

摘 要

禽類的脂質合成作用主要於肝臟中進行，肝臟輸出的脂質可供身體各組織使用，堆積儲存於脂肪組織；在繁殖期間提供禽類產蛋所需。本研究中，以中興大學人為育種而成的台灣土雞作為研究對象，依產蛋率高低分為兩品系：B 品系為產蛋率低；L2 品系為產蛋率高。分別在 22 週齡與 50 週齡時取樣，之後使用即時聚合酶鏈鎖反應觀察肝臟中與脂質調節、合成與輸出的基因表現；在脂肪組織觀察分化、脂質吸收與釋出的基因表現，並在卵巢組織觀察脂質吸收的基因表現。同時配合切片觀察肌肉組織的脂質堆積與脂肪組織的細胞大小。結果在品系間的比較方面，肝臟中與脂質調節、合成與輸出相關的基因大部分為 B 品系表現較高，22 週齡的 FAS (fatty acid synthase) 和 apo-B (apoprotein-B) 與 50 週齡的 leptin、FAS、apo-B 差異達顯著。脂肪組織中除了 leptin 之外，與細胞分化、脂質吸收與釋出相關的基因大部分為 B 品系表現較低，22 週齡的 PPAR γ (peroxisome proliferators-activated receptor γ) 與 50 週齡的 PPAR γ 、leptin、LPL (lipoprotein lipase)、VLDLR

(very-low-density-lipoprotein receptor) 與 HSL (hormone-sensitive lipase) 差異達顯著。卵巢組織中 LPL 的基因表現為高產的 L2 品系較高；VLDLR 則反之，可是差異皆不顯著。週齡間的比較結果，肝臟的基因兩品系的表現皆是 22 週齡的基因表現高於 50 週齡，B 品系 FAS 和 apo-B 與 L2 品系 leptin 和 PPAR γ 的差異達顯著。脂肪組織的基因 B 品系的 leptin 和 HSL 與 L2 品系的 PPAR γ 和 VLDLR 在 50 週齡表現較 22 週齡高，其餘基因皆為 50 週齡表現較低，而這些結果差異皆不顯著。屠體觀察中 B 品系具有較大的腹部脂肪組織，切片中則含有較大的脂肪細胞，同時肌肉中有較高的脂質堆積。實驗結果指出低產之 B 品系雖有較高的脂質合成與輸出能力，但其脂質多堆積於脂肪與肌肉組織。因此我們推論脂質的使用分佈對 B 與 L2 產蛋率差異的影響，可能比脂質合成能力重要。

關鍵字:脂質利用、產蛋率、雞

前 言

自 1982 年起中興大學畜產系自全國收集土雞，並研究其性能根據不同特性分別育成各種品系。B 品系為公系之一，選拔目標為早熟性，以雞冠做為選拔指標。L2 品系為母系之一，目標在於提生產蛋率，以 40 週齡前的產蛋數做為選拔標準。

B 品系有優異的生長性能其產蛋性能卻不佳，且脂肪組織也較 L2 大。動物的胖瘦受到脂肪組織發育程度的影響。在發育的早期，前脂肪細胞分化為脂肪細胞；分化後的細胞攝入脂質，成為肥大的脂肪組織。肝臟為家禽體內脂質合成的主要來源，所以肝臟脂質的合成和脂肪組織的肥大有著密不可分的關係。除此之外，禽類產蛋所需的脂質也於肝臟中合成，在此 L2 品系產蛋性能較佳，而脂肪組織卻較小。由此可知肝臟脂質合成的能力與脂質的分佈，會影響雞隻的產蛋率。

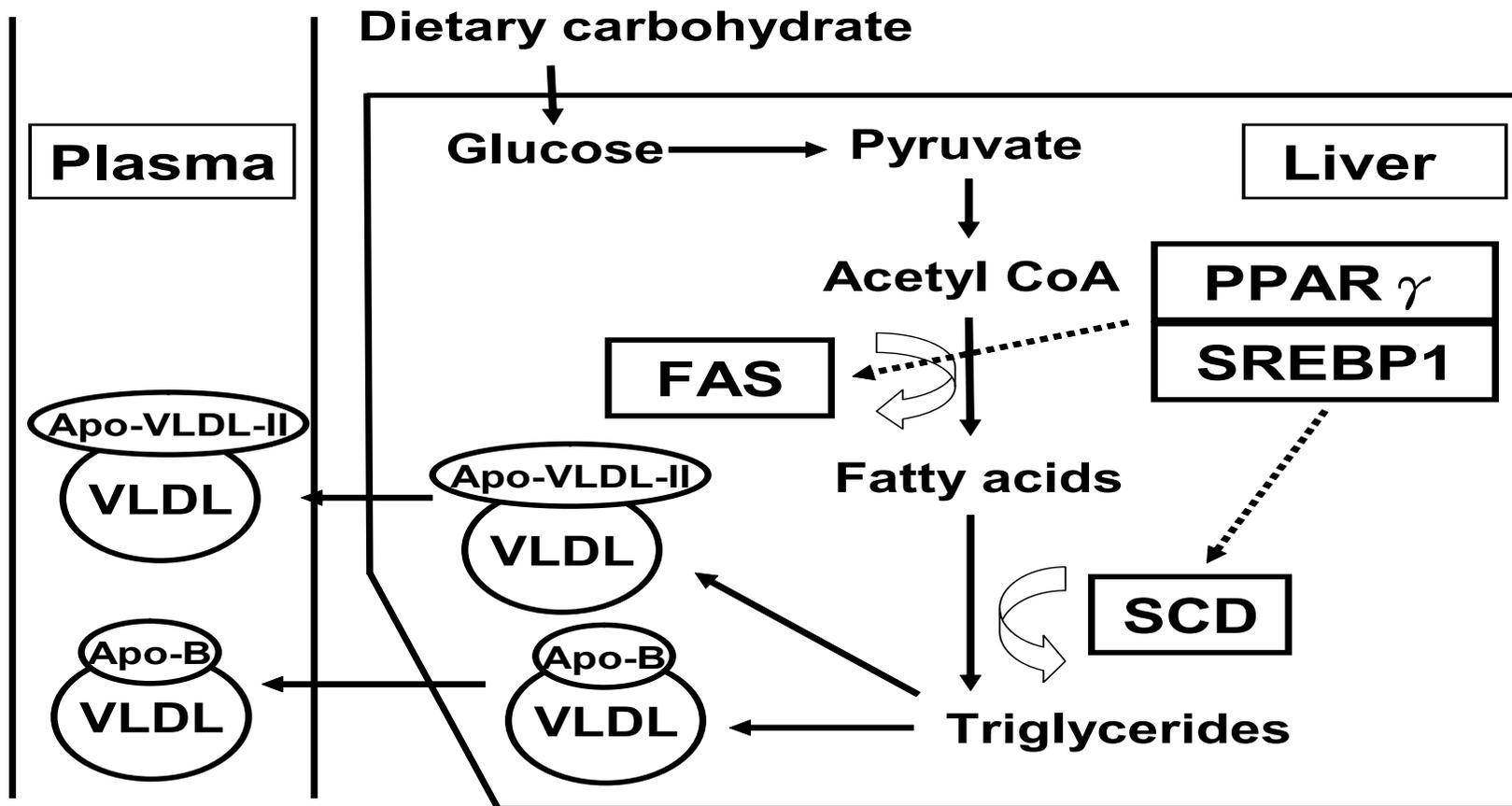
本研究中的雞隻是人為育種過程中造成產蛋率不同的雞隻，這些雞隻除了產蛋率之外同時具有相異的肥胖程度。因此針對肝臟和脂肪組織中與脂質代謝和脂肪細胞分化相關基因的表現進行觀察，希望對於產

蛋率和造成胖瘦差異的機制能夠有更深入的了解，以使生長優異的品系同時具有高產蛋率。

文獻檢討

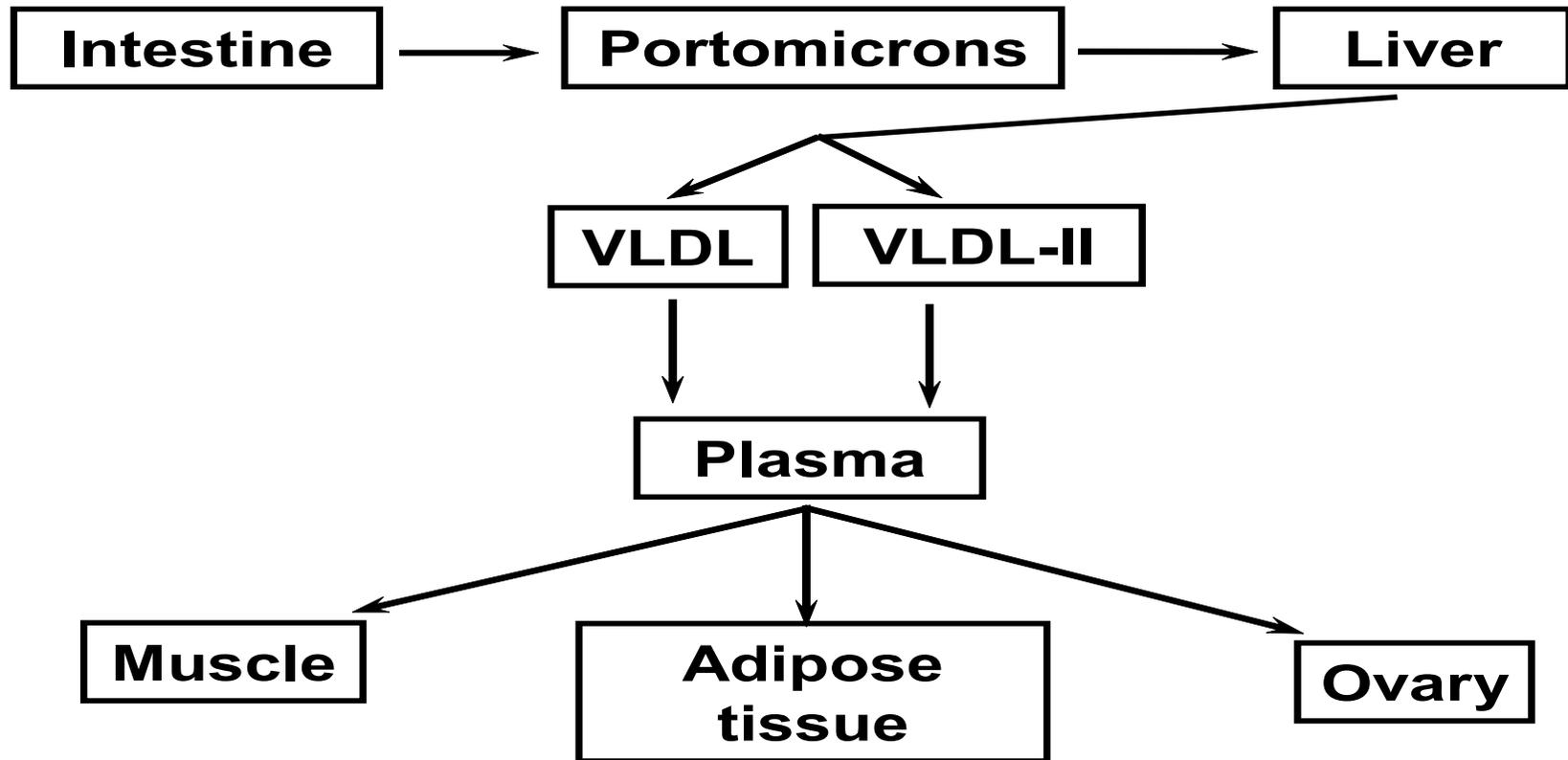
壹、脂質的代謝

飼料中的碳水化合物經由腸道消化吸收後，分解為葡萄糖之後轉為丙酮酸再轉為乙醯輔酶 A。乙醯輔酶 A 由 FAS 的作用合成脂肪酸。脂肪酸中的 palmitoyl-CoA 和 stearoyl-CoA 再由 SCD 作用轉換成 palmitoleoyl-CoA 和 oleoyl-CoA。棕櫚烯酸和油酸對於脂肪細胞而言是細胞中磷脂和三酸甘油酯堆積的主要成分。FAS 與 SCD 又受 PPAR γ 與 SREBP1 (sterol-regulatory-element-binding protein 1) 調控。經 FAS 與 SCD 作用合成的三酸甘油酯以 VLDL 的形式輸出肝臟進入循環系統，為體組織脂質的來源。這些 VLDL 膜上的 apolipoprotein 主要分為兩種，分別 apo-B 與 apo-VLDL-II (apolipoprotein-VLDL-II) (圖一)。禽類腸道吸收的脂質以 portomicron 運輸至肝臟，這些脂質與肝臟中利用碳水化合物進行脂質新生所合成的脂質，分別以鑲嵌 apo-B 與鑲嵌 apo-VLDL-II 的 VLDL 形式釋入血漿中。鑲嵌 apo-B 的 VLDL 主要供組織利用與儲存，如肌肉組織與脂肪組織。鑲嵌 apo-VLDL-II 的 VLDL 則主要由卵巢吸收，作為產蛋使用 (圖二)。



圖一、禽類脂質在肝臟合成

Fig. 1. Lipids are synthesized in the liver in poultry



圖二、禽類脂質的運輸與新陳代謝

Fig. 2. Poultry lipid transport and metabolism

一、肝臟為禽類脂質合成的主要器官

飼料和肝臟中脂質新生作用為禽類體內脂質主要的主要來源。在鴿子(Goodridge and Ball, 1967) 與小雞(Brady *et al.*, 1997)的實驗中以 $^3\text{H}_2\text{O}$ 作為標記的方式追蹤脂質新生的情況，或是以 ^{14}C 作為標記在小雞的實驗(Leveill *et al.*, 1975)中都發現肝臟為禽類合成脂質主要的器官。Saadoun and Leclercg (1983) 發現 5 週齡的雞 65-70%的脂質新生在肝中進行，而 30-35%在身體其他部分合成。2、5、15 週齡的雞肝臟中脂質新生不隨著年齡增加而改變，然而肝臟以外的其他組織間的脂質新生在此段期間卻隨著年齡而增加(Saadoun and Leclercq, 1986)。Griffin (1992)等人的研究發現 6 到 7 週齡的雞隻肝臟輸出的脂質有 6-7%輸送到脂肪組織，這些脂質佔組織內所堆積脂質的 80-85%。

因為脂質並不溶於水，所以脂質在動物體內主要以脂蛋白的形式在組織間傳遞。脂蛋白由腸道合成以運輸消化吸收的脂質，或由肝臟合成用來運送脂質到組織。在哺乳動物小腸的黏膜細胞通常合成 150 nm-300 nm 的 chylomicrons 進入淋巴系統，之後由頸部進入循環系統中。然而禽類的小腸淋巴系統並不發

達，所以禽類小腸吸收的脂質形成約 150 nm 的 portomicrons 直接進入門脈循環中 (Noyan, 1964 ; Benson and Rothfield, 1972) 。禽類的 portomicrons 和 VLDL 上皆有個 apoprotein 與哺乳類 VLDL 上的 apo-B-100 十分相似 (Hermier *et al.*, 1984) 。portomicrons 不會出現在斷食狀態的蛋雞體內，但餵食蛋雞富含脂質的飼料時發現 portomicrons 存在血漿中 (Griffin *et al.*, 1982) 。小雞肝臟為體內 VLDL 的主要來源，而血漿中大部分的三酸甘油酯以 VLDL 的形式存在 (Blue *et al.*, 1980) 。

富含三酸甘油酯的脂蛋白主要受到 LPL (lipoprotein lipase) 、 lecithincholesterol acyltransferase 、 HL (hepatic lipase) 三種酶水解，其中又以 LPL 最為重要，LPL 可將三酸甘油酯水解為脂肪酸和甘油。雞的脂肪組織、肌肉、心臟、濾泡都有 LPL 存在 (Benson *et al.*, 1975; 1979) 。三酸甘油酯從 VLDL 或 portomicron 水解後脂蛋白縮小，所剩的膽固醇和磷脂則轉入 HDL (high-density lipoprotein) 中 (Behr *et al.*, 1981) 。哺乳類和禽類體內都含有 HL，HL 可吸收脂蛋白中殘餘的脂質回到肝臟，然而禽類這部分的機

制尚未十分明朗，因為禽類的 HL 活性遠比哺乳類低 (Benson *et al.*, 1975)。

二、肝臟脂質的合成

肝臟為禽類脂質新生的主要器官，肝臟具有合成多種脂肪酸的能力。其中不飽和脂肪酸對於細胞活性、營養代謝及細胞核中的調節扮演著重要的角色。高等動物不飽和脂肪酸的來源，主要依靠食物中的不飽和脂肪酸與生物體內飽和脂肪酸經過加氫作用合成的不飽和脂肪酸。不飽和脂肪酸合成的關鍵步驟在於第一個 *cis*-雙鍵，也就是 $\delta 9$ 的位置（第九個和第十個碳之間）的形成。此過程由帶鐵離子的 SCD (stearoyl-CoA desaturase) 酵素進行，過程中將分別把 palmitoyl-CoA 和 stearoyl-CoA 轉換成 palmitoleoyl-CoA 和 oleoyl-CoA (Shimakata *et al.*, 1972)。palmitoleic 和 oleic acid 對脂肪細胞而言是細胞中磷脂和三酸甘油酯堆積的主要成分 (Strittmatter *et al.*, 1974)，且 stearic acid 轉換成 oleic acid 的比例是影響細胞膜流動性的因素之一。此比率的改變對於許多疾病如老化、癌症、糖尿病、高血壓、心臟病及肥胖皆有著重要的影響 (Enoch *et al.*, 1976)。

動物脂肪酸來源，主要依靠食物和體內的脂質新生。將碳水化合物轉為脂質的過程需要 FAS 的參與，FAS 可將 acetyl-CoA、malonyl-CoA 和 NADPH 合成為長鏈的飽和脂肪酸。FAS 在脂肪酸合成的過程，對於長效性的調節和反應效率扮演著重要的角色 (Volp and Vagelos, 1976)。合成的脂肪酸大部分為棕櫚酸 (16:0)，其餘為硬脂酸 (18:0)、荳蔻酸 (14:0) 及其他較短的脂肪酸。除此之外，發現內源性脂質新生增加時，富含棕櫚酸的 VLDL 也會增加，並造成高三酸甘油酯血症 (Hudgins *et al.*, 1996)。

SCD 基因分別為 SCD1 和 SCD 2，兩者的結構十分相似。在餵飼一般飼料的情況下，年老的和年輕的小鼠 SCD1 主要在的脂肪組織中表現；當餵飼低脂高碳水化合物的飼料時，肝臟才會表現 SCD1 (Kasturi and Joshi, 1982)。

動物體內脂質的主要在肝臟合成，而脂質主要以 VLDL 的形式輸送，VLDL 中的脂質主要來自食物和肝臟中由 SCD 合成的油酸。小鼠的實驗中，對 SCD null mutant 小鼠 (SCD^{-/-}) 餵飼富含脂質的飼料，其肝臟仍然無法合成三酸甘油酯。即使 SREBP-1、FAS 和 G3P

(glyceraldehyde 3- phosphate) 等和脂質合成相關基因表現都有增加。若在飼料中添加油酸的話，發現油酸只會囤積於肝中並沒辦法轉為三酸甘油酯 (Miyazaki *et al.*, 2001)。將雞的肝細胞 (Leghorn strain M hepatoma, LMH) 分別轉染入帶有 SCD1 DNA 及反義的 SCD1 DNA 之表達型載體。結果和對照組比較後，顯示轉染入帶有 SCD1 的細胞三酸甘油酯和磷脂堆較高，而含反義的 SCD1 DNA 的細胞則堆積較少 (Latasa *et al.*, 2000)。顯示 SCD1 基因可將脂肪酸轉為不飽和脂肪酸，而不飽和脂肪酸為三酸甘油酯和磷脂合成的前驅物質，所以 SCD1 對三酸甘油酯的堆積有著直接且重要的關聯。

在大鼠的實驗中，當肝臟中 leptin 表現增加時，SCD 表現則下降 96%；而餵飼富含脂質的飼料或投與 Troglitazone 的處理，則會使得 SCD1 表現分別下降 80%和 25% (Kakuma *et al.*, 2002)。在雞隻的實驗中，以雌激素刺激可使肝臟中 SCD 酵素增加兩倍，並伴隨著 VLDL 的濃度 (40.4 mg/ml vs. 0.158 mg/ml) 與肝臟脂質的含量 (8.61g /liver vs. 1.47g/liver) 大幅增加 (Hermier *et al.*, 1996)。在六週齡雞肝臟細胞的培養實

驗中，發現胰島素會使 SCD1 的 mRNA 表現和活性增加；而升醣素則使 SCD1 的 mRNA 表現和活性降低 (Lefevre *et al.*, 1999)。飼料的成分也會影響 SCD1 的表現，當雞餵飼富含多元不飽和脂肪酸的飼料時，SCD1 表現受到抑制 (Barreto *et al.*, 2001)。

FAS 的 cDNA 已在雞、鵝、豬、小鼠、大鼠和人類中被純化出 (Semenkovich *et al.*, 1995; Schweizer *et al.*, 2002)。利用北方點墨吸漬法發現，在人體許多組織如肝臟、脂肪組織、骨骼肌、腹脂等都有 FAS 基因的表現，其中又以肝臟和肺臟中 FAS 表現的最高 (Moustaid *et al.*, 1996)。

FAS 的 promoter 上有 stimulator protein (Sp1/Sp3)、NF-Y (nuclear factor Y)、USF (upstream stimulator factor)、SREBP 這些轉錄因子的結合位置。在基因轉殖小鼠的研究中，發現 SREBP 活化 FAS promoter 的位置位於 -278/-131 區域間，而在目標基因則是 -150 SRE (sterol-regulatory element) (Latasa *et al.*, 2000; Yang *et al.*, 2000)。利用基因突變的方式使得小鼠的 apo-B 基因發生突變產生受損的 apo-B，受損的 apo-B 無法攜帶脂質，使得肝臟無法輸出三酸甘油

酯。實驗中小鼠的肝臟中三酸甘油酯含量升高，並伴隨著脂肪酸合成降低，而和脂肪酸合成相關的基因如 SREBP1c、FAS 和 SCD1 表現皆下降。顯示當三酸甘油酯由肝中輸出受到限制時，造成三酸甘油酯的堆積在肝臟內，使得肝臟脂肪酸合成的能力也跟著受到抑制 (Lin *et al.*, 2002)。

以大鼠肝臟初級細胞培養 (Prip-Buus *et al.*, 1995) 和人類肝臟細胞培養 (Semenkovich *et al.*, 1993) 的實驗中，添加葡萄糖的處理會促使細胞內 FAS 表現增加；當人類肝臟細胞培養於富含碳水化合物的培養液時，細胞增加三酸甘油酯的分泌 (Cianflone *et al.*, 1992)。在人類肝臟細胞培養過程中以不含脂蛋白的培養液，另外添加膽固醇和 25-OH Cholesterol 的培養，細胞中 FAS mRNA 的表現受到抑制，由此可知固醇類也可以調節 FAS 的表現 (Bennett *et al.*, 1995)。人類肝臟細胞培養的實驗中，以缺乏特定胺基酸培養液的方式，發現缺乏必須胺基酸時細胞 FAS mRNA 的表現受到抑制 (Dudek *et al.*, 1995)。

Zucker 大鼠為缺乏 leptin receptor 的老鼠，在此種大鼠的肝臟和脂肪組織有 FAS 大量表現。因此 leptin

受體缺乏時可能會使得 FAS 的表現增加 (Bazin and Lavau, 1982)。在 *Drosophila* SL2 細胞培養的實驗中發現 FAS 的表現受到 SREBP1 的調節，且 SREBP1 與 Sp1 對 FAS 基因啟動子的活化具有協同作用。因為 SREBP1 基因本身具有調節脂質與膽固醇代謝的能力，所以在此實驗可以由 FAS 與 SREBP1 之間的調節連結起脂質與膽固醇彼此間的關聯 (Bennett *et al.*, 1995)。

動物體內的荷爾蒙與能量的新陳代謝彼此互相影響，所以和脂質合成相關的 FAS 也會受到荷爾蒙的調節。胰島素可增加小鼠肝臟 FAS 的轉錄作用 (Paulauskis and Sul, 1989)。在大鼠的實驗中投與 glucagon 或 dibutyryl cAMP，可降低 FAS 的合成 (Lakshmann *et al.*, 1972)；當 3T3-L1 脂肪細胞以 dibutyryl cAMP 處理，也會降低 FAS mRNA 的表現 (Paulauskis and Sul, 1989)。

在肝臟初級細胞培養實驗中，發現九週齡大公雞的肝臟細胞在培養的第七日後，FAS 的 mRNA 表現逐漸上升 (Douaire *et al.*, 1993)。以雞胚肝臟細胞的研究方式，發現添加葡萄糖可增加細胞 FAS mRNA 和活性；而在配合添加甲狀腺素時以 25nM 的葡萄糖培養細

胞，可以增加 FAS 基因轉錄的速率 (Hillgartner and Charron, 1998)。

雞隻 FAS 的表現也受到營養狀態的影響，在飼料中分別使用 12、21、30% 三種不同的蛋白質濃度飼料餵飼肉用公雞，結果以 12% 的飼料餵飼時肝臟脂質新生表現最旺盛。雖然 12% 和 21% 的蛋白質濃度皆可增加 FAS 的表現，可是在 30% 的蛋白質濃度時反而會使得 FAS 表現下降 (Rosebrough *et al.*, 2002)。在比較以大麥為主和玉米為主的飼料兩者對 FAS 影響的實驗，發現以大麥為主的飼料相較於以玉米為主的飼料會使雞隻肝臟的 FAS 活性增加 (Qureshi *et al.*, 1980)。

當雞隻飼料中能量與蛋白質比率為 139、158、177 時，顯示蛋白質比率增加時肝臟的脂質新生也隨著增加。將比率定為 139 時，分別將飼料脂質的濃度調整為 2.0、4.1、6.3、8.6%，結果顯示脂質的濃度 2.0% 以上都可以增加雞的生長和飼料換肉率。除此之外肝臟中脂質新生和 FAS 的活性隨著飼料中脂質的濃度增加，呈現下降的情況 (Donaldson, 1985)。

在雞胚肝臟細胞的實驗發現甲狀腺素可刺激細胞 FAS 基因的轉錄作用，而胰島素具有強化此刺激作用

的能力 (Stapleton *et al.*, 1990); 並加強 FAS 基因的轉譯 (Wilson *et al.*, 1986)。除哺乳類之外，利用昇糖素處理雞的肝臟細胞，則藉由影響胰島素和甲狀腺來抑制 FAS 基因的轉錄和轉譯作用 (Wilson *et al.*, 1986)。然而對雞投與的甲狀腺素 (T3) 過高時，會抑制肝臟的 FAS 轉錄作用 (Kameda, 1995)。

三、脂質的傳遞與蛋中脂質的吸收

產蛋雞的 VLDL 特別小僅有 30-35nm (Chapman *et al.*, 1977; Evans *et al.*, 1979; Griffer *et al.*, 1982)。產蛋雞的 VLDL 和未成熟雞者相較下，產蛋雞的 VLDL 含有較多的三酸甘油酯與磷脂，且膽固醇的含量也較高 (Griffer *et al.*, 1982)，一般未成熟的雞 VLDL 上至少有六種以上主要的 apoprotein，而產蛋雞只有兩種 apoprotein (Perry *et al.*, 1984)。分別為 apoB 和 apo-VLDL-II，apo-B 為 375kD 的 apoprotein，而在未成熟的母雞也具有 apo-B。另一種 apoprotein 為 apo-VLDL-II，apo-VLDL-II 分子量 9.6 kDa (Dugaiczuk *et al.*, 1981)，一般僅發現於產蛋雞體內，未成熟的母雞和小公雞則不具有 (Deeley *et al.*, 1975)。

除了 lipoprotein 之外，正在產蛋的雞血漿有另一種蛋黃先驅物 vitellogenin，分子量為 480kD。vitellogenin 可轉化為蛋黃中的 phosvitin 和 lipovitellin (Jackson *et al.*, 1977)。

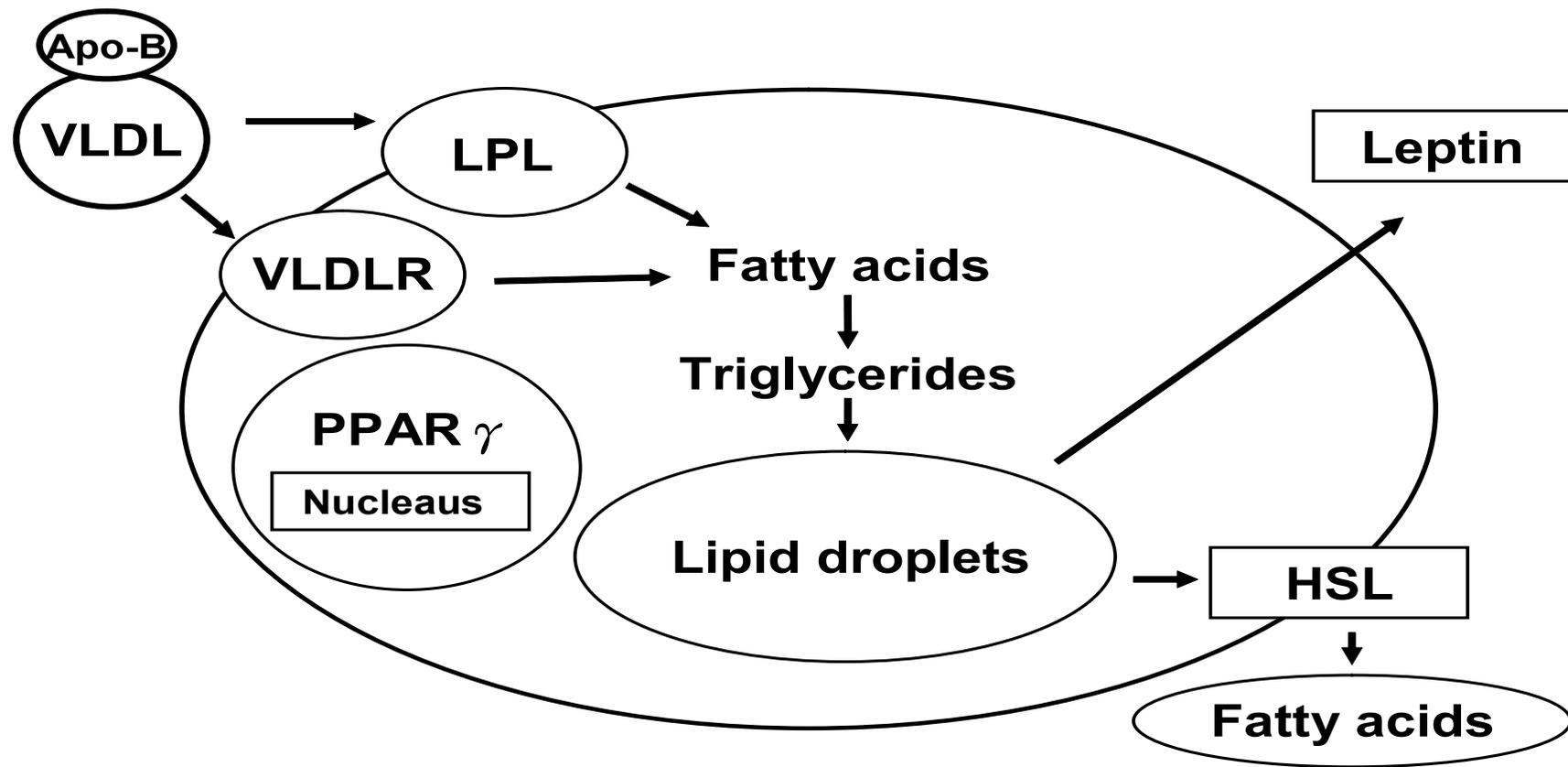
貳、脂肪組織的發育與調節脂質代謝

脂肪組織的發育主要取決於細胞數目與細胞大小。細胞數目的多寡受與脂肪細胞分化相關基因的調節，這些基因主要為 PPAR (peroxisome proliferator-activated receptor) 與 CEBP (CCAAT/enhancer-binding protein) 兩家族的基因，PPAR γ 則是其中具代表性的基因之一；細胞大小牽涉許多複雜的機制包括脂質的代謝、吸收與釋出等。調節脂質代謝對於動物體內能量平衡扮演著重要的角色，動物體內脂質的恆定主要由 SREBPs (sterol-regulatory-element-binding proteins) 調節。SREBPs 直接活化約 30 個基因，這些基因參與膽固醇、脂肪酸、三酸甘油酯和磷脂的合成與吸收的機制。由肝臟釋出鑲嵌 apo-B 的 VLDL 經血液循環到脂肪組織，脂肪細胞上的 LPL 可將 VLDL 內的脂質分解吸收，吸收的脂肪酸將以三

酸甘油酯的形式儲存於脂質小滴。隨著脂質吸收的增加，細胞 leptin 基因的表現將反應脂質堆積的情況。細胞內的 HSL 具有釋出脂質的能力，當 HSL 作用增強時脂質釋出增加，細胞的脂質小滴也會變小。因此 leptin 可以反應細胞內脂質堆積的情況，而 LPL、VLDLR 與 HSL 為脂肪細胞脂質堆積的重要因子 (圖三)。

一、脂肪組織的發育

PPAR 為一種核內泌素受體超家族 (the nuclear hormone receptor superfamily) 的成員 (Tontonoz *et al.*, 1995)。PPAR 本身有 PPAR α 、PPAR δ 和 PPAR γ 三種異構體，於結構上包含一個可與 DNA 結合的結構區 (DNA-binding domain)、兩個鋅指區段 (zinc finger motif) 及一能與配位體結合暨形成二聚體的結構區 (ligand-binding/dimerization domain) (Tontonoz *et al.*, 1995)。三者之間配位體結合結構區有明顯差異，受 PPAR 活化子 (activator) 所活化的過程也不同，這表示彼此有著不同的生理功能 (Kliwer *et al.*, 1994; Tontonoz *et al.*, 1995)。PPAR α 大量表現於心臟、肝



圖三、脂肪細胞脂質的吸收與釋出
 Fig. 3. Lipid absorption and release in adipocyte

臟、腎臟及褐色脂肪組織中 (Issemann and Green, 1990; Schoonjans *et al.*, 1996) ，而 PPAR δ 則於各組織中皆有表現 (Kliwer *et al.*, 1994; Amri *et al.*, 1995) 。

PPAR γ 被發現存在於人類和小鼠中 (Tontonoz *et al.*, 1994; Vidal-Puig *et al.*, 1997) 。PPAR γ 發現有兩種異構體，分別為 PPAR γ 1 和 PPAR γ 2，其分子量分別為 52 和 56 kDa (Tontonoz *et al.*, 1994) 。PPAR γ 1 除在脂肪組織大量表現外，於其他組織中也有少量的表現 (Vidal-Puig *et al.*, 1996; Mukherjee *et al.*, 1997; Vidal-Puig *et al.*, 1997) ；而 PPAR γ 2 則具組織特異性，其僅於脂肪組織中大量的表現 (Tontonoz *et al.*, 1994; Vidal-Puig *et al.*, 1996) 。

在結構上，PPAR γ 2 僅於 NH₂-端較 PPAR γ 1 者多了 30 個胺基酸 (Vidal-Puig *et al.*, 1997) 。Altiok 等 (1997) 的研究中發現，在 NIH-3T3 纖維母細胞培養液中添加 PPAR γ 的配位體 pioglitazone，並同時異位表現 PPAR γ ，則可誘使細胞走向分化。除此之外，若將 PPAR γ 2、RXR α 及 PPAR α 分別選殖至 NIH 質體，轉染至纖維母細胞中，使其成為穩定轉染的細胞株 (stable-transfected cell line)，當培養液中添加入 insulin、Dex

及 PPAR 的活化劑 ETYA 時，僅 NIH-PPAR γ 2 這個細胞株有油滴堆積的情形，且依北方點墨法結果顯示亦只有於 NIH-PPAR γ 2 細胞株中一些與脂肪細胞分化相關基因被活化，如 442/ap2、LPL 及內源性的 PPAR γ (Tontonoz *et al.*, 1994)。若添加 PPAR γ 的配位體 BRL49653 於 HIB-1B 前脂肪細胞株培養液中，藉此促使 PPAR γ 大量表現可誘使細胞走向分化，與脂肪細胞分化相關基因的 mRNA 表現量亦隨之增加 (Tai *et al.*, 1996; Kelly *et al.*, 1998)。

PPAR γ 在脂肪細胞內除了對分化的影響之外，對於 DNA transcription 也扮演著調節的角色。目前已知 PPAR γ 對於 LPL、acyl-CoA synthetase、fatty acid translocase (CD36)等基因有調節的功能(Desvergne and Wahli, 1999)。在最近研究中，Way 等人 (2001) 利用 real-time PCR 的方式觀察多個基因的表現，研究中利用不屬於 glitazone 的 GW1929 這種 PPAR γ 協同劑處理 Zucker diabetic fatty 大鼠，使得脂肪組織與肝臟中和脂質新生相關的基因如 SCD、LPL、acetyl-CoA 等基因表現增加。實驗中 GW1929 也會增加 SREBP1c 的表現，SREBP1 具有調節許多和脂質生成相關基因表現的

能力，這些基因包括有 FAS、ATP-citrate lyase、acetyl CoA 等。可是對於 GW1929 的處理，造成 PPAR γ 表現增加與 SREBP1c 表現的增加兩者間的關係並不清楚。

SREBP1 被證實可以活化 PPAR γ 的內源性的 ligand (Kim *et al.*, 1998)，而且經由增加 E-box motif 可使 PPAR γ promoter 活性上升 (Fajas *et al.*, 1999)。在增加脂質新生的方面 PPAR γ 具有調降 leptin 基因表現的能力 (De Vos *et al.*, 1996; Kallen and Lazar, 1996)。在 PPAR γ 和 leptin 之間，兩者皆會因斷食而下降；在飽食時則表現增加。

PPAR γ 具有增加脂肪組織中 adipogenesis 和 lipogenesis 的能力，這兩者又與肥胖有著密不可分的關係。Kubota 等人 (1999) 的研究中觀察到對小鼠餵飼富含脂質的飼料，比較 PPAR γ 突變的雜合子小鼠和對照組。發現突變的雜合子小鼠體重增加的情況較慢，且脂肪組織比較小。在這實驗中比較可惜的是 PPAR γ 突變的純合子小鼠無法存活到成鼠，所以未能得知完全突變時的影響。Vidal-Puig 等人 (1996) 觀察 gold thioglucose 和 ob/ob 兩種不同肥胖模式大鼠的研究中發現兩者間 PPAR γ 表現不受影響，而在正常的大鼠中

餵飼富含脂質的飼料時 PPAR γ 表現增加 50%。Shimoike 等人 (1998) 以 Zucker diabetic fatty 大鼠 與 lean 對照 大鼠 互相比較後，兩者在內臟部分與皮下部分的脂肪組織內 PPAR γ 1 和 PPAR γ 2 之間表現沒有差別，可是 Gorla-Bajsczak 等人 (2000) 卻認為 Zucker 肥胖老鼠的白色脂肪組織 PPAR γ 的表現量是瘦的兩倍。在人方面的研究，Hotta 等人 (1998) 指出 PPAR γ 2 和 PPAR γ mRNA 全體的表現量，在這兩者的比率與人的肥胖的有著關聯。Lefevre 等人 (1999) 研究中比較正常體型和腹部肥胖體型的人，兩者間 PPAR γ mRNA 的表現量以腹部肥胖的人表現量較多。觀察即便如此，Acboeuf 等人 (1997) 與 Krempler 等人 (2000) 則認為 PPAR γ 和肥胖間的關聯目前尚不清楚。以上研究發現 PPAR γ 對於脂肪細胞的分化和調節脂質的堆積具有關鍵的影響。

二、調節脂質代謝

脂肪組織分泌的內分泌素 leptin 具有調節脂代謝的能力，leptin 的分泌可降低攝食和增加能量的消耗 (Zhang *et al.*, 1994)；其分泌速率受到脂肪組織的體積

的影響 (Hamilton *et al.*, 1995; Maffei *et al.*, 1995; Klein *et al.*, 1996)。除了主要由脂肪組織分泌外，在骨中的脂肪細胞 (Laharrague *et al.*, 1998)、胎盤 (Hoggard *et al.*, 1997) 及禽類的肝臟 (Taouis *et al.*, 1998; Friedman-Einat *et al.*, 1999) 這些組織也會分泌 leptin。雞隻的 leptin 與大鼠、小鼠及人類這三種哺乳類之間的相似度分別為 97%、96%、83% (Taouis *et al.*, 1998)。

雞隻 leptin 除了在脂肪組織表現之外，在肝臟也有 leptin 的表現 (Richards *et al.*, 1999; Taouis *et al.*, 1998)。如同哺乳類一樣禽類 leptin 會對攝食造成影響，注射 leptin 後雞隻的攝食量會降低，且注射量與攝食降低的狀況兩者間呈劑量反應的關係 (Denbow *et al.*, 2000)。觀察脂肪組織與肝臟對於營養狀態改變的反應，發現飢餓的雞隻肝臟和脂肪組織中 leptin 的表現都會比飽食時來得低，而此改變對肝臟 leptin mRNA 表現的影響比對脂肪組織的影響還要多 (Ashwell *et al.*, 1999)。

在 leptin 與內分泌調節方面，利用限飼或生長激素處理的實驗中，以生長激素處理會造成雞隻肝臟和

脂肪組織 leptin mRNA 表現降低 (Ashwell *et al.*, 1999)。在肉雞的實驗中對雞隻注射胰島素和 dexamethasone 會提高 leptin mRNA 在肝臟的表現；升糖素和雌激素則會降低表現。而脂肪組織中，除了雌激素可以降低 leptin mRNA 表現之外，其他內分泌素的處理並不影響脂肪組織中 leptin 的表現 (Ashwell *et al.*, 1999)。由此可推測禽類的肝臟和脂肪組織，兩組織 leptin 的表現對於不同內分泌素的處理在敏感性上有著不同的反應。尤以實驗結果可以發現禽類肝臟 leptin 扮演的角色如同哺乳類的脂肪組織，在攝食和調節能量上扮演著重要的角色。

哺乳動物的 SREBP 分為三種異構體分別為 SREBP-1a、SREBP-1c、SREBP-2。SREBP-1a 具有活化所有 SREBP-response gene 的能力，主要調節參與合成膽固醇、脂肪酸和三酸甘油酯的基因。相較於 SREBP-1a 可以廣泛的活化許多基因，SREBP-1c 和 SREBP-2 活化基因的範圍較小。SREBP-1c 可活化參與合成脂肪酸的基因，但不具活化參與膽固醇合成能力的基因；SREBP-2 剛好相反，具有活化成膽固醇能力的基因。大部分的細胞株中都會表現 SREBP-1a 和

SREBP-2；而 SREBP-1c 和 SREBP-2 主要在肝臟表現 (Brown and Goldstein, 1997)。和 SREBP-1c 相關基因有 ATP-citrate lyase、acetyl-CoA carboxylase、Fatty acid synthase 和 Stearoyl-CoA desaturase 等，這些都是和三酸甘油酯及磷脂合成相關基因 (Edwards *et al.*, 2000)。

當小鼠的肝臟高度表現 SREBP-1c 時，肝臟中出現三酸甘油酯堆積的情形而膽固醇並沒有改變；肝臟 FAS 基因 mRNA 的表現也增加為兩倍 (Shimano *et al.*, 1997)。在 Shimomura 等人 (1998) 的研究中也在小鼠的肝臟高度表現 SREBP-1c，發現參與脂肪酸合成的相關基因 mRNA 表現與三酸甘油酯合成速率增加四倍，和膽固醇合成相關基因與合成速率則未增加。除了 SREBP1c 之外，在肝臟高度表現 SREBP-1a 時 SCD1 基因也表現增加，同時發現肝臟含有 65% 油酸 (C18:1) 遠高於控制組的 15-20% 這顯然與 SCD1 基因的作用有關 (Shimomura *et al.*, 1998；Moon *et al.*, 2001)。由此可知 SREBP-1 可活化調控和脂肪酸合成相關的基因，由此可見 SREBP-1 與脂肪酸合成的機制有著密切的關聯。

當小鼠餵飼富含碳水化合物的飼料時，SREBP-1及其他脂質合成相關基因 SCD、FAS、glycerol -3 -phosphate acyltransferase 等在肝臟 mRNA 的表現與脂質的堆積都增加 (Miyazaki and Ntambi, 2001)。在 3T3-L1 脂肪細胞中活化 SREBP-1 基因的表現，可增加和脂肪細胞分化相關基因 PPAR γ 的表現 (Kim and Spiegelman, 1998; Fajas *et al.*, 1999)。利用轉染的方式使雞隻脂肪細胞高度表現 SREBP-1 後，細胞內 FAS 蛋白質的表現量增加 (Gondret *et al.*, 2001)。

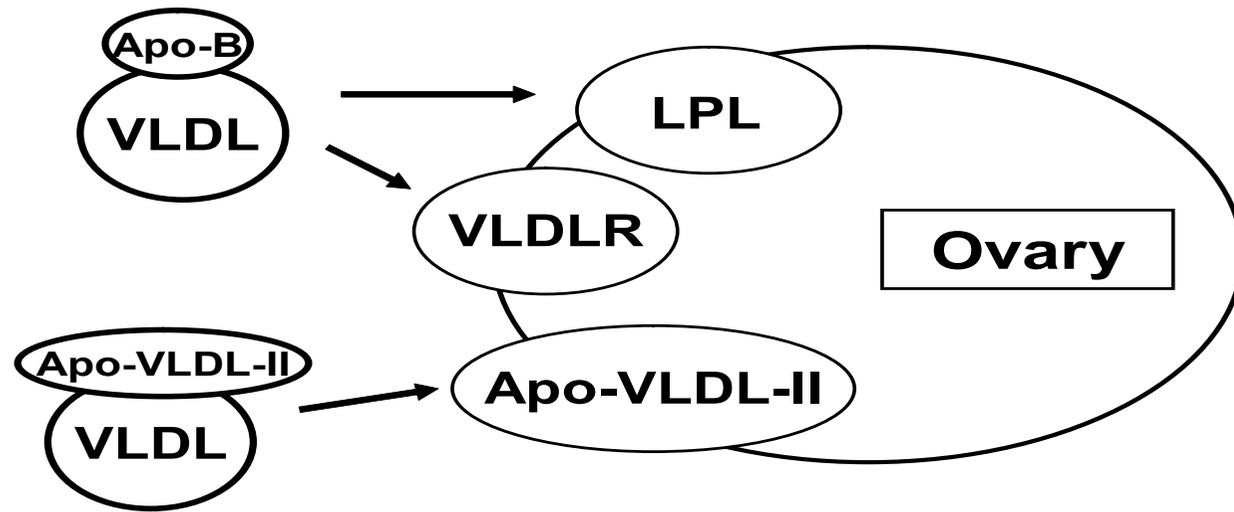
哺乳類脂質主要在脂肪組織中合成；不同於哺乳類，禽類肝臟為體內脂質的主要來源。觀察雞和豬兩者肝臟與脂肪組織中 SREBP-1、SREBP-2 mRNA 的表現，發現雞和豬 SREBP-2 mRNA 於肝臟與脂肪組織的表現在兩物種間差異不大。在 SREBP-1 mRNA 的表現方面，在雞隻的方面觀察到 SREBP-1 肝臟的表現量大於脂肪組織；豬隻的 SREBP-1 則主要在脂肪組織中表現。同時兩物種 FAS 蛋白質的表現量，也和 SREBP1 基因的表現有著相同的情況 (Gondret *et al.*, 2001)。由此可推測 SREBP1 是配合著脂質合成組織來表現。

參、脂肪組織、肌肉與卵巢中脂質的吸收與利用

前人研究中可以了解肝臟為禽類脂質合成最重要的器官，由肝臟輸出的脂質主要以 VLDL 的形式在體內用送，這些脂質可作為脂質的儲存、能量的利用或繁殖方面的使用（圖二）。組織內的細胞如脂肪細胞與肌肉細胞是經由 VLDLR 與 LPL 的作用，吸收 VLDL 的脂質（圖三）。卵巢脂質的吸收主要以鑲嵌 apo-VLDL-II 的 VLDL 為主，因為其具有比較小的體型可透過卵巢直接吸收，也有 VLDLR 與 LPL 協助吸收脂質，然而卵巢脂質的吸收是否有其他路徑例如 apo-VLDL-II 的接受體，目前仍未發現（圖四）。

一、脂肪組織與肌肉脂質的吸收與利用

LPL 對於水解血漿中的脂蛋白的速率，扮演著關鍵的角色。LPL 的活性受到年齡、環境與營養的影響 (Cryer, 1981)。哺乳動物在飽食的時候，脂肪組織中 LPL 的活性會增加而肌肉組織中 LPL 的活性則是降低，使得脂質得以儲存在脂肪組織；然而飢餓時則是相反的，肌肉中 LPL 活性提高以獲取能量。然而禽類脂肪組織中 LPL 活性在飢餓時並沒有很大的改變，禽



圖四、卵巢脂質的吸收
Fig. 4. Lipid absorption in ovary

類脂肪組織中 LPL 活性受到血漿中 VLDL 濃度改變的影響。當 VLDL 濃度上升時，活性增加；VLDL 濃度下降則反之 (Hermier *et al.*, 1984)。

LPL 的活性在禽類的組織中受營養狀態的影響遠比哺乳類來得小，在脂肪組織或肌肉中的活性即使在飽食幾乎影響或僅有微量的減少，心肌的增加也很微量 (Evans, 1972 ; Husbands, 1972 ; Benson and Bensadoun, 1977 ; Griffin and Butterwith, 1988)。這也許代表著禽類脂蛋白在血漿的濃度比 LPL 的活性對細胞脂質的吸收還要重要。可是在比較肉雞與蛋雞的實驗，發現雞腹脂的發育遠比蛋雞來得快，兩者血漿中 VLDL 的濃度十分相似；但肉雞腹脂 LPL 的活性比蛋雞高 24 倍 (Griffin *et al.*, 1987)。但是在利用體脂比例所選拔的雞作的實驗結果，發現肥胖品系的雞隻腹脂的 LPL 活性比瘦的品系高 4 倍 (Leclercq *et al.*, 1980)。

在白色脂肪組織中，最先被確認與脂質分解有關的酵素為 HSL (Vaughan *et al.*, 1964)。HSL 主要功能就是將脂肪組織中的脂質分解釋出。HSL 在脂肪組織中表現最多，腎上腺、卵巢、睪丸也有 HSL 的表現，而心肌、骨骼肌和白血球則有少量的表現 (Holm *et al.*,

1988; Kraemer *et al.*, 1993)。HSL 的基因包含 9 個 exon 的區域，長度在人為 10kb；在大鼠為 11 kb (Li *et al.*, 1994)。以 SDS-PAGE 純化大鼠的蛋白質為 84 kDa，人類的則為 88 kDa (Langin *et al.*, 1993)。

HSL 主要可以分解細胞中的三酸甘油酯，也可分解 diacylglycerol、mono-acylglycerol、cholesteryl ester (Kraemer and Shen, 2002)。與其他解脂酶相較下，HSL 並沒有分解磷脂質的能力。HSL 主要作用為分解脂質，然而控制分解脂質的機制牽涉暨廣泛又複雜，內泌素、內泌素接受體、內泌素的訊息傳遞過程與脂質小滴接觸的酵素包括 HSL 與其他未知的解脂酶皆參與解脂的機制。在這機制中 HSL 可作為一個觀察脂質分解的指標。

發現以 catecholamine 刺激 3T3-L1 和大鼠的脂肪細胞，會使得細胞質內磷酸化的 HSL 移動到脂質小滴的表面 (Clifford *et al.*, 2000)。利用免疫螢光染色的方式，發現本來散佈在脂肪細胞內的 HSL 在經過 catecholamine 的刺激後，會聚集到脂質小滴的表面 (Brasaemle *et al.*, 2000)。許多刺激脂解的物質如 isoproterenol、forskolin、cAMP theophylline、okadaic

acid 等皆可促進 HSL 的移動 (Morimoto *et al.*, 2000; 2001)。可是這些實驗結果並非適用所有生理狀況，例如在哺乳中或年老的大鼠即使有這些刺激解脂的物質存在的情況下，仍然沒觀察到 HSL 移動的現象 (Clifford *et al.*, 2001)。

雖然螢光染色觀察的結果對於刺激解脂的物質與 HSL 移動之間的機制尚無法有清楚的了解，然而在其他研究結果顯示 HSL 為細胞內脂質分解的速率限制酶 (Sztalryd *et al.*, 1995)。利用轉染的方式使 3T3-F442A 細胞大量表現 HSL，與對照組的細胞相較之下，大量表現 HSL 的細胞中脂質的堆積較少 (Haemmerle *et al.*, 2002)。HSL null 小鼠的脂肪組織中 diacylglycerol 的量明顯比正常小鼠來得多，即使在 catecholamine 的刺激下也只有少量的脂質釋出。除此之外，由 HSL null 小鼠取出的脂肪細胞比較肥大 (Osuga *et al.*, 2000)。

大鼠皮下脂肪組織的 HSL 蛋白質和 mRNA 的量比內臟的脂肪組織來的低 (Sztalryd and Kraemer, 1994)；而人類皮下脂肪組織的 HSL 的活性和 mRNA 的量卻比內臟的脂肪組織來得高 (Reynisdottir *et al.*, 1997)，這可能代表著物種間相同

部位的脂肪組織其脂質分解速率也不同。在控制皮下脂肪組織中脂肪細胞大小時，HSL 蛋白質和 mRNA 的量與脂質分解的活性有著顯著的關聯 (Large *et al.*, 1998)。而 HSL 的表現與細胞大小的正相關在 Berger 與 Barnard (1999) 的研究中，發現當大鼠餵飼富含脂質的飼料時脂肪細胞中脂質堆積增加，其基礎或刺激後的 HSL 活性皆增加。然而這些大鼠斷食幾天後，HSL 的活性蛋白質和 mRNA 的量皆增加了兩倍，脂肪細胞也變小了 (Sztalryd and Kraemer, 1994)。觀察在冬眠斷食狀態的土撥鼠其 HSL mRNA 的表現得到相同的結果 (Wilson, *et al.*, 1992)。

在大鼠、小鼠、人 HSL 的 cDNA 序列已成功獲得 (Anthonsen *et al.*, 1997)。其中大鼠和小鼠的相似度為 92%；而人和小鼠的相似度為 78%。在不同的哺乳類間看來 HSL 具有高度的相似性。在 *in vitro* 的研究，大鼠的 HSL 的磷酸化反應與人的 HSL 相似 (Contreras *et al.*, 1998)。可是雞的 HSL 和其他哺乳類相較之下，對磷酸化有著不同的反應 (Khoo and Steinberg, 1974)。由雞萃取出來的 HSL 對於 cAMP- dependent 蛋白質激酶的反應約增加 400% 倍，至多到 1000%。這與大鼠或

人的 HSL 增加的倍率 59%與 86%相差甚多，此一反應可藉由添加蛋白質激酶抑制劑來抑制。如果再加入更多的蛋白質激酶時，又可以恢復反應 (Khoo and Steinberg, 1974)。可是在 Anthonsen 等人(1997) 的研究中，卻認為雞的 HSL 反應與哺乳動物相似。除此之外 Sztalryd 與 Kraemer (1994)的研究有著相同的結果當雞在飽食時，脂肪組織中 HSL 活性比飢餓者來得低 (Cho and Park, 1990)。

二、卵巢中脂質的吸收與利用

蛋雞的卵巢中有數千個卵。這些卵大部分小於 1mm，且不會發育為成熟的卵。每次會有 6-5 個卵在 6-7 天內直徑由 4mm 發育到 37mm，蛋黃內有 2/3 的固型物都是在這段時期形成的。這些固型物大都是含三酸甘油酯的脂蛋白，約以每日 5g 的速率由血漿進入卵巢。

血漿中的 VLDL 必須先穿越卵巢週齡遭的組織，再透過由受體調節的胞飲機制才能進入卵中。產蛋中的雞隻體內會產生較小的 VLDL，這些 VLDL 可通透過卵巢的基葉 (basal lamina) (Griffin *et al.*, 1985)。

Evans 等人 (1979) 也確認產蛋中的雞隻的 VLDL 的確可輕鬆的穿越基葉。除此之外，發現 portomicron 的體積太大了並沒有辦法穿過基葉，也許卵巢可藉此分辨肝臟合成的與來自消化道的脂蛋白。穿過基葉後 VLDL 與受體結合進入卵中 (Griffin and Perry, 1985)。

在九週齡時犧牲雞隻以腹脂做為選拔標準，經七代的選拔，育種成胖品系：腹脂大，所產的蛋較輕；瘦品系則是相反。屬於胖品系的母雞，體重在九週齡後變得比屬於瘦品系來得低 (Leclercq and Simon, 1982)。在產蛋高峰和末期瘦品系都比胖品系來得胖 (Leclercq and Simon, 1982)，而胖品系和瘦品系的產蛋率並沒有差異。可是胖品系的蛋黃比瘦品系大，由此推論胖品系對蛋黃合成的能力大於瘦品系 (Leclercq *et al.*, 1985)。

三、人為選拔對雞隻脂質吸收與利用的影響

Liburn 等人(1982)以腹脂大小作選拔的雞隻利用 H^3 追蹤肝臟脂質合成速率，發現比較腹脂大的雞隻肝臟中 H^3 的轉換率比腹脂小的雞來得快。Saadoun 和 Leclercq (1983; 1986; 1987) 與 Bannister 等人(1984)

利用和脂質合成相關的基因做為選拔的標準，選出具有高低兩種不同 VLDL 濃度的品系。研究結果發現和脂質生成相關的酵素在 VLDL 濃度高的品系活性較高。

然而 Legrand 等人 (1987) 以腹脂做為選拔的標準，發現雖然腹脂大的品系肝臟 SCD 的酵素活性較高，可是利用 [^{14}C] acetate 觀察腹脂大的品系和腹脂小的品系三酸甘油酯的情況，則是認為腹脂大和腹脂小的品系上的差異主要在於血漿和脂肪組織中三酸甘油酯含量上的差異。認為腹脂大的雞肝臟分泌較多的三酸甘油酯是造成雞腹脂堆積的主要原因。

比較體重高和體重低這兩種體重不同的品系：對於脂質合成和分解能力的差異的研究中，發現體重高和體重低有著不同的脂質更新速率。體重低的公雞體內和脂質合成相關酵素的活性比較高，肝中合成脂質的能力也比較強。此外體重低的品系在 *in vitro* 的實驗中，發現其脂肪組織釋出脂肪酸卻比體重高的品系來得多。在血漿中脂質含量的觀察，也是顯示體重低的品系血漿中脂肪酸濃度比較高。可見體重低的品系雖然合成脂質的能力較強，可是脂肪組織釋出脂肪酸的能力也比體重高的品系高，也許這是造成體重低的品

系體重比體重高品系的體重還低的主要原因 (Siegel and Cheruy, 1981)。

NADPH (dihyronicotinamide adenine dinucleotide phosphate) 為參與脂質新生中一個十分重要的輔酶。觀察雞隻胖的品系和瘦的品系中和 NADPH 相關的基因 glucose 6-phosphate dehydrogenase、6-phosphogluconate malate dehydrogenase、isocitrate dehydrogenase 發現胖的品系中這些酵素的量和活性都比瘦的品系來得高。以血漿中 VLDL 含量高低所選拔出來的兩種品系 (Whitehead and Griffin, 1984)，利用以 ^3H 或 $^3\text{H}_2\text{O}$ 的方式觀察肝臟脂質合成的情況，來計算兩品系間第三週齡和第六週齡時脂質新生的差異。在第三週齡和第六週齡，兩品系 VLDL 的差別分別為 3.27 倍和 1.88 倍，而腹脂在第六週齡則是相差 2.13 倍。然而高低不同的 VLDL 兩品系間肝臟脂質新生的情況相差不大。由於 SCD 和不飽和脂肪酸合成相關，這些脂質經由 VLDL 的輸送到脂肪組織儲存，因此 SCD 在肝中的活性對雞的胖瘦程度應有密切的關聯，實驗結果顯示胖的品系脂肪組織比較重，且在肝中 SCD 活性較高。

未成熟的雞肝臟增加 VLDL 分泌速率會影響脂肪

組織中脂質堆積的速率，當 VLDL 在血漿中濃度上升時，LPL 活性隨之上升；而 VLDL 濃度下降，其活性也跟著降低 (Griffin, 1987)。血漿中 VLDL 濃度的改變也會影響其他組織中 LPL 的活性，當小鼠血漿中 VLDL 濃度下降時，肌肉中 LPL 的活性就會比脂肪組織中高 (Fielding, 1976; 1977)。Hood (1984) 推測肉雞脂肪細胞肥大和細胞增生在 14 週齡的雞腹脂中同時進行，而之後只剩細胞肥大繼續進行。正在產蛋的雞脂肪組織中 LPL 的表現比未成熟的雞來得低 (Husbands, 1972)。似乎是個限制脂肪組織攝取三酸甘油酯的一個因子，且對小雞施打雌激素後，發現會使得脂肪組織間 LPL 活性下降 (Hasegawa *et al.*, 1980)。

在餵飼低脂的飼糧時，雞血漿中三酸甘油酯的濃度在胖的品系比瘦的品系高 1.5-2.5 倍，可是當餵飼高脂的飼糧食這差異變得較小 (Saadoun and Leclercq, 1983; Leclercq, *et al.*, 1984)。在以 VLDL 做選拔的雞群，LPL 活性在 VLDL 表現低的品系的腹脂、腿肌、心肌中皆比 VLDL 表現高的品系高 (Whitehead and Griffin, 1984)。

材料與方法

壹、實驗材料

實驗材料為中興大學土雞選拔品系：L2 品系：母系，以初產至 40 週齡的產蛋數為選拔標準。B 品系：公系，以八週齡體重與雞冠大小為選拔標準。兩品系來自相同的基礎族群，經 18 世代選拔，在產蛋能力上，兩品系出現顯著的差異，於第十八世代 L2 與 B 品系，至 40 週齡的產蛋數分別為 87 ± 19 及 58 ± 17 枚。

貳、實驗方法

一、RNA 萃取

取得的組織每 500 mg 和 5 ml 的 Trizol reagent (Invitrogen, 15596-026) 混合，以均質機 (Polytron, PT 2100; PT-DA 2107/2EC) 均質完全。靜置於室溫中 5 分鐘；若是萃取脂肪組織的情況，在均質完全後以 4°C ，8000 x g (roter 1615, MIKRO 32R) 離心 2 分鐘後，油脂會浮在離心管的上層，RNA 則存在懸浮液中。去除浮油，取出懸浮液到新的離心管內。接著加入 1 ml chloroform (Sigma USA, C-2432) 密封離心管，

以手搖晃 15 秒後靜置於室溫中 3 分鐘，以 4°C，1200 x g 離心 15 分鐘。取上清液分裝到離心小管，依使用 1ml Trizol reagent 配合 0.5 ml isopropanol (Sigma USA, I-9516) 的比例添加到各管中，於 -20°C 中靜置一夜。隔日以 4°C，12000 x g 離心 10 分鐘 (roter 1689, MIKRO 32R) 去除上清液，依使用 1 ml Trizol reagent 配合 1 ml 75 % 酒精的比例添加 75 % 酒精到各管中，以清洗離心後的白色沉澱物。接著 4°C，7500 x g，離心 5 分鐘後徹底的去除了上清液。將離心小管的蓋子打開置入無菌操作台內靜置 5 分鐘後，以滅菌水溶解沉澱物；再置於 60°C 中 10 分鐘，之後將樣品保存於 -80°C。

二、反轉錄反應 (RT, reverse transcription)

將萃取出來的 RNA 以光譜儀 (DU[®]530 Life Science UV/Vis Spectrophotometer, BECKMAN) 於 260 nm 的波長下測量吸光度，再利用 RNA 凝膠電泳定量並同時觀察 RNA 的品質。定量後的 RNA 調整至 3 μ g/4 μ l，之後步驟以 Superscript[™]

II(Invitrogen, 18064-022) 進行置於 PCR 離心管內接著加入 1 μ l random primer (300ng/ μ l)和 7 μ l 的滅菌水均勻混合。置於 70 $^{\circ}$ C, 10 分鐘後快速地将樣本置於冰上, 之後再加入 4 μ l 5X buffer、2 μ l DTT (0.1M) 和 1 μ l dNTP (10mM) 混合均勻; 置於 42 $^{\circ}$ C 兩分鐘後, 加入 1 μ l Superscript II RT (200 unit/ μ l), 再置於 25 $^{\circ}$ C, 10 分鐘。最後加 1 μ l RNase H (2 unit/ μ l) (Invitrogen, 2150A), 置於 37 $^{\circ}$ C, 20 分鐘後樣品存 -20 $^{\circ}$ C。

三、即時聚合酶鏈鎖反應 (real time-PCR)

本研究中的引子採用 Primer Express (ABI, USA) 軟體設計, 引子序列如引子序列表所示。每個反應管混合 12.5 μ l 的 SYBR[®] Green PCR Master Mix (ABI, 4309155) 與 2 μ l 的 cDNA, 加入引子配至合適的濃度, 引子使用濃度如引子濃度表所示, 反應總體積為 25 μ l。以 ABI Prism 7000 系統進行 real time-PCR, 反應條件如下: 50 $^{\circ}$ C、2 分鐘, 95 $^{\circ}$ C、10 分鐘, 之後 95 $^{\circ}$ C、15 秒, 60 $^{\circ}$ C、1 分鐘, 共 40 個循環。

引子序列表：

引子名稱	序列
HSL-F	5' CCCGAGGCTCCCTTTCC 3'
HSL-R	5' TGCTTGACAGCCCAGCAGTA 3'
apo-B-F	5' TAACTGATGTTGAAGGAAAAGGAAGAC 3'
apo-B-R	5' GCAGACCAATATCGGATTTTTTCT 3'
apo-VLDL-II-F	5' GCTTGGGCTGTTCTTCCTATCTT 3'
apo-VLDL-II-R	5' GCCAATTACGCCACATGAAGT3'
SREBP1-F	5' ACCGTTCTCTATCAATGACAAGATT 3'
SREBP1-R	5' GACAGCAGATTTATTCAGCTTTGC 3'
leptin-F	5' CATCTGCTGGCCTTCTCCAA 3'
leptin-R	5' TCCAGGCTCTCTGGCTTCTG 3'
SCD-F	5' GCGGCAGCCCAATGG 3'
SCD-R	5' GCCAGGCTCTCGCATGAT 3'
VLDLR-F	5' GCTTGGGCTGTTCTTCCTATCTT 3'
VLDLR-R	5' GCCAATTACGCCACATGAAGT 3'
LPL-F	5' GTTCTCCTGGCCTTGCTAACTG 3'
LPL-R	5' TTGCCAAACACACCACTTGAA 3'
FAS-F	5' GCATGTCACAACCTCTGAGGATACTGT 3'
FAS-R	5' GCCATGTAATAGGAATGAAATGCA 3'

PPAR γ -F	5' CCAGCGACATCGACCAGTT 3'
PPAR γ -R	5' AGGACTTTATGTATGAGTCATACAAATGC3'
18S	QuantumRNA™ Universal 18S Internal Standard
附註:F 為 forward ; R 為 reverse	

引子濃度表：

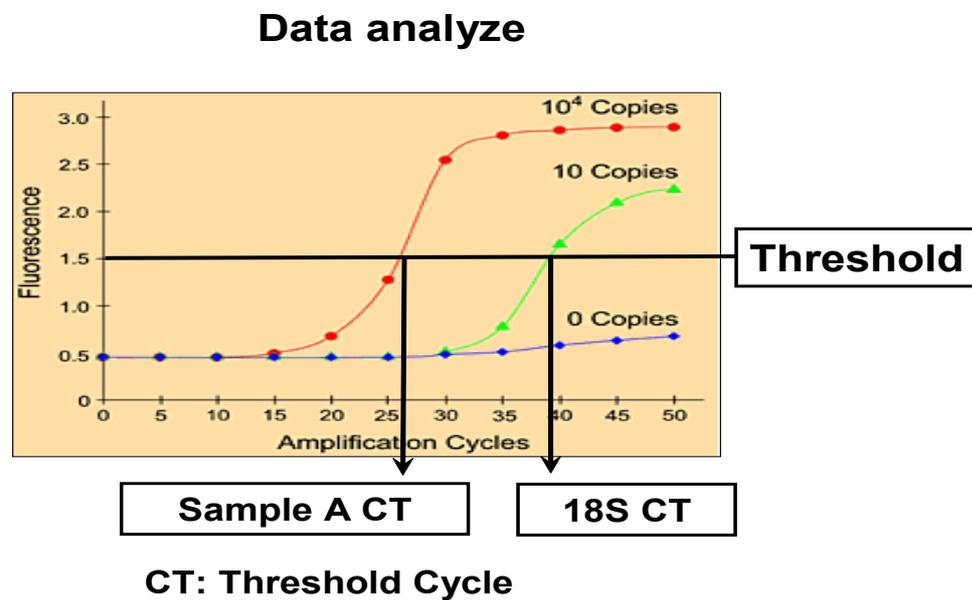
基因名稱	引子濃度 (nM)	基因名稱	引子濃度 (nM)
HSL	250	VLDLR	250
apo-B	700	LPL	700
apo-VLDL-II	700	FAS	500
SREBP1	1000	PPAR γ	200
Leptin	750	18S	50
SCD	1000		

反應流程：（使用儀器：ABI PRISM 7000）

Initial Steps		40 Cycles	
Hold		95°C	60°C
50°C ,2min	95°C ,10min	15sec	1min

Real time-PCR 的特色在於及時紀錄，所以實驗結果的計量方式如 real time-PCR 分析圖所示。由儀器設定合理的螢光值，其值以 threshold 作為延伸，再觀察樣本 (sample A) 預觀察的基因表現與其 18S 基因的表現和 threshold 相交時的 cycle 數 (CT)。實驗中以 18S 作為內部控制組 (internal control) 的引子，所以計算方式為樣本 (sample A) 預觀察基因的

Real time-PCR 分析圖：



$$\text{Sample A CT} - 18\text{S CT} = \text{Sample A-18S CT}$$

$$1/(2^{\text{Sample A-18S CT}}) = \text{Sample A expression level}$$

CT 值減去其 18S 基因的 CT 值，所得之值再以 2 的倒數次方換算即得樣本 (sample A) 預觀察基因表現的值。

四、肌肉組織切片及 oil-red O 脂質染色

將取下的半膜肌 (semimembranosus muscle) 先以包埋劑 (Tissue-Tek. O.C.T. compound embedding medium) 包埋，置於 -20°C 中待其凝固。並將冷凍切片機 (CM1850, Leica) 設定為工作狀態，取出凝固的樣本以包埋劑固定於切片台上，切片厚度則設為 $10\mu\text{m}$ 。開始切片，將切片沾黏於預先包覆 poly-L-lysine (Sigma USA, P-8920) 的玻片上，以 1.44% 的 oil-red O (Sigma USA, O-0625) 染劑於室溫下染色 12 分鐘；再以清水浸潤 20 秒 2 次，之後置於流動的清水中 10 分鐘。最後用 glycerine jelly 封膠，以顯微鏡進行觀察脂質堆積的情況。

五、脂肪組織切片及 eosin 染色

將取下的腹部脂肪組織先以 4 % paraformaldehyde (Sigma USA, P-6148) 於 4°C 浸泡

3.5 小時後，保存於含 15% 蔗糖的 1X PBS 內置於 4°C 冰箱過夜。隔日取出的樣本，先以包埋劑包埋，置於 -20°C 中待其凝固。並將冷凍切片機設定為工作狀態，取出凝固的樣本以包埋劑固定於切片台上，切片厚度則設為 14 μ m。開始切片，將切片沾黏於預先包覆 poly-L-lysine 的玻片上，以伊紅染劑染色 2 分鐘後，置於流水中 5 分鐘。用封片膠將蓋玻片固著於載玻片上，以顯微鏡進行觀察細胞大小。

參、統計分析

B 與 L2 來自相同的品系，因人為選拔形成不同產蛋性能的兩種品系。為了解兩品系間肝中脂質相關基因的表現與產蛋性能間的關聯，研究中分別在 22 週齡與 50 週齡採樣。

利用 real-time RT-PCR 的技術檢測肝臟組織內脂質相關基因的表現，real-time PCR 分析的結果經由觀察 Derivative view 的結果去除非專一性與無法由儀器偵測到的樣本。留下的資料比較之後發現有部分樣本的數據明顯與其所屬的群組的表現差異甚具，若將這些樣本的數據加入計算，將使群組間的比較產生不合

理的結果。

整理這些樣本後，發現這些樣本大部分源自相同的雞隻。而這些雞隻分為兩種狀況，第一種是源自該雞隻的數據在肝臟與脂肪組織的大部分基因表現中都是如此，處理方式為在計算過程中將這些雞隻的數據全數刪除。第二種情況是只有在肝臟或脂肪組織中如此，可能因實驗操作問題所引起，而處理方式為從該組織基因的計算中刪除雞隻的數據。所有研究數據利用 Student's 氏 T-test 方法檢定差異。

結果

壹、品系間肝臟中基因表現的比較

肝臟組織在 22 週齡採樣時 B 與 L2 兩品系各取八隻雞與六隻雞；在 50 週齡採樣時，B 與 L2 兩品系各取八隻雞作觀察。這些取樣的結果經數據的處理後，每個基因之間比較樣本群組約為 4~6 隻雞。B 與 L2 兩品系間比較的結果中，於 22 週齡肝臟基因的表現。除了 SCD 之外，所有的基因表現都是 B 品系的表現值高於 L2 品系；其中 FAS 與 apo-B 基因比較的結果差異顯著(表一)。在 22 週齡的結果中並沒有 apo-VLDL-II 的結果，這是因為 apo-VLDL-II 基因在 22 週齡時表現甚低。

分析 real-time PCR 的結果時，皆是設定觀察 40 個 cycle，然而 apo-VLDL-II 和 SREBP1 基因總是要到第 39 個或第 40 個 cycle 時才能偵測到部分樣本的表現，雖然重複了三次情況都一樣，所以最後未採用 apo-VLDL-II 和 SREBP 在 22 週齡的實驗結果。50 週齡肝臟基因的表現，除了 SCD 之外，所有的基因表現都是 B 品系的表現值高於 L2 品系；其中 FAS、apo-B 和 leptin 基因比較的結果差異顯著(表二)。

貳、品系間脂肪組織中基因表現的比較

脂肪組織在 22 週齡採樣時，B 與 L2 兩品系各取八隻雞作觀察的樣本；在 50 週齡採樣時，B 與 L2 兩品系也是各取八隻雞作觀察。這些取樣的結果經數據的處理後，每個基因之間比較樣本群組約為 4~6 隻雞。B 與 L2 兩品系間比較的結果中，於 22 週齡脂肪組織在基因的表現。觀察中 leptin 為 B 品系表現比較高之外，其他所有的基因表現都是 L2 品系的表現值高於 B 品系；其中 PPAR γ 基因比較的結果差異顯著(表三)。50 週齡脂肪組織在基因的表現，如同 22 週齡的結果也是除了 leptin 之外，所有的基因表現都是 L2 品系的表現值高於 B 品系；其中 PPAR γ 、LPL、leptin、VLDLR 和 HSL 基因比較的結果差異顯著(表四)。

參、品系間 50 週齡卵巢中基因表現

卵巢方面的實驗由於實驗設計的誤差，所以只有在 50 週齡時採樣，B 與 L2 兩品系於採樣各取八隻雞。利用觀察 VLDLR 與 LPL 基因的表現，以了解在卵巢脂質吸收的狀況。結果兩基因的表現各異，LPL 的基因表現以 L2 品系表現比 B 品系高；VLDLR 方面是以

B 品系表現較高，這兩個基因品系間的比較差異皆不顯著(表五)。

肆、肝臟中基因在 22 週齡與 50 週齡的比較

除了比較品系間的差異之外，本研究也比較相同品系在不同週齡時基因表現的差異，以了解肝臟中脂質相關基因的表現與雞不同週齡之間的關係。在 B 品系方面，所有的基因表現都是週齡增加表現下降，其中 FAS 與 apo-B 的比較結果差異顯著(表六)。在 L2 品系方面，所有的基因表現都是週齡增加表現下降，其中 leptin 與 PPAR γ 的比較結果差異顯著(表七)。

伍、脂肪組織基因在 22 週齡與 50 週齡的比較

在 B 品系方面，HSL 與 leptin 的表現是 50 週齡比 22 週齡時表現高；LPL、PPAR γ 和 VLDLR 則是隨著週齡增加而表現下降，而所有的基因表現的比較結果除了 leptin 的表現接近差異皆顯著之外，其他差異皆不顯著(表八)。在 L2 品系方面，PPAR γ 與 VLDLR 的表現是 50 週齡比 22 週齡時表現高；LPL、leptin 和 HSL 則是隨著週齡增加而表現下降，而所有的基因表現的

比較結果差異皆不顯著(表九)。

陸、組織切片與屠體照片

在雞隻犧牲後觀察 B 品系與 L2 品系腹部脂肪組織，B 品系的腹脂明顯比 L2 品系來得肥大(圖五)。即便如此，在腹部脂肪組織切片的觀察中，B 品系的脂肪細胞與 L2 品系在細胞大小上並沒有明顯差異(圖六)。

B 系的肝臟脂質合成基因表現比 L2 品系來得高，然而產蛋率卻比較低。為了解脂質可能的分布情形，研究中觀察兩品系的腿部肌肉中脂質堆積的情況。觀察中並非全部的 B 品系雞隻腿部肌肉的脂質堆積都比 L2 來得多，可是 B 品系雞群中的確大部分脂質堆積的情況有明顯比 L2 品系來得多(圖七)，所以 B 品系雞群腿部肌肉脂質堆積的情況有比 L2 多的趨勢。

表一、 22 週齡品系間肝臟中基因表現的比較。

Table 1. Expressions of various genes in the liver at age of 22 weeks

Gene	Line	Mean	S.D.	n	t-Test
FAS	B	1.043	0.546	4	0.024
	L2	0.095	0.069	4	
Leptin	B	0.043	0.017	4	0.794
	L2	0.039	0.017	4	
PPARγ	B	3.098	2.361	3	0.428
	L2	1.430	0.917	4	
SCD	B	0.062	0.060	4	0.879
	L2	0.070	0.076	5	
LPL	B	9.56E-05	9.63E-05	3	0.730
	L2	6.56E-05	7.29E-05	4	
Apo-B	B	30.324	7.880	3	0.026
	L2	8.723	4.174	3	

表二、 50 週齡品系間肝臟中基因表現的比較。

Table 2. Expressions of various genes in the liver at age of 50 weeks

Gene	Line	Mean	S.D.	n	t-Test
FAS	B	0.001	3.37E-04	4	0.055
	L2	5.01E-04	2.01E-04	5	
Leptin	B	0.032	0.025	6	0.035
	L2	0.004	0.002	6	
PPAR γ	B	0.258	0.164	5	0.069
	L2	0.057	0.028	4	
SCD	B	1.11E-04	1.29E-04	5	0.198
	L2	2.70E-04	2.10E-04	6	
SREBP1	B	1.97E-06	7.35E-07	4	0.880
	L2	1.83E-06	1.51E-06	5	
LPL	B	1.29E-05	8.89E-06	4	0.213
	L2	4.72E-06	4.13E-06	5	
Apo-B	B	4.751	0.515	4	0.015
	L2	3.077	0.690	4	
Apo-VLDL-II	B	4.34E-07	2.86E-07	4	0.273
	L2	2.14E-07	1.32E-07	4	

表三、 22 週齡品系間脂肪組織中基因表現的比較。

Table 3. Expressions of various genes in the adipose tissue at age of 22 weeks

Gene	Line	Mean	S.D.	n	t-Test
Leptin	B	0.012	0.005	4	0.769
	L2	0.011	0.008	4	
LPL	B	0.511	0.545	4	0.373
	L2	1.108	0.927	4	
PPARγ	B	3.551	0.749	4	0.004
	L2	6.987	0.315	3	
VLDLR	B	1.280	0.427	4	0.199
	L2	3.990	3.225	4	
HSL	B	0.71E-04	2.93E-05	3	0.656
	L2	1.17E-04	1.31E-04	3	

表四、50週齡品系間脂肪組織中基因表現的比較。

Table 4. Expressions of various genes in the adipose tissue at age of 50 weeks

Gene	Line	Mean	S.D.	n	t-Test
Leptin	B	0.024	0.005	4	0.010
	L2	0.007	0.005	4	
LPL	B	0.153	0.028	4	0.011
	L2	0.684	0.253	4	
PPARγ	B	2.966	0.774	4	0.038
	L2	8.850	3.780	4	
VLDLR	B	1.084	0.604	5	0.048
	L2	4.901	3.230	5	
HSL	B	1.25E-04	8.61E-05	4	0.009
	L2	3.84E-04	5.47E-05	3	

表五、50週齡品系間卵巢中基因表現的比較。

Table 5. Expressions of various genes in the ovary at age of 50 weeks

Gene	Line	Mean	S.D.	n	t-Test
LPL	B	5.69E-04	2.65E-04	3	0.420
	L2	7.72E-04	2.14E-04	4	
VLDLR	B	0.533	0.205	5	0.986
	L2	0.536	0.159	5	

表六、B 品系肝臟週齡間基因表現的比較。

Table 6. Expressions of various genes in the liver of B line chickens

Gene	Treat	Mean	S.D.	n	t-Test
FAS	22	1.043	0.546	4	0.016
	50	0.001	3.37E-04	4	
Leptin	22	0.043	0.017	4	0.484
	50	0.032	0.025	6	
PPAR γ	22	3.098	2.361	3	0.230
	50	0.258	0.164	5	
SCD	22	0.062	0.060	4	0.172
	50	1.11E-04	1.29E-04	5	
SREBP1	22	1.87E-06	7.77E-08	2	0.832
	50	1.97E-06	7.35E-07	4	
LPL	22	9.56E-05	9.63E-05	3	0.348
	50	1.29E-05	8.89E-06	4	
Apo-B	22	30.324	7.880	3	0.043
	50	4.751	0.515	4	

表七、L2 品系肝臟週齡間基因表現的比較。

Table7 . Expressions of various genes in the liver of L2 line chickens

Gene	week	Mean	S.D.	n	t-Test
FAS	22	0.095	0.069	4	0.085
	50	5.01E-04	2.01E-04	5	
Leptin	22	0.039	0.017	4	0.039
	50	0.004	0.002	6	
PPAR γ	22	1.438	0.917	4	0.040
	50	0.057	0.028	4	
SCD	22	0.070	0.076	5	0.139
	50	2.70E-04	2.10E-04	6	
SREBP1	22	7.52E-05	6.11E-05	2	0.442
	50	1.83E-06	1.51E-06	5	
LPL	22	6.56E-05	7.29E-05	4	0.243
	50	4.72E-06	4.13E-06	5	
Apo-B	22	8.723	4.174	3	0.194
	50	3.077	0.690	4	

表八、B 品系脂肪組織週齡間基因表現的比較。

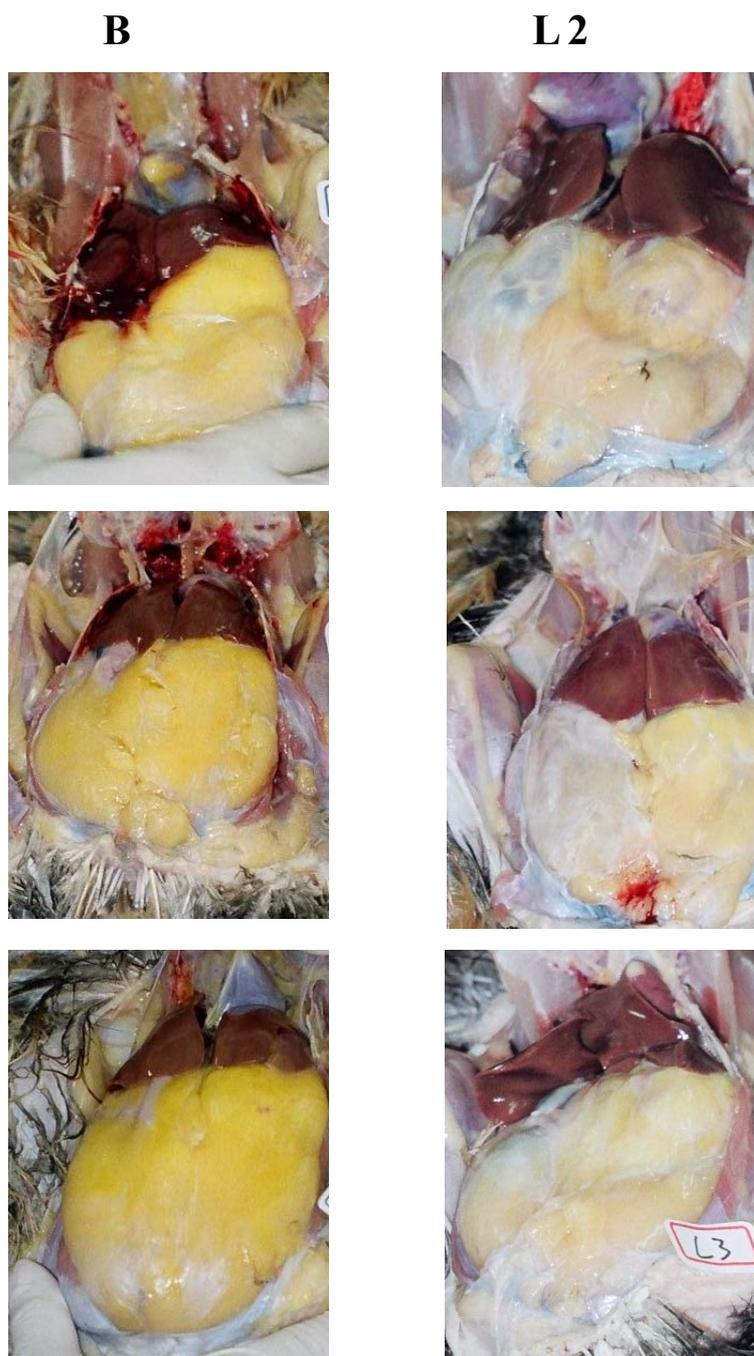
Table 8. Expressions of various genes in the adipose tissue of B line chickens

Gene	Week	Mean	S.D.	n	t-Test
Leptin	22	0.012	0.005	4	0.051
	50	0.024	0.005	4	
LPL	22	0.511	0.545	4	0.300
	50	0.153	0.028	4	
PPAR γ	22	3.551	0.749	3	0.442
	50	2.966	0.774	4	
VLDLR	22	1.280	0.427	4	0.630
	50	1.084	0.604	5	
HSL	22	7.10E-05	2.93E-05	3	0.373
	50	1.25E-04	8.61E-05	4	

表九、L2 品系脂肪組織週齡間基因表現的比較。

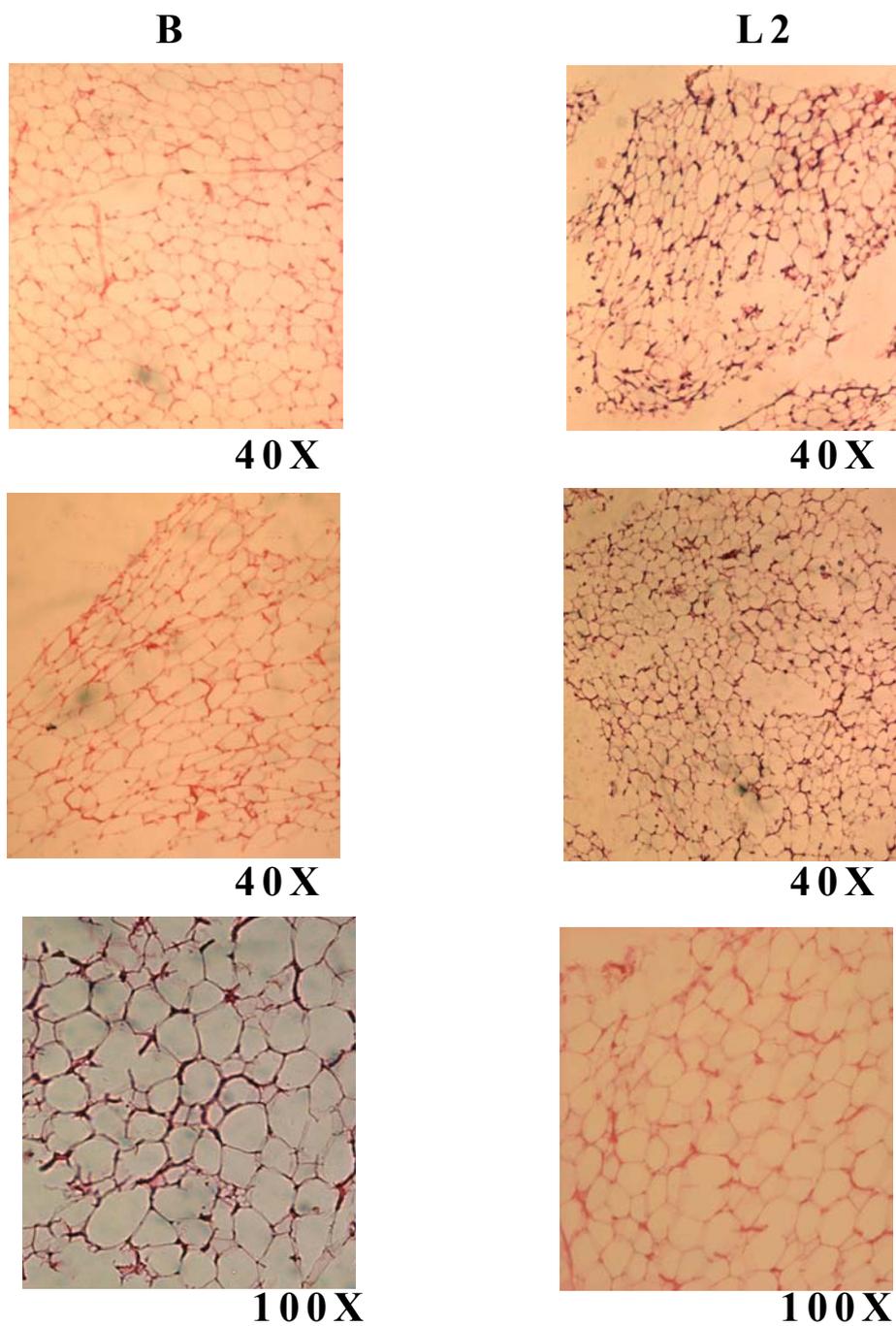
Table 9. Expressions of various genes in the adipose tissue of L2 line chickens

Gene	Week	Mean	S.D.	n	t-Test
Leptin	22	0.011	0.008	4	0.558
	50	0.007	0.005	4	
LPL	22	1.108	0.927	4	0.474
	50	0.684	0.253	4	
PPAR γ	22	6.987	0.315	3	0.457
	50	8.850	3.780	4	
VLDLR	22	3.990	3.225	4	0.723
	50	4.901	3.230	5	
HSL	22	1.17E-04	1.31E-04	3	0.087
	50	3.84E-04	5.47E-05	3	



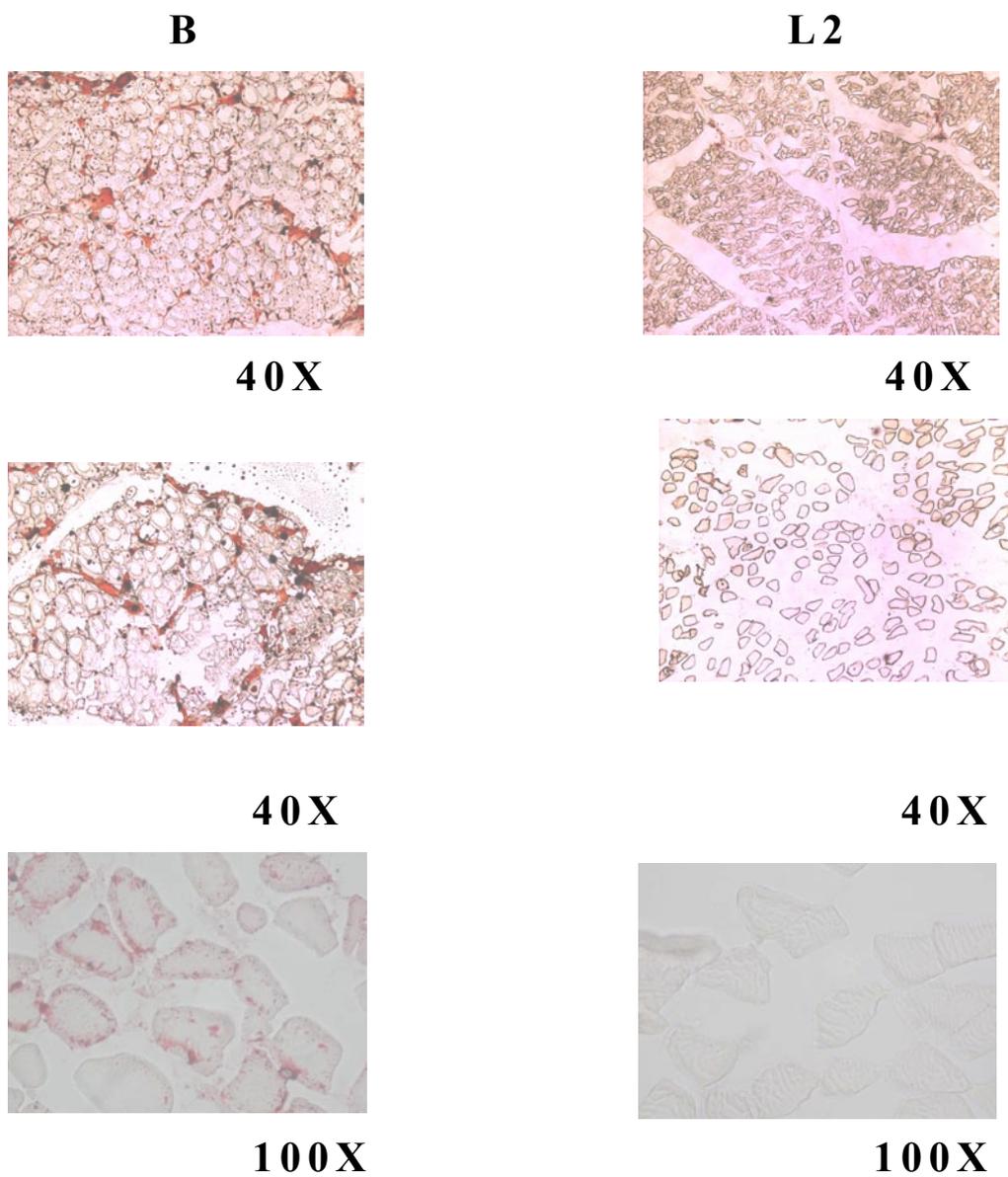
圖五、屠體腹部脂肪照片，右側為 L2 品系；左側為 B 品系。(50 週齡)

Fig. 5. The photography of chicken abdominal fat (50 weeks of age)



圖六、雞隻脂肪組織切片圖，右側為 L2 品系；
左側為 B 品系。(50 週齡)

**Fig. 6. Frozen sections of chicken abdominal
fat tissues: eosin stain (50 weeks of age)**



圖七、雞隻腿部肌肉切片圖，右側為 L2 品系左側為 B 品系。(50 週齡)

Fig. 7. Frozen sections of leg muscle (semi-membranosus muscle): oil red-O stain (50 weeks of age)

討論

壹、品系間肝臟中基因表現的比較

本研究中以同樣來自中興大學土雞的 B 和 L2 兩品系做為研究材料。此兩品系經多代的人為選拔後，兩品系間在產蛋性能上出現很大的差異。為了觀察這些差異與脂質合成和輸送相關基因間的關聯，必須觀察各組織中基因 mRNA 的表現。

觀察 mRNA 表現的方法有很多種，例如 PCR 或北方點墨吸漬法。實驗中使用 real-time PCR 的方式作為研究工具，此研究工具其觀察方式利用數位攝影機取代傳統 PCR 結果，傳統 PCR 結果以肉眼或掃描圖片的方式來觀察。以此增加偵測的靈敏度，同時具有即時偵測反應過程的能力，可偵測每個反應循環過程中 PCR 產物量的增加情形。藉此量化觀察值，所以在系統建立之後具有分析大量樣本的能力。

在哺乳動物中脂肪組織為主要合成脂質的器官，然而對禽類而言肝臟才是脂質合成的主要器官。因此在研究中觀察 leptin、SREBP1、PPAR γ 三個與調節脂質新生相關的重要基因，以這些基因作為觀察低產的 B 品系與高產的 L2 品系兩品系之間表現差異的指標。

在研究的結果中 B 品系肝臟中 leptin 表現在 22 週齡與 50 週齡的表現平均值皆比 L2 品系高，22 週齡時的差異不大但在 50 週齡時兩者呈現差異接近 7 倍具差異顯著。哺乳動物中 leptin 主要由脂肪細胞分泌 (Zhang et al., 1994)，然而禽類除了脂肪組織之外肝臟也具有分泌 leptin 的能力 (Taouis et al., 1998; Friedman-Einat et al., 1999)。哺乳動物的 leptin 主要由脂肪細胞分泌，作用於腦中的受體具有降低食慾的功用，進而減少能量的攝取。雞 leptin 所扮演的功能和 leptin 在哺乳動物中相似，對攝食和體組成具有調節的作用 (Denbow et al., 2000)。與哺乳動物最大的差異在於雞肝臟 leptin 的分泌，對於營養上的敏感性大於脂肪組織 (Ashwell et al., 1999)。由前人研究，顯示在雞肝臟 leptin 分泌的重要性就如同於哺乳類的脂肪組織。

B 品系本屬體組成較為肥大的品系，其肝臟的 leptin 基因表現也的確比 L2 品系為高。在 50 週齡時，雞隻已是產蛋的末期所有能量大量堆積於脂肪組織內，使得兩品系間體組成差異更加巨大，而此時兩品系間 leptin 的表現也呈差異顯著，這可能代表雞肝臟 leptin 的表現與體組成肥胖的程度有著密切的關聯。

SREBPs 主要調節脂質恆定其中的 SREBP-1c，主要功能為活化合成脂肪酸基因，這些基因有 ATP-citrate lyase、acetyl-CoA carboxylase、FAS 和 SCD 等 (Edwards *et al.*, 2000)。在以基因轉殖的方式高度表現 nSREBP-1c，小鼠的肝中充滿了三酸甘油酯而膽固醇並沒有增加 (Shimano *et al.*, 1997)。在觀察不同物種 SREBP1 表現差異的研究中，SREBP -1 於雞肝中的表現量大於脂肪組織 (Gondret *et al.*, 2001)。這表示 SREBP1 在雞肝臟中對於脂質合成的調節有著重要的角色。

研究中在 50 週齡的 B 品系表現的平均值比 L2 品系高，但是差異不顯著；而 22 週齡的實驗則因表現過低沒有採用。這也許代表 SREBP1 在本研究中品系間的表現是沒有差異的。

PPAR γ 的實驗結果在體型較胖的 B 品系肝中，PPAR γ 22 週齡與 50 週齡基因表現的平均值皆比 L2 品系還高。在 50 週齡時差距更大約為四倍，且也接近差異顯著。前人研究 PPAR γ 對脂肪細胞分化扮演關鍵的角色之外，LPL (Desvergne and Wahli, 1999)、SCD (Way *et al.*, 2001b) 等和脂質新生相關的基因，也會隨著

PPAR γ 表現的增加而增加。

結果中肝臟 LPL 表現的平均值的確是 B 品系在 22 週齡和 50 週齡的表現皆比 L2 高，雖然差異不顯著。除此之外，肝臟 FAS 表現的平均值的確是 B 品系在 22 週齡和 50 週齡的表現皆比 L2 高，且在 22 週齡時 (0.024) 差異顯著；50 週齡時 (0.055) 表現也接近差異顯著。

SCD 的表現雖然不如前人研究般隨著 PPAR γ 的表現增加而增加，可是 SCD 在兩品系間比較的結果中兩品系間則為差異不顯著。由此可推測在本研究中肥胖的雞隻肝臟 PPAR γ 有增加的趨勢，和 FAS 的表現關係密切；和 SCD 之間並未觀察到如前人研究般的增加，這個差異也許源自實驗動物不同的差異。

為了觀察 B 與 L2 肝中脂質合成的能力，研究中以 FAS 與 SCD 兩基因的表現作為觀察的指標。動物脂肪酸的來源，主要由食物中攝取和體內的脂質新生，而 FAS 參與將碳水化合物轉為脂質的過程需要 (Volpe *et al.*, 1976)。

在研究結果中，FAS 在 22 週齡與 50 週齡時 B 品系表現的平均值均比 L2 高，在 22 週齡時表現相差約

十倍，且差異顯著 (0.024)；50 週齡時相差約兩倍，也接近差異顯著 (0.055)。顯然體組成肥大的 B 品系肝臟的 FAS 基因表現比 L2 品系來得高，表示合成脂肪酸的 FAS 基因對雞而言和肥胖是有著直接的關係。

在高等動物中 SCD 是將飽和脂肪酸轉換為不飽和脂肪酸的關鍵酵素，在小鼠的 SCD 的研究中餵飼富含脂質的飼料後，SCD null mutant 小鼠 (SCD^{-/-}) 肝臟仍然無法合成三酸甘油酯 (Miyazaki *et al.*, 2001)。雞的肝細胞的研究中，轉殖入 SCD1 的細胞內三酸甘油酯和磷脂堆較高 (Latasa *et al.*, 2000)。雖然這些研究指出 SCD 的確是參與脂質合成的重要基因，然而在本研究結果 SCD 在肝臟中的表現在 22 週齡與 50 週齡都反而是體組成較肥大的 B 品系的表現平均值比 L2 來得低，可是在平均值上的差異不大；且統計上差異皆不顯著。雖然這與前人研究的不同，也許 SCD 的基因對於此種遺傳差異所造成體型差異的雞群的影響不大。

為了解肝中脂質輸送的情況，本研究中以 apo-B、apo-VLDL-II 作為觀察的指標。Apo-B 為雞 VLDL 上十分重要的脂蛋白，參與脂質輸送。Apo-B 的實驗結果中，B 表現的平均值在 22 週齡與 50 週齡皆比 L2 品系

為高，尤其是在 22 週齡時兩品系間相差接近四倍。統計上在 22 週齡與 50 週齡的差異皆達差異顯著，參考在與脂質調節相關的基因 PPAR γ 、leptin、SREBP1 的觀察中，都是以 B 品系表現高於高產的 L2 品系。而受這些基因調節的 FAS 是參與脂質合成的重要基因，其表現也是以 B 品系較高。在 apo-B 的結果更顯示 B 品系肝臟不僅脂肪合成能力比 L2 品系高，脂質輸出的能力也比較高。

apo-VLDL-II 一般存在於正在產蛋的雞體內 (Deeley *et al.*, 1975)。apo-VLDL-II 的結果只有 50 週齡的觀察，L2 品系具有較高的產蛋率，結果 apo-VLDL-II 的表現值卻是以高產 L2 的表現較低產 B 品系為低。會有這樣的結果也許是雞正處於低產蛋率階段造成的影響，而且在統計上兩品系間差異不顯著。

貳、品系間脂肪組織中基因表現的比較

為了解低產 B 品系的肝臟脂質合成與輸送能力都比高產 L2 來得高，然而產蛋率卻比較低。這或許與 B 品系具有較肥大的體組成有關，為觀察是否與脂質輸送到脂肪組織利用，本研究觀察脂肪組織中與脂質輸

送及脂肪細胞分化相關的基因的表現。

由前人研究指出 leptin 能量利用及攝食有關之外，leptin 基因也是反映動物體內脂肪組織大小的指標基因。在 leptin 基因表現的結果，B 品系在 22 週齡與 50 週齡的表現平均值皆比 L2 品系高。B 與 L2 兩品系隨著週齡的增加與進入產蛋末期的關係，在 50 週齡時兩品系在脂肪組織大小的差異更大，相符的觀察為在 leptin 50 週齡的比較發現在 50 週齡時表現具差異顯著。雖然雞 leptin 主要在肝臟表現，但由實驗結果可以發現雞脂肪組織 leptin 的表現，的確可以反應脂肪組織的大小。

PPAR γ 在前人研究中當以細胞或齧齒動物為研究模式的結果，顯示 PPAR γ 在脂肪細胞分化上扮演著關鍵的角色。PPAR γ 的結果為 B 品系在 22 週齡與 50 週齡表現的平均值皆比 L2 品系低，差異分別約為兩倍與四倍且皆達差異顯著。PPAR γ 主要的功能在於刺激脂肪細胞分化與調節脂質合成相關基因，在此應該是偏重於脂肪細胞的分化。腹脂肥大的 B 品系表現偏低確實很特別，可是 22 週齡與 50 週齡的雞脂肪細胞應大部分已分化完成，所以影響應該不大。除此之外，L2

品系的脂肪組織較小卻具有較高的 PPAR γ 表現，然而分化較佳未必代表脂肪組織較大，因為組織的增大尚需要脂質堆積。

脂質的堆積與脂肪組織吸收脂質的能力有著直接的關聯。在本研究中觀察 LPL 與 VLDLR 的表現，以了解脂肪組織吸收脂質的能力。LPL mRNA 的表現在 22 週齡與 50 週齡 L2 品系的表現值皆比 B 品系高，且在 50 週齡時差異顯著。結果與 Leclercq (1980) 發現肥胖品系的雞隻腹脂的 LPL 活性比瘦的品系高 4 倍的結果不同。前人研究 (Evans, 1972; Husbands, 1972; Benson and Bensadoun, 1977; Griffin and Butterwith, 1988) 發現 LPL 的活性在禽類組織中受營養狀態的影響，在脂肪組織或肌肉的活性即使在飽食幾乎影響也很微量，這也許代表著禽類脂蛋白在血漿的濃度比 LPL 的活性對細胞脂質的吸收還要重要，而基因的表現與活性並不一定有直接的關聯。

除此之外，VLDLR mRNA 的表現在 22 週齡與 50 週齡 L2 品系的表現值皆比 B 品系高，且在 50 週齡時差異顯著。此結果若從基因表現的角度推測，L2 品系腹部脂肪組織的脂質吸收的能力應該較高，所以腹部

脂質堆積應比 B 品系來得多，可是在屠體觀察的結果顯然 B 品系腹部脂肪組織明顯比 L2 品系來得肥大，與前述基因觀察結果的推論相反。或者 B 品系的 LPL 與 VLDLR 雖然基因表現較低，卻有著較高的活性或合成速率。這些與脂質吸收相關的可能之外，或許是 L2 本身就如同基因表現般，吸收較多的脂質。

因此本研究中決定觀察脂肪組織中 HSL 基因的表現，HSL 主要可以分解細胞中的三酸甘油酯，也可分解 diacylglycerol、mono-acylglycerol、cholesteryl ester (Kraemer and Shen, 2002)，為動物脂肪細胞釋出脂質的重要酵素。在 HSL mRNA 的表現為 L2 品系在 22 週齡與 50 週齡表現的平均值皆比 B 品系高，且在 50 週齡時表現差異顯著。因此 L2 品系腹部脂肪組織中脂質調節與吸收的基因表現比 B 品系高，在屠體觀察上腹脂卻不如 B 品系肥大。可能是 L2 品系腹脂中 HSL 表現較高，使其吸收的脂質因而釋出所造成的結果。

參、品系間卵巢中基因表現的比較

在前人研究中，蛋的脂質來源主要藉由 VLDLR 與 VLDL 結合後再以胞飲的方式攝入蛋黃中堆積，所以本

研究中以 VLDLR 與 LPL 作為觀察卵巢脂質吸收能力的基因。由於採樣上設計的誤差所以只有 50 週齡的樣本，在 VLDLR 的結果 B 品系表現的平均值略高於 L2 品系；LPL 的結果為 L2 品系高於 B 品系。雖然在此結果中低產蛋率的 B 品系的 VLDLR 表現比高產的 L2 還高，而 LPL 則是相反的，可是這兩個結果皆無差異顯著，也許這代表著卵巢脂質吸收基因的表現與產蛋率無關。Leclercq (1985) 在以腹脂做為選拔標準母雞的研究中，發現腹脂大的品系蛋黃比腹脂小的品系大，因此推論腹脂大的品系蛋黃合成的能力大於腹脂小的品系；雖然腹脂大的品系和腹脂小的品系間產蛋率並沒有差異。因為本研究中並未觀察兩品系間蛋黃的差異，也許 B 品系雖然產蛋率較低，可是其蛋黃的脂質含量較高。

肆、B 品系與 L2 品系體內脂質的分布

本研究在雞犧牲前先利用照相的方式觀察雞腹脂的大小，由結果中發現低產的 B 品系腹部脂肪組織明顯比高產的 L2 品系肥大。因此在原先假設腹脂與脂質吸收相關基因應該是 B 品系表現較高，可是實驗結果

卻是 L2 品系表現較高。而此一現象可由脂肪組織中 HSL 表現上的差異獲得解釋，顯然是 L2 的脂肪組織釋出更多的脂質所致。

以組織切片的方式觀察兩品系腹部脂肪組織的結果，發現脂肪細胞的大小差異並不大；而在肌肉切片中兩品系各有脂質堆積十分豐富與幾乎無脂質堆積的個體，然而在觀察整體的結果中發現 B 品系中以脂質堆積偏高的雞佔大多數，然而 L2 品系中多為無脂質堆積者居多。顯然 B 品系在雞肉中脂質堆積的程度比 L2 來得高，這或許是低產的 B 品系肝中旺盛的脂質合成後生成的脂質大多分佈至腹脂與肌肉中，而高產的 L2 則由脂肪組織釋出回肝中或由卵巢所吸收。

伍、肝臟中基因在 22 週齡與 50 週齡的比較

為了解肝臟中脂質相關基因的表現在不同週齡時表現的變化，在比較品系間的差異之外，本研究也觀察相同品系在不同週齡時基因的表現情況。在 B 品系方面，所有的基因表現都是週齡增加表現下降，其中 FAS 與 apo-B 的比較結果差異顯著(表六)。在 L2 品系方面，所有的基因表現都是週齡增加表現下降，其中

leptin 與 PPAR γ 的比較結果差異顯著(表七)。

在 leptin 基因方面，B 品系 22 週齡和 50 週齡之間不僅差異沒有顯著之外，數值也十分相近；L2 品系在 50 週齡則是大幅度的下降，且兩週齡間的差異達到顯著。雞肝臟 leptin 扮演的角色顯然與哺乳動物脂肪組織 leptin 的反應相似，B 品系的雞在 22 週齡與 50 週齡時一直維持著肥胖的體型，所以肝臟 leptin 的表現也持續維持相似的水平。而 L2 品系的 22 週齡時體內帶有較多的脂質以供產蛋所需，然而進入產蛋末期的 50 週齡時體內脂肪組織減少，leptin 表現則大幅下降反應體內脂質堆積的情況。

在 PPAR γ 表現方面，B 品系 22 週齡和 50 週齡之間數值雖然是下降的，可是差異沒有顯著；L2 品系在 50 週齡則是大幅度的下降，且兩週齡間的差異達到顯著。由於 PPAR γ 與 leptin 扮演著調節基因表現的角色，觀察 L2 品系其他基因 FAS、LPL、SCD、apo-B 與 apo-VLDL-II 這些基因的表現雖然統計上差異皆不顯著，但是 50 週齡基因表現的值的確都比 22 週齡時來得低。在 B 品系的方面，FAS 為脂質合成的重要基因在 50 週齡時大幅下降，且差異顯著。而 L2 品系 FAS

的週齡間差異雖然不顯著，卻有下降的趨勢。顯然雞隻隨著週齡增加 FAS 表現會有下降的情況。

另外，B 品系在 50 週齡時 apo-B 表現下降達差異顯著，雖然 L2 品系也是下降的，但是差異不顯著且下降的情況也不如 B 品系。Apo-B 是與脂質輸送相關的基因，FAS 則是脂質合成相關的基因，這兩基因在 B 品系的週齡間差異皆達差異，代表著 B 品系隨著週齡的增加脂質合成與輸出的基因會大幅下降。L2 品系則是主要為調控方面的基因如 PPAR γ 和 leptin 表現下降。

陸、脂肪組織基因在 22 週齡與 50 週齡的比較

B 與 L2 兩品系在脂肪組織週齡間的比較結果，所有的差異皆不顯著。與肝臟的結果相似，大部分的基因都是隨著週齡的增加表現的平均值降低。在 B 品系方面，leptin 的表現在 50 週齡時比 22 週齡來得高，在統計上接近差異顯著。B 品系屬於體型肥大的品種，在品系間的比較上可以發現 B 品系與脂質相關的基因表現較高，其產蛋率又較低。當進入產蛋末期的 50 週齡時，B 品系體內大部分能量更是用於脂質的堆積，而脂肪組織中 leptin 的表現可以反應組織的大小，所

以 B 品系在 50 週齡時脂肪組織 leptin 表現應增加。另外 HSL 的表現雖有增加，但無顯著差異。L2 品系方面雖有 PPAR γ 和 VLDLR 在 50 週齡的基因表現略比 22 週齡時增加，可是差異不顯著應該可以視為表現相同。

結論

本研究以中興大學人為育種而成的台灣土雞作為研究對象，B 品系的特性為生長快、脂肪組織肥大與產蛋性能卻不佳，L2 品系則反之。動物的胖瘦受到脂肪組織發育程度的影響，分化後的脂肪細胞攝入脂質，成為肥大的脂肪組織。除此之外，家禽的產蛋也需攝入大量脂質以供雞蛋的發育。肝臟為家禽體內脂質合成的主要來源，所以肝臟脂質的合成與脂肪組織的肥大和產蛋率有著密不可分的關係。

研究中，在不同週齡時同時對 B 品系與 L2 品系採樣，之後使用即時聚合酶鏈鎖反應觀察肝臟、脂肪組織與卵巢中脂質相關基因的表現。同時配合切片觀察肌肉組織的脂質堆積與脂肪組織的細胞大小。由這些實驗結果推論實驗結果指出低產之 B 品系雖有較高的脂質合成與輸出能力，但其脂質多堆積於脂質與肌肉組織。因此脂質的使用分佈對 B 與 L2 產蛋率差異的影響，可能比脂質合成能力重要。

研究結果中與脂質利用和產蛋相關基因的表現，可以作為觀察指標以供育種時挑選產蛋性優良的母雞；或用來了解土雞產蛋或生長中脂質堆積的機制。

參考文獻

- Altiok, S., M. Xu, and B. M. Spiegelman. 1997. PPAR γ induces cell cycle withdrawal: inhibition of E2F/DP DNA-binding activity via down-regulation of PP2A. *Genes Dev.* 11:1987-1998.
- Amri, E. Z., F. Bonino, G. Ailhaud, N. A. Abumrad, and P. A. Grimaldi. 1995. Cloning of a protein that mediates transcriptional effects of fatty acids in preadipocytes. *J. Biol. Chem.* 270:2367-2371.
- Anthonsen, M. W., E. Degerman, and C. Holm. 1997. Partial purification and identification of hormone -sensitive lipase from chicken adipose tissue. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 236(1):94-99.
- Ashwell, C. M., J. P. McMurtry, X. H. Wang, Y. Zhou, and R. Vasilatos-Younken. 1999. Effects of growth hormone and pair-feeding on leptin mRNA expression in liver and adipose tissue. *Domest. Anim. Endocrinol.* 17(1):77-84.
- Ashwell, C. M., S. M. Czerwinski, D. M. Brocht, and J. P. McMurtry. 1999. Hormonal regulation of leptin expression in broiler chickens. *Am. J. Physiol.* 276(1 Pt

2):R226-232.

- Auboeuf, D., J. Rieusset, L. Fajas, P. Vallier, V. Frering, J. P. Riou, B. Staels, J. Auwerx, M. Laville, and H. Vidal. 1997. Tissue distribution and quantification of the expression of mRNAs of peroxisome proliferator-activated receptors and liver X receptor-alpha in humans: no alteration in adipose tissue of obese and NIDDM patients. *Diabetes* 46(8):1319-1327.
- Bannister, D. W., A. Lee, C.C. Whitehead, and H. D. Griffin. 1984. Lipogenic enzyme activity and fructose 2,6-bisphosphate concentration in livers of two lines of domestic fowl (*Gallus domesticus*) selected for different body fat content. *Int. J. Biochem.* 16(12):1301-1305.
- Barreto-Chaves, M. L., I. Aneas, and J. E. Krieger. 2001. Glucocorticoid regulation of angiotensin-converting enzyme in primary culture of adult cardiac fibroblasts. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 280(1):R25-32.
- Bazin, R. and M. Lavau. 1982. Development of hepatic and adipose tissue lipogenic enzymes and insulinemia during

- suckling and weaning on to a high-fat diet in Zucker rats.
J. Lipid Res. 23:839 -849.
- Behr, S. R., J. R. Patsch, T. Forte, and A. Bensadoun. 1981. Plasma lipoprotein changes resulting from imm-unologically blocked lipolysis. J. Lipid Res. 22(3):443-451.
- Bennett, M. K., J. M. Lopez, H. B. Sanchez, and T. F. Osborne. 1995. Sterol regulation of fatty acid synthase promoter: coordinate feedback regulation of two major lipid pathways. J. Biol. Chem. 270: 25578-25583.
- Benson, J. D. and A. Bensadoun. 1977. Response of adipose tissue lipoprotein lipase to fasting in the chicken and the rat--a species difference. J. Nutr. 107(6):990-997.
- Benson, J. D. and A. Rothfield. 1972. The form of absorbtion of lipids in the chicken, gallus domesticus. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 41:814-817.
- Benson, J. D., A. Bensadoun, and D. Cohen . 1975. Lipoprotein lipase of ovarian follicles in the domestic chicken (gallus domesticus) (38537). Exp. Biol. Med. 148(2):347-350.

- Benson, J. D., V. Hearn, T. Boyd, and A. Bensadoun. 1979. Triglyceride hydrolase of chicken and rat pre- and post-heparin plasma. Effects of fasting and comparison with adipose tissue lipoprotein lipase. *Int. J. Biochem.* 6:727-734.
- Berger, J. J. and R. J. Barnard. 1999. Effect of diet on fat cell size and hormone-sensitive lipase activity. *J. Appl. Physiol.* 87(1):227-232.
- Blue, M. L., A. A. Protter, and D. L. Williams. 1980. Biosynthesis of apolipoprotein B in rooster kidney, intestine, and liver. *J. Biol. Chem.* 255(21):10048-10051.
- Brady, L., D. R. Romsos, and G. A. Leveille. 1976. In vivo estimation of fatty acid synthesis in the chicken (*Gallus domesticus*) utilizing $^3\text{H}_2\text{O}$. *Comp. Biochem. Physiol. B* 54(3):403-407.
- Brasaemle, D. L., D. M. Levin, D. C. Adler-Wailes, and C. Londos. 2000. The lipolytic stimulation of 3T3-L1 adipocytes promotes the translocation of hormone-sensitive lipase to the surfaces of lipid storage droplets. *Biochem. Biophys. Acta.* 1483(2):251-262.

- Brown, M. S. and J. L. Goldstein. 1997. The SREBP pathway: regulation of cholesterol metabolism by proteolysis of a membrane-bound transcription factor. *Cell* 89(3):331-340.
- Chapman, M. J., S. Goldstein, and M. H. Laudat. 1977. Characterization and comparative aspects of the serum very low and low density lipoproteins and their apoproteins in the chicken (*Gallus domesticus*). *Biochemistry* 16(13):3006-3015.
- Cho, B. H. and J. R. Park. 1990. Estrogen induces hyperlipidemia in fasted chicks. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 193(2):104-109.
- Cianflone, K., S. Dahan, J. C. Monge, and A. D. Sniderman. 1992. Pathogenesis of carbohydrate-induced hypertriglyceridemia using HepG2 cells as a model system. *Arteriosclerosis Thromb.* 12:271-277.
- Clifford, G. M., C. Londos, F. B. Kraemer, R. G. Vernon, and S. J. Yeaman. 2000. Translocation of hormone-sensitive lipase and perilipin upon lipolytic stimulation of rat adipocytes. *J. Biol. Chem.* 275(7):5011-5015.
- Clifford, G. M., F. B. Kraemer, S. J. Yeaman, and R. G.

- Vernon. 2001. Translocation of hormone-sensitive lipase and perilipin upon lipolytic stimulation during the lactation cycle of the rat. *Metabolism* 50(11):1264-1269.
- Contreras, J. A., B. Danielsson, C. Johansson, T. Osterlund, D. Langin, and C. Holm. 1998. Human hormone-sensitive lipase: expression and large-scale purification from a baculovirus /insect cell system. *Protein Expr. Purif.* 12(1):93-99.
- Cryer A. 1981. Tissue lipoprotein lipase activity and its action in lipoprotein metabolism. *Int. J. Biochem.* 13(5):525-541.
- De Vos, P., A-M Lefebvre, S. G. Miller, M. Guerre-Millo, K. Wong, R. Saladin, L. G. Hamann, B. Staels, M. R. Briggs, and J. Auwerx. 1996. Thiazolidinediones repress ob gene expression in rodents via activation of peroxisome proliferator-activated receptor γ . *J. Clin. Invest.* 98:1004-1009.
- Deeley, R. G., D. P. Mullinix, W. Wetekam, H. M. Kronenberg, M. Meyers, J. D. Eldridge, and R. F. Goldberger. 1975. Vitellogenin synthesis in the avian liver. Vitellogenin is

- the precursor of the egg yolk phosphoproteins. *J. Biol. Chem.* 250(23):9060-9066.
- Denbow, D. M., S. Meade, A. Robertson, J. P. McMurtry, M. Richards, and C. Ashwell. 2000. Leptin-induced decrease in food intake in chickens. *Physiol. Behav.* 69(3):359-362.
- Desvergne, B. and W. Wahli. 1999. Peroxisome proliferator-activated receptors: nuclear control of metabolism. *Endocr. Rev.* 20:649-688.
- Donaldson, W. E. 1985. Lipogenesis and body fat in chicks: effects of calorie-protein ratio and dietary fat. *Poult. Sci.* 64(6):1199-1204.
- Douaire, M., B. Belloir, J. C. Guillemot, J. M. Fraslin, P. Langlois, and J. Mallard. 1993. Lipogenic enzyme and apoprotein messenger RNAs in long-term primary culture of chicken hepatocytes. *J. Cell Sci.* 104 (pt3):713-718.
- Dudek, S. M. and C. F. Semenkovich. 1995. Essential amino acids regulate fatty acid synthase expression through an uncharged transfer RNA-dependent mechanism. *J. Biol. Chem.* 270:29323-29329.
- Dugaiczyk, A., A. S. Inglis, P. M. Strike, R. W. Burley, W. G.

- Beattie, and L. Chan. 1981. Comparison of the nucleotide sequence of cloned DNA coding for an apolipoprotein (apo-VLDL-II) from avian blood and the amino acid sequence of an egg-yolk protein (apovitellenin I): equivalence of the two sequences. *Gene* 14(3):175-182.
- Edwards, P. A., D. Tabor, H. R. Kast, and A. Venkateswaran. 2000. Regulation of gene expression by SREBP and SCAP. *Biochim. Biophys. Acta.* 1529(1-3):103-113.
- Enoch, H. G., A. Catala, and P. Strittmatter. 1976. Mechanism of rat liver microsomal stearyl-CoA desaturase. Studies of the substrate specificity, enzyme-substrate interactions, and the function of lipid. *J. Biol. Chem.* 251(16):5095-5103.
- Evans, A. J. 1972. Lipoprotein lipase activity in adipose tissues of the domestic duck: the effect of age, sex and nutritional state. *Int. J. Bio.* 3:199-206.
- Evans, A. J., M. M. Perry, and A. B. Gilbert. 1979. The demonstration of very low density lipoprotein in the basal lamina of the granulosa layer in the hen's ovarian follicle. *Biochim. Biophys. Acta.* 573(1):184-195.

- Fajas, L., K. Schoonjans, L. Gelman, J. B. Kim, J. Najib, G. Martin, J. C. Fruchart, M. Briggs, B. M. Spiegelman, and J. Auwerx. 1999. Regulation of PPAR γ expression by ADD1/ SREBP: implications for adipocyte differentiation and metabolism. *Mol. Cell Biol.* 19(8):5495–5503.
- Fielding, C. J. 1976. Lipoprotein lipase: evidence for high- and low-affinity enzyme sites. *Biochemistry* 15(4):879-884.
- Fielding, P. E., V. G. Shore, and C. J. Fielding. 1977. Lipoprotein lipase. Isolation and characterization of a second enzyme species from postheparin plasma. *Biochemistry* 16(9):1896-1900.
- Friedman-Einat, M., T. Boswell, G. Horev, G. Girishvarma, I. C. Dunn, R. T. Talbot, and P. J. Sharp. 1999. The chicken leptin gene: has it been cloned? *Gen Comp. Endocrinol.* 115(3):354-363.
- Gondret, F., P. Ferre, and I. Dugail. 2001. ADD-1/SREBP-1 is a major determinant of tissue differential lipogenic capacity in mammalian and avian species. *J. Lipid Res.* 42(1):106-113.

- Goodridge, A. G. and E. G. Ball. 1967. Lipogenesis in the pigeon: in vivo studies. *Am. J. Physiol.* 213:245-249.
- Gorla-Bajszczak, A., C. Siegrist-Kaiser, O. Boss, A. G. Burger, and C. A. Meier. 2000. Expression of peroxisome proliferator-activated receptors in lean and obese Zucker rats. *Eur. J. Endocrinol.* 142(1):71-78.
- Griffin, H. D., K. Guo, D. Windsor, and S. C. Butterwith. 1992. Adipose tissue lipogenesis and fat deposition in leaner broiler chickens. *J. Nutr.* 122(2):363-368.
- Griffin, H. D. and M. M. Perry. 1985. Exclusion of plasma lipoproteins of intestinal origin from avian egg yolk because of their size. *Comp. Biochem. Physiol. B.* 82(2):321-325.
- Griffin, H. D. and S. C. Butterwith. 1988. Effect of *Escherichia coli* endotoxin on tissue lipoprotein lipase activities in chickens. *Br. Poult. Sci.* 29(2):371-378.
- Griffin, H. D., C. C. Whitehead, and L. A. Broadbent. 1982. The relationship between plasma triglyceride concentrations and body fat content in male and female broilers--a basis for selection? *Br. Poult. Sci.* 23(1):15-23.

- Griffin, H. D., G. Grant, and M. Perry. 1982. Hydrolysis of plasma triacylglycerol-rich lipoproteins from immature and laying hens (*Gallus domesticus*) by lipoprotein lipase in vitro. *Biochem. J.* 206(3):647-54.
- Griffin, H. D., S. C. Butterwith, and C. Goddard. 1987. Contribution of lipoprotein lipase to differences in fatness between broiler and layer-strain chickens. *Br. Poultry Sci.* 28(2):197-206.
- Haemmerle, G., R. Zimmermann, M. Hayn, C. Theussl, G. Waeg, E. Wagner, W. Sattler, T. M. Magin, E. F. Wagner, and R. Zechner. 2002. Hormone-sensitive lipase deficiency in mice causes diglyceride accumulation in adipose tissue, muscle, and testis. *J. Biol. Chem.* 277(7):4806-4815.
- Hamilton B. S., D. Paglia, A. Y. Kwan, and M. Deitel. 1995. Increased obese mRNA expression in omental fat cells from massively obese humans. *Nat. Med.* 1(9):953-956.
- Hasegawa, S., T. Niimora, K. Sato, Y. Hikami, and T. Mizuno. 1980. Effects of estrogen on

- triglyceride metabolism in chick liver. *Jap. J. Zoo. S.* 53:699-706.
- Hermier, D., D. Catheline, and P. Legrand. 1996. Relationship between hepatic fatty acid desaturation and lipid secretion in the estrogenized chicken. *Comp. Biochem. Physiol. A Physiol.* 115(3):259-264.
- Hermier, D., M. J. Chapman, and B. Leclercq. 1984. Plasma lipoprotein profile in fasted and refed chickens of two strains selected for high or low adiposity. *J. Nutr.* 114(6):1112-1121.
- Hillgartner, F. B. and T. Charron. 1998. Glucose stimulates transcription of fatty acid synthase and malic enzyme in avian hepatocytes. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 274(3pt1):493-501.
- Hoggard, N., L. Hunter, J. S. Duncan, L. M. Williams, P. Trayhurn, and J. G. Mercer. 1997. Leptin and leptin receptor mRNA and protein expression in the murine fetus and placenta. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 94(20):11073-11078.
- Holm, C., T. G. Kirchgessner, K. L. Svenson, A. J. Lusis , P.

- Belfrage, and M. C. Schotz. 1988. Nucleotide sequence of rat adipose hormone sensitive lipase cDNA. *Nucleic Acids Res.* 16(20):9879.
- Hood, R. L. 1984. Cellular and biochemical aspects of fat deposition in the broiler chicken. *World's Poult. Sci. J.* 40:160-169.
- Hotta, K., T. A. Gustafson, S. Yoshioka, H. K. Ortmeyer, N. L. Bodkin, and B. C. Hansen. 1998. Relationships of PPAR gamma and PPAR gamma2 mRNA levels to obesity, diabetes and hyperinsulinaemia in rhesus monkeys. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.* 22(10):1000-1010.
- Hudgins, L. C., M. Hellerstein, C. Seidman, R. Neese, J. Diakun, and J. Hirsch. 1996. Human fatty acid synthesis is stimulated by a eucaloric low fat, high carbohydrate diet. *J. Clin. Invest.* 97:2081-2091.
- Husbands, D. R. 1972. The distribution of lipoprotein lipase in tissues of the domestic fowl and the effects of feeding and starving. *Br. Poult. Sci.* 13(1):85-90.
- Issemann, I. and S. Green. 1990. Activation of a member of the steroid hormone receptor superfamily by peroxisome

- proliferators. *Nature* 347:645-649.
- Jackson, R. L., H. Y. Lin, J. T. Mao, L. Chan, and A. R. Means. 1977. Estrogen induction of plasma vitellogenin in the cockerel: studies with a phosphovitin antibody. *Endocrinology* 101:849-857.
- Kakuma, T., Y. Lee, and R. H. Unger. 2002. Effects of leptin, troglitazone, and dietary fat on stearoyl-CoA desaturase. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 297(5):1259-1263.
- Kallen, C. B. and M. A. Lazar. 1996. Antidiabetic thiazolidinediones inhibit leptin (*ob*) gene expression in 3T3-L1 adipocytes. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 93:5793-5796.
- Kameda, K. 1995. Thyroid hormone inhibits fatty acid synthase gene transcription in chicken liver. *Mol. Cell. Biochem.* 144(2):105-108.
- Kasturi, R. and V. C. Joshi. 1982. Hormonal regulation of stearoyl coenzyme A desaturase activity and lipogenesis during adipose conversion of 3T3-L1 cells. *J. Biol. Chem.* 257(20):12224-12230.
- Kelly, L. J., P. P. Vicario, G. M. Thompson, M. R. Candelore,

- T. W. Doebber, J. Ventre, M. S. Wu, R. Meurer, M. J. Forrest, M. W. Conner, M. A. Cascieri, and D. E. Moller. 1998. Proliferator-activated receptor γ and α mediate in vivo regulation of uncoupling protein (UCP-1, UCP-2, UCP-3) gene expression. *Endocrinology* 139:4920-4927.
- Khoo, J. C. and D. Steinberg. 1974. Reversible protein kinase activation of hormone-sensitive lipase from chicken adipose tissue. *J. Lipid Res.* 15(6):602-610.
- Kim, J. B., H. M. Wright, M. Wright, and B. M. Spiegelman. 1998. ADD1/SREBP1 activates PPAR through the production of endogenous ligand. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95:4333–4337.
- Klein, S., S. W. Coppack, V. Mohamed-Ali, and M. Landt. 1996. Adipose tissue leptin production and plasma leptin kinetics in humans. *Diabetes* 45:984-987.
- Kliwer, S. A., B. M. Forman, B. Blumberg, E. S. Ong, U. Borgmeyer, D. J. Mangelsdorf, K. Umesono, and R. M. Evans. 1994. Differential expression and activation of a family of murine peroxisome proliferator-activated receptor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 91:7355-7359.

- Kraemer, F. B., S. Patel, A. Singh-Bist, S. S. Gholami, M. S. Saedi, and C. Sztalryd. 1993. Detection of hormone-sensitive lipase in various tissues. II. Regulation in the rat testis by human chorionic gonadotropin. *J. Lipid Res.* 34(4):609-616.
- Kraemer, F. B., S. Patel, M. S. Saedi, and C. Sztalryd. 1993. Detection of hormone-sensitive lipase in various tissues. I. Expression of an HSL/bacterial fusion protein and generation of anti-HSL antibodies. *J. Lipid Res.* 34(4):663-671.
- Kraemer, F. B., W. J. Shen. 2002. Hormone-sensitive lipase: control of intracellular tri-(di-)acylglycerol and cholesteryl ester hydrolysis. *J. Lipid Res.* 43(10):1585-1594.
- Krempler, F., D. Breban, H. Oberkofler, H. Esterbauer, E. Hell, B. Paulweber, and W. Patsch. 2000. Leptin, peroxisome proliferator-activated receptor-gamma, and CCAAT/enhancer binding protein-alpha mRNA expression in adipose tissue of humans and their relation to cardiovascular risk factors. *Arterioscler Thromb. Vasc.*

Biol. 20(2):443-449.

Kubota, N., Y. Terauchi, H. Miki, H. Tamemoto, T. Yamauchi, K. Komeda, S. Satoh, R. Nakano, C. Ishii, T. Sugiyama, K. Eto, Y. Tsubamoto, A. Okuno, K. Murakami, H. Sekihara, G. Hasegawa, M. Naito, Y. Toyoshima, S. Tanaka, K. Shiota, T. Kitamura, T. Fujita, O. Ezaki, S. Aizawa, and T. Kadowaki. 1999. PPAR gamma mediates high-fat diet-induced adipocyte hypertrophy and insulin resistance. *Mol. Cell.* 4(4):597-609.

Laharrague, P., D. Larrouy, A. M. Fontanilles, N. Truel, A. Campfield, R. Tenenbaum, J. Galitzky, J. X. Corberand, L. Penicaud, and L. Casteilla. 1998. High expression of leptin by human bone marrow adipocytes in primary culture. *FASEB J.* 12(9):747-752.

Lakshmann, M. R., C. M. Nepokroeff, and J. W. Porter. 1972. Control of the synthesis of fatty-acid synthetase in rat liver by insulin, glucagon, and adenosine 3':5' cyclic monophosphate. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 69:3516-3519.

Langin, D. and C. Holm. 1993. Sequence similarities between

hormone-sensitive lipase and five prokaryotic enzymes.

Trends Biochem. Sci. 18(12):466-467.

Large, V., P. Arner, S. Reynisdottir, J. Grober, V. Van Harmelen, C. Holm, and D. Langin. 1998. Hormone-sensitive lipase expression and activity in relation to lipolysis in human fat cells. J. Lipid Res. 39(8):1688-1695.

Latasa, M. J., Y. S. Moon, K. H. Kim, and H. S. Sul. 2000. Nutritional regulation of the fatty acid synthase promoter in vivo: Sterol regulatory element binding protein functions through an upstream region containing a sterol regulatory element. Proc. Natl. Acad. Sci. U S A. 97(19): 10619-10624.

Leclercq, B. and J. Simion. 1982. Selection broilers for low or high abdominal fat: observations on the hens during the breeding period. Ann. de Zoo. 31:161-170.

Leclercq, B., D. Hermier, and M. R. Salichon. 1984. Effects of age and diet on plasma lipid and glucose concentrations in genetically lean or fat chickens. Reprod. Nutr. Dev. 24(1):53-61.

- Leclercq, B., J. Kouassi-Kouakou, and J. Simon. 1985. Laying performances, egg composition, and glucose tolerance of genetically lean or fat meat-type breeders. *Poult. Sci.* 64(9):1609-16.
- Leclercq, B., J. P. Boyer, and J. C. Blum. 1980. Selecting broilers for low or high abdominal fat: initial observations. *Br. Poult. Sci* 21:107-113.
- Lefevre, P., C. Diot, P. Legrand, and M. Douaire. 1999. Hormonal regulation of stearoyl coenzyme-A desaturase 1 activity and gene expression in primary cultures of chicken hepatocytes. *Arch. Biochem. Biophys.* 368(2):329-337.
- Legrand, P., J. Mallard, M. A. Bernard-Griffiths, M. Douaire, and P. Lemarchal. 1987. Hepatic lipogenesis in genetically lean and fat chickens. In vitro studies. *Comp. Biochem. Physiol. B* 87(4):789-792.
- Leveille, G. A., D. R. Romsos, Y. Yeh, and E. K. O'Hea. 1975. Lipid biosynthesis in the chick. A consideration of site of synthesis, influence of diet and possible regulatory mechanisms. *Poult. Sci.* 54(4):1075-1093.

- Li, Z., M. Sumida, A. Birchbauer, M. C. Schotz, and K. Reue. 1994. Isolation and characterization of the gene for mouse hormone-sensitive lipase. *Genomics*. 24(2):259-65.
- Lilburn, M. S., F. D. Morrow, R. M. Jr. Leach, E. G. Buss, and R. J. Martin. 1982. A comparison of the in vitro lipogenic rates and other physiologic parameters in two strains of lean and obese chickens. *Growth* 46(2):163-170.
- Lin, X., G. Schonfeld, P. Yue, and Z. Chen. 2002. Hepatic fatty acid synthesis is suppressed in mice with fatty livers due to targeted apolipoprotein B38.9 mutation. *Arterioscler Thromb. Vasc. Biol.* 22(3):476-482.
- Maffei, M., J. Halaas, E. Ravussin, R. E. Pratley, G. H. Lee, Y. Zhang, H. Fei, S. Kim, R. Lallone, and S. Ranganathan. 1995. Leptin levels in human and rodent: measurement of plasma leptin and ob RNA in obese and weight-reduced subjects. *Nat. Med.* 1(11):1155-1161.
- Miyazaki, M., Y.C. Kim, and J. M. Ntambi. 2001. A lipogenic diet in mice with a disruption of the stearoyl-CoA desaturase 1 gene reveals a stringent requirement of endogenous monounsaturated fatty acids

- for triglyceride synthesis. *J. Lipid Res.* 42(7):1018-1024.
- Moon, Y. A., N. A. Shah, S. Mohapatra, J. A. Warrington, and J. D. Horton. 2001. Identification of a mammalian long chain fatty acyl elongase regulated by sterol regulatory element-binding proteins. *J. Biol. Chem.* 276(48):45358-45366.
- Morimoto, C., A. Kiyama, K. Kameda, H. Ninomiya, T. Tsujita, and H. Okuda. 2000. Mechanism of the stimulatory action of okadaic acid on lipolysis in rat fat cells. *J. Lipid Res.* 41(2):199-204.
- Morimoto, C., K. Kameda, T. Tsujita, and H. Okuda. 2001. Relationships between lipolysis induced by various lipolytic agents and hormone-sensitive lipase in rat fat cells. *J. Lipid Res.* 42(1):120-127.
- Moustaid, N., B. H. Jones, and J. W. Taylor. 1996. Insulin increases lipogenic enzyme activity in human adipocytes in primary culture. *J. Nutr.* 126(4):865-870.
- Mukherjee, R., L. Jow, G. E. Croston, and J. R. Jr. Paterniti. 1997. Identification, characterization, and tissue distribution of human peroxisome proliferators-activated

- receptor (PPAR) isoforms PPAR γ 2 versus PPAR γ 1 and activation with retinoid X receptor agonists and antagonists. *J. Biol. Chem.* 272:8071-8076.
- Noyan, A., W. J. Lossow, N. Brot, and I. L. Chaikoff. 1964. Pathway and form of absorption of palmitic acid in the chicken. *J. Lipid Res.* 53:538-541.
- Osuga, J., S. Ishibashi, T. Oka, H. Yagyu, R. Tozawa, A. Fujimoto, F. Shionoiri, N. Yahagi, F. B. Kraemer, O. Tsutsumi, and N. Yamada. 2000. Targeted disruption of hormone-sensitive lipase results in male sterility and adipocyte hypertrophy, but not in obesity. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 97(2):787-792.
- Paulauskis, J. D. and H. S. Sul. 1989. Hormonal regulation of mouse fatty acid synthase gene transcription in liver. *J. Biol. Chem.* 264(1):574-577.
- Paulauskis, J. D. and H. S. Sul. 1989. Structure of mouse fatty acid synthase mRNA. Identification of the two NADPH binding sites. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 158(3):690-695.
- Perry, M. M., H. D. Griffin, and A. B. Gilbert. 1984. The

- binding of very low density and low density lipoproteins to the plasma membrane of the hen's oocyte. A morphological study. *Exp. Cell Res.* 151(2):433-446.
- Prip-Buus, C., D. Perdereau, F. Foufelle, J. Maury, P. Ferre, and J. Girard. 1995. Induction of fatty-acid-synthase gene expression by glucose in primary culture of rat hepatocytes. Dependency upon glucokinase activity. *Eur. J. Biochem.* 230:309-315.
- Qureshi, A. A., W. C. Burger, N. Prentice, H. R. Bird, and M. L. Sunde. 1980. Regulation of lipid metabolism in chicken liver by dietary cereals. *J. Nutr.* 110(3):388-393.
- Reynisdottir, S., M. Dazats, A. Thorne, and D. Langin. 1997. Comparison of hormone-sensitive lipase activity in visceral and subcutaneous human adipose tissue. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 82(12):4162-4166.
- Richards, M. P., C. M. Ashwell, and J. P. McMurtry. 1999. Analysis of leptin gene expression in chickens using reverse transcription polymerase chain reaction and capillary electrophoresis with laser-induced fluorescence detection. *J. Chromatogr. A.* 853(1-2):321-335.

- Rosebrough, R. W., S. M. Poch, B. A. Russell, and M. P. Richards. 2002. Dietary protein regulates *in vitro* lipogenesis and lipogenic gene expression in broilers. *Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol.* 132(2): 423-431.
- Saadoun, A. and B. Leclercq. 1983. Comparison of *in vivo* fatty acid synthesis of the genetically lean and fat chickens. *Comp. Biochem. Physiol. B* 75(4):641-644.
- Saadoun, A. and B. Leclercq. 1987. *In vivo* lipogenesis of genetically lean and fat chickens: effects of nutritional state and dietary fat. *J. Nutr.* 117(3):428-435.
- Schoonjans, K., B. Staels, and J. Auwerx. 1996. The peroxisome proliferators-activated receptor (PPAR) in mediating the immediately after translation, resulting in disappearance from muscle. *J. Biol. Chem.* 268: 10593-10605.
- Schweizer, M., K. Roder, L. Zhang, and S. S. Wolf. 2002. Transcription factors acting on the promoter of the rat fatty acid synthase gene. *Biochem. Soc. Trans.* 30(Pt 6):1070-1072.

- Semenkovich, C. F., T. Coleman, and F. T. Jr. Fiedorek. 1995. Human fatty acid synthase mRNA: tissue distribution, genetic mapping, and kinetics of decay after glucose deprivation. *J. Lipid Res.* 36(7):1507-1521.
- Semenkovich, C. F., T. Coleman, and R. Goforth. 1993. Physiologic concentrations of glucose regulate fatty acid synthase activity in HepG2 cells by mediating fatty acid synthase mRNA stability. *J. Bio. Chem.* 268(10):6961-6970.
- Shimakata T., K. Mihara, and R. Sato. 1972. Reconstitution of hepatic microsomal stearyl-coenzyme A desaturase system from solubilized components. *J. Biochem. (Tokyo).* 72(5):1163-1174.
- Shimano H., J. D. Horton, I. Shimomura, R. E. Hammer, M. S. Brown, and J. L. Goldstein. 1997. Isoform 1c of sterol regulatory element binding protein is less active than isoform 1a in livers of transgenic mice and in cultured cells. *J. Clin. Invest.* 99(5):846-854.
- Shimoike, T., T. Yanase, F. Umeda, I. Ichino, R. Takayanagi, and H. Nawata. 1998. Subcutaneous or visceral adipose

- tissue expression of the PPAR γ gene is not altered in the fatty (fa/fa) Zucker rat. *Metabolism*. 47(12):1494-1498.
- Shimomura, I., H. Shimano, B. S. Korn, Y. Bashmakov, and J. D. Horton. 1998. Nuclear sterol regulatory element-binding proteins activate genes responsible for the entire program of unsaturated fatty acid biosynthesis in transgenic mouse liver. *J. Biol. Chem.* 273(52):35299-35306.
- Siegel, P. B. and J. A. Cherry. 1981. Selection for juvenile body weight and correlated responses. *Proc. of Aus. Poultry stock Feed Con.* 4:122-128.
- Stapleton, S. R., D. A. Mitchell, L. M. Salati, and A. G. Goodridge. 1990. Triiodothyronine stimulates transcription of the fatty acid synthase gene in chick embryo hepatocytes in culture. Insulin and insulin-like growth factor amplify that effect. *J. Biol. Chem.* 265(30):18442-18446
- Strittmatter, P., L. Spatz, D. Corcoran, M. J. Rogers, B. Setlow, and R. Redline. 1974. Purification and properties of rat liver microsomal stearyl coenzyme A desaturase. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 71(11):4565-4569.
- Sztalryd, C. and F. B. Kraemer. 1994. Regulation of

- hormone-sensitive lipase during fasting. *Am. J. Physiol.* 266(2 Pt 1):E179-185.
- Sztalryd, C. and F. B. Kraemer.1994. Differences in hormone-sensitive lipase expression in white adipose tissue from various anatomic locations of the rat. *Metabolism.* 43(2):241-247.
- Sztalryd, C., M. C. Komaromy, and F. B. Kraemer. 1995. Overexpression of hormone-sensitive lipase prevents triglyceride accumulation in adipocytes. *J. Clin. Invest.* 95(6):2652-2661.
- Tai, T. A. C., C. Jennermann, K. K. Brown, B. B. Oliver, M. A. MacGinnitie, W. O. Wilkison, H. R. Brown, J. M. Lehmann, S. A. Kliewer, D. C. Morris, and R. A. Graves. 1996. Activation of the nuclear receptor peroxisome proliferators-activated receptor γ promotes brown adipocyte differentiation. *J. Biol. Chem.* 271: 29909-29914.
- Taouis, M., J. W. Chen, C. Daviaud, J. Dupont, M. Derouet, and J. Simon. 1998. Cloning the chicken leptin gene. *Gene* 208(2):239-242.

- Tontonoz, P., E. Hu, and B. M. Spiegelman. 1994. Stimulation of adipogenesis in fibroblasts by PPAR γ 2, a lipid-activated transcription factor. *Cell* 79:1147-1156.
- Tontonoz, P., E. Hu, and B. M. Spiegelman. 1995. Regulation of adipocyte gene expression and differentiation by peroxisome proliferators-activated receptor γ . *Curr. Opin. Genet. Dev.* 5:571-576.
- Vaughan, M., J. E. Berger, and D. Steinberg. 1964. Hormone-sensitive lipase and monoglyceride lipase activities in adipose tissue. *J. Biol. Chem.* 239:401-409.
- Vidal-Puig, A. J., M. Jimenez-Linan, B. B. Lowell, A. Hamann, E. Hu, B. Spiegelman, J. S. Flier, and D. E. Moller. 1996. Regulation of PPAR γ gene expression by nutrition and obesity in rodents. *J. Clin. Invest.* 97(11): 2553-2561.
- Vidal-Puig, A. J., R. V. Considine, M. Jimenez-Linan, A. Werman, W. J. Pories, J. F. Caro, and J. S. Flier. 1997. peroxisome proliferators-activated receptor gene expression in human tissues: Effects of obesity, weight loss, and regulation by insulin and glucocorticoids. *J. Clin.*

- Invest. 99(10):2416-2422.
- Volpe, J. J. and P. R. Vagelos. 1976. Mechanisms and regulation of biosynthesis of saturated fatty acids. *Physiol. Rev.* 56(2):339-417.
- Way, J. M., W. W. Harrington, K. K. Brown, W. K. Gottschalk, S. S. Sundseth, T. A. Mansfield, R. K. Ramachandran, T. M. Willson, and S. A. Kliewer. 2001. Comprehensive messenger ribonucleic acid profiling reveals that peroxisome proliferator-activated receptor γ activation has coordinate effects on gene expression in multiple insulin-sensitive tissues. *Endocrinology* 142:1269-1277.
- Whitehead C. C. and H. D. Griffin. 1984. Development of divergent lines of lean and fat broilers using plasma very low density lipoprotein concentration as selection criterion: the first three generations. *Br. Poult. Sci.* 25(4):573-582.
- Wilson, B. E., S. Deeb, and G. L. Florant. 1992. Seasonal changes in hormone-sensitive and lipoprotein lipase mRNA concentrations in marmot white adipose tissue. *Am. J. Physiol.* 262(2 Pt 2):R177-181.
- Wilson, S. B., D. W. Back, S. M. Jr. Morris, J. Swierczynski,

and A. G. Goodridge. 1986. Hormonal regulation of lipogenic enzymes in chick embryo hepatocytes in culture. Expression of the fatty acid synthase gene is regulated at both translational and pretranslational steps. *J. Biol. Chem.* 261(32):15179-15182.

Yang, T., J. L. Goldstein, and M. S. Brown. 2000. Overexpression of membrane domain of SCAP prevents sterols from inhibiting SCAP.SREBP exit from endoplasmic reticulum. *J. Biol. Chem.* 275(38):29881-29886.

Zhang, Y., R. Proenca, M. Maffei, M. Barone, L. Leopold, and J. M. Friedman. 1994. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 372(6505):425-432.

The lipid utilization and egg yield in Taiwan country chicken

In poultry, lipids are mainly synthesized in the liver and transported outward to support body maintenance and reproduction requirements. The superfluous lipids are stored in the adipose or muscle tissues. The objective of this study was to dissect the role of lipid metabolism in the egg production performance, taking advantage of the two Taiwan native chicken lines with relatively high (L2 line) and low (B line) rates of egg production. Samples were collected from chickens at 22 or 50 weeks of age. Expression of the lipid metabolism-related genes were measured by using real-time RT-PCR. In liver, the levels of fatty acid synthetase (FAS), apoprotein B (apo-B), and leptin mRNA's in the B line were significantly higher than those in the L2 line. In adipose tissue, higher leptin mRNA accumulation levels were seen in the B line than the L2 line. However, the mRNA levels of PPAR γ , LPL,

VLDLR, and HSL were elevated in the L2 line, compared with those in the B lines. Furthermore, frozen sections were prepared and analyzed to compare the lipid storage in leg muscle and the cell size in adipose tissue. Results showed that the B line chickens have more lipid storage in leg muscle and larger adipocytes in adipose tissue than the L2 line. Taken together, the B line chickens appear to have significant higher capacity in terms of lipid synthesis in liver, as well as transport and storage of lipids in adipose and muscle tissue than the L2 line chickens, suggesting that lipid distribution correlates more to egg production efficiency than lipid synthesis does.

Key words: lipid utilization, egg yield, chicken

小傳

作者於 1978 年 7 月 25 日出生於高雄市，先後畢業於高雄市立鼓山國小、高雄市立七賢國中、國立高雄師範大學附屬高級中學。1997 年考取東海大學畜產系，於 2001 年 6 月畢業。同年考取東海大學畜產研究所，在 陳珠亮博士的指導下，研究畜產學之生理與分子生物學。

