

疏肝理气、化湿活血法对胰岛素抵抗 3T3-L1 细胞 FGF-21 水平及其受体表达的影响

龙 艳¹, 孙 璐², 范冠杰²

(1. 广州市中西医结合医院, 广东 广州 510080; 2. 广东省中医院, 广东 广州 510120)

摘要: **目的** 观察疏肝理气、化湿活血法对胰岛素抵抗 3T3-L1 脂肪细胞 FGF-21 水平及其受体 FGFR1 及 FGFR2 表达的影响。**方法** 采用 1 μ mol/L 地塞米松诱导脂肪细胞胰岛素抵抗。将细胞分为正常对照组、模型对照组、吡格列酮组及中药高、低剂量组。加入含药血清处理后,分别于 24h、48h 采用葡萄糖氧化酶法检测各孔细胞上清液葡萄糖浓度,采用酶联免疫吸附法检测上清液中 FGF-21 浓度,培养后 48h 采用荧光定量 PCR 法检测细胞 FGFR1 及 FGFR2 基因表达水平。**结果** 中药高、低剂量及吡格列酮均可增加胰岛素抵抗 3T3-L1 脂肪细胞的葡萄糖消耗量,同时降低其 FGF-21 水平,与相同时间段模型对照组比较均具有统计学意义($P<0.01$);吡格列酮可上调胰岛素抵抗 3T3-L1 脂肪细胞的 FGFR1、FGFR2 mRNA 表达量(与模型对照组比较 $P<0.05$ 或 $P<0.01$),中药仅高剂量组可上调其 FGFR2 mRNA 相对表达量(与模型对照组比较 $P<0.05$)。**结论** 疏肝理气、化湿活血法可改善 3T3-L1 脂肪细胞胰岛素抵抗水平,其机制可能与 FGF 信号通路有关。

关键词: 疏肝理气; 化湿活血; 胰岛素抵抗; 3T3-L1 脂肪细胞; FGF-21

中图分类号: R284

文献标志码: A

文章编号: 1000-2723(2015)01-0017-06

胰岛素抵抗(Insulin resistance, IR)是糖尿病的主要发病机制之一,它表现为胰岛素的靶器官或靶组织(肝脏、肌肉、脂肪组织、胰岛 β 细胞本身)对胰岛素的敏感性及其反应性降低,多认为其机制与胰岛素受体或受体后缺陷导致胰岛素的细胞信号转导异常有关^[1]。改善 IR、提高机体的胰岛素敏感性是治疗糖尿病尤其是早期糖尿病的关键。越来越多的研究表明,人体多种细胞因子参与了胰岛素抵抗的发生发展过程^[2],其中成纤维细胞生长因子 21(fibroblast growth factor, FGF-21)具有不依赖于胰岛素分泌的独立的糖-脂代谢调控作用,它通过与 FGF 受体(FGFRs)结合启动细胞内信号转导,发挥增强胰岛素敏感性的作用^[3-6]。有研究证实,疏肝理气、化湿活血法具有改善胰岛素抵抗作用^[7-8]。因此,本研究选取小鼠脂肪细胞 3T3-L1 为研究对象,探讨疏肝理气、化湿活血法中药对脂肪细胞胰岛素抵抗的改善作用及其与 FGF 信号通路之间的关系,现将研究报道如下。

1 材料和方法

1.1 细胞株与实验动物

小鼠 3T3-L1 前脂肪细胞株购自中国科学院上海细胞库。成年雄性 SD 大鼠 12 只,体质量 180~220g,SPF 级,购自广州中医药大学实验动物中心,许可证号:SCXK(粤)20050020。

1.2 主要仪器与试剂

胎牛血清、DMEM-高糖培养基、青链霉素、磷酸盐缓冲液(PBS)均购自美国 Hyclone 公司;油红 O、地塞米松、重组人胰岛素购自美国 sigma 公司;葡萄糖检测分析试剂盒 II(美国 Biovision 公司),鼠 FGF-21 ELISA 检测试剂盒(美国 millipore 公司),荧光定量 PCR 混合液(日本 TOYOBO 公司)、寡聚脱氧胸腺嘧啶核苷酸 Oligo(dT)15(primer 公司);脱氧核糖核苷三磷酸(dNTP mix)、随机引物、RNasin 核酸酶抑制剂、M-MLV 反转录酶均购自美国 Promega 公司。CKX41 倒置光学显微镜(日本 OLYMPUS 公司),HERACELL150i 细胞恒温培养箱(美国 Thermo 公司),DMI6000B 倒置荧光显微镜(德国 Leica 公司),D3 核酸蛋白测定仪(德国 Eppendorf),ABI 7700 核酸序列检测仪(美国 ABI 公司)。

收稿日期: 2014-10-09

作者简介: 龙艳(1980-),女,湖南茶陵人,主治医师,主要从事中医药防治糖尿病的临床及科研工作。E-mail:longyan0823@163.com

1.3 实验药品及含药血清的制备

中药方剂组成:柴胡 10g,白芍 15g,薄荷 5g(后下),牡丹皮 15g,苍术 10g,黄柏 10g,薏苡仁 30g,绵茵陈 30g,车前草 30g,丹参 15g,莪术 10g,泽兰 15g,甘草 5g。蒸馏水翻煎 3 遍,过滤、浓缩,4℃冰箱保存备用。制备含药血清:将成年雄性 SD 大鼠随机分为对照组、中药组及西药吡格列酮组,每组 4 只。按体表面积折算法将药品折算成大鼠等效剂量的 10 倍灌胃给药(中药 216g/kg·d⁻¹,西药 4.05mg/kg),对照组予灌胃相同体积蒸馏水,2 次/d,连续 5d,末次灌胃后 3h,10%水合氯醛腹腔麻醉大鼠,无菌条件下腹主动脉取血,低温离心 3000r/min×20min,取上层血清以 0.22μm 滤膜过滤除菌,冻存管分装,-20℃保存备用。

1.4 3T3-L1 前脂肪细胞的诱导分化

参照 Anil Kumar^[9]报道的方法对前脂肪细胞进行分化。将 3T3-L1 前脂肪细胞按 5×10⁴/mL 密度接种于 6 孔培养板,待细胞汇合约达 80%,将培养基换成诱导培养基 1(10%胎牛 DMEM 高糖培养基,含 0.5mmol/L IBMX、0.25μmol/L 地塞米松、0.26IU/mL 胰岛素)处理 48h,然后换以诱导培养基 2(10%胎牛血清的 DMEM 培养基,含 0.26IU/mL 人胰岛素)处理 48h,再换用 10%胎牛血清的 DMEM 高糖培养基维持培养,每 2d 换液 1 次。在倒置显微镜下动态观察细胞形状,培养 8d 后,约 90%以上细胞呈现成熟脂肪细胞形态,即可开始下一步实验。

1.5 胰岛素抵抗细胞模型的复制及分组给药

参照文献^[10]方法建立胰岛素抵抗模型。将分化成熟的脂肪细胞以无血清的低糖(5.5mmol/L) DMEM 培养基同步化 24h,再换以含 1μmol/L 地塞米松的完全培养基孵育 48h,用葡萄糖检测试剂盒测定细胞上清液中葡萄糖含量,以未接种细胞的空白培养基为对照,计算葡萄糖消耗量,用来评估细胞模型。造模成功后予换液,同时将细胞随机分为以下 5 组:A、正常组:正常脂肪细胞,以含 10%胎牛血清+10%正常大鼠血清的高糖 DMEM 培养基培养;B、模型组:胰岛素抵抗脂肪细胞,以含 10%胎牛血清+10%正常大鼠血清的高糖 DMEM 培养基培养;C、吡格列酮组:胰岛素抵抗脂肪细胞,以含 10%胎牛血清+10%吡格列酮大鼠血清的高糖 DMEM 培养基培养;D、中药高剂量组:胰岛素抵抗脂肪细胞,

添加含 10%胎牛血清+10%中药大鼠血清的高糖 DMEM 培养基培养;E、中药低剂量组:胰岛素抵抗脂肪细胞,添加含 10%胎牛血清+5%中药大鼠血清的高糖 DMEM 培养基培养。每组设立 3 个复孔,重复试验 3 次。分组的同时设立未接种细胞的空白培养基孔作为对照。以上药物处理的浓度及时间均根据预实验结果而确定。

1.6 葡萄糖消耗量及 FGF-21 水平测定

分别在中药含药血清处理后第 24h、48h,吸取细胞上清液,采用葡萄糖氧化酶法检测各孔培养液中葡萄糖浓度,具体操作方法严格按照试剂盒说明书进行。将所得各孔葡萄糖浓度与未接种细胞的空白 DMEM 高糖培养基孔的葡萄糖浓度相减,算出葡萄糖消耗量。同时,采用 ELISA 法检测细胞上清液中 FGF-21 浓度。

1.7 引物设计及 FGFR1、FGFR2 基因相对表达量检测

参照 Genbank 中提供的小鼠 FGFR1、FGFR2 和 GAPDH 的 mRNA 序列,应用 primer5.0 引物设计软件设计引物,上海英俊生物技术有限公司合成。内参 GAPDH 引物序列:正义链 5'-GGCCTCCAAG-GAGTAAGAAA-3',反义链 5'-GCCCCTCCTGT-TATTATGG-3',PCR 产物 141bp。目的基因 FGFR1 引物序列:正义链 5'-TTATCCTGGGCGTGT-GAAAA-3',反义链 5'-CCAATGCATCGGGA-GATAGA-3',PCR 产物 160bp。目的基因 FGFR2 引物序列:正义链 5'-CTTCTGCCCCGGTTACACAT-3',反义链 5'-CCGAATGATGCTGGGCTTT-3',PCR 产物 140bp。细胞经分组药物处理 48h 后,采用 Trizol 试剂盒提取细胞总 RNA,逆转录合成 cDNA,采用实时荧光定量 PCR 法检测 FGFR1 和 FGFR2 基因相对表达量水平。PCR 循环参数:95℃ 10min→95℃ 15s→60℃ 30s→72℃ 32s,读板,共 40 个循环。

1.8 表达差异的计算方法

用 2^{-ΔΔCt} 值表示基因相对表达量。通过软件计算出所有样本内参照和目的基因的循环阈值 Ct 值,再计算 ΔCt=(目的基因 Ct-内参 Ct)的平均值±标准偏差,然后再计算 ΔΔCt=(待测样品中目的基因 ΔCt-参照样品中目的基因 ΔCt)的平均值±标准偏差(若无参照样品则选择 Ct 最大的样品为参照进行计算),最后基因相对表达量=(2^{-ΔΔCt})的平均值±标准偏差。

1.9 统计学处理

采用 stata11.0 软件对数据进行统计分析。计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,方差齐者,采用 t 检验,方差不齐或非正态性分布资料采用秩和检验;多组计量资料比较采用单因素方差分析(one-way ANOVA),两两比较采用 Bonferroni 法,方差不齐者或小样本资料则采用 H 检验。 $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 3T3-L1 前脂肪细胞的分化及鉴定

于倒置显微镜下动态观察细胞形态,分化前的 3T3-L1 前脂肪细胞呈梭型、不规则形状,胞质内少量脂滴;随着诱导分化时间的延长,细胞形状逐渐变圆,胞质内脂滴逐渐增多,可见部分大脂滴;诱导分化第 8 天,大部分细胞呈椭圆形或圆形,脂滴逐渐汇合,并聚集于核周,形成典型的“戒环样”结构;经油红“O”染色后,可见 90%以上细胞胞质可特异性着橘红色,提示细胞已分化为成熟脂肪细胞(见图 1)。

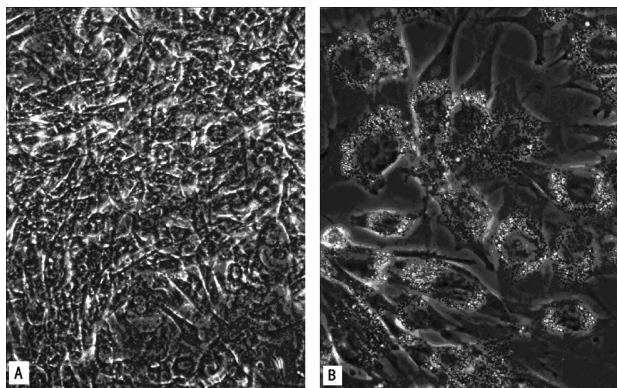


图 1 3T3-L1 细胞分化前(A)和分化成熟后(B)形态($\times 200$)

2.2 脂肪细胞胰岛素抵抗模型的建立

成熟脂肪细胞培养 48h 后,所有细胞上清液的葡萄糖浓度均较未接种细胞的空白培养基孔下降,提示葡萄糖在细胞培养过程中逐渐消耗。以添加 $1 \mu\text{mol/L}$ 地塞米松共培养的细胞为模型组细胞,同时以未添加地塞米松的细胞作为对照组,孵育 48h 后,模型组细胞上清中葡萄糖消耗量较对照组低,

表 1 $1 \mu\text{mol/L}$ 地塞米松培养 48h 细胞葡萄糖消耗量($\bar{x} \pm s$)

组别	n	葡萄糖消耗量(mmL/L)	P
对照组	9	7.14 ± 0.11	0.0000
模型组	36	4.83 ± 0.20	

且差异具有统计学意义($P < 0.01$),提示 $1 \mu\text{mol/L}$ 地塞米松培养 48h 可抑制脂肪细胞的葡萄糖消耗,可作为胰岛素抵抗细胞模型(表 1)。

2.3 疏肝理气、化湿活血法对脂肪细胞葡萄糖消耗量的影响

由表 2 可见,随着培养时间的延长,各组细胞上清液中葡萄糖浓度逐渐下降,提示葡萄糖消耗量逐渐增加。模型对照组细胞培养 24h、48h 后葡萄糖消耗量均低于同时间点正常对照组($P < 0.01$)。添加吡格列酮及中药含药血清处理 24h 及 48h 后,各组细胞上清液中葡萄糖消耗量有不同程度的升高,与同时间点模型对照组比较均具有统计学意义($P < 0.01$)。但培养 48h 后两个中药剂量组均较吡格列酮组葡萄糖消耗量低($P < 0.01$)。中药不同剂量组在 2 个时段的葡萄糖消耗量无明显差别($P > 0.05$)。

表 2 各组葡萄糖消耗量($\bar{x} \pm s$, mmol/L)

组别	n	培养时间	
		24h	48h
正常对照组	9	1.73 ± 0.14	9.90 ± 0.52
模型对照组	9	$0.77 \pm 0.18^*$	$2.37 \pm 0.33^*$
吡格列酮组	9	$1.32 \pm 0.34^\Delta$	$6.54 \pm 0.27^\Delta$
中药高剂量组	9	$1.20 \pm 0.52^\Delta$	$4.10 \pm 0.65^{\Delta\#}$
中药低剂量组	9	$1.15 \pm 0.28^\Delta$	$3.78 \pm 0.59^{\Delta\#}$

注:与正常对照组比较,* $P < 0.01$;与模型对照组比较, $^\Delta P < 0.01$;与吡格列酮组比较, $^\# P < 0.01$ 。

2.4 疏肝理气、化湿活血法对脂肪细胞上清液 FGF-21 水平的影响

由表 3 可见,随着培养时间的延长,模型对照组细胞上清液中 FGF-21 浓度逐渐升高,培养 24h、

表 3 各组脂肪细胞上清液 FGF-21 水平($\bar{x} \pm s$, pg/mL)

组别	n	培养时间	
		24h	48h
正常对照组	9	154.47 ± 10.28	181.62 ± 8.57
模型对照组	9	$710.24 \pm 37.06^*$	$916.85 \pm 33.20^*$
吡格列酮组	9	$367.18 \pm 15.62^\Delta$	$412.52 \pm 11.18^\Delta$
中药高剂量组	9	$533.10 \pm 20.13^{\Delta\#}$	$679.33 \pm 19.05^{\Delta\#}$
中药低剂量组	9	$658.90 \pm 19.82^{\Delta\#\star}$	$766.47 \pm 25.41^{\Delta\#\star}$

注:与正常对照组比较,* $P < 0.01$;与模型对照组比较, $^\Delta P < 0.01$,与吡格列酮组比较, $^\# P < 0.01$;与中药高剂量组比较, $^\star P < 0.01$ 。

48h 后均高于正常对照组 ($P<0.01$), 给予中药或吡格列酮含药血清处理 24h、48h 后 FGF-21 浓度均有所下降, 与同时段模型对照组比较均具有统计学意义 ($P<0.01$), 其中吡格列酮组 FGF-21 浓度较 2 个中药剂量组下降更为明显 ($P<0.01$), 而中药高剂量组则较低剂量组下降明显 ($P<0.01$)。

2.5 疏肝理气、化湿活血法对脂肪细胞 FGFR1 及 FGFR2 基因表达的影响

FGFR1、FGFR2 及 GAPDH 的扩增曲线平滑, 熔解曲线呈特异性单峰, 提示 PCR 检测敏感性和特异性较好 (图 2)。由表 4 可见, 细胞培养 48h 后, 模型对照组较正常对照组 FGFR1 相对表达量有所下降, 予以中药或吡格列酮含药血清处理后均有所回升, 经统计学分析, 吡格列酮组 FGFR1 表达量与模型对照组比较有统计学差异 ($P<0.05$), 但 2 个中药剂量组 FGFR1 表达量与模型对照组比较均无统计学差异 ($P>0.05$)。模型对照组 FGFR2 基因相对表达量较正常对照组明显降低 ($P<0.01$), 经中药高剂量或吡格列酮含药血清处理 48h 后其表达量有所回升, 与模型对照组比较均具有统计学意义 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$), 吡格列酮组较中药组 FGFR2 表达量回升更为显著, 二者比较有统计学差异 ($P<0.01$)。

表 4 各组 FGFR1 及 FGFR2 基因相对表达量 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	FGFR1	FGFR2
正常对照组	9	4.97±0.21	3.24±0.61
模型对照组	9	4.43±0.15*	2.25±0.37*
吡格列酮组	9	4.57±0.08 [△]	3.11±0.07 ^{△△}
中药高剂量组	9	4.49±0.25	2.57±0.12 ^{△#}
中药低剂量组	9	4.42±0.10	2.48±0.26

注: 与正常对照组比较, * $P<0.01$; 与模型对照组比较, [△] $P<0.05$, ^{△△} $P<0.01$; 与吡格列酮组比较, # $P<0.01$ 。

3 讨论

IR 是 2 型糖尿病和代谢综合征的典型特征, 也是诸多心血管疾病的危险因素^[11]。脂肪组织在 IR 的发生发展中发挥着关键作用^[12], 它主要通过分泌多种脂肪细胞因子, 干扰正常的胰岛素信号转导, 导致 IR 的发生^[13]。FGF-21 是新近发现的一种脂肪细胞因子, 是 FGFs 超家族成员之一, 主要在肝脏、脂肪组织、胰腺中表达^[14-15]。FGF-21 是一个重要的代谢调节因子, 研究发现 FGF-21 可增强小鼠 3T3-L1 脂肪细胞和人类前脂肪细胞的葡萄糖摄取能力, 肝脏过表达 FGF-21 的转基因小鼠其胰岛素敏感性和葡萄糖清除率增强, 血清甘油三酯浓度降低, 给该

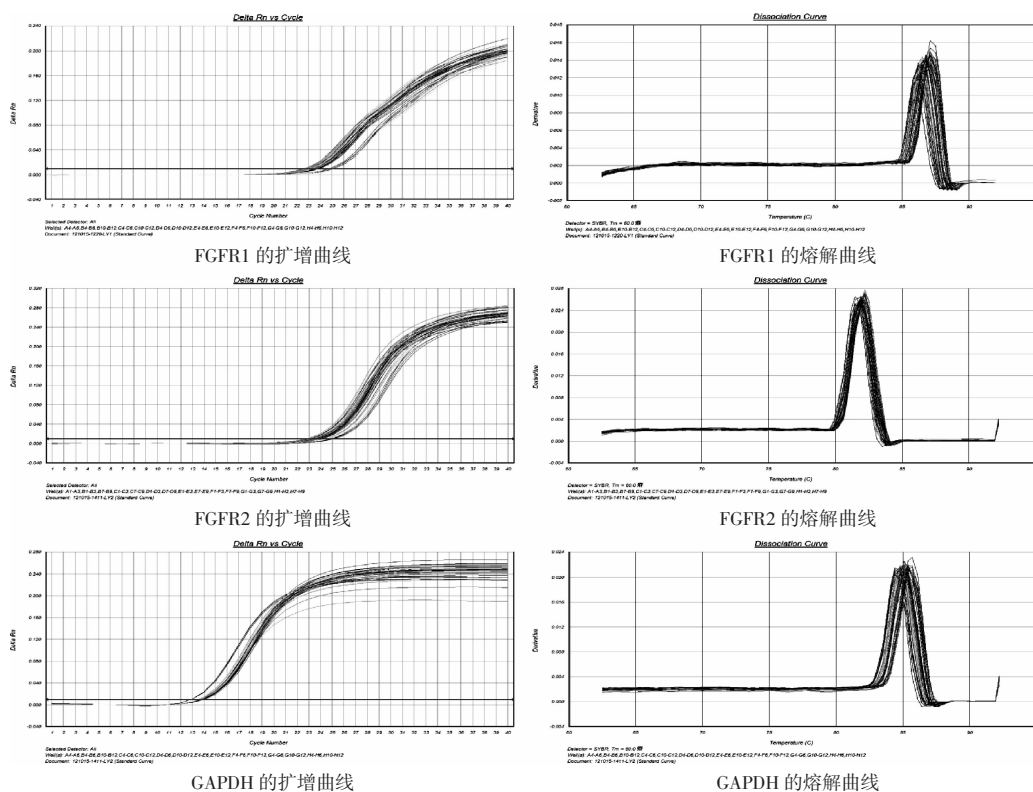


图 2 各基因的扩增曲线和熔解曲线图

小鼠喂食高脂肪饮食后可明显抑制体重增加;同时该研究小组发现,给肥胖、胰岛素抵抗小鼠(ob/ob或 db/db)或肥胖 Zucker 糖尿病大鼠注射重组 FGF-21 后可降低其血糖及血胰岛素水平^[3]。人体研究观察到 T2DM 患者 FGF-21 水平明显高于正常对照组,而且 FGF-21 水平与胰岛素敏感性负相关,而与胰岛素抵抗指数(HOMA-IR)、血糖及糖化血红蛋白水平(HbA1c)正相关^[16]。FGF-21 主要通过经典的 FGF 受体(FGFRs)起作用,它可诱导 FGFR-1、FGFR-2、FGFR-3 酪氨酸磷酸化^[17-18],并进一步激活细胞内 ERK1/2 及 Akt 等信号途径,发挥其糖脂代谢调节作用^[19]。另外也有研究发现,T2DM 患者经 PPAR- γ 激动剂降糖治疗后,血浆 FGF-21 水平较治疗前明显降低了,提示 FGF-21 可能通过 PPAR- γ 途径发挥其生理作用^[20]。

肝气郁滞兼有湿浊、血瘀是糖尿病较为常见的复杂病机之一。尤怡《金匱要略心典·消渴小便利淋病脉证并治第十三》云:“夫厥阴风木之气,能生阳火而烁阴津,津虚火实,脏燥无液,求救于水,则为消渴。”肝失疏泄,肝木乘脾,致脾虚运化失职,痰湿内生;而肝气不畅,痰湿内阻,日久可致血行迟涩,血脉瘀阻。现代研究也表明,疏肝解郁、健脾化湿活血等治法能改善胰岛素抵抗^[7-8]。

因此,针对肝气郁滞兼夹湿浊、血瘀的复杂病机,运用疏肝理气、化湿活血法,观察相应的方剂对 3T3-L1 细胞 IR 的改善作用并探讨其作用机制,具有一定的理论依据。本研究结果表明,疏肝理气、化湿活血法可明显增加 3T3-L1 细胞葡萄糖消耗量,减轻 IR,并使得 IR 状态下升高的 FGF-21 水平降低,使 FGFR2 mRNA 表达水平上调。在 IR 状态下,脂肪细胞 FGFR2 表达水平明显下降,而 FGF-21 水平反而升高,考虑与细胞代偿机制有关^[21]。经中药处理后,细胞 FGF-21 水平降低,其原因可能与胰岛素抵抗改善后细胞所需 FGF-21 减少,FGF-21 水平反馈性降低有关,这与国外研究报道一致^[16,22]。而疏肝理气、化湿活血法在改善 3T3-L1 细胞 IR 的同时能显著升高细胞 FGFR2 表达量,推测这将有可能使得 FGF-21 能与更多的 FGFR2 相结合,从而激活 FGF 信号途径,增强 FGF-21 调节糖代谢的活性,但其具体的作用途径尚待进一步的分子研究证实。

综上所述,疏肝理气、化湿活血法能显著改善 3T3-L1 脂肪细胞 IR 水平,其机制可能与 FGF 信

号通路的激活有关。本研究为中医药防治糖尿病提供了一定的研究思路。但该作用机制与体内胰岛素分泌的相互作用关系如何,对 FGF 受体后信号转导途径的影响如何,以及中药药串的具体有效成分是什么,这些问题尚待在今后的研究工作中进一步探讨。

参考文献:

- [1] 陈家伦. 胰岛素信号转导及临床意义(上)[J]. 国外医学·内分泌学分册,2002,22(1):1.
- [2] 侯春兰,李步荣,刘静,等. 2 型糖尿病及胰岛素抵抗与细胞因子的相关性研究 [J]. 第四军医大学学报,2006,27(11):997-998.
- [3] Kharitonov A, Shiyanova TL, Koester A, et al. FGF-21 as a novel metabolic regulator [J]. J Clin Invest,2005,115(6):1627-1635.
- [4] Fisher FM, Chui PC, Antonellis PJ, et al. Obesity is a fibroblast growth factor 21 (FGF-21)-resistant state[J]. Diabetes. 2010,59(11):2781-2789.
- [5] Cuevas RD, Almeda V P, Aguilar CA, et al. The role of fibroblast growth factor 21 (FGF21) on energy balance, glucose and lipid metabolism[J]. Curr Diabetes Rev,2009,5(4):216-220.
- [6] Izumiya Y, Bina HA, Ouchi N, et al. FGF-21 is an AKT-regulated myokine [J]. FEBS Lett,2008,582(17):3805-3810.
- [7] 刘志伟,安淑华. 疏肝理气法对糖耐量减低肥胖者胰岛素抵抗及血清 C-RP 的影响 [J]. 江苏中医药,2009,41(8):32-33.
- [8] 李景丽. 从健脾化湿活血通络论治 2 型糖尿病胰岛素抵抗[J]. 现代中西医结合杂志,2009,18(19):2311.
- [9] Anil Kumar KL, Marita A R. Troglitazone prevents and reverses dexamethasone induced insulin resistance on glycogen synthesis in 3T3 adipocyte [J]. Br J Pharmacol,2000,130(2):351-358.
- [10] 王丽静,张尉,刘小莺,等. 地塞米松诱导 3T3-L1 脂肪细胞胰岛素抵抗模型的建立 [J]. 福建医科大学学报,2007,41(3):282-284.
- [11] Guo LL, Pan Y, Jin HM, et al. Adiponectin is positively associated with insulin resistance in subjects with type 2 diabetic nephropathy and effects of angiotensin II type 1 receptor blocker losartan [J]. J Nephrol Dial Transplant, 2009,24(6):1876-1883.
- [12] Heydrick SJ, Gautier N, Olichon-Berthe C, et al. Early alteration of insulin stimulation of PI3-kinase in muscle and adipocyte from gold thioglucose obese mice [J]. Am J Physiol,1995,268(4pt1):E604-E612.

- [13] 余淑菁, 崔金涛. 脂肪细胞因子在 2 型糖尿病中的研究进展[J]. 湖北中医药大学学报, 2011, 13(1): 67-68.
- [14] Nishimura T, Nakatake Y, Konishi M, et al. Identification of a novel FGF, FGF-21, preferentially expressed in the liver[J]. Biochim Biophys Acta, 2000, 1492(1): 203-206.
- [15] Muise ES, Azzolina B, Kuo DW, et al. Adipose fibroblast growth factor 21 is up-regulated by peroxisome proliferator-activated receptor gamma and altered metabolic states [J]. Mol Pharmacol, 2008, 74(2): 403-412.
- [16] Chavez AO, Molina-Carrion M, Abdul-Ghani MA, et al. Circulating Fibroblast Growth Factor-21 is elevated in impaired glucose tolerance and Type 2 Diabetes and correlates with muscle and hepatic insulin resistance [J]. Diabetes Care, 2009, 32(8): 1542-1546.
- [17] Elghazi L, Cras-Meneur C, Czernichow P, et al. Role for FGFR2IIIb-mediated signals in controlling pancreatic endocrine progenitor cell proliferation[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2002, 99(6): 3884-3889.
- [18] Suzuki M, Uehara Y, Motomura-M, et al. {beta}Klotho Is Required for Fibroblast Growth Factor(FGF) 21 Signaling through FGF Receptor (FGFR) 1c and FGFR3c [J]. Mol Endocrinol, 2008, 22(4): 1006-1014.
- [19] Wente W, Efanov AM, Brenner M, et al. Fibroblast growth factor-21 improves pancreatic B-cell function and survival by activation of extracellular signal regulated kinase 1/2 and Akt signaling pathways[J]. Diabetes, 2006, 55(9): 2470-2478.
- [20] 董靖, 李伶, 杨刚毅, 等. 罗格列酮对 2 型糖尿病患者血浆成纤维细胞生长因子 21 的影响[J]. 中国糖尿病杂志, 2010, 18(10): 774-777.
- [21] Chen WW, Li L, Yang GY, et al. Circulating FGF-21 levels in normal subjects and in newly diagnose patients with Type 2 diabetes mellitus [J]. Clin Endocrinol, 2008, 116(1): 65-68.
- [22] Ke L, Ling L, Mei Y, et al. Effects of rosiglitazone on fasting plasma fibroblast growth factor-21 levels in patients with type 2 diabetes mellitus [J]. Eur J Endocrinol, 2009, 161(3): 391-395.

(编辑: 杨阳)

Effects of “Soothing Liver-Qi, Resolving Dampness and Blood Stasis” on FGF-21 and FGFRs Levels in Insulin-Resistant 3T3-L1 Adipocytes

LONG Yan¹, SUN Lu², FAN Guan-jie²

(1. Guangzhou Hospital of integrated Chinese and Western Medicine, Guangzhou 510080, China;

2. Guangdong Hospital of Chinese Medicine, Guangzhou 510120, China)

ABSTRACT: **Objective** To investigate the effects of “soothing Liver-Qi, resolving dampness and blood stasis” on FGF-21 and FGFR1 and FGFR2 levels in 3T3-L1 adipocytes. **Methods** Insulin-resistant model of 3T3-L1 adipocytes were induced by 1μmol/L dexamethasone. Then divided into 5 groups: normal control group, model control group Pioglitazone group and Chinese herb with high and low-dose groups. After 24h and 48h cultured with medicated serum, glucose concentration in the culture medium was checked with Glucose Oxidase Method, FGF-21 levels were tested by Enzyme Linked Immunosorbent Assay, and FGFR1/FGFR2 gene expression was measured with Fluorescence Quantitative PCR Method after culturing 48h. **Results** Glucose consumption was improved, and FGF-21 level was reduced, in insulin-resistant 3T3-L1 adipocytes by Chinese herbs and Pioglitazone (compared with model control group $P<0.01$); FGFR1 and FGFR2 mRNA expression in insulin-resistant 3T3-L1 adipocytes were both up-regulated by Pioglitazone (compared with model control group $P<0.05$ or $P<0.01$), only FGFR2 mRNA expression was up-regulated by high-dose Chinese herbs with a efficiency of “soothing Liver-Qi, resolving dampness and blood stasis”. **Conclusion** The therapy of “soothing Liver-Qi, resolving dampness and blood stasis” can alleviate insulin-resistant in 3T3-L1 adipocytes, its mechanism may relate to FGF signal pathway.

KEY WORDS: Soothing Liver-Qi; Resolving Dampness and Blood Stasis; Insulin-resistant; 3T3-L1 adipocytes; FGF-21