Lab. Anim. Res. 2010: 26(3), 273-278

Laboratory Animal Research

http://submission.kalas.or.kr

Tissue Specific Expression of Lipid Metabolism Related Molecules in Digestive Organs of Miniature Pigs

Ho Jae Han, Seong Soo Kang and Soo Hyun Park*

Bio-therapy Human Resources Center and Animal Medical Center, College of Veterinary Medicine, Chonnam National University, Gwangju, Korea

The miniature pig is a very suitable donor species in xenotransplantation of human organs. Lipid metabolism is an important process that involves the creation and degradation of lipids, which is associated with the function of the gastro-intestinal tract. However, the distribution of lipid metabolism related molecules in the gastro-intestinal tract in the miniature pig is unclear. The present study examined the expression of farnesoid X-receptor (FXR), liver X- receptor (LXR), retinoid X-receptor (RXR), liver fatty acid binding protein (L-FABP), fatty acid synthase (FAS) mRNA in the digestive organs of miniature pigs. FXR and LXR mRNA were not expressed in the stomach but were expressed at high and low density in the small and large intestines, respectively. RXR mRNA was expressed in stomach with moderate density, small intestine with high density and in the large intestine with low density. L-FABP and FAS mRNA were expressed in the stomach and large intestine with low density and in the small intestine with high density. L-FABP mRNA was expressed in the liver and kidney with high density, and in pancreas with low density. FAS mRNA was expressed in the liver with high density, and in pancreas and kidney with low density.

Key words: Miniature pigs, lipid metabolism related molecules, gastro-intestinal tract, mRNA

Received 11 November 2009; Revised version received 6 September 2010; Accepted 9 September 2010

이종간 장기이식(xenotransplantation)은 신장, 간, 심장 및 폐질환 등에 대한 가장 효율적인 치료방법중의 하나로서 그 연구가 전 세계적으로 활발히 진행되고 있다. 현재 인간 간(human to human)의 공여 장기수가 절대적으로 부족하기 때문에 장기 이식이 치료에 응용될 수 있는 경우는 극히 제한적인 실정이다(Yang and Sykes, 2007). 돼지는 인간과 유사한 생리학적 특성, 번식의 용이성, 짧은 임신기간 및 최근의 형질전환 동물을 생산, 그간 연구되어 왔던 원숭이와는 달리 저렴한 비용 및 인간으로 전염되는 질병이 발견되지 않은 점 등의 다양한 장점으로 인해 이종장기 제공원으로서 가장 적절한 동물로 간주되고 있다(Logan, 2000; Mackenzie *et al.,* 2003). 특히 현재 이종간 장기이식용 장기 제공원으로써 사람의 장기와 비슷한 크기 및 형태를 보유하고 있는 소형돼지(miniature pigs)에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다(Scheepe *et al.,* 2007). 그럼에도 불구하고 소형돼지에서의 다양한 생리 자료는 극히 미미한 실정이다.

일반적으로 소화기계의 반응은 다양한 호르몬 및 효소에 의해서 생리적으로 조절 된다. Farnesoid X-receptor (FXR)는 bile salt sensor로 작용하는 핵 수용체로서 담즙의 생산 흡수와 관련된 효소 및 전달체(bile salt export pump; BSEP)의 발현을 조절한다(Wang *et al.,* 2008). Liver X-receptor (LXR)는 oxysterol에 반응하는 핵 수용체 중의 하나로서, 콜레스테롤 운반과 중성지질 합성에 관여하는 유전자를 조절함으로써 콜레스테롤 항상성에 중요한 역할을 한다(Nomiyama *et al.,* 2008). Retinoid X-receptors (RXRs)은 9-cis-retinoic acid에만 결합하는 수용체로 대사기능에 있어서 다양한 생체기능을 담당하고 있다(Desvergne, 2007). Liver fatty acid binding protein (L-FABP)은 지질물질 대사와 관련되어 fatty acid를 세포내 및 세포밖으로 운반하는 데 중요한 단백질이다(Schroeder *et al.,* 2008). Fatty acid synthase (FAS)는 250 kDa의 다기능 효소로서, acetyl-CoA 전구물질로부터 긴 사슬 지방산의 생합성 단계를 동화 작용하는데 관여하는 매우 중요한 지방 생성 효소이다(Ronnett *et al.,* 2006). 이러한 보고들은 이들 지질

*Corresponding author: Soo Hyun Park, Bio-therapy Human Resources Center and Animal Medical Center, Department of Veterinary Physiology, College of Veterinary Medicine, Chonnam National University, 300 Yongbong-dong, Buk-gu, Gwangju 500-757, Korea
Tel : +82-62-530-2832
Fax: +82-62-530-2809
E-mail: parksh@chonnam.ac.k

대사 관련 수용체 및 단백질들이 소화기계의 기능조절에 관련하는 것으로 사료된다. 하지만 지금까지 돼지에서 소화기계 부위별 지방 대사 관련 수용체 및 단백질과 관련된 보고는 전혀 이루어지고 있지 않은 상황이다. 따라서 본 연구에서는 이종 장기 이식에 중요한 소형 돼지의 소화기계 장기에서 FXR, LXR, RXR, L-FABP 및 FAS 1 mRNA 발현을 알아보고자 하였다.

재료 및 방법

실험동물

Yucatan 소형돼지는 PWG Genetics Korea(평택, 한국)에서 구입하였으며, 실험에 사용된 4개월 령 수컷 소형돼지(5두)의 체중은 35.6±1.28 kg이었다. 이들은 실험동물사에서 사육되었고 실험 기간 동안 사육 환경은 23±2°C, 상대습도 55±10%를 유지하였고, 인공조명(12시간 점등, 12시간 소등)하에서 사육하였으며, 사료와 정제수는 자유로이 급여하였다.

실험동물의 시료 채취

실험동물은 pentobarbital sodium (50 mg/kg)을 정맥내로 주입하여 희생시킨 후 각 장기(위기저부, 위체부, 위동, 십이지장, 공장, 회장, 맹장, 결장, 직장, 간, 췌장 및 신장)를 적출하여 세절한 후 액체질소를 통하여 동결시켜 –70°C 초저온 냉장고에 보관하였다.

Reverse transcription–polymerase chain reaction (RT–PCR)에 의한 mRNA 유전자 발현 변화 규명

전체 RNA는 TRI 시약(Molecular Research Center, Cincinnati, OH, USA)을 이용하여 추출하였다. 역전사는 42°C에서 60분간 4 μg RNA 및 200 U murine leukemia virus transcriptase (GIBCO BRL Life Technologies, Gaithersburg, MD, USA)이 함유된 20 μL를 가지고 실시하였다. PCR 증폭은 5 μL의 RT 산물, 각각의 primer (10 pmol), 1.25 U Taq polymerase (Promega, Madison, WI, USA) 및 1 mM dNTP을 이용하였다. 95°C에서 3분간 초기 배양 후에, 95°C (1분), 55°C (1분) 및 72°C (1분)로 구성된 30 증폭 cycles을 실시하였으며 72°C에서 10분간 최종 extension을 실시하였다. 산물들은 ethidium bromide를 함유한 2% agarose gel을 이용하여 1×TBE buffer에 전기영동하였다. 특이 primer sets은 이미 알려진 cDNA 서열로부터 제작되었다. FXR mRNA: [5'-gcagggagaaaactgaac-3' (sense primer), 5'-tatcctttatgtattgtc-3' (antisense primer)], LXR mRNA: [5'-ggctgcaagggattcttccg (sense primer), 5' catgggccaaggcgtgactc-3' (anti-sense primer)], RXR beta mRNA: [5'-ggatggacaagacagaac-3' (sense primer), 5'-ctagacacttaaggccta-3' (anti-sense primer)], L-FABP mRNA: [5'-cagagccaggaaaactttga-3' (sense primer), 5'-tcttgctgattctcttgaag-3' (anti-sense primer)], FAS mRNA: [5'-cggctcacacaccttcgt-3' (sense primer)], 5'-tgctccatgtcggtgaact-3' (antisense primer)], β-actin mRNA: [5'-tggtgggtatgggtcagaa 3' (sense primer), 5'-gctcgttgtagaaggtgtgg-3' (antisense primer)].

결 과

위에서 소화기 지방 대사 관련 단백질의 mRNA 발현 변화

소형돼지 위의 위바닥, 위몸통 및 위방에서 지방 대사 관련 단백질 mRNA 발현을 알아보았다. Figure 1에서 보이듯이 FXR mRNA 발현은 위에서 인정되지 않았다. LXR mRNA 발현 역시 거의 발현되지 않는 것으로 나타났으며, RXR mRNA 발현은 세부분에서 인정되었다. 이에 비해 L-FABP mRNA 및 FAS mRNA 발현의 경우 세부분 모두에서 약하게 발현되었다(Figure 1).

소장 및 대장에서 소화기 호르몬 및 효소의 mRNA 발현 변화

소형돼지의 소장 및 대장에서 소화기 호르몬 및 효소 mRNA 발현을 알아보았다. FXR mRNA의 경우 소장(십이

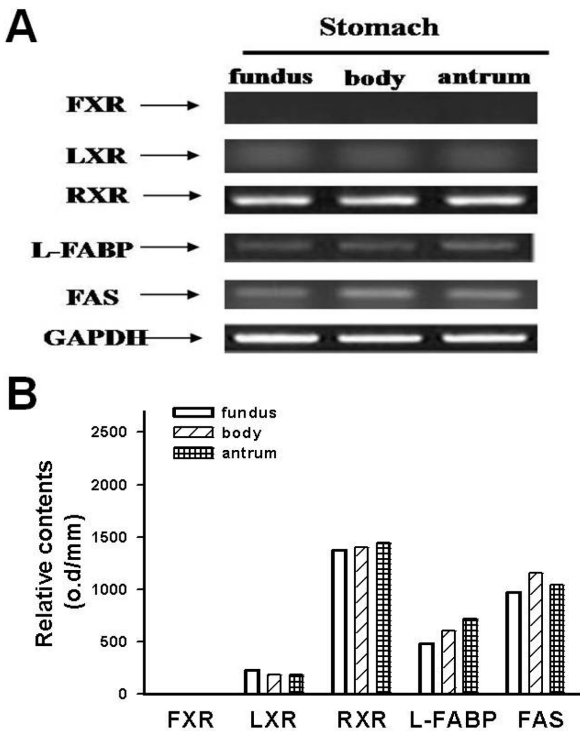

Figure 1. The expression of FXR, LXR, RXR-beta, L-FABP, and FAS mRNA in the fundus, body and antrum of stomach in miniature pigs (A). mRNA expression was evaluated by RT-PCR as described in Materials and Methods nsection. Beta-actin was used as an endogenous control. Lower panel depicts the relative contents of optimal density in stomach (B).

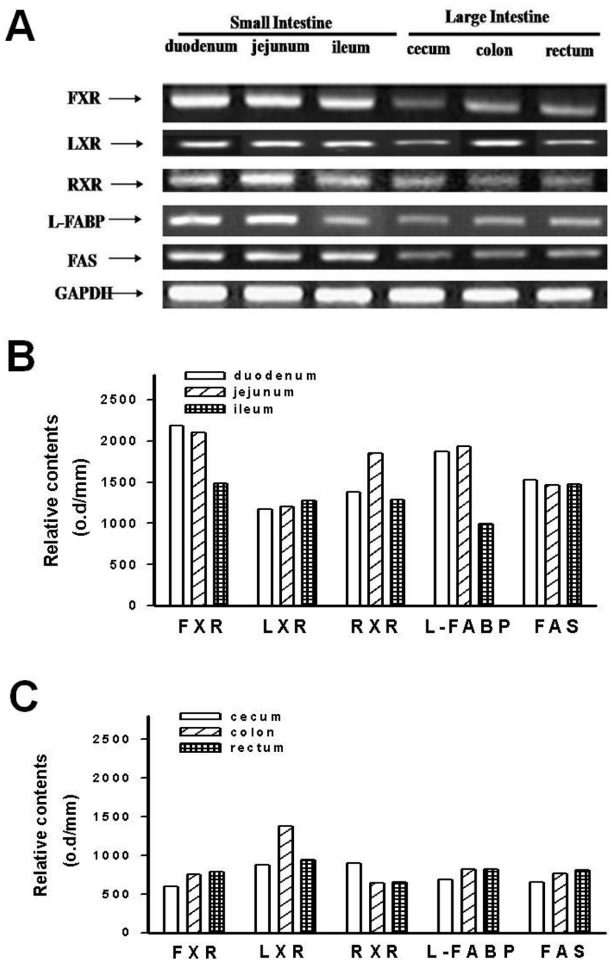

Figure 2. The expression of FXR, LXR, RXR-beta, L-FABP, and FAS mRNA in the small intestine (duodenum, jejunum and ileum) and large intestine (cecum, colon and rectum) in miniature pigs (A). Lower panel depicts the relative contents of optimal density in small intestine (B) and large intestine (C).

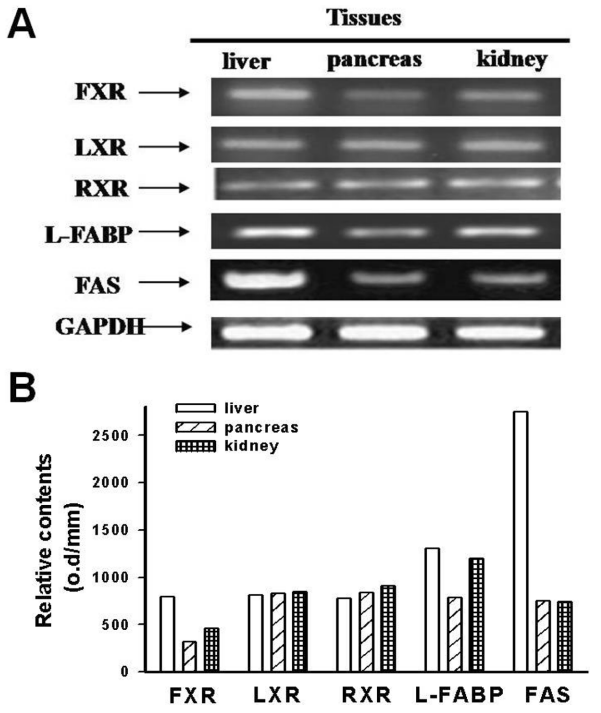

Figure 3. The expression of FXR, LXR, RXR-beta, L-FABP, and FAS mRNA in the liver, pancreas, and kidney in miniature pigs (A). Lower panel depicts the relative contents of optimal density in liver, kidney, pancreas, and kidney (B).

지장, 공장, 회장)에서 많이 발현되는 것으로 나타났으며, 대장(맹장, 결장, 직장)에서는 소장에 비해 약하게 발현되는 것으로 관찰되었으며 맹장에서는 극히 미약하게 나타났다(Figure 2). LXR 및 RXR mRNA의 경우 소장에서 많이 발현되는 것으로 나타났으며, 대장에서는 소장에 비해 약하게 발현되는 것으로 관찰되었다. 이러한 변화는 L-FABP mRNA 및 FAS mRNA 발현의 경우와 같은 양상을 볼 수 있었다.

간, 췌장 및 신장에서 소화기 호르몬 및 효소의 mRNA 발현 변화

대표적 소화기 장기인 간과 췌장 및 비뇨기 장기인 신장에서 지방 대사 관련 단백질 및 효소의 mRNA 발현 변화를 알아보았다. FXR mRNA는 췌장에서는 극히 발현이 미약하였으며, 간 및 췌장 순으로 고발현이 인정되었다(Figure 3). LXR 및 RXR mRNA 발현은 간, 췌장 및 신장 세 장기 모두에서 관찰되었으며, L-FABP mRNA 발현 역시 세 장기에서 관찰되었는 바, 췌장에서는 발현이 약하였다. FAS mRNA 발현은 간에서 가장 강하게 나타났으며, 췌장 및 신장에서는 미약하게 발현되었다.

고 찰

최근 여러 연구자들에 의해서 소화기계의 지방 흡수 조절에 다양한 단백질이 깊이 관여하는 것으로 보고되고 있다(Canbay *et al.,* 2007; Storch and Corsico, 2008). 따라서 최근 이슈가 되고 있는 소형 돼지를 이용한 이종장기 이식시 소화기계의 평가에 지방 대사 관련 단백질의 mRNA 발현을 알아보는 연구가 도움이 될 수 있을 것으로 사료된다.

본 실험에서는 FXR mRNA 발현이 위에서는 인정되지 않았지만, 간, 신장, 소장 및 대장에서 인정되었다. 이러한 결과는 설치류에서 FXR 의 발현이 간, 담낭, 신장 및 부신에서만 이루어졌다는 보고와 일치하였다(Forman *et al.,* 1995; Higashiyama *et al.,* 2008). 이는 돼지와 비슷한 양상을 보여주고 있다는 것을 말해 주고 있다. 최근 Chen *et al.*(2010)은 이식에 있어서 FXR이 간의 재생을 촉진하다고 하여 본 연구의 일부 결과들이 향후 이종장기 영역에 도움이 될 수 있을 것으로 사료된다.

LXR mRNA 발현의 경우 본 연구에서 위에서는 거의 인정이 되지 않았다. 지금까지 모든 동물의 위에서 LXR 관련 보고가 전혀 이루어지고 있지 않는 현재의 시점에서 종간의 비교자체도 불가능하지만 본 결과를 통해서 볼 때 위에서의 LXR의 중요성은 상대적으로 떨어진다고 추측된다. 이에 반해 무균돼지의 소장 및 간에서는 LXR mRNA 발현이 강하게 인정되었다. 이는 LXR이 소장에서 특히 cholesterol 대사에 깊히 관여하고 있기 때문으로 판단된다(van der Veen *et al.,* 2009). Feig *et al*. (2009) 역시 LXR 및 high-density lipoproteins (HDL)이 이식 모델에 있어서 동맥경화증을 일으키는 중요한 인자라고 보고하여 LXR의 조직별 발현 증가자료가 향후 기초 자료로 이용될 수 있다고 사료된다. 최근에 Inoue *et al*. (2008)은 마우스의 소장(십이지장, 공장, 회장)에서 FXR 및 LXR 발현이 장 특이적으로 peroxisome proliferator-activated receptor-alpha (PPAR-alpha) 의존적으로 조절된다고 보고하여 본 연구 결과를 뒷받침해 주고 있다. 이에 비해 대장에서는 미약한 발현이 인정되었다. 흥미로운 것은 결장에서 LXR mRNA 발현이 강하게 나타났다는 것이다. 일부 연구자들에 의해서 사람의 결장 및 결장 세포주에서 LXR의 단백질 발현이 이루어지고 있다는 보고에 근거할 때 결장에서도 LRX의 역할이 있을 것으로 추정된다(Cantafora *et al.,* 2003; Heimerl *et al.,* 2006).

RXR의 경우는 FXR 및 LXR와는 달리 위에서의 발현이 인정되었다. 실제로 마우스 및 사람의 위점막에서 발현이 RXR-alpha 및 RXR-beta mRNA 발현이 보고되고 있다(Jiang *et al.,* 1999; Karam *et al.,* 2005). 이들 RXR 발현은 위에서 FXR 및 LXR의 발현이 상이하게 나타났는데 아마 RXR의 작용이 위에서는 FXR 및 LXR 작용과는 다른 상이한 작용을 할 것으로 생각된다. 본 연구에서 소장에서 RXR 발현이 강하게 나타났으며 대장에서도 약하게 발현되었다. 아울러 간, 췌장 및 신장에서도 RXR mRNA 발현이 인정되었다. 이는 Higashiyama *et al*. (2008)이 마우스의 소장에서 RXR-alpha 단백질 발현이 가장 높았으며 대장, 위장, 간 및 신장에서 발현이 인정되었다고 보고하였는데, 미니돼지에서도 같은 양상이 나타난다고 사료된다. 본 연구결과는 이종장기의 중요한 모델인 소형 돼지에서 FXR, LXR 및 RXR mRNA 발현에 대한 조직분포에 대한 것으로 향후 소화기계 연구에 도움이 될 것으로 기대된다.

L-FABP는 위에서 미약하게 발현되었다. 이는 마우스 및 랫드에 있어서 위에서의 L-FABP 발현은 태생기에는 강하였으나 성숙되었을 때는 미약하거나 거의 검출이 되지 않았다는 보고와 다소 비슷하다고 판단된다(Iseki *et al.,* 1991; Roth *et al.,* 1992). L-FABP mRNA 발현 역시 소장에서의 발현이 강하였으며, 대장에서는 발현이 상대적으로 약하였다. 실제로 돼지의 장기중에서 L-FABP mRNA 발현은 소장 및 간에서 강하였으나 다른 장기에서는 약하였다고 보고되었다(Jiang *et al.,* 2006). Monbaliu *et al*. (2005)은 L-FABP가 간이식시에 간세포 손상의 혈장 표지인자로 작용할 수 있다고 하여 L-FABP의 발현 장소를 규명한 본 연구는 이종 장기 이식에 도움이 될 것으로 판단된다. 하지만 본 연구에서는 Jiang *et al*. (2006)의 보고와 달리 신장에서도 강하게 발현되었다. 이는 향후 연구되어져야 할 사항으로 판단되나 신장에서 L-FABP가 주요한 FABP로 작용한다는 보고에 근거해 볼 때 발현이 인정될 것으로 판단된다(Portilla *et al.,* 2008). 특히 최근에 FABP의 새로운 기능들이 다양한 장기에서 보고되고 있는 상황에서 본 연구결과를 돼지에서 향후 FABP의 새로운 기능 발견에 기초 자료를 제공할 수 있다고 판단된다(Sato *et al.,* 2006; Storch and Corsico, 2008).

FAS의 경우 위에서 약하게 발현되는 것으로 나타났다. 이 FAS의 발현은 위암 발생시에 위에서 현저하게 증가하는 것으로 보고된 것으로 보아 정상에서는 미약한 것으로 사료된다(Kusakabe *et al.,* 2002). 본 연구결과 간에서의 FAS mRNA 발현이 강하였다. 다양한 종들의 보고에서 역시 간에서 FAS mRNA 발현이 인정되고 있다(Clarke, 1993). Mildner *et al*. (1991)은 돼지에서 간 및 지방에서 FAS cDNA 발현이 가장 강하였으며, 소장에서도 미약하게 발현되었다고 하여 본 연구 결과를 뒷받침해 주고 있다. 최근 FAS가 소화기계 장기에서 중요한 역할을 하는 것으로 보고되고 있는 점으로 판단해 볼 때(Xiao *et al.,* 2008; Kearney *et al.,* 2009), 향후 FAS의 소화생리 효능평가에 기본 자료를 제공할 수 있을 것으로 사료된다. Murthy *et al*. (2005)은 LXR 효능제가 장에서 FAS 발현과 밀접하다고 보고하였는데, 본 미니돼지를 이용한 지방 대사 단백질 발현의 경우도 같은 양상을 볼 수 있었다. 향후 이들 지방 대사 관련 단백질 및 효소의 상호작용에 대한 연구가 필요할 것으로 판단된다.

Mollevi *et al*. (2000)은 이종장기 간 이식에 있어서 오랜 시간동안의 지방 및 지질 단백질 농도변화의 점검이 반드시 필요하다고 하여 본 연구 결과의 중요성을 말해주고 있다. 일부 연구자들에 의해서 간이식에서 대사증후군이 주요한 혈관 면역반응을 유발할 수 있기 때문에 혈중 포도당, 혈중 지질단백질 및 혈청 triglycerides 농도 측정이 필요하다고 보고되었다(Laryea *et al.,* 2000). Hulzebos *et al*. (2004) 역시 간이식 후에 면역억제제인 cyclosporine A에 의해 유도된 담즙합성 및 분비의 감소는 혈장 지질과 관련이 있다고 하였다. 돼지에서 cholesterol 합성 및 흡수는 회장 이종 장기 영역에 중요한 기능성 표지인자가 될 수 있다고 보고되었다(Pakarinen *et al*., 2003). 따라서 이러한 연구보고들에 근거를 할 때 아직은 미비하지만 본 연구결과가 향후 이종 장기 영역에 도움이 될 것으로 판단된다.

결론적으로 소형돼지의 위, 소장, 대장, 간, 췌장 및 신장에서 FXR, LXR, RXR, L-FABP 및 FAS mRNA 발현은 조직 특이적으로 나타나는 것으로 관찰되었다. 본 연구에서는 이종 장기 이식에 가장 적합한 동물인 소형돼지에서 소화기계 장기에 있어서 지방 관련 단백질 및 효소 mRNA 발현을 살펴보았다. 이러한 결과는 향후 무균돼지의 소화기계 장기의 소화 효능 평가 및 생리 비교연구에 기초 자료를 제공할 것으로 기대된다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 바이오그린 21 사업의 연구비 (Code#20070401034006) 지원을 받아 수행되었으며 이에 감사드립니다.

참고문헌

Canbay, A., Bechmann, L. and Gerken G. (2007) Lipid metabolism in the liver. *J. Gastroenterol.* 45(1), 35-41.

Cantafora, A., Blotta, I., Rivabene, R., Pisciotta, L. and Bertolini, S. (2003) Evaluation of RNA messengers involved in lipid trafficking of human intestinal cells by reverse-transcription polymerase chain reaction with competimer technology and microchip electrophoresis. *Electrophoresis* 24(21), 3748-3754.

Clarke, S.D. (1993) Regulation of fatty acid synthase gene expression: an approach for reducing fat accumulation. *J. Anim Sci.* 71(7), 1957-1965.

Desvergne, B. (2007) RXR: from partnership to leadership in metabolic regulations. *Vitam. Horm.* 75, 1-32.

Feig, J.E., Quick, J.S. and Fisher, E. A. (2009). The role of a murine transplantation model of atherosclerosis regression in drug discovery. *Curr. Opin. Invest. Drugs* 10(3), 232-238.

Forman, B.M., Goode, E., Chen, J., Oro, A.E., Bradley, D.J., Perlmann, T., Noonan, D.J., Burka, L.T., McMorris, T., Lamph, W.W., Evans, R.M. and Weinberger, C. (1995) Identification of a nuclear receptor that is activated by farnesol metabolites. *Cell* 81, 687-693.

Heimerl, S., Moehle, C., Zahn, A., Boettcher, A., Stremmel, W., Langmann, T. and Schmitz, G. (2006) Alterations in intestinal fatty acid metabolism in inflammatory bowel disease. *Biochim. Biophys. Acta* 1762(3), 341-350.

Higashiyama, H., Kinoshita, M. and Asano, S. (2008) Immunolocalization of farnesoid X receptor (FXR) in mouse tissues using tissue microarray. *Acta Histochem.* 110, 86-93.

Hulzebos, C.V., Bijleveld, C.M., Stellaard, F., Kuipers, F., Fidler, V., Slooff, M.J., Peeters, P.M., Sauer, P.J. and Verkade, H.J. (2004). Cyclosporine A-induced reduction of bile salt synthesis associated with increased plasma lipids in children after liver transplantation. *Liver Transpl.* 10(7), 872-880.

Inoue, J., Satoh, S., Kita, M., Nakahara, M., Hachimura, S., Miyata, M., Nishimaki-Mogami, T. and Sato R. (2008) PPAR alpha gene expression is up-regulated by LXR and PXR activators in the small intestine. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 371(4), 675-678.

Iseki, S., Kanda, T., Hitomi, M. and Ono, T. (1991) Ontogenic appearance of three fatty acid binding proteins in the rat stomach. *Anat. Rec.* 229(1), 51-60.

Jiang, S.Y., Shen, S.R., Shyu, R.Y., Yu, J.C., Harn, H.J., Yeh, M.Y., Lee, M.M. and Chang, Y.C. (1999) Expression of nuclear retinoid receptors in normal, premalignant and malignant gastric tissues determined by in situ hybridization. *Br. J. Cancer* 80(1-2), 206-214.

Jiang, Y.Z., Li, X.W. and Yang, G.X. (2006) Sequence characterization, tissue-specific expression and polymorphism of the porcine (Sus scrofa) liver-type fatty acid binding protein gene. *Yi Chuan Xue Bao* 33(7), 598-606.

Karam, S.M., Hassan, W.M. and John, R. (2005) Expression of retinoid receptors in multiple cell lineages in the gastric mucosae of mice and humans. *J. Gastroenterol. Hepatol.* 20(12), 1892-1899.

Kearney, K.E., Pretlow, T.G. and Pretlow, T.P. (2009) Increased expression of fatty acid synthase in human aberrant crypt foci: possible target for colorectal cancer prevention. *Int. J. Cancer* 125(1), 249-252.

Kusakabe, T., Nashimoto, A., Honma, K. and Suzuki, T. (2002) Fatty acid synthase is highly expressed in carcinoma, adenoma and in regenerative epithelium and intestinal metaplasia of the stomach. *Histopathology* 40(1), 71-79.

Laryea, M., Watt, K.D., Molinari, M., Walsh, M.J., McAlister, V.C., Marotta, P.J., Nashan, B. and Peltekian, K.M. (2007) Metabolic syndrome in liver transplant recipients: prevalence and association with major vascular events. *Liver Transpl.* 13(8), 1109-1114.

Logan, J.S. (2000) Prospects for xenotransplantation. *Curr. Opin. Immunol.* 12(5), 563-568.

MacKenzie, D.A., Hullett, D.A. and Sollinger, H.W. (2003) Xenogeneic transplantation of porcine islets: an overview. *Transplantation* 76(6), 887-891.

Mildner, A.M. and Clarke, S.D. (1991) Porcine fatty acid synthase: cloning of a complementary DNA, tissue distribution of its mRNA and suppression of expression by somatotropin and dietary protein. *J. Nutr.* 121(6), 900-907.

Mollevi, D.G., Jaurrieta, E., Ribas, Y., Hurtado, I., Serrano, T., Gomez, N., de Oca, J., Fiol, C. and Figueras J. (2000) Liver xenotransplantation: changes in lipid and lipoprotein concentration after long-term graft survival. *J. Hepatol.* 32(4), 655-660.

Monbaliu, D., de Vries, B., Crabbe, T., van Heurn, E., Verwaest, C., Roskams, T., Fevery, J., Pirenne, J. and Buurman, W.A. (2005) Liver fatty acid-binding protein: an early and sensitive plasma marker of hepatocellular damage and a reliable predictor of graft viability after liver transplantation from non-heart-beating donors. *Transplant. Proc.* 37(1), 413-416.

Murthy, S., Tong, H. and Hohl, R. J. (2005) Regulation of fatty acid synthesis by farnesyl pyrophosphate. *J. Biol. Chem.* 280(51), 41793-41804.

Nomiyama, T. and Bruemmer, D. (2008) Liver X receptors as therapeutic targets in metabolism and atherosclerosis. *Curr. Atheroscler. Rep*. 10(1), 88-95

Pakarinen, M.P., Kuusanmaki, P., Lauronen, J., Paavonen, T. and Halttunen, J. (2003) Effects of ileum transplantation and chronic rejection on absorption and synthesis of cholesterol in pigs. *Pediatr. Surg. Int.* 19(9-10), 656-661.

Portilla, D,. Dent, C., Sugaya, T., Nagothu, K. K., Kundi, I., Moore, P., Noiri, E. and Devarajan, P. (2008) Liver fatty acid-binding protein as a biomarker of acute kidney injury after cardiac surgery. *Kidney Int.* 73(4), 465-472

Ronnett, G. V., Kleman, A. M., Kim, E. K., Landree, L. E. and Tu, Y. (2006) Fatty acid metabolism, the central nervous system, and feeding. *Obesity* 14(5), 201S-207S.

Roth, K.A., Cohn, S.M., Rubin, D.C., Trahair, J.F., Neutra, M.R. and Gordon, J.I. (1992) Regulation of gene expression in gastric epithelial cell populations of fetal, neonatal, and adult transgenic mice. *Am. J. Physiol.* 263, G186-G197.

Sato, T., Yamamoto, H., Sawada, N., Nashiki, K., Tsuji, M., Muto, K., Kume, H., Sasaki, H., Arai, H., Nikawa, T., Taketani, Y. and Takeda, E. (2006) Restraint stress alters the duodenal expression of genes important for lipid metabolism in rat. *Toxicology* 227(3), 248-261.

Scheepe, J.R., van den Hoek, J., Junemann, K.P. and Alken, P. (2007) A standardised mini pig model for *in vivo* investigations of anticholinergic effects on bladder function and salivation. *Pharmacol. Res.* 55(5), 450-454.

Schroeder, F., Petrescu, A.D., Huang, H., Atshaves, B.P., McIntosh, A.L., Martin, G. G., Hostetler, H. A., Vespa, A., Landrock, D., Landrock, K.K., Payne, H.R. and Kier, A.B. (2008) Role of fatty acid binding proteins and long chain fatty acids in modulating nuclear receptors and gene transcription. *Lipids* 43(1), 1-17.

Storch, J. and Corsico, B. (2008) The emerging functions and mechanisms of mammalian fatty acid-binding proteins. *Annu. Rev. Nutr.* 28, 73-95.

van der Veen, J.N., van Dijk, T.H., Vrins, C.L., van Meer, H., Havinga, R., Bijsterveld, K., Tietge, U.J., Groen, A.K. and Kuipers, F. (2009) Activation of the liver X-receptor stimulates trans-intestinal excretion of plasma cholesterol. *J. Biol. Chem.* 284(29), 19211-19219.

Wang, Y.D., Chen, W.D., Moore, D.D. and Huang, W. (2008) FXR: a metabolic regulator and cell protector. *Cell Res.* 18(11), 1087-1095.

Xiao, R., Su, Y., Simmen, R.C. and Simmen, F.A. (2008) Dietary soy protein inhibits DNA damage and cell survival of colon epithelial cells through attenuated expression of fatty acid synthase. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 294(4), G868-G876.

Yang, Y.G. and Sykess M. (2007) Xenotransplantation: current status and a perspective on the future. *Nat. Rev. Immunol.* 7(7), 519-531.