مقاله تحقیقاتی

مجله علوم پیراپزشکی و بهداشت نظامی
سال دهم، شماره یکم، تابستان ۱۳۹۴، مسلسل ۱۷

تغییر بیان ژن (SH2 domain containing inositol 5-phosphatase) SHIP2 با استفاده از سیستم رتروویروس در سلول‌های کبدی HepG2

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

چکیده

مقدمه: دیس‌لیپیدمی به عنوان یکی از فاکتورهای خطر بیماریهای قلبی عروقی در افراد دیابتی مطرح می‌باشد. دیس‌لیپیدمی به وسیله افزایش غلظت تریگلیسرید پلاسما، کاهش HDL کلسترول و افزایش LDL به خصوص small dense LDL تشخیص داده می‌شود. شواهد متعدد از مطالعات انسانی و حیوانی بیانگر نقش مقاومت به انسولین به عنوان علت اصلی افزایش تریگلیسرید در بیماران دیابتی و افراد مبتلا به سندرم متابولیک می‌باشد. لیپوژنز کبدی و تولید لیپوپروتئین غنی از تری‌گلیسرید از طریق مسیر فسفاتیدیل اینوزیتول کیناز (PI۳K) تنظیم می‌گردد. با این وجود نقش تنظیم کننده منفی این مسیر SHIP۲(SH۲ domain containing inositol ۵-phosphatase) در این فرایند (لیپوژنز کبدی) به خوبی مشخص نمی‌باشد.

مواد و روش‌ها: در مطالعه حاضر با استفاده از سیستم رتروویروس بیان ژن SHIP۲ تغییر یافته و عملکرد داخل سلولی آن در سیگنالینگ انسولین مورد بررسی قرار گرفته است.

یافته‌ها: نتایج مطالعه نشان داده که افزایش بیان SHIP۲ سبب کاهش فسفریلاسیون Akt به عنوان یکی از واسطه‌های سیگنالینگ انسولین شده و کاهش عملکرد SHIP۲ فسفریلاسیون Akt را افزایش داده و سبب بهبود پیام رسانی داخل سلولی انسولین در سلولهای کبدی HepG۲ می‌گردد.

بحث و نتیجه‌گیری: با توجه به نقش کلیدی فسفریلاسیون Akt در متابولیسم گلوکز و لیپید، از مدل سلول تولید شده می‌توان در مطالعات متابولیسم لیپید و لیپوپروتئین مورد استفاده قرار داد.

کلمات کلیدی: ژن SHIP۲، انتقال پیام انسولین و لیپوژنز

مقدمه

SHIP۲: لیپید فسفاتازی ۱۴۲ کیلو دالتونی دارای دومین SH۲ درانتهای N، دومین کاتالیتیک مرکزی و دومین PRD در انتهای C می‌باشد. ژن آن روی کروموزوم ۱۴-۱۳q۱۱ قرار دارد. این فسفاتاز (۳,۴,۵) PI P۳را به P۲ (۳,۴) PI تبدیل می‌نماید P۳ (۳,۴,۵) PI در اثر فعالیت PI۳K حاصل شده و از طریق فعال نمودن کیناز شماره یک وابسته به فسفاتیدیل اینوزیتول (PDK۱) باعث فسفریله و فعال شدن /Akt PKB می‌شود (۱, ۲). حداقل دو خانواده از لیپید فسفاتاز وجود داشته که شامل PTEN (Phosphatase and tensin homolog) و SHIP ها می‌باشند. PTEN از جایگاه شماره ۳ اینوزیتول، فسفات جدا کرده اما SHIP ها از جایگاه ۵ اینوزیتول، فسفات جدا می‌کنند (۳). 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 (۴). افزایش

۱- گروه علوم آزمایشگاهی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ارتش، تهران، ایران (*نویسنده مسئول)
۲- گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

[Downloaded from jps.ajaums.ac.ir on 2026-06-13]

بیان این فسفاتاز که دارای فعالیت کاتالیتیک ´۵ فسفاتازی بوده، برداشت گلوکز وابسته به فعالیت Akt را مهار می‌نماید (۵). 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 (۶). همچنین پلی مورفیسمی از SHIP۲ درمطالعه کهورت (هم گروهی) در چین بیانگر نقش محافظتی این پلی مورفیسم در برابر مقاومت به انسولین می‌باشد (۷). 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 (۶). 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 مقام به انسولین می‌شود (۸). 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 (۹). 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 تغییر (افزایش و کاهش) بیان ژن و فعالیت SHIP۲ با استفاده از سیستم رتروویروسی و توالی Dominant Negative ایجاد شده و عملکرد تغییر بیان SHIP۲ توسط بررسی میزان فسفریلاسیون Akt در حضور انسولین مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق از سلول‌های HepG۲ در محیط DMEM استفاده شده است. سلول‌ها در آتمسفر مرطوب دارای ۵٪ CO۲ در دمای 37^{o}C نگهداری شدند. دو نوع سیستم رترو ویروس جهت کاهش و افزایش بیان SHIP۲ طراحی گردید. جهت کاهش بیان SHIP۲، از توالی غالب منفی (Dominant Negative) ژن SHIP۲ استفاده شد. برای افزایش بیان ژن SHIP۲ نیز از توالی cDNA نوع طبیعی این ژن استفاده گردید. سلول‌های کنترل در این مطالعه دارای توالی ژن GFP در وکتور پایه رتروویروس (pBABE) بودند. وکتور pBABE حاوی توالی ژن SHIP۲ و توالی غالب منفی آن به صورت اهدایی از آزمایشگاه دکتر Erneuxt، دانشگاه Libre de Bruxelles کشور بلژیک تهیه شد. وکتور pBABE حاوی GFP به صورت تجاری خریداری شد. وکتورهای رتروویروسی به همراه وکتورهای کمکی تولید رتروویروس (سنتز کننده gag، pol و Env) به سلول‌های T۲۹۳ ترانسفکت گردیده و پس از تولید ویروس در سلول‌های مذکور، ویروس‌های تولید شده پس از تغلیظ به کمک اولتراسانترفیوژ، به سلول‌های HepG۲ همراه با پلی برن (۲μg/ml) ترانسداکت شدند. پس از ۶ تا ۸ ساعت محیط حاوی رتروویروس از روی سلول بر داشته شده و محیط معمولی به سلول‌ها اضافه شد. پس از سه روز سلول‌ها با محیط حاوی پورومایسین (μg/ml۲) به مدت سه هفته تیمار شده و هر سه روز محیط سلول‌ها تعویض گردید (۱۰). از آنجایی که وکتور pBABE دارای مقاومت به پورومایسین می‌باشد، سلول‌های مقاوم به پورومایسین سلولهایی هستند که ویروس مورد نظر را دریافت نموده‌اند. پس از تکثیر سلول‌های مقاوم به پورومایسین تغییر بیان ژن SHIP۲ در سطح mRNA با استفاده از تکنیک Real time PCR و در سطح پروتئین با استفاده از سترن بلات و آنتی بادی اختصاصی مورد تأیید قرار گرفته و جهت بررسی عملکرد تغییر بیان ژن SHIP۲، فسفریلاسیون Akt بوسیله وسترن بلات مورد ارزیابی قرار گرفت. پس از تولید سلول کبدی تغییر یافته، جهت مطالعات آینده در ازت مایع نگهداری می‌گردند. تمام نتایج به صورت میانگین ± خطای استاندارد میانگین (SEM) 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.

نتایج

ترانسفکت وکتورها به سلول T۲۹۳: انتقال وکتورها به سلول

[Downloaded from jps.ajaums.ac.ir on 2026-06-13]

میزبان تولید کننده ویروس (T۲۹۳) به روش شیمیایی کلسیم- فسفات انجام شد. جهت تأیید انتقال وکتور، از وکتور pBABE-GFP بصورت Trans استفاده شد. پس از انتقال وکتور، سلول به وسیله میکروسکوپ فلورسانس اینورت جهت ارزیابی رنگدانه سبز مورد ارزیابی قرار گرفت و وجود این رنگدانه در داخل سلول T۲۹۳ مورد تأیید قرار گرفت.

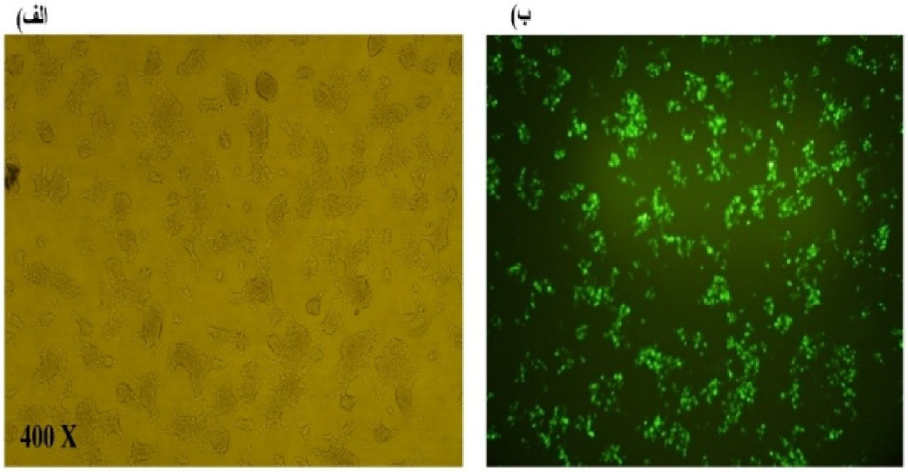
تأیید تولید ویروس (ترانسداکت ویروس حاوی GFP به سلول HepG۲): پس از تأیید انتقال وکتور به سلول میزبان، سلول‌ها به مدت ۴۸ ساعت کشت داده شدند و سپس محیط رویی سلول که حاوی ویروس بوده جمع‌آوری شد. برای افزایش کارایی و تغلیظ ویروس، مایع جمع‌آوری شده حاوی ویروس به وسیله اولتراسانترفیوژ تغلیظ گردیده و حجم به یک میلی‌لیتر رسانده شد. سپس برای تأیید تولید ویروس، در حضور پلی برن، ویروس به سلول T۲۹۳ ترانسداکت شد. وجود رنگ فلورسانس سبز پس از دو روز مواجهه سلول با ویروس تأیید کننده تولید ویروس می‌باشد. پس از تأیید تولید ویروس و تغلیظ آن، با رتروویروس حاوی GFP به عنوان کنترل مثبت مقایسه گردید. سپس ویروس تولید شده حاوی GFP به همراه ویروس‌های تولید شده با دیگر وکتورها به سلول HepG۲ ترانس‌داکت شدند.

دریافت ویروس توسط سلول HepG۲ با بررسی رنگ فلورسانس سبز توسط میکروسکوپ فلورسانس مورد تأیید قرار گرفت. از آنجایی که وکتور pBABE و ویروس تولید شده از آن دارای توالی مقاومت به پوروماسین می‌باشند، جهت انتخاب سلول‌های حاوی ویروس، از تیمار سلول‌ها در حضور پوروماسین (غلظت ۲ میکرومولار) استفاده گردید (۱۰). پس از سه هفته تیمار، سلول‌های مقاوم به پوروماسین جهت ادامه کار انتخاب شدند.

تأیید تغییر بیان ژن SHIP۲ در سلول‌های تولید شده: پس از پایدار سازی سلول‌های HepG۲ و جهت تأیید کارایی ویروس‌های تولید شده، بیان ژن SHIP۲ در سطح mRNA و پروتئین مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که بیان نوع طبیعی (SHIP۲-WT) و نوع جهش یافته (SHIP۲-DN) به ترتیب به میزان ۳/۲ و ۲/۹ برابر سلول‌های دریافت کننده GFP (به عنوان کنترل) می‌باشند و این نتایج در سطح پروتئین نیز (به ترتیب ۳/۵ و ۳/۱) مورد تأیید قرار گرفت.

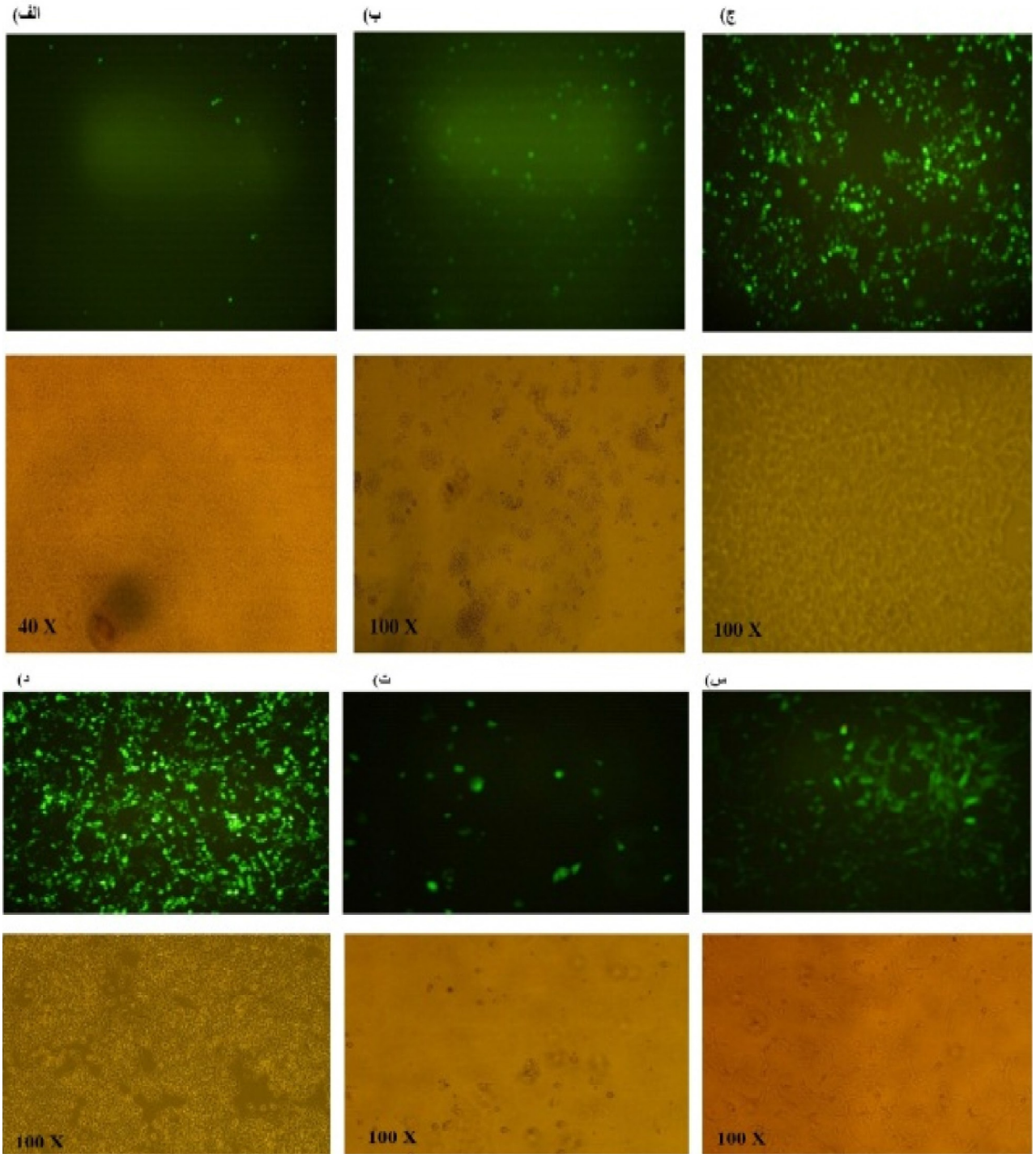
الف) تغییر بیان SHIP۲ در سطح mRNA. ب) تغییر بیان SHIP۲ در سطح پروتئین. DN: شکل جهش یافته ژن SHIP۲، WT: شکل طبیعی ژن SHIP۲، GFP : سلول HepG۲ حاوی ویروس GFP، داده‌ها از سه آزمایش مستقل به دست آمده که به صورت میانگین ± خطای استاندارد میانگین نشان داده شده‌اند. *، p< ۰/۰۰۵ در مقایسه با سلول‌های دریافت کننده ویروس GFP.

تأیید عملکردی تغییر بیان ژن SHIP۲: تا این بخش از مطالعه تغییر بیان ژن SHIP۲ در سلول‌های HepG۲ اعمال گردید. سوال مطرح شده در ادامه این بوده که آیا ژن SHIP۲ دستکاری شده در سلول‌های HepG۲ کارا می‌باشد یا نه؟ برای تأیید کارایی SHIP۲ بایستی فعالیت آنزیم را اندازه‌گیری کرد. با توجه به وجود شباهت‌های بسیار بین انواع فسفاتازهای درون سلولی، عملا در حال حاضر سنجش فعالیت این آنزیم‌ها بطور اختصاصی مشکل می‌باشد. بدین منظور



شکل ۱- تأیید انتقال وکتور به سلول T۲۹۳. الف) بررسی سلول با نور معمولی ب) بررسی سلول با نور فلورسانس

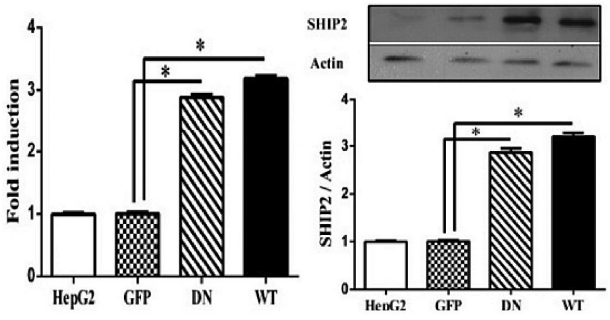
[Downloaded from jps.ajaums.ac.ir on 2026-06-13]



شکل ۲- تأیید تولید ویروس. الف) ترانسداکت سلولهای T۲۹۳ با مایع رویی سلولهای تولید کننده ویروس (تغلیظ نشده). ب) ترانسداکت سلول‌های T۲۹۳ با رترو ویروس تغلیظ شده حاوی GFP. ج) ترانسداکت سلولهای T۲۹۳ با ویروس تغلیظ شده به عنوان کنترل مثبت د) ترانسداکت سلولهای T۲۹۳ با رتروویروس تغلیظ شده (در این سلولها برای افزایش کارایی دو بار به فاصله ۶ ساعت سلول HepG با ویروس ترانسداکت شدند). ت) سلولهای HepG۲ حاوی ویروس پس از ۲۱ روز تیمار با پورومایسین. س) سلولهای HepG۲ حاوی ویروس پس از ۳۵ روز تیمار با پورومایسین.

در این مطالعه از ارزیابی میزان فسفریلاسیون Akt برای تأیید کارایی SHIP۲ استفاده گردید. گفتنی است که Akt سوبسترای داخل سلولی SHIP۲ می‌باشد. همانطور که در شکل ۴۵ ملاحظه می‌شود در حضور انسولین به عنوان فعال‌کننده مسیر انتقال پیام انسولین، میزان فسفریلاسیون Akt به ترتیب به میزان ۲/۳۶ و ۲/۵۱ برابر در مقایسه با وضعیت عدم حضور انسولین در سلول‌های HepG۲ و

[Downloaded from jps.ajaums.ac.ir on 2026-06-13]



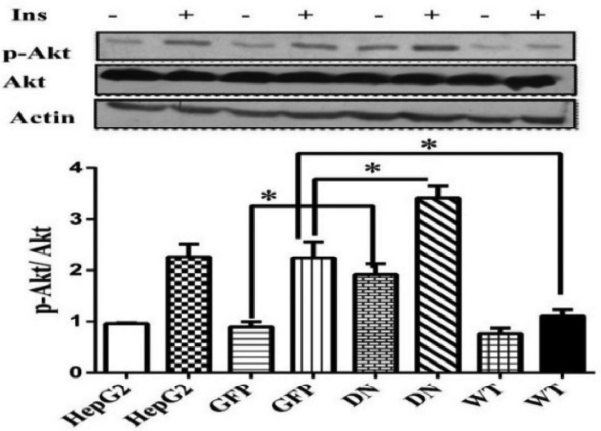
شکل ۳- تأیید تغییر بیان ژن SHIP۲

GFP افزایش می‌یابد. نتایج نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین میزان فسفریلاسیون Akt در حضور و عدم حضور انسولین بین سلول HepG۲ و GFP مشاهده نمی‌گردد.

افزایش فعالیت PI۳K و به دنبال آن افزایش میزان PIP۳ یکی از نقاط کلیدی مسیر انتقال پیام انسولین می‌باشد. PIP۳ افزایش یافته سبب فعالیت PKB و نهایتا فسفریلاسیون Akt می‌گردد. با توجه به نقش SHIP۲ (دفسفریلاسیون PIP۳ و تبدیل آن به PIP۲) انتظار می‌رود که افزایش بیان و فعالیت SHIP۲ سبب کاهش فسفریلاسیون Akt شده و کاهش فعالیت SHIP۲ موجب افزایش فسفریلاسیون Akt گردد. نتایج این مطالعه فرضیه مطرح شده را تأیید نمود و نشان داد که افزایش بیان SHIP۲ سبب ۵۱٪ کاهش فسفریلاسیون Akt در مقایسه با گروه کنترل (GFP) شده، در حالیکه کاهش عملکرد SHIP۲ باعث افزایش فسفریلاسیون Akt به میزان ۱/۵۲ برابر در مقایسه با گروه کنترل (GFP) در حضور انسولین می‌گردد. همچنین نتایج این تحقیق نشان داد که در عدم حضور انسولین سلول‌های SHIP۲-DN نسبت به سلول‌های SHIP۲-WT و GFP به ترتیب به میزان ۲/۴۹ و ۲/۱۴ برابر بیشتر فسفریلاسیون Akt دارند. این یافته بیانگر بهبود سیگنالیگ انسولین در سلول‌های SHIP۲-DN حتی در عدم حضور انسولین می‌باشد. در تأیید یافته فوق نتایج نشان می‌دهند که افزایش بیان SHIP۲ سبب ۱۵٪ کاهش فسفریلاسیون Akt در مقایسه با سلول GFP در عدم حضور انسولین می‌گردد که بیانگر تضعیف پیام رسانی انسولین می‌باشد.

Ins: انسولین ۱۰۰ نانو 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.



شکل ۴- تأیید کارایی تغییر بیان ژن SHIP۲

بحث و نتیجه‌گیری

دیابت نوع ۲ شایع‌ترین بیماری متابولیک، یکی از بزرگ‌ترین مشکلات بهداشتی جوامع مختلف می‌باشد و با توجه به سیر پیشرفت این بیماری در جهان و نقش آن بعنوان عامل زمینه در ایجاد بیماری‌های قلبی عروقی، پرفشاری خون، عوارض کلیوی، عصبی و چشمی، بسیاری از گروه‌های تحقیقاتی در کشورهای مختلف به مطالعه پاتوفیزیولوژی این بیماری می‌پردازند. مقاومت به انسولین بعنوان هسته مرکزی بیماری دیابت نوع ۲ مطرح می‌باشد. بعلت پیچیدگی و نقش عوامل متعدد، مکانیسم سلولی و مولکولی مقاومت به انسولین کاملا شناخته نشده است. به نظر می‌رسد چاقی ناشی از شیوه زندگی و تغذیه نامناسب از عوامل اصلی ایجاد کننده مقاومت به انسوین باشند، گرچه نمی‌توان از اهمیت عوامل ژنتیکی نیز صرف‌نظر کرد (۱۱).

در حالت فیزیولوژیک انسولین از طریق کاهش میزان اسیدهای چرب آزاد گردش خون و همچنین از طریق تأثیر مستقیم بر کبد باعث کاهش ترشح VLDL می‌گردد. با این که مکانیسم مولکولی دقیق این پروسه به خوبی شناسایی نشده، مطالعات نشان داده‌اند که ممکن است اثر انسولین بر تولید VLDL از طریق مسیر PI۳K بوده که در این مسیر نهایتا با فسفریله شدن Akt اعمال می‌گردد (۱۲). Akt فعال شده با کاهش فعالیت پروتئین فسفاتاز B۱ (PTP۱B) و با توجه به اثر منفی PTP۱B بر ER۶۰ (سیستئین پروتئاز مرتبط با شبکه آندوپلاسمی) سبب افزایش تخریب و حذف آپو B۱۰۰ و در نهایت کاهش سنتز VLDL می‌گردد(۱۳, ۱۴). در وضعیت مقاومت به انسولین، عکس اتفاقات ذکر شده رخ داده و با کاهش فعالیت

[Downloaded from jps.ajaums.ac.ir on 2026-06-13]

Akt افزایش سنتز ApoB و در پی آن افزایش تولید VLDL مشاهده می‌گردد (۱۵). در وضعیت هیپرتری‌گلیسریدمی همچنین افزایش سنتز لیپید (لیپوژنز) در سلول‌های کبدی رخ می‌دهد. مقاومت به انسولین سبب افزایش لیپوژنز کبدی گردیده و به نظر می‌رسد این افزایش از طریق مسیر SREBP۱c اعمال می‌گردد (۱۶). افزایش لیپوژنز منجر به تولید بیشتر تری‌گلیسرید و در پی آن آماده شدن بستر برای تولید بیشتر VLDL در شرایط مقاومت به انسولین خواهد بود. همانطور که اشاره گردیده، مقاومت به انسولین نقش محوری در ایجاد هیپرتری‌گلیسریدمی دارد. در وضعیت مقاومت به انسولین عمدتا اختلال در مسیر انتقال پیام انسولین مشاهده می‌گردد. در مسیر انتقال پیام انسولین Akt یک مولکول کلیدی است که کنترل تولید VLDL را بر عهده دارد. بنابراین می‌توان انتظار داشت عوامل اثر گذار بر مسیر انتقال پیام انسولین و بویژه Akt، از تنظیم‌کنندگان متابولیسم لیپید و لیپوپروتئین باشند. در همین راستا در این مطالعه پروتئین و آنزیم SHIP۲ یک تنظیم کننده منفی مسیر انتقال پیام انسولین که Akt را هدف قرار می‌دهد، انتخاب گردید. SHIP۲ از طریق دفسفریله نمودن PIP۳ باعث کاهش فعالیت Akt می‌گردد. با این پیش‌زمینه می‌توان چنین فرض کرد که با توجه به نقش SHIP۲ در کنترل فعالیت مسیر انتقال پیام انسولین، این پروتئین بالقوه قادر است متابولیسم لیپید و لیپوپروتئین‌ها را نیز تنظیم نماید. لذا در این مطالعه SHIP۲ مد نظر قرار گرفته بیان آن تغییر داده شد تا در مطالعات آینده نقش آن در تنظیم متابولیسم لیپید بررسی گردد.

References

1- Murakami, S., et al., Impact of Src homology 2-containing inositol 5′-phosphatase 2 on the regulation of insulin signaling leading to protein synthesis in 3T3-L1 adipocytes cultured with excess amino acids. Endocrinology, 2004. 145 (7): p. 3215-3223.
2- Onnockx, S., et al., The association between the SH2-containing inositol polyphosphate 5-Phosphatase 2 (SHIP2) and the adaptor protein APS has an impact on biochemical properties of both partners. Journal of cellular physiology, 2008. 214 (1): p. 260-272.
3- Sly, L.M., et al., SHIP, SHIP2, and PTEN activities are regulated in vivo by modulation of their protein levels: SHIP is up-regulated in macrophages and mast cells by lipopolysaccharide. Experimental hematology, 2003. 31 (12): p. 1170-1181.
4- Rohrschneider, L.R., et al., Structure, function, and biology of SHIP proteins. Genes & Development, 2000. 14 (5): p. 505-520.
5- Khodabandeloo, H., et al., Molecular and cellular mechanisms linking inflammation to insulin resistance and beta cell dysfunction. Translational Research, 2015.
6- Wada, T., 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): p. 1633-1646.
7- Sasaoka, T., T. Wada, and H. Tsuneki, Lipid phosphatases as a possible therapeutic target in cases of type 2 diabetes and obesity. Pharmacology & therapeutics, 2006. 112 (3): p. 799-809.
8- Buettner, R., et al., 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): p. E1871-E1878.
9- Fukui, K., et al., Impact of the liver-specific expression of SHIP2 (SH2-containing inositol 5′-phosphatase 2) on insulin signaling and glucose metabolism in mice. Diabetes, 2005. 54 (7): p. 1958-1967.
10- Drobná, Z., et al., shRNA silencing of AS3MT expression minimizes arsenic methylation capacity of HepG2 cells. Chemical research in toxicology, 2006. 19 (7): p. 894-898.
11- Larijani, B. and F. Zahedi, Epidemiology of diabetes mellitus in Iran. Journal of Diabetes & Metabolic Disorders, 2002. 1 (1): p. 7-.
12- Gorgani-Firuzjaee, S. and R. Meshkani, 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.
13- Gorgani-Firuzjaee, S., S. Ahmadi, and R. Meshkani, 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): p. 494-499.
14- Nasimian, A., et al., Protein tyrosine phosphatase 1B (PTP1B) modulates palmitate-induced cytokine production in macrophage cells. Inflammation Research, 2013. 62 (2): p. 239-246.
15- Gorgani-Firuzjaee, S., K. Adeli, and R. Meshkani, Inhibition of SH2-domain-containing inositol 5-phosphatase (SHIP2)

[Downloaded from jps.ajaums.ac.ir on 2026-06-13]

16- Gorgani-Firuzjaee, S., S. Khatami, and R. Meshkani, 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): p. 1028-1033.

ameliorates palmitate induced-apoptosis through regulating Akt/FOXO1 pathway and ROS production in HepG2 cells. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2015. 464 (2): p. 441-446.

[Downloaded from jps.ajaums.ac.ir on 2026-06-13]

Changes in Gene Expression SHIP2 (SHIP2 Domain Containing Inositol 5-Phosphatase) with the Use of HepG2 Liver Cell Rtrvvyrvsdr

Sattar Gorgani Firoozjaei*[1], Reza Meshkani[2]

Abstract

Introduction: Dyslypydmy is one of the risk factors of cardiovascular disease in diabetics. Dyslypydmy is diagnosed by increasing in plasma triglyceride density, decreasing HDL Cholesterol, and increasing LDL especially small LDL. Several evidences from human and animal studies indicate that the role of insulin resistance is a major cause of hypertrigly ceridemia in diabetics and people with metabolic syndrome, respectively. Hepatic lipogenesis and the production of rich lipoproteins from triglyceride are set by the inositol phosphatidylinositol kinase (PI3K). However, the negative regulator of route SHIP2 is not well defined in this process (hepatic lipogenesis).

Materials and Methods: In this study, the gene expression SHIP2 has been modified by the retroviruses system and the function of intracellular insulin signaling has been studied.

Findings: The results show that increasing in expression SHIP2 is lead to decreasing in AKT phosphorylation as one of the mediators of insulin signaling; in addition, reducing performance of SHIP2 increase the AKT phosphorylation and improves the intracellular insulin signaling in the liver cells Hep G2.

Discussion and Conclusion: Based on the key role AKT phosphorylation in glucose metabolism and lipid, cell models produced can be used in the studies of metabolism of lipids and lipoproteins.

Keywords: Gene SHIP2, insulin signal transduction and lipogenesis

1- (*Corresponding author) Department of Laboratory Sciences, Faculty of Paramedicine, AJA University of Medical Sciences, Tehran, Iran. Postal code: 1411718594

2- Department of Laboratory Sciences, Faculty of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

[Downloaded from jps.ajaums.ac.ir on 2026-06-13]