

生长激素受体基因敲除小鼠模型

王小双¹, 米艾¹, 孙捷², 王丹¹, 曾丽¹, 冉丽媛^{1*}, 吴英杰^{1*}

(1. 大连医科大学重大疾病基因工程模式动物研究所, 基因工程模式动物国际联合研究中心, 辽宁 大连 116044; 2. 吉林大学附属第一医院干部病房, 长春 130000)

【摘要】 由脑垂体合成并分泌的生长激素(GH)不仅控制机体生长发育, 还在许多代谢疾病中起关键调控作用。GH的生物学功能通过与其表面受体(GHR)结合而启动, 基于分子生物学技术构建各种GHR敲除小鼠模型成为揭示GH调控机制的基础。利用Cre-LoxP重组酶系统, 迄今已在小鼠全身或组织特异性(如肝、骨骼肌、脂肪、巨噬细胞和胰岛 β 细胞等)敲除ghr基因, 并从中探索GH/GHR信号转导及其与其他信号通路的相互作用。本文综述并讨论了这些ghr基因敲除小鼠模型的表型特征和应用, 从不同方面介绍了GH/GHR相关信号通路研究现状。

【关键词】 生长激素受体; 全身敲除; 组织特异性敲除; 代谢疾病; Cre/LoxP系统

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2018) 05-0662-05

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2018.05.020

Overview of growth hormone receptor knockout mouse models

WANG Xiaoshuang¹, MI Ai¹, SUN Jie², WANG Dan¹, ZENG Li¹, RAN Liyuan^{1*}, WU Yingjie^{1*}

(1. Institute of Genome Engineered Animal Models for Human Disease, National Center of Genetically Engineered Animal Models for International Research, Dalian Medical University, Dalian Liaoning 116044, China; 2. VIP Ward, First Hospital of Jilin University, Changchun 130000)

Corresponding author: WU Yingjie. E-mail: yingjiwu@dmu.edu.cn; RAN Liyuan. E-mail: ranly1020@126.com

【Abstract】 Growth hormone (GH) is synthesized and released by somatotrophic cells in the pituitary gland. As well as functions in growth and development, GH is also important in many metabolic diseases. The biological functions of GH are initiated by ligand binding to the surface receptor, growth hormone receptor (GHR). Rapid advances in molecular technology have enabled construction of various GHR knockout mice models to examine the mechanisms of action of GH. Using a Cre-LoxP recombinase system, the mouse GHR has also been successfully knocked out systemically and tissue-specifically, including in the liver, skeletal muscle, adipose tissues, macrophages, and pancreatic islet β -cells. This has provided a unique platform for studying GH/GHR signal transduction and its interactions with other signaling pathways. In this brief review, we discuss the phenotypic characteristics and applications of these GHR knockout mouse models.

【Keywords】 growth hormone receptor; whole body knockout; tissue-specific knockout; metabolic disease; Cre/LoxP system

Conflict of interest statement: We declare that we have no conflict of interest statement.

1966年,Zvi Laron首次发现一种常染色体隐性遗传的侏儒症并将其命名为Laron综合征,该类患

者身材矮小、青春期的延迟、反复低血糖、低血清胰岛素样生长因子1(IGF-1)、高血清GH;进一步研究发

【基金项目】 国家自然科学基金面上项目(81471000); 国家自然科学基金青年基金(81600668); 辽宁省教育厅科研项目(L2016023); 吉林省科技厅科研项目(20150414009GH)。

Funded by National Natural Science Foundation of China (81471000), National Natural Science Foundation of China (81600668), Liaoning Provincial Department of Education Research Project (L2016023), Jilin Provincial Science and Technology Department Research Project (20150414009GH)

【作者简介】 王小双(1992—)女,硕士研究生,研究方向:生长激素受体与代谢。Email:852168169@qq.com

【通信作者】 吴英杰(1965—)男,教授,博士生导师。Email: yingjiwu@dmu.edu.cn;

冉丽媛(1986—)女,博士,讲师,Email: ranly1020@126.com * 共同通信作者

现该疾病是由于 *GHR* 基因突变导致 GH 功能缺陷^[1]。但受病例数量和科研手段限制,这种 GH 功能缺陷对机体生长代谢的长期影响及相关疾病治疗与预后均未得到充分研究。

如今,基因编辑技术在研究疾病发生发展、转归治疗等方面发挥日益重要的作用。科学家基于 Cre/LoxP 等技术建立了多种基因敲除模型以研究特定基因在特定组织或各种疾病发生发展中的作用机制。小鼠 *Ghr* 基因由 15 号染色体上共计 10 个外显子编码^[2-3],其中外显子 4 编码 GH 结合区,因此也成为 *Ghr* 基因编辑的靶标。目前除了全身 *Ghr* 基因敲除小鼠外,肝、肌肉、脂肪等组织特异性 *Ghr* 基因敲除小鼠模型也逐步产生,用于分析 GH 相关信号通路在机体生长及代谢中的作用。

1 全身敲除 *Ghr* 基因小鼠模型

1997 年 Zhou 等^[4]构建了第一只全身敲除 *Ghr* 基因小鼠模型($GHR^{-/-}$),这是最早用于研究 GH 功能的实验动物模型,迄今已发表相关论文 70 余篇。

GHR 全身敲除对小鼠生长发育产生严重影响。 $GHR^{-/-}$ 小鼠生长缓慢,出生时体重与对照组无明显差异,从 3 周龄开始,其身长、体重均小于对照组,且随年龄增长差距越发明显^[4]。尽管雄性 $GHR^{-/-}$ 小鼠体重较低,但其脂肪占比明显增高,雌性 $GHR^{-/-}$ 小鼠无此现象^[5-6]。随年龄增加, $GHR^{-/-}$ 小鼠(90 周龄)体重有所降低^[7],这提示 $GHR^{-/-}$ 小鼠脂肪占比增加存在性别和年龄依赖。

由于缺少 GH 刺激和 IGF-1 负反馈调节, $GHR^{-/-}$ 小鼠血清 GH 显著增加,血清 IGF-1 含量减少^[4],血清瘦素^[8]及脂联素^[9]水平均有升高。 $GHR^{-/-}$ 小鼠胰岛素水平较低,但胰岛素敏感性增加^[5],血胆固醇及低密度脂蛋白含量低^[8],寿命延长^[10-11]。 $GHR^{-/-}$ 小鼠更容易被高脂饮食(High fat diet, HF)诱导产生肥胖,但胰岛素敏感性仍优于对照组^[12]。这表明,当脂肪组织充分发挥储脂功能时,肥胖对机体健康的损伤可能有所下降,也说明体内脂质含量不应是衡量健康与否的核心标准。

与 Laron 综合征患者相似, $GHR^{-/-}$ 小鼠性成熟较晚,生育能力降低^[13-14],平均每胎生仔 2.71 只,仅 $GHR^{+/-}$ 小鼠的 1/3 (6.57 只/胎),且死亡率较高,这可能与胎盘功能和哺乳能力不足有关^[4]。 $GHR^{-/-}$ 小鼠在生长发育、生殖及代谢方面的改变

可为临床探究 GH 功能失调相关疾病提供充足的理论依据。

2 肝特异性敲除 *Ghr* 基因小鼠模型

Fan 等^[15]在 2009 年构建了一种 GHR-Flox 小鼠,并与 Alb-Cre 工具鼠杂交获得肝特异性敲除 *ghr* 小鼠模型(GHRLD)。GHRLD 小鼠血清 IGF-1 减少了 95%,且伴随严重高 GH 血症(升高 4 倍);但在几乎完全缺失内分泌 IGF-1 的情况下,其身长体重并未受影响,仅出现肝重显著增加而肾重减少。肝特异性敲除 *Igf-1* 也会导致高 GH 血症及血浆中 IGF-1 水平下降,但对小鼠生长并无显著影响^[16-18],这说明肝源性 IGF-1 并非小鼠生长所必需,循环中高水平 GH 与 GHR 的直接作用或机体其他组织通过自分泌、旁分泌产生的少量 IGF-1 才是机体生长的关键。另外, GHRLD 小鼠 6 周龄时即出现葡萄糖耐量异常和胰岛素抵抗(IR),8 周龄时自发形成脂肪肝^[15],说明肝 GHR 可能参与介导了 GH 非 IGF-1 依赖性的胰岛素分泌及糖脂代谢调节。

2014 年, List 等^[19]将 Alb-Cre 工具鼠与其新构建的 GHR-Flox 小鼠杂交获得新型肝特异性敲除 *Ghr* 小鼠模型(LiGHRKO)。与 GHRLD 小鼠不同, LiGHRKO 小鼠脂肪减少,肝重增加,身长体重均明显低于对照组。其中,雄性 LiGHRKO 小鼠出现脂肪肝,而雌性小鼠肝无明显变化。值得注意的是,在转录水平, LiGHRKO 小鼠除了肝中 *Igf-1* 表达明显降低外,其余组织中 *Igf-1* 表达均明显升高^[19]。由此可见,肝作为循环内 IGF-1 的最大来源,其 GHR 缺失严重影响 GH 依赖于 IGF-1 的生长发育、血糖调节及肝脂质代谢过程。非酒精性脂肪肝(NAFLD)作为代谢综合征累及肝的病理表现,影响着全球三分之一的人群。据研究, GH 受损人群 NAFLD 发病率更高^[20]。循环水平低 GH 或肝 GH/IGF-1 轴功能受损均与 NAFLD 发生相关。上述两种模型为深入认识 NAFLD 发病机制及其临床个性化靶向治疗提供了良好的实验工具。

3 骨骼肌特异性敲除 *Ghr* 基因小鼠模型

Mavalli 等^[21]在 2010 年构建了骨骼肌特异性敲除 *Ghr* 小鼠模型(ΔGHR)。骨骼肌 *Ghr* 缺失导致骨骼肌纤维比例显著失调, I 型肌纤维明显减少, II 型肌纤维明显增多,骨骼肌肌核减少,肌力降低并产生胰岛素抵抗^[21]。同时,缺失 *Ghr* 的肌原细胞内

磷酸化的胰岛素底物 1 表达上调,磷脂酰肌醇激酶及细胞外调节蛋白激酶的磷酸化水平均显著下调,这揭示了 Δ GHR 小鼠产生胰岛素抵抗的机制。

同肝 *Ghr* 敲除小鼠模型类似,肌肉敲除 *Ghr* 对小鼠生理代谢的影响也因 Cre 鼠的不同而各有差异。利用 Mef-2c-73k-Cre 构建的 Δ GHR 小鼠脂肪增多导致体重增加,且产生高血糖和高血脂^[21];而利用 MCK-Cre 构建的 mGHRKO 小鼠则恰好相反,表现为消瘦、更优的胰岛素敏感性和糖耐量^[22]。HF 喂养后,mGHRKO 小鼠脂肪肝病较轻,胰岛素敏感性较好,骨骼肌摄糖量及氧化呼吸率增加。HF 处理的 mGHRKO 小鼠蛋白激酶 B 磷酸化水平上调,这可能是其对胰岛素更敏感的原因^[22]。2015 年, List 等^[23] 利用 Ckmm-Cre 鼠获得新型骨骼肌和心肌特异性敲除 *Ghr* 小鼠模型 (MuGHRKO)。研究发现雄性 MuGHRKO 小鼠体重与脂肪重量均略有增加,血糖与血胰岛素水平较低;而雌性 MuGHRKO 小鼠体重与脂肪组织重量则显著减轻^[23]。这与 LiGHRKO 小鼠肝脂肪变性仅限于雄性小鼠的发现类似^[19],提示 *Ghr* 基因在不同性别中的表达及 GH 在不同组织的功能发挥具有二态性,从而对 GH 的临床研究及应用起到一定指导作用。

4 脂肪特异性敲除 *Ghr* 基因小鼠模型

List 等^[24] 在 2013 年利用 aP2-Cre 与 GHR-Flox 小鼠杂交获得脂肪特异性敲除 *Ghr* 基因小鼠模型 (FaGHRKO)。FaGHRKO 小鼠除了肥胖和脂肪明显增多外,在血糖、胰岛素、葡萄糖耐量、胰岛素敏感性及脂肪细胞因子水平并无明显改变。有研究报道 *Ap2* 基因不仅表达于脂肪组织,在非脂肪组织如心脏内皮细胞、骨骼肌周围毛细血管、巨噬细胞和胚胎发育过程中亦有表达^[25],这种非特异性表达可能对实验结果产生干扰。

脂肪组织不仅是机体重要的储能和内分泌器官,也是间充质干细胞的最大来源,探索 GH 对脂肪的调控和脂肪源性干细胞增殖分化能力的影响可为临床干细胞的体外培养和移植提供新思路。Adipoq-Cre 是另一种在脂肪组织中特异表达 CRE 酶的工具鼠。相较于 aP2-Cre,其介导的基因重组更加特异^[26]。利用 Adipoq-Cre 构建新型脂肪特异性敲除 *Ghr* 小鼠模型,探索 GH 相关信号通路对脂肪细胞分化、脂质合成分解等代谢过程的调控及其与肥胖症、脂肪肝等脂代谢紊乱疾病的关系是很有必

要的。

5 巨噬细胞特异性敲除 *Ghr* 基因小鼠模型

肥胖常伴有脂肪组织中巨噬细胞 (M ϕ) 的浸润、积累和激活^[27]。研究表明,在含有 M ϕ 的培养液中培养前脂肪细胞,其成脂分化能力更强,过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 的转录水平升高,且 M ϕ 这种促分化作用必须在 GH 刺激下才能发生^[28]。为了探索 GH 对 M ϕ 分泌因子的直接作用和对饮食诱导肥胖的影响,2010 年 Lu 等^[29] 将 LysM-Cre 鼠与 *Ghr*-Flox 小鼠杂交,获得 M ϕ 敲除 *Ghr* 小鼠模型 (Mac*Ghr*KO)。HF 处理 8 周, Mac*Ghr*KO 小鼠产生明显的糖耐量异常, HF 处理 18 周, Mac*Ghr*KO 小鼠糖耐量损伤更明显,并产生了胰岛素抵抗。同时, Mac*Ghr*KO 小鼠脂肪组织内胰岛素信号通路也被显著抑制^[29]。

M ϕ 在脂肪组织中有 M1 和 M2 两种表型,其中 M1 数量增加与炎症发生密切相关。在肥胖患者脂肪中存在大量 M ϕ 浸润并高表达 M1 标记物,分泌促炎细胞因子^[30]。HF 处理 18 周后, Mac*Ghr*KO 小鼠脂肪内 M ϕ 总数增加, M1 比例升高且炎症因子表达显著增多。这表明在 HF 条件下, M ϕ 缺失 GH 作用会导致脂肪组织中 M ϕ 浸润增加和明显的炎症反应^[29]。该模型证实 GH 参与肥胖与慢性炎症的发生机制。

6 β 细胞特异性敲除 *Ghr* 基因小鼠模型

2011 年, Wu 等^[31] 利用 RIP-Cre 鼠构建了 β 细胞特异性敲除 *Ghr* 基因小鼠模型 (β *Ghr*KO)。尽管 *Ghr* 全身敲除导致胰岛细胞显著变小^[5],但 β 细胞内敲除 *Ghr* 后对小鼠胰岛大小和胰岛素含量并无明显影响; HF 处理 24 周后 β *Ghr*KO 小鼠出现糖耐不良及葡萄糖刺激的胰岛素分泌不足,组织免疫荧光分析发现其胰岛细胞增殖明显降低,这可能与细胞周期蛋白 D2 表达量降低有关^[31]。

7 结语

GH 相关信号通路在机体生长发育、糖脂代谢、免疫调节等方面发挥重要作用^[32-35]。上述多种 *Ghr* 基因敲除小鼠模型是深入研究 GH 生理病理功能的良好工具。临床 GH 功能缺陷可发生于婴幼儿、儿童直至成年期的不同阶段,所引起或参与的

代谢紊乱与发病年龄密切相关,导致的症状、对生长代谢的影响亦大不相同。不同时期发病的患者对环境及饮食因素的易感性也不尽相同^[36]。儿童期 GH 缺乏多由相关基因缺陷引起,如 Laron 综合征,对机体生长发育影响重大;而成人阶段 GH 功能紊乱隐匿且复杂,可与糖尿病、肥胖症、肝疾病及其他激素紊乱互为因果,也可与药物、创伤等外界因素相关^[37]。因此,利用 *Ghr* 基因敲除小鼠模型解析 GH 对生长代谢的作用时,除了考虑组织特异性外,激素功能发生紊乱的时段特异性也尤为重要。

利用 Cre-LoxP 技术与时间特异性可诱导的基因敲除手段相结合,可使我们对体内特定基因或基因组合的认识增加另一个维度。可诱导性基因敲除手段包括:他莫昔芬、四环素等配体诱导^[38-39];表达 CRE 的腺病毒或慢病毒载体注射进行体外传递^[40]、RNAi 介导^[41],以及由植物光感受器发展而来的光波诱导的蛋白质相互控制^[42],从而达到 DNA 重组的目的。该类技术已在越来越多的全身或组织特异性基因敲除中得以实践,如心脏^[43-44]、肾^[45]、脑^[42]中特异性敲除基因等。已有报道成功构建出他莫昔芬诱导的心脏特异性 *Ghr* 敲除小鼠模型(*iC-GHRKO*)^[39],以研究不同生长阶段 GHR 缺失的作用。故而开发可控、可逆转的定时、定点、定系(细胞谱系)的 *Ghr* 敲除小鼠模型,无疑是未来深入探索 GH/GHR 功能机制的必然方向。

另一方面,和许多其他激素相似, GH 对生长发育和机体代谢的调控功能发挥具有脉冲式分泌、性别二态性和昼夜节律等特点,在对此类模型研究结果的解读中不可忽视。另外,不同哺乳动物物种的代谢特征与其身体大小密切相关,因此,在对比基因敲除小鼠模型和临床观察结果时,有必要纳入分析因素。

参 考 文 献(References)

- [1] Laron Z, Pertzelan A, Mannheimer S. Genetic pituitary dwarfism with high serum concentration of growth hormone -- a new inborn error of metabolism? [J]. Isr J Med Sci, 1966, 2(2): 152 - 155.
- [2] Barton DE, Foellmer BE, Wood WI, et al. Chromosome mapping of the growth hormone receptor gene in man and mouse [J]. Cytogenet Cell Genet, 1989, 50(2-3): 137 - 141.
- [3] Zhou Y, He L, Kopchick JJ. An exon encoding the mouse growth hormone binding protein (mGHBP) carboxy terminus is located between exon 7 and 8 of the mouse growth hormone receptor gene [J]. Receptor, 1994, 4(4): 223 - 227.
- [4] Zhou Y, Xu BC, Maheshwari HG, et al. A mammalian model for Laron syndrome produced by targeted disruption of the mouse growth hormone receptor/binding protein gene (the Laron mouse) [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1997, 94(24): 13215 - 13220.
- [5] Liu JL, Coschigano KT, Robertson K, et al. Disruption of growth hormone receptor gene causes diminished pancreatic islet size and increased insulin sensitivity in mice [J]. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2004, 287(3): E405 - 413.
- [6] List EO, Sackmann-Sala L, Berryman DE, et al. Endocrine parameters and phenotypes of the growth hormone receptor gene disrupted (GHR -/-) mouse [J]. Endocr Rev, 2011, 32(3): 356 - 386.
- [7] Berryman DE, List EO, Palmer AJ, et al. Two-year body composition analyses of long-lived GHR null mice [J]. J Gerontol A Biol Sci Med Sci, 2010, 65(1): 31 - 40.
- [8] Egecioğlu E, Bjursell M, Ljungberg A, et al. Growth hormone receptor deficiency results in blunted ghrelin feeding response, obesity, and hypolipidemia in mice [J]. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2006, 290(2): E317 - 325.
- [9] Nilsson L, Binart N, Bohlooly YM, et al. Prolactin and growth hormone regulate adiponectin secretion and receptor expression in adipose tissue [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2005, 331(4): 1120 - 1126.
- [10] Coschigano KT, Holland AN, Riders ME, et al. Deletion, but not antagonism, of the mouse growth hormone receptor results in severely decreased body weights, insulin, and insulin-like growth factor I levels and increased life span [J]. Endocrinology, 2003, 144(9): 3799 - 3810.
- [11] Arum O, Boparai RK, Saleh JK, et al. Specific suppression of insulin sensitivity in growth hormone receptor gene-disrupted (GHR-KO) mice attenuates phenotypic features of slow aging [J]. Aging Cell, 2014, 13(6): 981 - 1000.
- [12] Robertson K, Kopchick JJ, Liu JL. Growth hormone receptor gene deficiency causes delayed insulin responsiveness in skeletal muscles without affecting compensatory islet cell overgrowth in obese mice [J]. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2006, 291(3): E491 - 498.
- [13] Rosenfeld RG, Rosenbloom AL, Guevara-Aguirre J. Growth hormone (GH) insensitivity due to primary GH receptor deficiency [J]. Endocr Rev, 1994, 15(3): 369 - 390.
- [14] Laron Z, Sarel R, Pertzelan A. Puberty in Laron type dwarfism [J]. Eur J Pediatr, 1980, 134(1): 79 - 83.
- [15] Fan Y, Menon RK, Cohen P, et al. Liver-specific deletion of the growth hormone receptor reveals essential role of growth hormone signaling in hepatic lipid metabolism [J]. J Biol Chem, 2009, 284(30): 19937 - 19944.
- [16] Sjogren K, Liu JL, Blad K, et al. Liver-derived insulin-like growth factor I (IGF-I) is the principal source of IGF-I in blood but is not required for postnatal body growth in mice [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1999, 96(12): 7088 - 7092.
- [17] Sjogren K, Jansson JO, Isaksson OG, et al. A model for tissue-specific inducible insulin-like growth factor-I (IGF-I)

- inactivation to determine the physiological role of liver-derived IGF-I [J]. *Endocrine*, 2002, 19(3): 249–256.
- [18] Yakar S, Liu JL, Stannard B, et al. Normal growth and development in the absence of hepatic insulin-like growth factor I [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1999, 96(13): 7324–7329.
 - [19] List EO, Berryman DE, Funk K, et al. Liver-specific GH receptor gene-disrupted (LiGHRKO) mice have decreased endocrine IGF-I, increased local IGF-I, and altered body size, body composition, and adipokine profiles [J]. *Endocrinology*, 2014, 155(5): 1793–1805.
 - [20] Ichikawa T, Hamasaki K, Ishikawa H, et al. Non-alcoholic steatohepatitis and hepatic steatosis in patients with adult onset growth hormone deficiency [J]. *Gut*, 2003, 52(6): 914.
 - [21] Mavalli MD, DiGirolamo DJ, Fan Y, et al. Distinct growth hormone receptor signaling modes regulate skeletal muscle development and insulin sensitivity in mice [J]. *J Clin Invest*, 2010, 120(11): 4007–4020.
 - [22] Vijayakumar A, Wu Y, Sun H, et al. Targeted loss of GHR signaling in mouse skeletal muscle protects against high-fat diet-induced metabolic deterioration [J]. *Diabetes*, 2012, 61(1): 94–103.
 - [23] List EO, Berryman DE, Ikeno Y, et al. Removal of growth hormone receptor (GHR) in muscle of male mice replicates some of the health benefits seen in global GHR^{-/-} mice [J]. *Aging (Albany NY)*, 2015, 7(7): 500–512.
 - [24] List EO, Berryman DE, Funk K, et al. The role of GH in adipose tissue: lessons from adipose-specific GH receptor gene-disrupted mice [J]. *Mol Endocrinol*, 2013, 27(3): 524–535.
 - [25] Urs S, Harrington A, Liaw L, et al. Selective expression of an aP2/fatty acid binding protein 4-Cre transgene in non-adipogenic tissues during embryonic development [J]. *Transgenic Res*, 2006, 15(5): 647–653.
 - [26] Lee KY, Russell SJ, Ussar S, et al. Lessons on conditional gene targeting in mouse adipose tissue [J]. *Diabetes*, 2013, 62(3): 864–874.
 - [27] Zeyda M, Stulnig TM. Adipose tissue macrophages [J]. *Immunol Lett*, 2007, 112(2): 61–67.
 - [28] Lu C, Kumar PA, Fan Y, et al. A novel effect of growth hormone on macrophage modulates macrophage-dependent adipocyte differentiation [J]. *Endocrinology*, 2010, 151(5): 2189–2199.
 - [29] Lu C, Kumar PA, Sun J, et al. Targeted deletion of growth hormone (GH) receptor in macrophage reveals novel osteopontin-mediated effects of GH on glucose homeostasis and insulin sensitivity in diet-induced obesity [J]. *J Biol Chem*, 2013, 288(22): 15725–15735.
 - [30] Fujisaka S, Usui I, Bukhari A, et al. Regulatory mechanisms for adipose tissue M1 and M2 macrophages in diet-induced obese mice [J]. *Diabetes*, 2009, 58(11): 2574–2582.
 - [31] Wu Y, Liu C, Sun H, et al. Growth hormone receptor regulates beta cell hyperplasia and glucose-stimulated insulin secretion in obese mice [J]. *J Clin Invest*, 2011, 121(6): 2422–2426.
 - [32] Berryman DE, Glad CA, List EO, et al. The GH/IGF-1 axis in obesity: pathophysiology and therapeutic considerations [J]. *Nat Rev Endocrinol*, 2013, 9(6): 346–356.
 - [33] Perry JK, Liu DX, Wu ZS, et al. Growth hormone and cancer: an update on progress [J]. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*, 2013, 20(4): 307–313.
 - [34] Junnila RK, List EO, Berryman DE, et al. The GH/IGF-1 axis in ageing and longevity [J]. *Nat Rev Endocrinol*, 2013, 9(6): 366–376.
 - [35] Guevara-Aguirre J, Guevara A, Palacios I, et al. GH and GHR signaling in human disease [J]. *Growth Horm IGF Res*, 2018, 38: 34–38.
 - [36] Shalet SM, Toogood A, Rahim A, et al. The diagnosis of growth hormone deficiency in children and adults [J]. *Endocr Rev*, 1998, 19(2): 203–223.
 - [37] Nishizawa H, Iguchi G, Murawaki A, et al. Nonalcoholic fatty liver disease in adult hypopituitary patients with GH deficiency and the impact of GH replacement therapy [J]. *Eur J Endocrinol*, 2012, 167(1): 67–74.
 - [38] Francois JC, Aid S, Chaker Z, et al. Disrupting IGF signaling in adult mice conditions Leanness, resilient energy metabolism, and high growth hormone pulses [J]. *Endocrinology*, 2017, 158(7): 2269–2283.
 - [39] Jara A, Liu X, Sim D, et al. Cardiac-specific disruption of GH receptor alters glucose homeostasis while maintaining normal cardiac performance in adult male mice [J]. *Endocrinology*, 2016, 157(5): 1929–1941.
 - [40] Doetschman T, Azhar M. Cardiac-specific inducible and conditional gene targeting in mice [J]. *Circ Res*, 2012, 110(11): 1498–1512.
 - [41] Podolska K, Svoboda P. Targeting genes in living mammals by RNA interference [J]. *Brief Funct Genomics*, 2011, 10(4): 238–247.
 - [42] Schindler SE, McCall JG, Yan P, et al. Photo-activatable Cre recombinase regulates gene expression in vivo [J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 13627.
 - [43] Lexow J, Poggioli T, Sarathchandra P, et al. Cardiac fibrosis in mice expressing an inducible myocardial-specific Cre driver [J]. *Dis Model Mech*, 2013, 6(6): 1470–1476.
 - [44] Kiermayer C, Conrad M, Schneider M, et al. Optimization of spatiotemporal gene inactivation in mouse heart by oral application of tamoxifen citrate [J]. *Genesis*, 2007, 45(1): 11–16.
 - [45] Dworniczak B, Skryabin B, Tchinda J, et al. Inducible Cre/loxP recombination in the mouse proximal tubule [J]. *Nephron Exp Nephrol*, 2007, 106(1): e11–20.