Paramedical Sciences and Military Health
Volume 10, Number 2, Autumn 2015 (Serial Number 18)

Original Article

Role of SHIP2 in Oleate Induced De-Novo Lipogenesis

Reza Meshkani[1], Sattar Gorgani-Firuzjaee[2]*

[1] *Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran*
[2] *Department of Medical Laboratory Sciences, Faculty of Paramedicine, AJA University of Medical sciences, Tehran, Iran.*

Abstract

Introduction: Dyslipidemia is one of the key risk factors for cardiovascular disease in type 2 diabetes (T2D). The dyslipidemia is characterized by increased plasma concentration of triglycerides (TG), reduced concentration of high density lipoprotein cholesterol (HDL-C) and an increased concentration of small dense low density lipoprotein (LDL) cholesterol. Evidence from both animal and human studies suggests that insulin resistance (in adipose and liver tissues) is an important underlying cause of hypertriglyceridemia in subjects with metabolic syndrome and T2D. Hepatic de-novo lipogenesis and production of triglyceride rich VLDL are regulated via the phosphoinositide 3-kinase cascade. However, the role of a negative regulator of this pathway, the SH2 domain containing inositol 5-phosphatase (SHIP2) remains unknown.

Methods and Materials: In the present study, we studied the molecular mechanisms linking SHIP2 expression to metabolic dyslipidemia using overexpression or suppression of SHIP2 gene in HepG2 cells exposed to oleate (0.5 mM).

Results: The results showed that, comparing to the control group, the overexpression of the wild type SHIP2 gene (SHIP2-WT) led to a higher total lipid content (28%), whereas overexpression of the dominant negative SHIP2 gene (SHIP2-DN) reduced total lipid content in oleate treated cells by 40%. Overexpression of SHIP2-WT also lead to a significant increase in increased intra and extracellular triglyceride levels and enhanced the expression of lipogenic genes such as SREBP1c, FAS and ACC. On the other hand, overexpression of the SHIP2-DN gene prevented oleate-induced de-novo lipogenesis in HepG2 cells.

Discussion and Conclusion: All in all, these findings suggest that SHIP2 expression level is an important determinant of hepatic lipogenesis and its inhibition can potentially be a target in treatment of dyslipidemia in diabetic patients.

Keywords: De-novo lipogenesis, Oleate, SH2 domain-containing inositol 5-phosphatase (SHIP2) and Insulin resistance.

*(Corresponding author) Department of Medical Laboratory Sciences, Faculty of Paramedicine, AJA University of Medical sciences, Tehran, Iran.

[Downloaded from jps.ajaums.ac.ir on 2026-10-06]

مقاله تحقیقاتی

مجله علوم پیراپزشکی و بهداشت نظامی
سال دهم، شماره دوم، پاییز ۱۳۹۴، مسلسل ۱۸ صفحات ۲۷ تا ۳۴

نقش ژن SHIP2 در لیپوژنز القایی توسط اولئات

رضا مشکانی[۱]، ستار گرگانی فیروزجایی[۲*]

[۱] گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
[۲] گروه علوم آزمایشگاهی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ارتش، تهران، ایران

چکیده

مقدمه: مقاومت به انسولین یک وضعیت پاتولوژیکی است که میزان انسولین طبیعی خون قادر به ایجاد پاسخ بیولوژیکی طبیعی نیست. این کاهش پاسخ میتواند تمام اثرات متابولیک انسولین را متاثر سازد. فسفاتازها ازجمله پروتئین تیروزین فسفاتازها (PTP۱B) Protein-tyrosine phosphatase ۱B، (LAR) Leukocyte common antigen-related protein، PTP-Sigma، PTP-α ، SHP-۲) گروهی از آنزیم‌ها هستند که نقش مهمی در کنترل مسیر انتقال پیام انسولین بر عهده دارند. SRC homology ۲ domain (SH۲) –containing inositol ۵-phosphatase (SHIP۲) عضو مهم این خانواده بوده که در کنترل مسیرهای انتقال پیام بویژه انتقال پیام انسولین نقش دارد. لیپوژنز کبدی و تولید لیپوپروتئین غنی از تری گلیسرید از طریق مسیر فسفاتیدیل اینوزیتول کیناز (PI۳K) تنظیم میگردد. با این وجود نقش تنظیم کننده منفی این مسیر یعنی SHIP۲ در این فرایند (لیپوژنز کبدی) به خوبی مشخص نمی‌باشد.

مواد و روش‌ها: در مطالعه حاضر مکانیسم مولکولی ارتباط دهنده بین بیان SHIP۲ و دیس‌لیپیدمی دیابتی با استفاده از افزایش و کاهش بیان ژن SHIP۲ به کمک سیستم رتروویرس در حضور اولئات (۰/۵ میلی مولار) بررسی گردید.

یافته‌ها: نتایج مطالعه نشان داد که افزایش بیان ژن SHIP۲ به میزان ۲۸٪ سبب افزایش لیپوژنز و مهار فعالیت SHIP۲ از طریق افزایش بیان فرم جهش یافته این پروتئین، به میزان ۴۰٪ سبب کاهش لیپوژنز در مقایسه با گروه کنترل شده است. همچنین افزایش بیان SHIP۲ از طریق افزایش بیان ژنهای SREBP۱c،FAS و ACC سبب تحریک لیپوژنز (افزایش تری گلیسرید داخل و خارج سلولی) در حضور اولئات گردید. از طرف دیگر مهار SHIP۲ از طریق کاهش بیان ژنهای دخیل در لیپوژنز سبب بهبود لیپوژنز القایی توسط اولئات شد.

بحث و نتیجه‌گیری: مجموعاً نتایج مطالعه حاضر بیانگر اهمیت SHIP۲ در لیپوژنز کبدی در شرایط مقاومت به انسولین بوده و مهار آن می‌تواند بالقوه در درمان دیس لیپیدمی دیابتی مطرح شود.

کلمات کلیدی: لیپوژنز کبدی، اولئات، مقاومت به انسولین و ژن SHIP۲

مقدمه

دیس‌لیپیدمی دیابتی به عنوان یکی از ریسک فاکتورهای بیماری قلبی در بیماران دیابت نوع دو مطرح بوده که شامل ناهنجاریهای کمی و کیفی لیپیدهای دارای خاصیت آتروژنیک می‌باشد. افزایش تولید لیپوپروتئین با وزن مخصوص بسیار پایین (VLDL)تظاهر بالینی عمده دیس‌لیپیدمی دیابتی بوده که منجر به اختلال در متابولیسم دیگر لیپوپروتئین‌ها نظیر لیپوپروتئین با وزن مخصوص پایین (LDL) و لیپوپروتئین با وزن مخصوص بالا (HDL) می‌گردد. افزایش تولید VLDL در دیابت نوع دو به علت تغییر در متابولیسم لیپید و آپولیپوپروتئین B می‌باشد (۱).

* (نویسنده مسئول) گروه علوم آزمایشگاهی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ارتش، تهران، ایران
شماره تماس: ۰۹۱۲۵۳۶۹۲۷۱ آدرس الکترونیک: gorgani59@gmail.com

[Downloaded from jps.ajaums.ac.ir on 2026-10-06]

انسولین در متابولیسم لیپیدها نقش مرکزی داشته و در بافت چربی با مهار لیپاز حساس به هورمون با نقش ضد لیپولیزی به ذخیره تری‌گلیسیریدها در بافت چربی و ممانعت از آزادسازی اسیدهای چرب آزاد به گردش خون کمک می‌کند. مطالعات آزمایشگاهی نشان داده است که انکوباسیون سلول‌های کبدی موش و انسان با انسولین سبب کاهش لیپوژنز کبدی می‌گردد (۲). این نتایج به وسیله مطالعات invivo نیز مورد تأیید قرار گرفته است. انسولین نه تنها از طریق کاهش میزان اسیدهای چرب آزاد گردش خون بلکه از طریق تأثیر مستقیم بر کبد باعث کاهش ترشح VLDL می‌گردد. با این وجود مکانیسم مولکولی دقیق آن به خوبی مشخص نمی‌باشد. مطالعات نشان داده‌اند که ممکن است این مهار از طریق مسیر PI۳K بوده که در این مسیر نهایتا با فسفریله شدن Akt اثرات متابولیک انسولین اعمال می‌گردد (۳). این عمل به دنبال فسفریله شدن واحدهای تیروزین سوبستراهای گیرنده انسولین مثل IRS۱ یا IRS۲ صورت می‌گیرد. این فسفریلاسیون سبب فعال شدن PI۳K شده و در نهایت باعث تولید PIP۳ بیشتری شده که این ترکیب قادر به فعال کردن Akt می‌باشد. Akt یک کیناز بوده که از واسطه‌های متابولیک انسولین می‌باشد (۴).

مطالعات متعدد حاکی از افزایش لیپوژنز در افراد چاق و مقاوم به انسولین با افزایش فعالیت آنزیمهایی مثل آسیل کوآ کربوکسیلاز، سنتز کننده اسید چرب (Fatty acid synthase) و استئاریل کوآ دسچوراز می‌باشد (۵). لیپوژنز کبدی به دنبال افزایش بیان پروتئین اتصالی به عناصر پاسخ دهنده به کربوهیدرات (ChREBP) و پروتئین اتصالی به عنصر تنظیمی استرول-۱c (cSREBP-۱c) تحریک می‌گردد. افزایش فعالیت گیرنده X کبدی (LXR) نیز سبب افزایش بیان و تجویز آگونیست‌های LXR سبب افزایش سنتز اسید چرب کبدی می‌شود (۱, ۶).

سلول‌های هدف انسولین دارای تنظیم کننده‌های منفی سیگنالینگ انسولین نظیر فسفاتازها (پروتئین تیروزین فسفاتازها و لیپید فسفاتازها) بوده که از طریق دفسفریلاسیون واسطه‌های کلیدی فسفریله در سیستم پیام رسانی انسولین سبب تضعیف یا قطع سیگناینگ انسولین می‌گردند (۷). از جمله لیپید فسفاتازهای سیگنالینگ انسولین می‌توان به SHIP۲ اشاره نمود (۸). حداقل دو خانواده از لیپید فسفاتاز وجود داشته که شامل Phosphatase and tensin homolog (PTEN و SHIP)ها می‌باشند. PTENاز جایگاه شماره ۳ اینوزیتول، فسفات جدا کرده اما SHIPها از جایگاه ۵ اینوزیتول، فسفات جدا می‌کنند (۹). تاکنون حدود ۱۰ تا SHIP در پستانداران شناسایی شده که با دفسفریله کردن جایگاه ۵ نقش بسیار مهمی در فرایندهای مختلف از قبیل فاگوسیتوز، انتقال پروتئینی، بالانس انرژی و تنظیم هموستاز گلوکز و چربی ایفا می‌کنند. نقش مهاری SHIP۲ در انتقال پیام انسولین هم در in vivo و هم در in vitro نشان داده شده است (۱۰). افزایش بیان این فسفاتاز که دارای فعالیت کاتالیتیک ۵´فسفاتازی بوده، برداشت گلوکز وابسته به فعالیت Akt را مهار می‌نماید. تاکنون دو نوع هموزیگوت و هتروزیگوت موشهای فاقد این ژن طراحی شده‌اند. موش‌های هموزیگوت در سه روز اول تولد به علت هیپوگلیسمی شدید از بین رفته‌اند اما موش هتروزیگوت دارای حساسیت به انسولین بوده و بدون آسیب زنده مانده‌اند. علاوه بر این در این موشها سطوح پلاسمایی تری‌گلیسرید و اسیدهای چرب آزاد پلاسما پایین می‌باشد (۱۱). همچنین پلی مورفیسمی از SHIP۲ درمطالعه کهورت (هم گروهی) در چین بیانگر نقش محافظتی این پلی مورفیسم در برابر مقاومت به انسولین می‌باشد (۱۲). در مجموع به نظر می‌رسد که تغییر در بیان SHIP۲ و یا تغییر در میزان فعالیت این آنزیم نقش بسیار زیادی در هموستاز گلوکز و بالانس انرژی دارد (۱۱). مطالعات متعدد نشان دهنده نقش این فسفاتاز در انتقال پیام انسولین می‌باشد، به گونه‌ای که مهار آنتی سنس این آنزیم سبب بهبود حساسیت به انسولین در جوندگان مقاوم به انسولین می‌شود (۱۳). همچنین افزایش بیان این ژن توسط سیستم آدنوویروس باعث ایجاد مقاومت به انسولین و استفاده توالی Dominant negative این ژن با استفاده از سیستم آدنوویروس سبب بهبود مقاومت به انسولین می‌گردد (۱۴). با توجه به اهمیت و نقش این فسفاتاز بر هموستاز گلوکز مطالعات زیادی به بررسی نحوه حساسیت به انسولین در اثر افزایش یا کاهش ژن این آنزیم و یا تغییر در نحوه فعالیت آن پرداخته‌اند و نتایج حاکی از آنست که افزایش بیان یا فعالیت این آنزیم سبب مقاومت به انسولین و کاهش بیان یا فعالیت آن سبب بهبود حساسیت به انسولین می‌شود. با توجه به اینکه دیس‌لیپیدمی یکی از اختلالات شایع دیابت نوع دو بوده و مقاومت به انسولین نقش کلیدی در دیس‌لیپیدمی دارد. در این مطالعه به بررسی نقش SHIP۲بر لیپوژنز سلول‌های کبدی (Denovolipogenesis) پرداخته و اثر افزایش

[Downloaded from jps.ajaums.ac.ir on 2026-10-06]

بیان ژن طبیعی و توالی غالب منفی SHIP۲ (Dominant Negative) بر میزان لیپوژنز کبدی مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

در مطالعه حاضر از سلول‌های HepG۲ استفاده شده که در محیط DMEM در آتمسفر مرطوب دارای ۵٪ CO_2 و در دمای ۳۷°C کشت شدند. به منظور بررسی نقش ژن SHIP۲ در لیپوژنز با استفاده از سیستم رتروویروس بیان این ژن افزایش و کاهش یافته است. جهت القا لیپوژنز، سلول‌ها در پلیت‌های شش خانه و فلاسک ۲۵ سانتی مترمربع توسط غلظت ۰/۵ میلی مولار اسید چرب اولئات به مدت ۲۴ ساعت به شرح زیر تیمار شدند. ابتدا مقدار مورد نیاز اولئات در اتانول ۵۰٪ حل شده و محلول فوق به محیط DMEM حاوی ۱٪ وزنی حجمی آلبومین عاری از اسید چرب اضافه شد. برای کنژوگه نمودن اسیدهای چرب، محلول فوق همراه با تکان‌های ملایم به صورت شبانه یا دو ساعت در دمای ۳۷°C قرار داده شده و سپس این محیط فیلتر گردید. در مرحله بعد سلول‌های HepG۲ آماده تیمار به مدت ۴ ساعت در محیط عاری از سرم که شامل DMEM همراه با ۰/۱٪ W/V آلبومین عاری از اسید چرب است، تیمار شدند. در مرحله نهایی این محیط کشت با محیط کشت کونژوگه شده با اسید چرب جایگزین شده و سلول‌ها پس از ۲۴ ساعت آماده بهره‌برداری برای مراحل بعدی تحقیق گردیدند. سلول‌های کنترل در این مطالعه با محیط دارای ۱٪ آلبومین عاری از اسید چرب تیمار شدند. جهت بررسی لیپوژنز از رنگ آمیزی Oil Red O به عنوان شاخص لیپید تام سلولی استفاده شده است. نتایج کیفی Oil Red O توسط محلول نمودن رنگ و اندازه‌گیری میزان جذب نوری در ۵۱۰ نانومتر به صورت کمی گزارش شده است. میزان تری‌گلیسرید داخل و خارج سلولی با استفاده از کیت حساس شرکت Biovision اندازه گرفته شده است. به منظور بررسی نقش ژن SHIP۲ در لیپوژنز القایی، بیان ژنهای دخیل در لیپوژنز مثل ACC، FAS و SREBP۱c در سطح mRNA از تکنیک Real time PCR و در سطح پروتئین از تکنیک وسترن بلات با استفاده از آنتی بادی اختصاصی در سلول‌هایی که بیان SHIP۲ در آنها تغییر یافته است (WT: افزایش بیان SHIP۲، DN: کاهش فعالیت SHIP۲ و GFP سلول کنترل) ارزیابی شده است. تمام نتایج به صورت میانگین ± خطای استاندارد میانگین (SD) ارائه شدند. تفاوت میان گروه‌ها توسط تست One-way ANOVA و Tukey multiple comparison در نرم افزار SPSS تعیین گردید و سطح معنی‌دار بودن در $P< ۰/۰۵$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

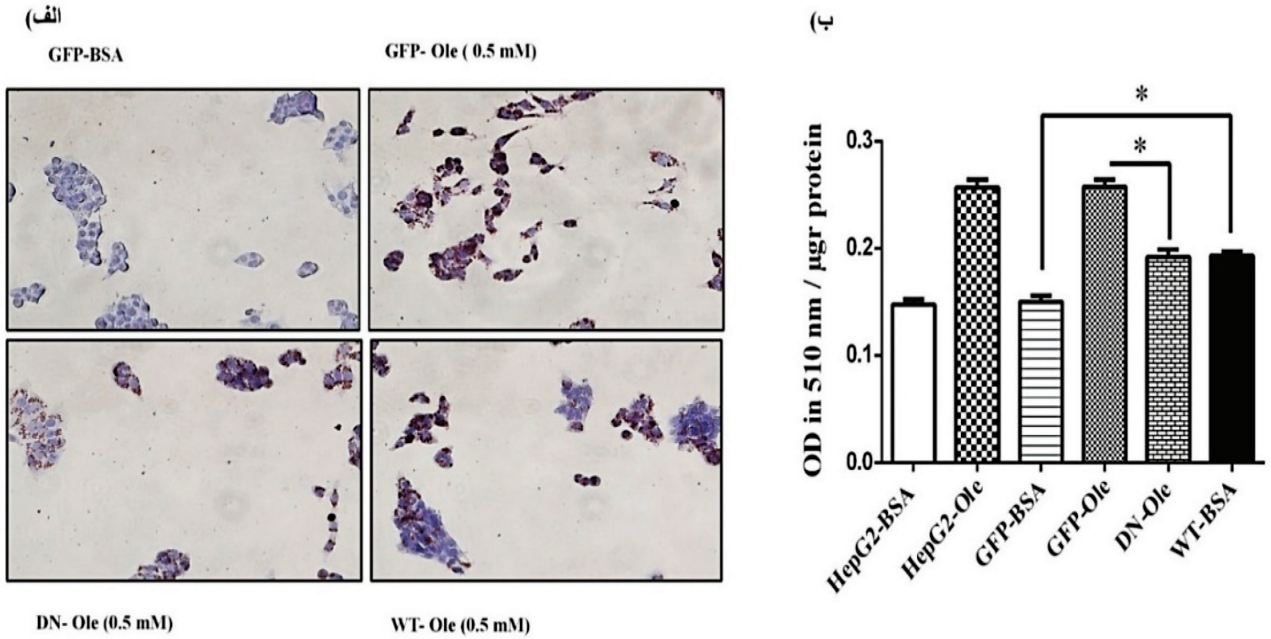
اثر تغییر بیان ژن SHIP۲ بر محتوای تام لیپیدی سلول

جهت بررسی نقش ژن SHIP۲ در لیپوژنز کبدی، سلول‌هایی که بیان ژن SHIP۲ در آنها تغییر یافته است توسط اسید چرب اولئات به مدت ۲۴ ساعت تیمار شده و لیپد توتال توسط رنگ آمیزی Oil Red O مورد بررسی قرار گرفت (۱۵). همانطور که در شکل ۱ الف مشاهده می‌گردد تیمار با اولئات سبب القا لیپوژنز در سلول‌های HepG۲ و GFP شد. کاهش عملکرد ژن SHIP۲ با استفاده از افزایش بیان شکل جهش یافته این آنزیم (DN) سبب کاهش لیپوژنز القاء شده توسط اولئات و افزایش بیان نوع طبیعی این ژن (WT) سبب القای لیپوژنز در سلول‌های کبدی می‌گردد. به منظور نشان دادن نتایج به صورت کمی، رنگ آمیزی Oil Red O با محلول نمودن رنگ در DMSO و قرائت جذب نوری در ۵۱۰ نانومتر انجام پذیرفت. نتایج نشان می‌دهد افزایش بیان فرم طبیعی SHIP۲ در مقایسه با GFP به میزان ۳۰٪ سبب افزایش لیپوژنز شده، ولی افزایش بیان فرم جهش یافته SHIP۲ در مقایسه با GFP به میزان ۲۶٪ باعث کاهش لیپوژنز القاء شده توسط اولئات می‌گردد (شکل ۱ ب).

داده‌ها از سه آزمایش مستقل به دست آمده که به صورت میانگین ± خطای استاندارد میانگین نشان داده شده‌اند. ($P<۰/۰۵$) در مقایسه با سلول‌های دریافت کننده ویروس GFP.

اثر تغییر بیان ژن SHIP۲ بر تولید تری‌گلیسرید داخل و خارج سلولی در آزمایش دیگر و جهت بهتر نشان دادن نقش تغییرات SHIP۲ در لیپوژنز سلول‌های کبدی، میزان تری‌گلیسرید خارج و داخل سلولی توسط کیت حساس شرکت Biovision با قدرت اندازه‌گیری ۰/۰۱ نانومول اندازه گرفته شد. نتایج نشان داد افزایش بیان شکل طبیعی SHIP۲ سبب افزایش تولید تری‌گلیسرید داخل سلولی به میزان ۱/۲۲ برابر و کاهش فعالیت SHIP۲ از طریق افزایش بیان شکل جهش یافته ژن SHIP۲ سبب کاهش ۲۴ درصدی تری‌گلیسرید داخل سلولی در مقایسه با گروه کنترل (GFP) شد (شکل ۲ الف). همچنین نتایج مطالعه نشان می‌دهد افزایش بیان شکل طبیعی SHIP۲

[Downloaded from jps.ajaums.ac.ir on 2026-10-06]



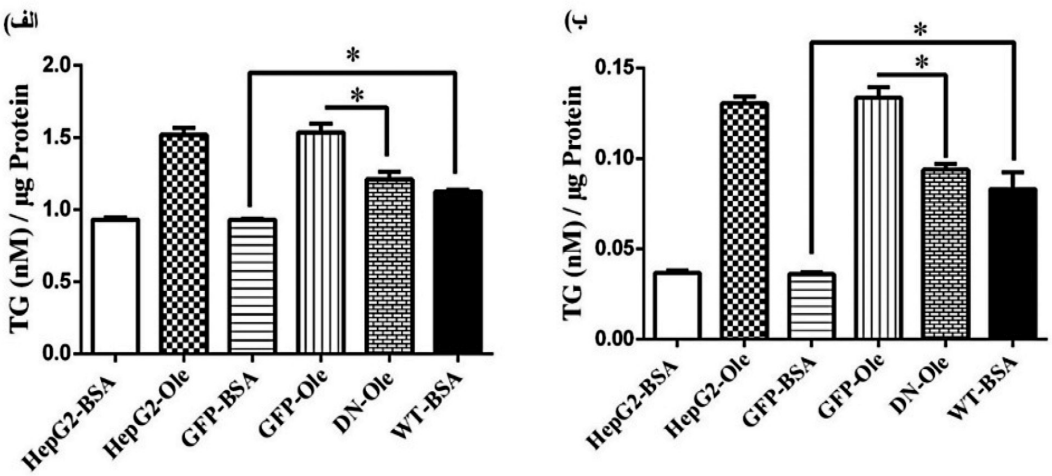
شکل ۱- اثر تغییر بیان ژن SHIP۲ بر محتوای تام لیپیدی در حضور اولئات. الف) نتایج کیفی رنگ آمیزی Oil Red O ب) نتایج کمی رنگ آمیزی Oil Red O : BSA: آلبومین سرم گاو، Ole: اولئات ۰/۵ میلی مولار، DN: شکل جهش یافته ژن SHIP۲، WT: شکل طبیعی ژن SHIP۲، GFP : سلول HepG۲ حاوی ویروس GFP، OD: جذب نوری در ۵۱۰ نانومتر

سبب افزایش تولید تری‌گلیسرید خارج سلولی به میزان ۲/۳ برابر و کاهش فعالیت SHIP۲ سبب کاهش ۳۰ درصدی در مقایسه با گروه کنترل (GFP) می‌شود (شکل ۲ ب).

داده‌ها از سه آزمایش مستقل به دست آمده که به صورت میانگین ± خطای استاندارد میانگین نشان داده شده‌اند. ($p< ۰/۰۵$) در مقایسه با سلول‌های دریافت کننده ویروس GFP.

اثر تغییر بیان SHIP۲ بر بیان ژنهای دخیل در لیپوژنز در سطح mRNA

در ادامه مطالعه و جهت تأیید داده‌های قبلی، اثر تغییر بیان ژن SHIP۲ بر بیان ژنهای مهم در لیپوژنز مورد ارزیابی قرار گرفت. از این ژنها می‌توان به ژن SREBP۱c اشاره نمود که به عنوان یک فاکتور رونویسی در تنظیم رونویسی ژنهای دیگر دخیل در لیپوژنز (ACC و FAS) مطرح می‌باشد. FAS و ACC دو آنزیم مهم



شکل ۲- اثر تغییر بیان ژن SHIP۲ بر تولید تریگلیسرید. الف) تری‌گلیسرید داخل سلولی. ب) تری‌گلیسرید خارج سلولی. BSA: آلبومین سرم گاو، Ole: اولئات ۰/۵ میلی مولار، DN: شکل جهش یافته ژن SHIP۲، WT: شکل طبیعی ژن SHIP۲، GFP : سلول HepG۲ حاوی ویروس GFP

[Downloaded from jps.ajaums.ac.ir on 2026-10-06]

لیپوژنز می‌باشند. ACC فراهم کننده سوبسترای لیپوژنز بوده و FAS آخرین آنزیم سنتز کننده اسید چرب می‌باشد. مطالعات متعدد روی حیوانات ترانسژنیک فاقد این دو آنزیم نقش کلیدی این دو آنزیم را در لیپوژنز کبدی نشان داده‌اند (۱۶, ۱۷). نتایج این تحقیق مبین این مسأله است که افزایش بیان شکل طبیعی SHIP۲ سبب افزایش بیان ژنهای SREBP۱c، ACC و FAS به ترتیب به میزان ۱/۵۳، ۱/۲۸ و ۱/۳ برابر شده و کاهش فعالیت SHIP۲ در سلول‌های DN–SHIP۲ سبب کاهش ۴۰، ۳۱ و ۳۰ درصدی بیان ژن‌های فوق در مقایسه با گروه کنترل (GFP) گردید (شکل ۳).

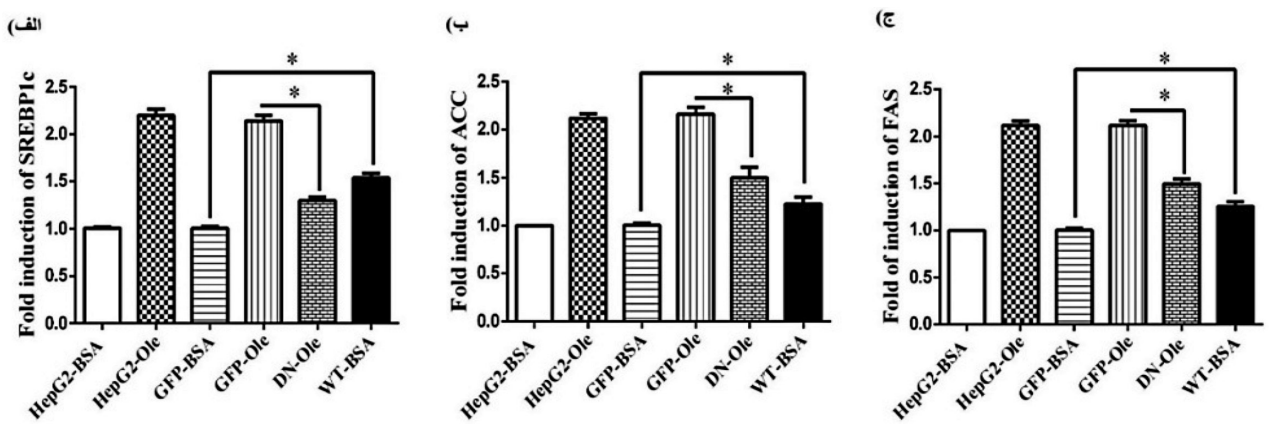
اثر تغییر بیان SHIP۲ بر بیان ژنهای مهم لیپوژنز در سطح پروتئین

به منظور تأیید نتایج مرحله قبل، اثر تغییر بیان ژن SHIP۲ بر بیان ژنهای مهم لیپوژنز در سطح پروتئین نیز مورد ارزیابی قرار گرفت. در بخش قبلی بطور مختصر به اهمیت فاکتور رونویسی SREBP۱c و آنزیم‌های لیپوژنیک FAS و ACC پرداخته شد. یکی از فاکتورهای رونویسی مهم تنظیم کننده دیگر متابولیسم کربوهیدرات‌ها و لیپیدها فاکتور FoxO۱ می‌باشد. این فاکتور رونویسی به خانواده Forkhead box class-O transcription factor (FoxO۱) تعلق داشته و یکی از واسطه‌های عملکردی انسولین و فاکتورهای رشد می‌باشد. این فاکتور به مقدار زیادی در کبد بیان شده و در تنظیم گلوکونئوژنز و لیپوژنز کبدی نقش دارد. فسفریلاسیون وابسته به Akt/PKB این فاکتور باعث خروج آن از هسته و کاهش رونویسی از ژنهای دخیل در لیپوژنز می‌گردد. بنابراین افزایش فسفریلاسیون FoxO۱ سبب کاهش بیان SREBP۱c و کاهش لیپوژنز می‌گردد (۱۸, ۱۹). نتایج این تحقیق بیانگر این است که افزایش بیان شکل طبیعی SHIP۲ سبب افزایش بیان پروتئین SREBP۱c به میزان ۲/۵۱ برابر و کاهش بیان پروتئین‌های p-ACC و p-FoxO۱ به ترتیب به میزان ۳۳٪ و ۱۳٪ می‌گردد. همچنین کاهش فعالیت SHIP۲ در سلول‌های SHIP۲-DN سبب کاهش بیان SREBP۱c به میزان ۵۵٪ و افزایش بیان p-ACC و p-FoxO۱ به ترتیب به میزان ۳/۱ و ۱/۹۳ برابر در مقایسه با گروه کنترل (GFP) گردید (شکل ۴).

بحث و نتیجه‌گیری

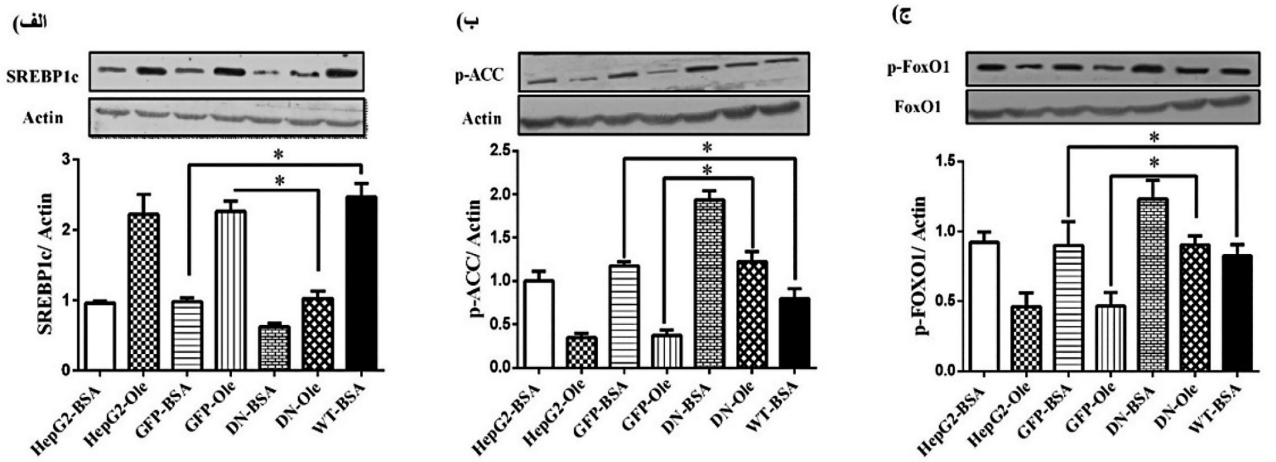
در مطالعه حاضر شواهد آزمایشگاهی فراهم شد که نشان می‌دهد اولئات با غلظت ۰/۵ میلی‌مولار به عنوان یک القاء کننده مطلوب لیپوژنز قادر است لیپید توتال، بیان ژنها و پروتئینهای دخیل در لیپوژنز را القاء نماید. مهار SHIP۲ با استفاده از ژن موتانت غالب منفی SHIP۲، باعث کاهش لیپوژنز القاء شده توسط اولئات و افزایش بیان SHIP۲ به تنهایی و در عدم حضور اولئات سبب افزایش لیپوژنز در سلول‌های HepG۲ می‌شود. علاوه بر این، تغییرات SHIP۲ مراحل مختلف لیپوژنز را از طریق القای بیان ژنهای لیپوژنیک مثل FAS و ACC و فاکتورهای رونویسی مثل SREBP۱c و FoxO۱ تحت تأثیر قرار می‌دهد.

پس از مشخص شدن اثر تغییرات SHIP۲ بر لیپوژنز کبدی، سوال



شکل ۳- نقش تغییر بیان ژن SHIP۲ بر بیان ژنهای مهم لیپوژنز. الف) ژن SREBP۱c ب) ژن ACC ج) ژن FAS. BSA: آلبومین سرم گاو، Ole: اولئات ۰/۵ میلی مولار، DN: شکل جهش یافته ژن SHIP۲، WT: شکل طبیعی ژن SHIP۲، GFP: سلول HepG۲ حاوی ویروس GFP، داده‌ها از سه آزمایش مستقل به دست آمده که به صورت میانگین ± خطای استاندارد میانگین نشان داده شده‌اند.
***، P < ۰/۰۵ در مقایسه با سلولهای دریافت کننده ویروس GFP.**

[Downloaded from jps.ajaums.ac.ir on 2026-10-06]



شکل ۴- نقش تغییر بیان ژن SHIP۲ بر بیان پروتئین‌های مهم لیپوژنز. الف) پروتئین SREBP۱c ب) پروتئین p-ACC ج) پروتئین p-FoxO۱ BSA: آلبومین سرم گاو، Ole: اولئات ۰/۵ میلی مولار، DN: شکل جهش یافته ژن SHIP۲، WT: شکل طبیعی ژن SHIP۲، GFP: سلول HepG۲ حاوی ویروس GFP، داده‌ها از سه آزمایش مستقل به دست آمده که به صورت میانگین ± خطای استاندارد میانگین نشان داده شده‌اند.
***، P< ۰/۰۵ در مقایسه با سلولهای دریافت کننده ویروس GFP.**

مطرح شده این است که SHIP۲ از طریق چه مکانیسم مولکولی بر لیپوژنز اثر می‌گذارد؟ مکانیسمی که توسط آن SHIP۲ قادر به تأثیر بر متابولیسم لیپید است احتمالا از طریق اثر بر مسیر انتقال پیام انسولین باشد. از آنجایی که انسولین تنظیم کننده متابولیسم لیپید و لیپوپروتئین‌ها است، تنظیم لیپوژنز کبدی و تولید لیپوپروتئین‌ها به شدت توسط عملکرد صحیح انسولین کنترل می‌گردد (۱). انسولین از طریق مکانیسم وابسته به PI۳-K/Akt سبب القاء SREBP۱c و لیپوژنز می‌گردد (۲۰)، با این حال عوامل و حدواسط‌های پایین دست این مسیر به درستی شناخته شده نیستند. علاوه براین نتایج این تحقیق نشان داد که افزایش بیان SHIP۲ علیرغم کاهش فعالیت Akt باعث افزایش بیان SREBP۱c و ژنهای هدف آن می‌شود (۲۱). با توجه به مطالعات قبلی که نشان از وابستگی SREBP۱c به Akt داشتند، به نظر می‌رسد اثرات SHIP۲ بر لیپوژنز و بطور دقیق‌تر بر SREBP۱c از طریق یک مکانیسم غیروابسته به Akt در سلول‌های HepG۲ اعمال می‌گردد. بنابراین به نظر می‌رسد که SHIP۲ احتمالا سرعت لیپوژنز را تحت تأثیر قرار داده که نهایتا سبب فراهم شدن سوبسترای تولید و ترشح VLDL در سلول‌های کبدی می‌گردد. اگرچه تاکنون هیچ مطالعه‌ای مستقیما به نقش SHIP۲ در متابولیسم لیپید و لیپوپروتئین نپرداخته است، برخی مطالعات انجام شده شواهد غیرمستقیمی را در حمایت از داده‌های این تحقیق فراهم آورده‌اند. در همین ارتباط مطالعات گذشته نشان داده که فقدان SHIP۲ کبدی در مدل حیوانی، باعث بهبود تحمل گلوکز و افزایش حساسیت به انسولین در موشهای دیابتی از طریق تأثیر بر متابولیسم گلوکز می‌گردد (۲۲). Fukui و همکارانش در سال ۲۰۰۵ در مدل حیوانی با استفاده از سیستم آدنوویروس نشان دادند افزایش بیان فرم طبیعی SHIP۲ سبب القا مقاومت به انسولین و هیپرگلیسمی گردیده و کاهش فعالیت SHIP۲ از طریق افزایش بیان فرم موتانت آن سبب بهبود مقاومت به انسولین شده است. علاوه براین، این مطالعه نقش SHIP۲ را در کنترل متابولیسم گلوگز از طریق مسیر /Akt PKB نشان داد (۲۳). در مطالعه دیگری Sleeman و همکارانش نشان دادند عدم وجود SHIP۲ در مدل حیوانی با استفاده از خاموش نمودن ژن، باعث حساسیت به انسولین شدید، هیپوگلیسمی و مقاومت به چاقی القا شده توسط رژیم پرچربی می‌گردد (۲۴). گفتنی است این مطالعه‌ها اثر SHIP۲ را بر متابولیسم لیپید و لیپوپروتئین مورد بررسی قرار نداده‌اند. در مجموع مطالعه حاضر شواهدی را فراهم آورده که تغییرات SHIP۲ سبب تغییر در لیپوژنز سلول‌های کبدی می‌گردد. به گونه‌ای که افزایش SHIP۲ سبب القا لیپوژنز و مهار SHIP۲ از بهبود سیگنالینگ انسولین لیپوژنز القا شده توسط غلظت بالای گلوکز در سلول‌های کبدی می‌شود.

[Downloaded from jps.ajaums.ac.ir on 2026-10-06]

References

1- Meshkani R, Adeli K. Hepatic insulin resistance, metabolic syndrome and cardiovascular disease. Clinical biochemistry. 2009;42 (13): 1331-46.
2- M, Zhong S, Khalil MB, Links PH, Zhao Y, Iqbal J, et al. Expression of apolipoprotein C-III in McA-RH7777 cells enhances VLDL assembly and secretion under lipid-rich conditions. Journal of lipid research. 2010;51 (1): 150-61.
3- Parvaneh L, Meshkani R, Bakhtiyari S, MohammadTaghvaie N, GorganiFiruzjaee S, TaheriPak G, et al. Palmitate and inflammatory state additively induce the expression of PTP1B in muscle cells. Biochemical and biophysical research communications. 2010;396 (2): 467-71.
4- Gorgani-Firuzjaee S, Meshkani R. SH2 domain-containing inositol 5-phosphatase (SHIP2) inhibition ameliorates high glucose-induced de-novo lipogenesis and VLDL production through regulating AMPK/mTOR/SREBP1 pathway and ROS production in HepG2 cells. Free Radical Biology and Medicine. 2015;89: 679-89.
5- Khodabandehloo H, Gorgani-Firuzjaee S, Panahi G, Meshkani R. Molecular and cellular mechanisms linking inflammation to insulin resistance and β-cell dysfunction. Translational Research. 2016;167 (1): 228-56.
6- Avramoglu RK, Basciano H, Adeli K. Lipid and lipoprotein dysregulation in insulin resistant states. Clinica chimica acta. 2006;368 (1): 1-19.
7- Nasimian A, Taheripak G, Gorgani-Firuzjaee S, Sadeghi A, Meshkani R. Protein tyrosine phosphatase 1B (PTP1B) modulates palmitate-induced cytokine production in macrophage cells. Inflammation Research. 2013;62 (2): 239-46.
8- Gorgani-Firuzjaee S, Ahmadi S, Meshkani R. Palmitate induces SHIP2 expression via the ceramide-mediated activation of NF-κB, and JNK in skeletal muscle cells. Biochemical and biophysical research communications. 2014;450 (1): 494-9.
9- Gorgani-Firuzjaee S, Bakhtiyari S, Golestani A, Meshkani R. Leukocyte antigen-related inhibition attenuates palmitate-induced insulin resistance in muscle cells. Journal of Endocrinology. 2012;215 (1): 71-7.
10- Rohrschneider LR, Fuller JF, Wolf I, Liu Y, Lucas DM. Structure, function, and biology of SHIP proteins. Genes & Development. 2000;14 (5): 505-20.
11- Wada T, Sasaoka T, Funaki M, Hori H, Murakami S, Ishiki M, et al. Overexpression of SH2-containing inositol phosphatase 2 results in negative regulation of insulin-induced metabolic actions in 3T3-L1 adipocytes via its 5′-phosphatase catalytic activity. Molecular and Cellular Biology. 2001;21 (5): 1633-46.
12- Sasaoka T, Wada T, Tsuneki H. Lipid phosphatases as a possible therapeutic target in cases of type 2 diabetes and obesity. Pharmacology & therapeutics. 2006;112 (3): 799-809.
13- Buettner R, Ottinger I, Gerhardt-Salbert C, Wrede CE, Schölmerich J, Bollheimer LC. Antisense oligonucleotides against the lipid phosphatase SHIP2 improve muscle insulin sensitivity in a dietary rat model of the metabolic syndrome. American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism. 2007;292 (6): E1871-E8.
14- Gorgani-Firuzjaee S, Adeli K, Meshkani R. Inhibition of SH2-domain-containing inositol 5-phosphatase (SHIP2) ameliorates palmitate induced-apoptosis through regulating Akt/FOXO1 pathway and ROS production in HepG2 cells. Biochemical and Biophysical Research Communications. 2015;464 (2): 441-6.
15- Ramirez-Zacarias J, Castro-Munozledo F, Kuri-Harcuch W. Quantitation of adipose conversion and triglycerides by staining intracytoplasmic lipids with Oil red O. Histochemistry. 1992;97 (6): 493-7.
16- Postic C, Girard J. Contribution of de novo fatty acid synthesis to hepatic steatosis and insulin resistance: lessons from genetically engineered mice. The Journal of clinical investigation. 2008;118 (3): 829.
17- Postic C, Girard J. The role of the lipogenic pathway in the development of hepatic steatosis. Diabetes & metabolism. 2008;34 (6): 643-8.
18- Deng X, Zhang W, InSug O, Williams JB, Dong Q, Park EA, et al. FoxO1 inhibits sterol regulatory element-binding protein-1c (SREBP-1c) gene expression via transcription factors Sp1 and SREBP-1c. Journal of Biological Chemistry. 2012;287 (24): 20132-43.
19- Haeusler RA, Hartil K, Vaitheesvaran B, Arrieta-Cruz I, Knight CM, Cook JR, et al. Integrated control of hepatic lipogenesis versus glucose production requires FoxO transcription factors. Nature communications. 2014;5.
20- Park Y, Yuk T, Lee J. Nobiletin Attenuates High Glucose-induced Lipid Accumulation in HepG2 Hepatocytes through Activation of AMP-activated Protein Kinase-dependent Signaling. The FASEB Journal. 2015;29 (1 Supplement): 917.4.
21- Vakili S, Ebrahimi SSS, Sadeghi A, Gorgani-Firuzjaee S, Beigy M, Pasalar P, et al. Hydrodynamic-based delivery of PTP1B shRNA reduces plasma glucose levels in diabetic mice. Molecular medicine reports. 2013;7 (1): 211-6.
22- Gorgani-Firuzjaee S, Khatami S, Meshkani R. SH2 domain-containing inositol 5-phosphatase (SHIP2) regulates de-novo lipogenesis and secretion of apoB100 containing lipoproteins in HepG2 cells. Biochemical and biophysical research communications. 2015;464 (4): 1028-33.
23- Fukui K, Wada T, Kagawa S, Nagira K, Ikubo M, Ishihara H, et al. Impact of the liver-specific expression of SHIP2 (SH2-

[Downloaded from jps.ajaums.ac.ir on 2026-10-06]

24- Sleeman MW, Wortley KE, Lai K-MV, Gowen LC, Kintner J, Kline WO, et al. Absence of the lipid phosphatase SHIP2 confers resistance to dietary obesity. Nature medicine. 2005;11 (2): 199-205.

containing inositol 5′-phosphatase 2) on insulin signaling and glucose metabolism in mice. Diabetes. 2005;54 (7): 1958-67.

[Downloaded from jps.ajaums.ac.ir on 2026-10-06]