으로 제2형 당뇨병이 발생하는 동물로 인간의 제2형 당뇨병과 유사하게 만성합병증이 발생하는데[13-15] 특징적으로 수컷에서만 당뇨병이 발생한다[16]. 이러한 효과는 에스트로겐의 효과로 추측되나 정확한 기전은 아직 탐색되지 않았다[16].

Lipin-1은 핵 내 단백질로 지방세포 분화에 있어서 PPAR-gamma와 같이 필수적인 인자로 알려져 있다[17-19]. 지방세포에서의 lipin의 결핍은 지방이상증(lipodystrophy)을 유발해 인슐린저항성을 일으키며[19] 지방조직에서 특이적으로 lipin을 과발현시키면 지방세포는 증가하나 인슐린저항성은 호전되며 지방조직에서 lipin mRNA의 발현 정도는 인슐린 감수성 정도와 비례한다[20,21]. 또한 지방조직의 lipin 발현 정도는 근육 내 지방함량과 역비례한다고 보고되어[21] lipin은 이소성지방침착과 지방의 재 분포에 관여할 것으로 사료된다[22].

본 연구에서는 에스트로겐이 당뇨병 동물모델인 OLETF 쥐의 지방세포에서 lipin-1의 발현에 미치는 영향을 분석하고자 하였다.

## 대상 및 방법

### 1. 실험동물

제2형 당뇨병 및 인슐린 저항성 동물모델인 수컷 OLETF 쥐 32마리와 대조군으로 사용한 수컷 Long-Evans Tokushima Otsuka (LETO) 쥐 8마리를 일본 Tokushima Research Institute (Otsuka Pharmaceutical, Tokushima, Japan)로부터 구하였다. 생후 6주령된 OLETF 쥐와 LETO 쥐를 무리당 1마리씩 분리하여 온도  $23 \pm 2^\circ\text{C}$ , 습도  $55 \pm 5\%$ 에서 12시간 밤낮의 주기로 사육한다. 모든 쥐는 정상 식이를 투여하였고 먹이와 물의 섭취를 자유롭게 하였으며, 본 동물 실험 프로토콜은 본 연구기관의 동물실험지침을 준수하여 시행하고 기관의 승인을 얻었다.

### 2. Estradiol 투여

OLETF 쥐는 세 군으로 나누어서 각 군은 8마리씩으로 하고 생후 6주령에 한 군은 결비기수술(sham-operation: SHAM)을 시행하고 다른 한군은 거세(castration) 하였으며(CAST) 다른 한 군은 거세 후 에스트로겐투여(EST)를 시작하였다. LETO 쥐는 대조군(LETO)으

로 사용하였다. Estradiol valerate (일본 Schering社)는 sesame oil에 희석(Estradiol:sesame oil = 1 : 9)하여 1 mg/mL의 농도가 되도록 하였으며 SHAM군에서는 매개체(vehicle)를 0.1 mL의 양으로 하여 한 달에 1회 6주부터 42주까지 피하주사를 실시하였다[23].

### 3. 혈당, 체중, 식이섭취량 측정 및 포도당부하검사 및 지방조직채취

매 주마다 체중의 변화를 관찰하고 공복혈당측정을 실시하였으며 38주령의 OLETF 쥐와 LETO 쥐를 16시간 동안 금식시킨 후 복강 내로 포도당 2 g/kg을 투여하고 꼬리정맥에서 혈액을 채취하여 0, 30, 60, 90, 120분에 혈당을 측정(Roche-Diagnostic, Pleasanton, CA, USA)하였다. 50주령의 동물을 희생하여 피하지방인 서혜부 백색지방조직과 내장지방인 후복막지방을 분리하였다.

### 4. Lipin-1 polyclonal antibody의 제작 및 Western blot analysis

인간 lipin-1 단백질의 C-터미널쪽 12개의 아미노산을 선택해 펩티드를 합성하여 Lipin-1 펩티드를 SuperInject 수송체에 접합시킨 다음, 애주번트와 섞어서 토끼에 접종한 후, 혈액을 채취하였다. HeLa cell lysates와 쥐 brain lysates를 SDS-PAGE 겔에서 전개한 후 Western blot을 수행하여 제작 항체가 lipin-1을 잘 인식하는지 조사하였다.

### 5. In vitro 실험

일차 인간피하지방 전구세포와 내장지방전구세포(Lonza Walkersville Inc. Walkersville, MD, USA)를 구입하여 배양하였다[24]. 분화하는 인슐린, 텍사메타존, IBMX, 인도메타신을 포함한 EGM™-2 SingleQuots 보충액(Lonza)을 넣어준 EBM-2 내피세포 배양액(Lonza)을 인슐린, 텍사메타존, IBMX, 인도메타신이 빠진 배양액과 교환해 줌으로써 유도시켰다. 분화 유도 시, 에스트로겐을 0.1  $\mu\text{M}$ , 1  $\mu\text{M}$ 을 처리한 후 10일 후 lipin-1에 대한 Western blot을 수행하였다.

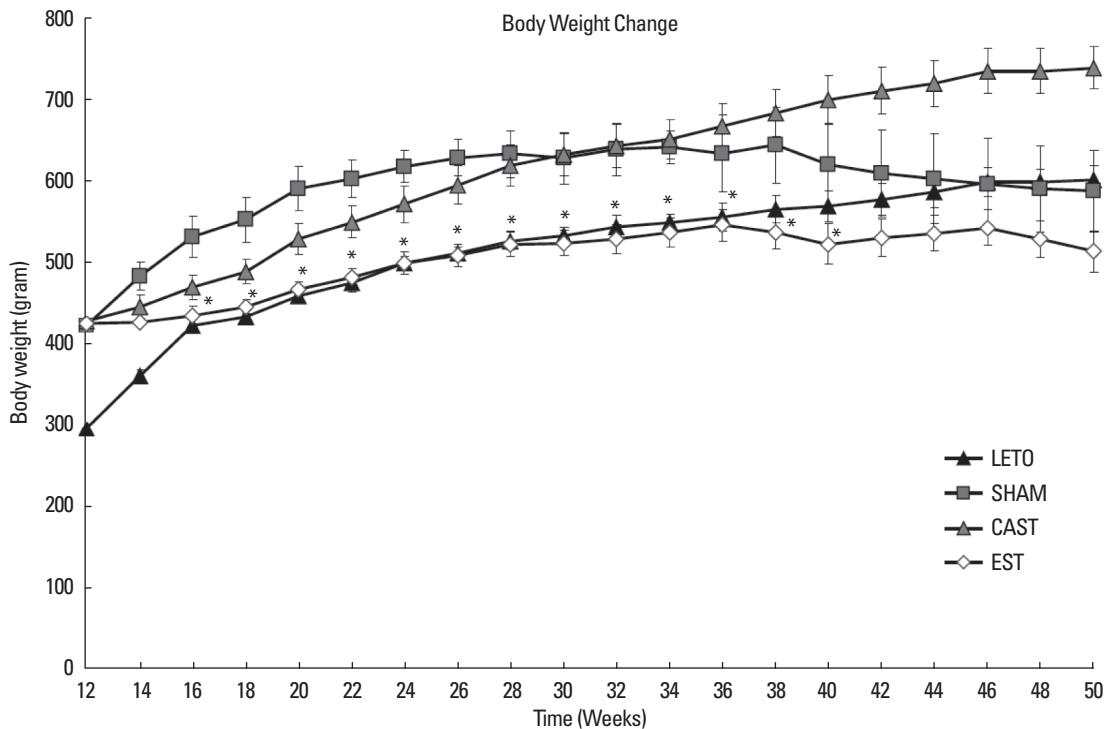
### 6. 통계학적 분석

모든 자료는 평균값  $\pm$  표준오차로 표시하여 분석하였고 실험 결과들의 통계처리는 Students' *t*-test와 분산분석을 하였으며 *P*값은 0.05 미만을 통계학적으로 유의한 것으로 판단하였다. 모든 통계분석은 SPSS for Windows 프로그램(version 12.0; SPSS, Chicago, IL, USA)을 이용하여 시행하였다.

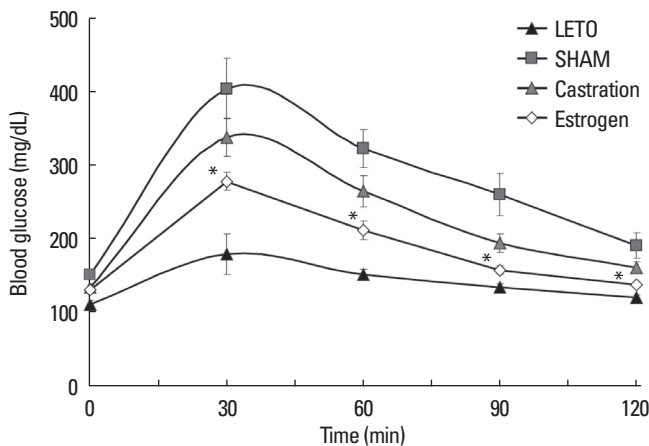
## 결 과

### 1. 체중 및 혈당에 대한 효과

Figure 1은 LETO군, SHAM군, CAST군, EST군에서의 체중변화를 나타내었다. LETO군은 꾸준히 체중이 증가하다 체중이 유지되었고 SHAM군은 체중이 증가하다 고혈당이 나타나는 38주 이후 체중이 감소하였다. CAST군은 꾸준히 체중이 증가하였다. EST군은 체중증가



**Fig. 1.** Body weight changes during experiment. LETO, CAST and EST group shows steadily increase in body weight while SHAM group shows decrease in body weight after 38 weeks. \*indicates  $P$ value  $< 0.05$  when comparing estrogen treated OLETF rat group with sham operated OLETF rat group. Values are mean  $\pm$  SE.  $n = 8$  per group.



**Fig. 2.** Estradiol treated OLETF rats display improved glucose tolerance. \*indicates  $P$ value  $< 0.05$  when comparing estrogen treated OLETF rat group with sham operated OLETF rat group. Values are mean  $\pm$  SE.  $n = 8$  per group.

속도가 현저히 둔화되어 24주 이후에는 LETO군과 비슷하거나 더 낮은 체중을 보였다. 38주에 실시한 복강 내 포도당 부하검사 결과 EST군이 SHAM군보다 유의하게 당내성이 호전됨을 알 수 있었다(Fig. 2).

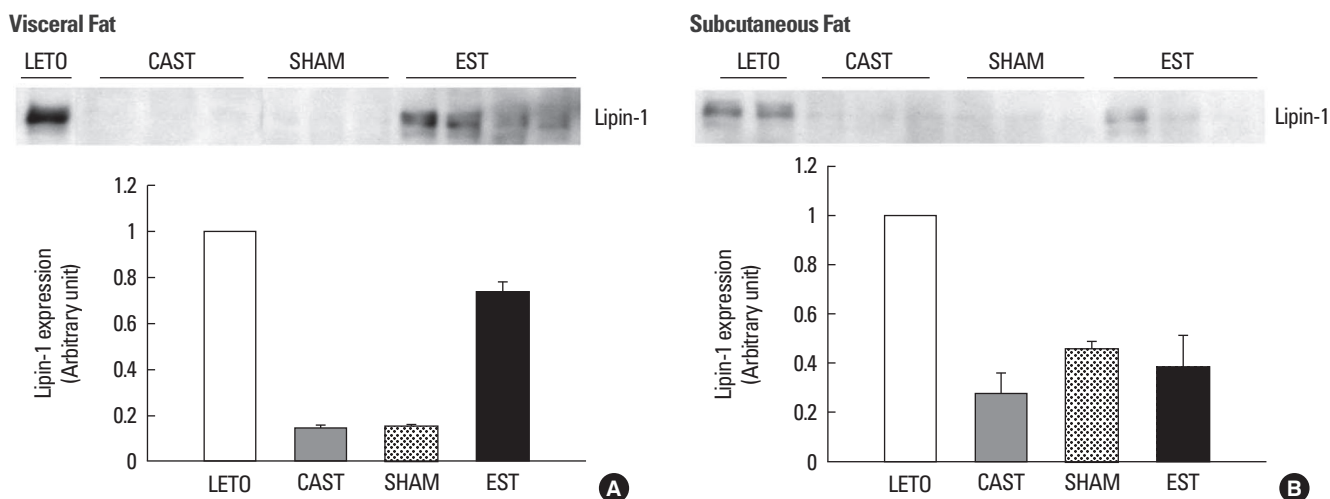
**2. In vivo sample western blot analysis**

본 연구진이 제작한 lipin-1 항체는 lipin-1이 잘 발현하지 않는

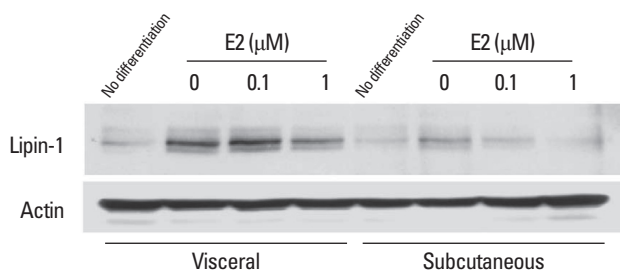
HeLa 세포에서는 lipin-1이 검출되지 않았고 lipin-1이 상당량 발현하는 것으로 알려진 뇌에서는 lipin-1이 100 kDa 근처에서 잡히는 것을 볼 수 있었다. LETO 쥐와 OLETF 쥐에서 얻은 피하지방과 내장 지방에서 단백질을 분리한 후 lipin-1 항체를 이용하여 Western blot을 시행한 결과 Figure 3에서 같이 내장지방에서는 LETO 쥐에서 발현되는 lipin-1 단백질이 SHAM군 및 CAST군에서는 LETO군에 비해 85% 감소하였고( $P < 0.05$ ) EST군에서 LETO군의 74%까지 회복되는 것을 알 수 있다( $P < 0.05$ ). 한편 피하지방에서는 LETO군에 비해 SHAM군은 55% 감소( $P < 0.05$ ), CAST군은 72% 감소( $P < 0.05$ ), EST군에서는 62% 감소( $P < 0.05$ )되었다.

**3. In vitro sample western blot analysis**

일차 인간지방전구세포를 배양하면서 에스트로젠을 처리하여 본 결과 내장지방세포와 피하지방세포 모두에서 지방세포로 분화를 시작하면서 lipin-1의 발현이 증가하였다. 내장지방전구세포에서는 85% 증가하였고( $P < 0.05$ ) 피하지방전구세포에서는 30% 증가하였다( $P < 0.05$ ). 내장지방세포에서 0.1  $\mu$ M의 에스트로젠을 처리한 경우 lipin-1의 발현이 10% 증가하였고( $P < 0.05$ ) 1  $\mu$ M을 처리한 경우에는 27% 감소되었다( $P < 0.05$ ). 피하지방세포에서 0.1  $\mu$ M의 에스트로젠을 처리한 경우 lipin-1의 발현이 26% 감소하였고( $P < 0.05$ ) 1  $\mu$ M을 처리한 경우에는 31% 감소되었다( $P < 0.05$ )(Fig. 4).



**Fig. 3.** Protein expression of lipin-1 in visceral and subcutaneous adipose tissues of rats. A. In visceral fat: Lipin-1 expression was decreased by 85% in SHAM and CAST group comparing with LETO group. In EST group, lipin-1 level was restored to 74% of that of LETO group. B. In subcutaneous fat: Lipin-1 expression showed 55% decrease in SHAM group, 72% decrease in CAST group, and 62% decrease in EST group ( $n = 3-4$  for each group).



**Fig. 4.** Lipin-1 expression in human primary visceral and subcutaneous adipocytes. In visceral adipocyte, lipin-1 expression was increased by 10% with 0.1  $\mu\text{M}$  estrogen and decreased 27% with 1  $\mu\text{M}$  estrogen. In subcutaneous adipocyte, lipin-1 expression was decreased by 26% with 0.1  $\mu\text{M}$  estrogen and decreased 31% with 1  $\mu\text{M}$  estrogen ( $n = 4$ ).

## 고 찰

당뇨병 동물모델인 OLETF 쥐는 자연적으로 제2형 당뇨병이 발생하는 동물로 인간의 제2형 당뇨병과 유사하게 만성합병증이 발생하는데[13-15] 특징적으로 수컷에서만 당뇨병이 발병한다[16]. 이러한 효과는 에스트로겐의 효과로 추측되나 정확한 기전은 아직 탐색되지 않았다. 본 연구에서도 에스트로겐 투여군에서 SHAM군에 비해 혈당이 유의하게 감소하였으나 정상 LETO군 수준으로는 감소하지 않았다. 이러한 결과는 많은 임상연구의 결과와도 일치한다[9-11]. 이러한 효과는 에스트로겐이 직접 근육에 작용하여 나타나는 것은 아님이 보고되었고[12,25] 간에서 지방산대사를 촉진[26,27], 간의 포도당생성을 억제[25,28], 췌장 베타세포 기능보호[29,30] 및 베타세포 사멸억제[31,32] 등의 여러 가지 기전이 복합적으로 작용하여 이루어진 것으로 사료된다. 또한 지방조직에서 지방세포의 분화를 촉진시키고[33-35] 지방분해(lipolysis)를 억제[36]하는 것 역시 에스트로겐

의 혈당 강하 효과를 설명해주는 기전으로 생각된다. 또한 에스트로겐은 렙틴과 유사한 식욕억제효과가 있어서[37] 체중을 감소시키며 체중감소에 따른 이차적인 효과로 혈당이 감소한다. 본 연구에서도 에스트로겐 투여에 의해 식이섭취량이 감소되었으며 이로 인한 체중감소, 혈당강하가 일어났을 가능성을 배제할 수 없다.

본 연구에서는 에스트로겐의 지방세포의 lipin에 대한 영향에 대해 연구하였는데 lipin은 핵 내 단백질로 지방세포 분화에 필수적인 인자로 알려져 있으며[17-19] 지방세포에서의 lipin의 결핍은 지방이상증을 유발해 인슐린저항성을 일으키며[19] 지방조직 특이적으로 lipin을 과발현시키면 지방세포는 증가하나 인슐린저항성은 호전되는데 이는 지방의 분화를 촉진시켜서 일어나는 현상으로 사료되고 있으며 지방조직에서 lipin mRNA의 발현 정도는 인슐린 감수성 정도와 비례한다고 보고되었다[20,21]. Lipin-1은 mRNA의 선택적 스플라이싱에 의하여 두 가지 형태로 존재하는데 다른 기능을 갖는다[38]. 세포질에 존재하는 lipin-1은 효소역할을 하여 중성지방합성을 촉진시키는 역할을 하며[39,40] 핵 내에 위치한 lipin-1은 전사과정에 부요소로 작용하는데 지방산 산화에 관여하는 유전자의 활성화에 관여한다[41]. 즉 lipin-1은 peroxisome proliferator-activated receptor alpha (PPAR  $\alpha$ )와 PPAR $\gamma$  coactivator 1 $\alpha$  (PGC-1  $\alpha$ )에 직접 작용해 지방산 산화 유전자의 활성을 조절하는 것으로 알려져 있다. 본 연구에서는 지방조직에서 lipin-1 발현을 보았다. 내장지방에서는 LETO 쥐에서 발현되는 lipin-1 단백질이 SHAM군 및 CAST군에서는 LETO군에 비해 85% 감소하였고( $P < 0.05$ ) EST군에서 LETO군의 74%까지 회복되는 것을 알 수 있다( $P < 0.05$ ). 그러나 피하지방에서는 EST군도 lipin-1 발현이 LETO군에 비해 유의하게 감소되었다. 이러한 결과는 에스트로겐이 내장지방에서만 lipin-1의 발현을 증가시키는 것을 제시하나 정확한 분자생물학적 기전은 향후 연구되어야 할 것이다.



SHAM군 및 CAST군의 내장지방세포에서 lipin-1의 발현이 감소되어있는 것은 지방세포 분화가 덜되고 늦게 되어 지방의 저장이 제대로 일어나지 않아 이소성 지방침착을 일으키는 하나의 기전이 되리라 사료된다. 또한 이소성 지방침착 및 미성숙된 지방세포에서 나오는 아디포카인 등은 인슐린저항성증가, 혈당상승을 유발하는데 기여했을 것으로 사료된다. 에스트로겐을 투여한 EST군의 지방조직에서는 lipin-1의 발현이 증가되었다. 이는 에스트로겐을 투여하면 지방의 분화가 촉진되어 이소성 지방침착을 감소시켜 인슐린저항성의 감소, 혈당감소에 역할을 했을 가능성을 제시한다.

인간 지방전구세포를 이용한 실험에서는 내장지방세포에서는 0.1  $\mu\text{M}$  에스트로겐 처리 시 lipin-1의 발현이 증가하다 1  $\mu\text{M}$  처리 시는 감소하는 양상을 보였고 피하지방세포에서는 에스트로겐 처리 시 lipin-1의 발현이 감소하였다. *In vivo* 실험과 *in vitro* 실험의 차이점은 *in vivo* 실험에서는 조직을 얻은 시점이 비만과 당뇨병과 연관된 어떤 병리기전에 의해 이미 lipin-1이 감소되어있는 또는 제때 증가되지 못하는 상황에서 에스트로겐이 투여되었고, *in vitro*에서는 정상적으로 지방세포로 분화가 일어나고 있는 상황에서 에스트로겐이 추가로 투여되었기 때문에, 상대적으로 *in vitro* 실험에서는 에스트로겐의 lipin-1 매개 효과가 나타날 수 있는 여지가 상당히 줄어들어 있다고 볼 수 있다. 또한, 내장지방 세포에서 lipin-1을 감소시킨 1  $\mu\text{M}$ 의 농도는 일반적인 호르몬의 유효 농도보다 훨씬 높기 때문에 나타난 역자U 약물반응으로 유추가능하며, 향후 실험에서는 다양한 농도를 시험함으로써 유효 농도를 적정하는 것이 필요함을 시사한다고 하겠다.

본 연구의 제한 점으로는 에스트로겐 투여 동물에서 에스트로겐의 혈중 농도는 측정하지 않아 효과적으로 에스트로겐의 투여가 이루어졌는지 판단하기 어려운 점이 있으나 본 연구와 동일한 조건 및 방법으로 실험하여 혈중농도를 측정한 다른 연구가 있다[42]. 또한 실험방법상의 문제로 mRNA 발현검사에 모든 샘플을 사용하지 못한 한계점이 있다.

결론적으로 본 연구에서는 OLETF 쥐에서 17-베타 에스트라디올을 장기간 투여한 결과 체중증가 정도가 감소되었고 포도당부하검사에서 혈당상승 정도가 유의하게 적었으며 지방세포에서 lipin-1의 발현이 증가됨을 보였다. 이는 향후 에스트로겐의 지방세포 분화 및 이소성지방침착에 대한 연구를 위한 기초적 자료가 될 것으로 기대한다.

## 요 약

**배경:** 17-베타-에스트라디올이 포도당 항상성유지에 중요한 역할을 한다고 사료되고 있으나 명확한 기전은 밝혀지지 않았다. Lipin은 핵 내 단백질로 지방세포 분화에 있어서 필수적인 인자로 알려져 있으며 이소성 지방침착과 지방의 재분포에 관여할 것으로 사료된다.

본 연구에서는 17-베타 에스트라디올이 당뇨병 동물모델인 OLETF 쥐에서 지방세포의 lipin 발현에 미치는 영향을 분석하고자 하였다.

**방법:** 생후 6주에 OLETF 쥐를 3군으로 나누어 한 군은 겔보기수술을 시행하고(SHAM), 다른 한 군에서는 거세하고(CAST) 나머지 한 군에서는 거세한 후 에스트로겐치료를 하였다(EST). LETO 쥐 8마리를 대조군(LETO)으로 사용하였다. EST군에서는 estradiol valerate를 0.1 mg을 한 달에 1회 6주부터 42주까지 피하주사를 실시하였다.

**결과:** SHAM군에서는 체중이 증가하다 고혈당증이 나타나는 30주 이후 체중증가 정도가 감소되었고 CAST군에서는 지속적으로 체중이 증가하였다. EST군에서는 체중증가 속도가 느려져서 대조군인 LETO군과 비슷한 수준으로 체중이 유지되었다. EST군에서 포도당 부하검사상 혈당상승 정도가 유의하게 적었다. 내장지방세포에서의 lipin-1의 발현은 SHAM군, CAST군에서는 감소하였으나 EST군에서는 회복됨이 관찰되었다. 피하 지방세포에서의 lipin-1의 발현은 SHAM군, CAST군, EST군 모두에서 감소하였다.

**결론:** OLETF 쥐에서 17-베타 에스트라디올을 장기간 투여한 결과 체중증가 정도가 감소되었고 포도당부하검사에서 혈당상승 정도가 유의하게 적었으며 내장지방세포에서 lipin-1의 발현을 회복시켜 주었으나 이러한 효과는 피하지방세포에서는 관찰되지 않았다.

## 참고문헌

- King H, Aubert RE, Herman WH: Global burden of diabetes, 1995-2025: prevalence, numerical estimates, and projections. *Diabetes Care* 21:1414-1431, 1998
- Wild S, Roglic G, Green A, Sicree R, King H: Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care* 27:1047-1053, 2004
- McGarry JD: Banting lecture 2001: dysregulation of fatty acid metabolism in the etiology of type 2 diabetes. *Diabetes* 51:7-18, 2002
- Gale EA, Gillespie KM: Diabetes and gender. *Diabetologia* 44:3-15, 2001
- Espeland MA, Hogan PE, Fineberg SE, Howard G, Schrott H, Waclawiw MA, Bush TL: Effect of postmenopausal hormone therapy on glucose and insulin concentrations. PEPI Investigators. Postmenopausal Estrogen/Progestin Interventions. *Diabetes Care* 21:1589-1595, 1998
- Crespo CJ, Smit E, Snelling A, Sempos CT, Andersen RE; NHANES III: Hormone replacement therapy and its relationship to lipid and glucose metabolism in diabetic and nondiabetic postmenopausal women: results from the Third National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III). *Diabetes Care* 25:1675-1680, 2002
- Saglam K, Polat Z, Yilmaz MI, Gulec M, Akinci SB: Effects of postmenopausal hormone replacement therapy on insulin resistance. *Endocrine* 18:211-214, 2002
- Li C, Samsioe G, Borgfeldt C, Bendahl PO, Wilawan K, Aberg A: Low-dose hormone therapy and carbohydrate metabolism. *Fertil Steril* 79:550-555, 2003
- Andersson B, Mattsson LA, Hahn L, Mårin P, Lapidus L, Holm G, Bengts-

- son BA, Björntorp P: Estrogen replacement therapy decreases hyperandrogenicity and improves glucose homeostasis and plasma lipids in postmenopausal women with noninsulin-dependent diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab* 82:638-643, 1997
10. Brussaard HE, Gevers Leuven JA, Frölich M, Kluff C, Krans HM: Short-term oestrogen replacement therapy improves insulin resistance, lipids and fibrinolysis in postmenopausal women with NIDDM. *Diabetologia* 40: 843-849, 1997
  11. Friday KE, Dong C, Fontenot RU: Conjugated equine estrogen improves glycemic control and blood lipoproteins in postmenopausal women with type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 86:48-52, 2001
  12. Louet JF, LeMay C, Mauvais-Jarvis F: Antidiabetic actions of estrogen: insight from human and genetic mouse models. *Curr Atheroscler Rep* 6: 180-185, 2004
  13. Takiguchi S, Takata Y, Takahashi N, Kataoka K, Hirashima T, Kawano K, Miyasaka K, Funakoshi A, Kono A: A disrupted cholecystokinin A receptor gene induces diabetes in obese rats synergistically with ODB1 gene. *Am J Physiol* 274:E265-E270, 1998
  14. Kawano K, Hirashima T, Mori S, Natori T: OLETF (Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty) rat: a new NIDDM rat strain. *Diabetes Res Clin Pract* 24:S317-S320, 1994
  15. Kawano K, Hirashima T, Mori S, Saitoh Y, Kurosumi M, Natori T: Spontaneous long-term hyperglycemic rat with diabetic complications. Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF) strain. *Diabetes* 41:1422-1428, 1992
  16. Shi K, Mizuno A, Sano T, Ishida K, Shima K: Sexual difference in the incidence of diabetes mellitus in Otsuka-Long-Evans-Tokushima-Fatty rats: effects of castration and sex hormone replacement on its incidence. *Metabolism* 43:1214-1220, 1994
  17. Phan J, Peterfy M, Reue K: Lipin expression preceding peroxisome proliferator-activated receptor-gamma is critical for adipogenesis in vivo and in vitro. *J Biol Chem* 279:29558-29564, 2004
  18. Phan J, Peterfy M, Reue K: Biphasic expression of lipin suggests dual roles in adipocyte development. *Drug News Perspect* 18:5-11, 2005
  19. Peterfy M, Phan J, Xu P, Reue K: Lipodystrophy in the fld mouse results from mutation of a new gene encoding a nuclear protein, lipin. *Nat Genet* 27:121-124, 2001
  20. Xu J, Lee WN, Phan J, Saad MF, Reue K, Kurland IJ: Lipin deficiency impairs diurnal metabolic fuel switching. *Diabetes* 55:3429-3438, 2006
  21. Yao-Borengasser A, Rasouli N, Varma V, Miles LM, Phanavanh B, Starks TN, Phan J, Spencer HJ 3rd, McGehee RE Jr, Reue K, Kern PA: Lipin expression is attenuated in adipose tissue of insulin-resistant human subjects and increases with peroxisome proliferator-activated receptor gamma activation. *Diabetes* 55:2811-2818, 2006
  22. van Harmelen V, Rydén M, Sjölin E, Hoffstedt J: A role of lipin in human obesity and insulin resistance: relation to adipocyte glucose transport and GLUT4 expression. *J Lipid Res* 48:201-206, 2007
  23. Tomiyoshi Y, Sakemi T, Aoki S, Miyazono M: Different effects of castration and estrogen administration on glomerular injury in spontaneously hyperglycemic Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF) rats. *Nephron* 92: 860-867, 2002
  24. Ocaña A, Gómez-Asensio C, Arranz-Gutiérrez E, Torres C, Señorans FJ, Reglero G: In vitro study of the effect of diesterified alkoxyglycerols with conjugated linoleic acid on adipocyte inflammatory mediators. *Lipids Health Dis* 9:36, 2010
  25. Mauvais-Jarvis F, Kulkarni RN, Kahn CR: Knockout models are useful tools to dissect the pathophysiology and genetics of insulin resistance. *Clin Endocrinol (Oxf)* 57:1-9, 2002
  26. Nemoto Y, Toda K, Ono M, Fujikawa-Adachi K, Saibara T, Onishi S, Enzan H, Okada T, Shizuta Y: Altered expression of fatty acid-metabolizing enzymes in aromatase-deficient mice. *J Clin Invest* 105:1819-1825, 2000
  27. Hewitt KN, Pratis K, Jones ME, Simpson ER: Estrogen replacement reverses the hepatic steatosis phenotype in the male aromatase knockout mouse. *Endocrinology* 145:1842-1848, 2004
  28. Cagnacci A, Soldani R, Carriero PL, Paoletti AM, Fioretti P, Melis GB: Effects of low doses of transdermal 17 beta-estradiol on carbohydrate metabolism in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 74:1396-1400, 1992
  29. Paik SG, Michelis MA, Kim YT, Shin S: Induction of insulin-dependent diabetes by streptozotocin. Inhibition by estrogens and potentiation by androgens. *Diabetes* 31:724-729, 1982
  30. Puah JA, Bailey CJ: Insulinotropic effect of ovarian steroid hormones in streptozotocin diabetic female mice. *Horm Metab Res* 17:216-218, 1985
  31. Contreras JL, Smyth CA, Bilbao G, Young CJ, Thompson JA, Eckhoff DE: 17beta-Estradiol protects isolated human pancreatic islets against proinflammatory cytokine-induced cell death: molecular mechanisms and islet functionality. *Transplantation* 74:1252-1259, 2002
  32. Zhu M, Mizuno A, Kuwajima M, Ogino T, Murakami T, Noma Y, Sano T, Shima K: Ovarian hormone-induced beta-cell hypertrophy contributes to the homeostatic control of beta-cell mass in OLETF female rat, a model of Type II diabetes. *Diabetologia* 41:799-805, 1998
  33. Heine PA, Taylor JA, Iwamoto GA, Lubahn DB, Cooke PS: Increased adipose tissue in male and female estrogen receptor-alpha knockout mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97:12729-12734, 2000
  34. Jones ME, Thorburn AW, Britt KL, Hewitt KN, Wreford NG, Proietto J, Oz OK, Leury BH, Robertson KM, Yao S, Simpson ER: Aromatase-deficient (ArKO) mice have a phenotype of increased adiposity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97:12735-12740, 2000
  35. Misso ML, Murata Y, Boon WC, Jones ME, Britt KL, Simpson ER: Cellular and molecular characterization of the adipose phenotype of the aromatase-deficient mouse. *Endocrinology* 144:1474-1480, 2003
  36. O'Sullivan AJ, Ho KK: A comparison of the effects of oral and transdermal estrogen replacement on insulin sensitivity in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 80:1783-1788, 1995
  37. Gao Q, Mezei G, Nie Y, Rao Y, Choi CS, Bechmann I, Leranth C, Toran-Allerand D, Priest CA, Roberts JL, Gao XB, Mobbs C, Shulman GI, Dianno S, Horvath TL: Anorectic estrogen mimics leptin's effect on the rewiring of melanocortin cells and Stat3 signaling in obese animals. *Nat Med* 13:89-94, 2007
  38. Peterfy M, Phan J, Reue K: Alternatively spliced lipin isoforms exhibit distinct expression pattern, subcellular localization, and role in adipogenesis. *J Biol Chem* 280:32883-32889, 2005
  39. Carman GM, Han GS: Phosphatidic acid phosphatase, a key enzyme in the regulation of lipid synthesis. *J Biol Chem* 284:2593-2597, 2009
  40. Reue K, Brindley DN: Thematic Review Series: Glycerolipids. Multiple roles for lipins/phosphatidate phosphatase enzymes in lipid metabolism. *J Lipid Res* 49:2493-2503, 2008
  41. Finck BN, Gropler MC, Chen Z, Leone TC, Croce MA, Harris TE, Law-

- rence JC Jr, Kelly DP: Lipin 1 is an inducible amplifier of the hepatic PGC-1alpha/PPARalpha regulatory pathway. *Cell Metab* 4:199-210, 2006
42. Ohtsuka N, Sakemi T, Tomiyoshi Y, Morito F: Attenuating effect of castration or estrogen administration on glomerular injury in adriamycin-induced nephropathy. *Nephrology* 2:45-52, 1996