

· 实验研究 ·

Ghrelin 对 3T3-L1 前脂肪细胞增殖和分化的影响及相关机制探讨

刘静, 林汉华, 程佩萱, 胡秀芬, 卢慧玲

(华中科技大学同济医学院附属同济医院儿科, 湖北 武汉 430030)

[摘要] 目的 探讨 ghrelin 对 3T3-L1 前脂肪细胞增殖和分化的影响及作用机制。方法 体外培养 3T3-L1 前脂肪细胞, MTT 法检测不同浓度 ghrelin 对其增殖活力的影响, 半定量 RT-PCR 检测 ghrelin 对 c-myc 和胸苷激酶 mRNA 表达水平的影响; 同时在利用胰岛素或 ghrelin 诱导分化的不同时段, 通过油红 O 染色测定细胞分化程度, 半定量 RT-PCR 检测过氧化物增殖活化受体 γ (PPAR γ)、CAAT/增强子结合蛋白 α (C/EBP α) mRNA 的表达。结果 $10^{-7} \sim 10^{-15}$ mol/L ghrelin 作用 24 h 明显促进前脂肪细胞增殖, ghrelin 组 c-myc 和胸苷激酶 mRNA 表达水平明显升高, 与对照组相比差异均有显著性意义 ($P < 0.05$)。Ghrelin 干预后, 可诱导前脂肪细胞向成熟脂肪细胞的形态转变, 但诱导分化率仍少于胰岛素; 同时其 PPAR γ 和 C/EBP α mRNA 表达水平较对照组明显升高 ($P < 0.05$), ghrelin 组和胰岛素组 PPAR γ 和 C/EBP α mRNA 表达量随着分化时间的延长而增加, 分化 8 d 与 2 d 相比, 差异均有显著性意义 ($P < 0.01$)。结论 Ghrelin 明显促进 3T3-L1 前脂肪细胞增殖与分化。Ghrelin 可能通过增加 c-myc 的含量, 进而引起胸苷激酶的活化, 从而导致细胞周期的激活, 促进细胞增殖; 同时 ghrelin 可能通过增加 PPAR- γ 、C/EBP- α mRNA 的表达, 促进细胞分化, 从而提高脂肪细胞对胰岛素的敏感性。

[中国当代儿科杂志, 2009, 11(1): 69-73]

[关键词] Ghrelin; 胰岛素; 细胞增殖; 细胞分化; 前脂肪细胞

[中图分类号] R-33 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1008-8830(2009)01-0069-05

Effects of ghrelin on the proliferation and differentiation of 3T3-L1 preadipocytes and its possible mechanisms

LIU Jing, LIN Han-Hua, CHENG Pei-Xuan, HU Xiu-Fen, LU Hui-Ling. Department of Pediatrics, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China (Lin H-H, Email: hhlin@tjh.tjmu.edu.cn)

Abstract: Objective To investigate the effects of ghrelin on the proliferation and differentiation of 3T3-L1 preadipocyte, and study the possible mechanisms. **Methods** 3T3-L1 preadipocytes were cultured *in vitro*. The proliferation potentials of 3T3-L1 preadipocytes that were treated with different concentrations of ghrelin were evaluated by MTT methods. The levels of c-myc and thymidine kinase mRNA were detected using RT-PCR. 3T3-L1 preadipocytes were differentiated into the matured adipocytes with insulin (INS) or ghrelin. The morphological changes of 3T3-L1 adipocytes were observed and the differentiation rate was assayed by oil-red O staining. Total RNA was extracted from adipocytes at various times, and the levels of peroxisome proliferation activated receptor γ (PPAR γ) and CAAT/enhancer binding protein (C/EBP α) mRNA expressions were detected using RT-PCR. **Results** Ghrelin at concentrations of 10^{-7} to 10^{-15} mol/L significantly stimulated preadipocyte proliferation ($P < 0.05$). The levels of c-myc and thymidine kinase mRNA significantly increased in 3T3-L1 preadipocytes with 10^{-9} mol/L and 10^{-11} mol/L ghrelin treatment ($P < 0.01$). The 3T3-L1 preadipocytes treated with 10^{-11} mol/L ghrelin had lots of lipid droplets in the cytoplasm, but the differentiation rate was lower than those treated with INS. Ghrelin of 10^{-11} mol/L significantly increased the mRNA expression of PPAR γ and C/EBP α in the course of 3T3-L1 preadipocyte differentiation, compared with the normal control group ($P < 0.05$). The PPAR γ and C/EBP α mRNA expression increased with the prolonged differentiation of preadipocytes induced by ghrelin or INS. There were significant differences in the levels of PPAR γ and C/EBP α mRNA expression between the 2nd and 8th days of differentiation ($P < 0.01$). **Conclusions** Ghrelin promotes the proliferation and differentiation of 3T3-L1 preadipocytes. The proliferation of 3T3-L1 preadipocytes induced by ghrelin may be associated with increased c-myc levels. Ghrelin may promote differentiation of 3T3-L1 preadipocytes by increasing mRNA expression of PPAR γ and C/EBP α , thus enhances the sensitivity of adipocytes to INS.

[Chin J Contemp Pediatr, 2009, 11(1): 69-73]

Key words: Ghrelin; Insulin; Cell proliferation; Cell differentiation; Preadipocyte

[收稿日期] 2008-06-03; [修回日期] 2008-06-24

[基金项目] 国家自然科学基金项目资助批准号: 30600213。

[作者简介] 刘静, 女, 博士研究生, 医师。主攻方向: 内分泌遗传代谢疾病。

[通讯作者] 林汉华, 男, 教授, 华中科技大学同济医学院附属同济医院儿科, 邮编: 430030。

胰岛素抵抗是2型糖尿病发病的重要机制之一,尚未找到有效的控制措施^[1]。现在越来越多的研究认为^[2],脂肪组织是胰岛素抵抗产生的始发部位。脂肪细胞分化障碍会导致胰岛素敏感性下降,诱发胰岛素抵抗,从而引发糖尿病^[3]。Ghrelin是一种新近发现的胃源性促生长激素释放多肽,不仅能有效促进生长激素的分泌,还在调节进食、能量平衡、胃肠功能、心血管系统等方面发挥重要作用^[4]。目前研究发现2型糖尿病病人血浆 ghrelin 水平普遍较低,这提示 ghrelin 可能与2型糖尿病的发生发展密切相关^[5]。因此本研究以3T3-L1前脂肪细胞为研究对象,观察 ghrelin 对3T3-L1前脂肪细胞增殖和分化的影响及其作用机制,从而在细胞水平上为 ghrelin 改善胰岛素抵抗、防治糖尿病提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

3T3-L1前脂肪细胞株购于美国ATCC细胞典藏中心;DMEM/F12培养基、胰蛋白酶、胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)购于美国Gibco公司;1-甲基-3-异丁基黄嘌呤(1-methyl-3-isobutylxanthine, IBMX)、地塞米松(dexamethasone, DEX)、胰岛素(insulin, INS)、牛血清白蛋白(BSA)、二甲基亚砷(DMSO)和MTT购于Sigma公司;油红O染料购于上海化学试剂厂;RT-PCR试剂盒购于大连宝生物工程公司;大鼠 ghrelin 购于Phoenix公司,并用磷酸盐缓冲液溶解分装后-70℃冻存,用前稀释至所需浓度。

1.2 方法

1.2.1 细胞增殖试验 采用MTT法,将3T3-L1前脂肪细胞按 1×10^4 /孔接种于96孔板,在完全培养基(DMEM/F12 + 10% FBS + 青、链霉素 100 U/mL)中培养,待细胞达60%~70%汇合,加入DMEM/F12 + 0.1% BSA 孵育过夜以同步细胞周期,试验组加入不同浓度 ghrelin (含 10^{-7} , 10^{-9} , 10^{-11} , 10^{-13} , 10^{-15} mol/L),以0 mol/L的 ghrelin 为对照组,分别在作用6 h、24 h时加入20 μL新鲜配制的5 g/L的MTT培养液培养4 h。然后将培养液倒尽,吸干,每孔加入150 μL DMSO,振荡器上振荡10 min,溶解紫色结晶。酶标仪490 nm波长处测定光密度(OD)。

1.2.2 半定量RT-PCR测定3T3-L1前脂肪细胞中c-myc、胸苷激酶基因mRNA的表达 将3T3-L1

前脂肪细胞置于完全培养基,细胞生长至完全融合,分组培养:①对照组:完全培养基;②Ghrelin (10^{-9} mol/L)组:完全培养基 + ghrelin (10^{-9} mol/L);③ghrelin (10^{-11} mol/L)组:完全培养基 + ghrelin (10^{-11} mol/L)。弃培养上清,收集细胞-70℃冻存备用。参照Trizol Reagent试剂盒提取各组细胞总RNA,紫外分光光度计测定总RNA浓度及A260 nm/A280 nm比值。c-myc、胸苷激酶基因引物序列及产物长度见表1。c-myc基因PCR反应条件:预变性94℃ 5 min后,变性94℃ 30 s,退火50℃ 45 s,延伸72℃ 2 min,共45个循环,终末延伸72℃ 10 min;胸苷激酶基因PCR反应条件:预变性94℃ 5 min后,变性94℃ 30 s,退火56℃ 45 s,延伸72℃ 2 min,共40个循环,终末延伸72℃ 10 min。PCR扩增后产物以2%的琼脂糖凝胶电泳。应用美国BIO-RAD公司Gel Doc XR凝胶成像系统对电泳结果进行灰度扫描,采用Quantity-One软件进行灰度分析。c-myc、胸苷激酶基因mRNA的表达水平以该基因条带灰度值/ β -actin条带灰度值表示。

1.2.3 3T3-L1前脂肪细胞培养与诱导分化 将3T3-L1前脂肪细胞置于完全培养基中培养,细胞生长至完全融合后48 h,加入含0.5 mmol/L IBMX, 1 μmol/L DEX, 1 mg/L INS的完全培养基,48 h后撤去IBMX和DEX,完全培养基中仅含INS,继续培养2 d,随后换为仅含有10% FBS的完全培养基。在细胞分化过程(第1~8天)分别收集细胞,-70℃冻存备用。

1.2.4 3T3-L1脂肪细胞的鉴定 3T3-L1前脂肪细胞常规培养至诱导分化2 d,各组的基本培养条件相同即完全培养基,根据诱导刺激的不同分为①对照组:无分化刺激;②Ghrelin组:含 ghrelin (10^{-11} mol/L);③INS组:含INS(1 mg/L)。培养48 h后,换为完全培养基,培养至收获细胞。移去诱导分化结束细胞的培养液,0.01 mol/L PBS洗2遍,加入10%多聚甲醛溶液固定1 h,再用0.01 mol/L PBS洗净,油红O染液染2 h,0.01 mol/L PBS洗至背景透明。显微镜下观察可见胞浆中脂滴呈亮红色,经计算机扫描后进行图像分析,以红色所占的比例表示3T3-L1前脂肪细胞的分化率,对3T3-L1前脂肪细胞分化程度进行分析。

1.2.5 半定量RT-PCR 测定 ghrelin 干预后3T3-L1前脂肪细胞中前脂肪细胞分化相关基因过氧化物增殖剂活化受体 γ (peroxisome proliferator activated receptor γ , PPAR γ)、CAAT/增强子结合蛋白 α (CAAT/enhancer binding protein α , C/EBP α)基

因 mRNA 的表达,前脂肪细胞的分化培养和药物干预分组同前,在分化 2 d,8 d 时弃培养上清,收集细胞-70℃冻存备用。参照 Trizol Reagent 试剂盒提取诱导分化过程中及成熟后的细胞总 RNA,紫外分光光度计测定总 RNA 浓度及 A260 nm/A280 nm 比值。PPAR γ 、C/EBP α 基因引物序列及产物长度见表 1。PPAR γ 、C/EBP α 基因 PCR 反应条件:预变性 94℃ 5 min 后,变性 94℃ 30 s,退火 57℃ 45 s,延伸 72℃ 2 min,共 50 个循环,终末延伸 72℃ 10 min。PCR 扩增后产物以 2% 的琼脂糖凝胶电泳。应用美国 BIO-RAD 公司 Gel Doc XR 凝胶成像系统对电泳结果进行灰度扫描,采用 Quantity-One 软件进行灰度分析。PPAR γ 、C/EBP α 基因 mRNA 的表达水平抑该基因条带灰度值/ β -actin 条带灰度值表示。

1.3 统计学处理

实验数据以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,并采用 SPSS 12.0 统计软件进行数据整理和统计。组间两两比较用 t 检验, $P < 0.05$ 表示结果有显著性意义。

2 结果

2.1 Ghrelin 对 3T3-L1 前脂肪细胞增殖的影响

Ghrelin ($10^{-7} \sim 10^{-15}$ mol/L) 作用 24 h 能明显促进前脂肪细胞增殖,其中 10^{-11} mol/L 时促增殖效应最明显,而且同一浓度 ghrelin 促进前脂肪细胞增殖的效应随作用时间的延长而提高(表 2)。

2.2 Ghrelin 对 3T3-L1 前脂肪细胞中 c-myc、胸苷激酶基因 mRNA 表达水平的影响

Ghrelin (10^{-9} mol/L, 10^{-11} mol/L) 组 c-myc 和胸苷激酶 mRNA 表达水平均明显高于对照组,差异均有显著性意义 ($P < 0.01$),但 ghrelin 组间比较差异无显著性意义(表 3,图 1,2)。

表 1 c-myc、胸苷激酶、GHSR-1a、PPAR γ 和 C/EBP α 引物序列

引物	产物大小(bp)	引物序列
c-myc	450	上游 5'-ACG ATG GAT CCT ATC ACC AGC AAC AGC AGA GCC AG-3'
		下游 5'-ATC GAG AAT TCG AAT CCG ACG AGG TAC AGG ATT TG-3'
胸苷激酶	550	上游 5'-CCA TGC GGA TCC AAC GAG GGC AAG ACA GTA ATT GTC-3'
		下游 5'-CCA TGC GAA TTC TCT CTG AGA GTC CAA CCT GGG TAG -3'
PPAR γ	266	上游 5'-GAC CAC TCG CAT TCC TTT-3'
		下游 5'-CCA CAG ACT CGG CAC TCA -3'
C/EBP α	214	上游 5'-GGA AAG AAA CGA CTG GGA GC-3'
		下游 5'-CGA CTA GAC GCT ATT GTG ATT-3'

表 2 不同浓度 ghrelin 对 3T3-L1 前脂肪细胞增殖 (A₄₉₀) 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 4$)

组别	剂量 (mol/L)	A490	
		6 h	24 h
对照组	0	0.1703 $\pm$ 0.0309	0.3226 $\pm$ 0.0328
Ghrelin 组	10^{-7}	0.1995 $\pm$ 0.0284	0.4185 $\pm$ 0.0291 ^a
	10^{-9}	0.2003 $\pm$ 0.0293	0.4277 $\pm$ 0.0049 ^b
	10^{-11}	0.2101 $\pm$ 0.0250 ^a	0.4518 $\pm$ 0.0361 ^b
	10^{-13}	0.1818 $\pm$ 0.0302	0.4256 $\pm$ 0.0351 ^a
	10^{-15}	0.1816 $\pm$ 0.0258	0.4177 $\pm$ 0.0541 ^a

a: 与对照组比较, $P < 0.05$; b: 与对照组比较, $P < 0.01$

表 3 Ghrelin 对 3T3-L1 前脂肪细胞 c-myc、胸苷激酶基因 mRNA 表达水平的影响 ($\bar{x} \pm s$)

分组	例数	c-myc 基因表达水平 (%)	胸苷激酶基因表达水平 (%)
对照组	6	1.675 5 $\pm$ 0.192 3	1.040 5 $\pm$ 0.263 0
10^{-9} mol/L ghrelin	6	2.6626 $\pm$ 0.3932 ^a	1.8710 $\pm$ 0.4172 ^a
10^{-11} mol/L ghrelin	6	2.677 0 $\pm$ 0.125 9 ^a	1.5326 $\pm$ 0.1994 ^a

a: 与对照组比较, $P < 0.01$

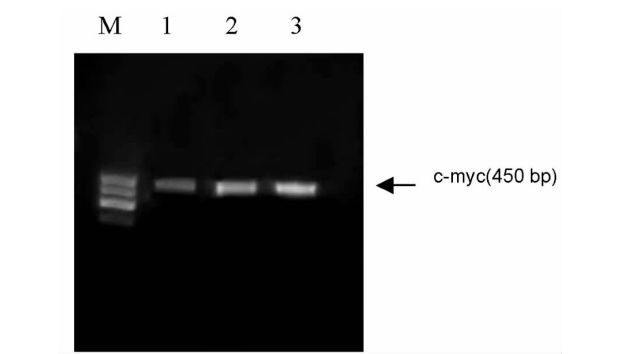


图 1 Ghrelin 对 3T3-L1 前脂肪细胞 c-myc 基因 mRNA 表达水平的影响。M: Markers; 1: 对照组; 2: ghrelin (10^{-9} mol/L) 组; 3: ghrelin (10^{-11} mol/L) 组。

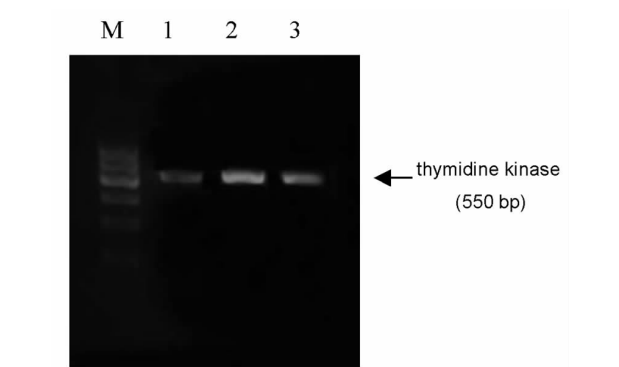


图 2 Ghrelin 对 3T3-L1 前脂肪细胞胸苷激酶基因 mRNA 表达水平的影响。M: Markers; 1: 对照组; 2: ghrelin (10^{-9} mol/L) 组; 3: ghrelin (10^{-11} mol/L) 组。

2.3 3T3-L1 前脂肪细胞诱导分化前后形态学变化比较

3T3-L1 前脂肪细胞呈典型的梭形,胞浆中无脂滴,形态与成纤维细胞相似。当细胞完全汇合后,处于生长停滞状态,在多个视野下均未见处于明显分裂相的细胞。Ghrelin 组诱导分化 8 d 时,细胞明显

变大、变圆,胞浆内出现明显的脂滴,脂滴分布于核周围,形成“戒环”样结构,油红 O 染色的结果进一步显示胞浆内有大量的脂滴积聚。ghrelin (10^{-11} mol/L) 诱导 3T3-L1 前脂肪细胞的分化率可达 70%,而 INS 组为 90% (图 3)。

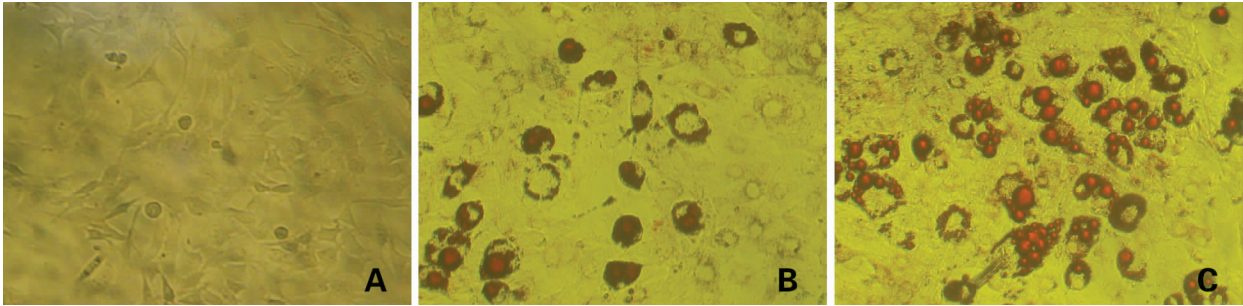


图 3 3T3-L1 前脂肪细胞诱导分化前后形态学变化比较。A:3T3-L1 前脂肪细胞,胞浆中无脂滴;B:ghrelin (10^{-11} mol/L) 诱导 8 d 的 3T3-L1 脂肪细胞,胞浆内出现明显脂滴;C:INS 诱导 8 d 的 3T3-L1 脂肪细胞,胞浆内有大量脂滴。

2.4 Ghrelin 对 3T3-L1 前脂肪细胞诱导分化过程中 PPAR γ 、C/EBP α 基因 mRNA 表达水平的影响

分化 2 d,8 d 时,ghrelin 组和 INS 组 PPAR- γ 和 C/EBP- α mRNA 表达量均明显高于对照组,差异有显著性意义 ($P < 0.05$),但两者之间 PPAR γ mRNA 表达量同分化时间点比较差异无显著性意义 ($P > 0.05$),C/EBP α 表达量分化 2 d 时比较差异无显著性意义 ($P > 0.05$),分化 8 d 时比较差异有显著性意义 ($P < 0.05$)。同时 ghrelin 组和 INS 组 PPAR- γ 和 C/EBP- α mRNA 表达量随着分化时间的延长而增加,分化 8 d 与分化 2 d 相比,差异均有显著性意义 ($P < 0.01$), (表 4,图 4,5)。

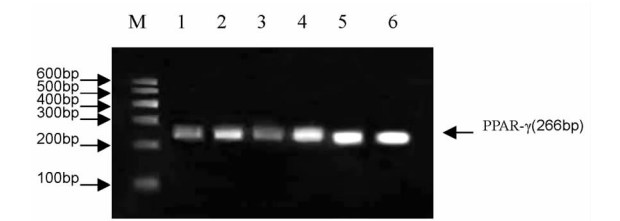


图 4 3T3-L1 前脂肪细胞诱导分化过程中 PPAR γ 基因 mRNA 的表达。M: Marker;1: 对照组,诱导分化 2 d;2: ghrelin 组,诱导分化 2 d;3: INS 组,诱导分化 2 d;4: 对照组,诱导分化 8 d;5: ghrelin 组,诱导分化 8 d;6: INS 组,诱导分化 8 d。

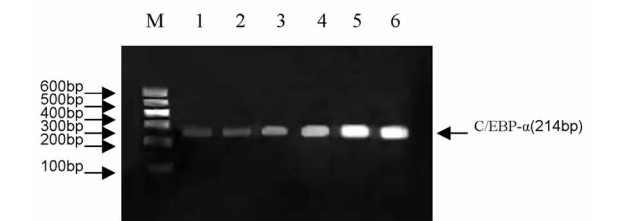


图 5 3T3-L1 前脂肪细胞诱导分化过程中 C/EBP α 基因 mRNA 的表达。M: Marker;1: 对照组,诱导分化 2 d;2: ghrelin 组,诱导分化 2 d;3: INS 组,诱导分化 2 d;4: 对照组,诱导分化 8 d;5: ghrelin 组,诱导分化 8 d;6: INS 组,诱导分化 8 d。

表 4 Ghrelin 对 3T3-L1 前脂肪细胞诱导分化过程中 PPAR γ 、C/EBP α 基因 mRNA 表达水平的影响 ($\bar{x} \pm s$)

分组	PPAR γ 基因 表达水平 (%)	C/EBP α 基因 表达水平 (%)
分化 2 d 对照组	0.2111 $\pm$ 0.0566	0.2825 $\pm$ 0.0442
分化 2 d ghrelin 组	0.3740 $\pm$ 0.0424 ^a	0.4058 $\pm$ 0.0714 ^a
分化 2 d INS 组	0.3152 $\pm$ 0.0707 ^{a,b}	0.4896 $\pm$ 0.0749 ^{a,b}
分化 8 d 对照组	0.4118 $\pm$ 0.0721	0.5849 $\pm$ 0.0838
分化 8 d ghrelin 组	0.6775 $\pm$ 0.1131 ^{a,c}	0.8428 $\pm$ 0.0544 ^{a,c}
分化 8 d INS 组	0.7946 $\pm$ 0.0849 ^{a,b,d}	1.1993 $\pm$ 0.1273 ^{a,e,d}

a: 与同分化时间点对照组比较, $P < 0.05$; b: 与同分化时间点 ghrelin 组比较, $P > 0.05$; c: 与分化 2 d ghrelin 组比较, $P < 0.01$; d: 与分化 2 d INS 组比较, $P < 0.01$; e: 与同分化时间点 ghrelin 组比较, $P < 0.01$ 。

3 讨论

脂肪组织不仅是体内巨大的储能器官,而且是很重要的内分泌器官,不仅对机体能量代谢平衡至关重要,还与胰岛素抵抗、2 型糖尿病的发生等有密切的联系^[6]。脂肪细胞增殖和分化的调控是肥胖导

致胰岛素抵抗的一个重要影响因素,也是提高胰岛素敏感性,改善胰岛素抵抗的途径之一。因此,脂肪细胞的增殖和分化的调控及其与肥胖、胰岛素抵抗发病机制的关系成为目前国际上研究的热点。

Ghrelin 是一种新近发现的胃源性促生长激素释放多肽,是生长激素促分泌素受体(growth hormone secretagogue receptor, GHSR)的具有生物活性的内源性配体。它不仅能有效促进生长激素的分泌,还参与摄食、能量代谢、心血管和免疫功能的调节,是目前调节肽研究领域中的一个热点。基于前脂肪细胞增殖和分化在胰岛素抵抗和糖尿病发病机制中的重要作用,本研究用 3T3-L1 前脂肪细胞株作为脂肪细胞分化模型,观察 ghrelin 对其增殖和分化的影响,结果发现 $10^{-7} \sim 10^{-15}$ mol/L ghrelin 作用 24 h 明显促进 3T3-L1 前脂肪细胞的增殖,其中 10^{-11} mol/L ghrelin 促增殖效应最明显,这提示利用 ghrelin 可以调控前脂肪细胞的增殖。c-myc 是一种原癌基因,是决定细胞从 G0/G1 期向 S 期转化的正性细胞周期调节因子^[7]。c-myc 蛋白可使 Rb 磷酸化而失活,使与 Rb 结合的转录因子 E2F 解离释放, E2F 可激活一系列包括胸苷激酶等 DNA 复制相关基因,使细胞进入 S 期,促使细胞增殖^[8]。我们研究发现 ghrelin 作用于 3T3-L1 前脂肪细胞后能明显增加 c-myc 和胸苷激酶基因 mRNA 的表达,这提示 ghrelin 可能通过提高 c-myc 的表达,进而引起胸苷激酶的活化,从而诱导细胞由 G1 期向 S 期转化,促进前脂肪细胞增殖。

3T3-L1 前脂肪细胞加入诱导剂后,其分化过程一般可分为 3 个阶段:克隆性增生阶段,短暂的生长停滞阶段,定向分化与终末分化^[9]。研究表明许多核转录因子如 PPAR 家族、C/EBP 家族等在脂肪细胞分化中起十分重要的作用。其中 PPAR γ 是脂肪细胞分化的主要调节因子,而 C/EBP α 主要功能是维持 PPAR γ 的表达并和胰岛素敏感性有关^[10]。我们研究发现,随着 3T3-L1 前脂肪细胞的诱导成熟, PPAR γ 与 C/EBP α 基因 mRNA 的表达量逐渐增加,至第 8 日最高,提示脂肪细胞分化完全成熟。 10^{-11} mol/L ghrelin 干预组与对照组比较, PPAR γ 与 C/EBP α 基因 mRNA 表达水平均明显增加,且其表达量随着分化时间的延长而增加,这提示 ghrelin 可能是通过促进脂肪细胞分化关键因子 PPAR γ 和 C/EBP α mRNA 的表达,从而促进脂肪细胞分化成熟,这可能是其改善胰岛素敏感性的机制之一。

我们前期研究发现 GHSR-1a 基因在 3T3-L1 前脂肪细胞诱导分化初期低水平表达,随着 3T3-L1 脂

肪细胞逐渐分化成熟,分化 4 d 和 8 d 时 GHSR-1a 基因 mRNA 的表达逐渐增加^[11]。因此我们推测 ghrelin 作用于 3T3-L1 前脂肪细胞后,可能通过与表达于脂肪细胞的 GHSR-1a 结合,从而提高 PPAR γ 与 C/EBP α 基因的表达进而促进 3T3-L1 前脂肪细胞的分化。

综上所述,ghrelin 对 3T3-L1 前脂肪细胞有促增殖和促分化作用,ghrelin 可能通过增加 c-myc 的含量,进而引起胸苷激酶的活化,从而导致细胞周期的激活,促进前脂肪细胞增殖,同时通过增加 PPAR- γ 、C/EBP- α mRNA 的表达,促进 3T3-L1 前脂肪细胞分化。目前对 ghrelin 的研究尚存在多方面争议,相信随着对 ghrelin 确切作用机制和信号传导通路研究的进一步深入,利用 ghrelin 改善胰岛素抵抗将会为糖尿病的诊治提供新的靶点和新的思路。

[参 考 文 献]

- [1] Kadowaki T, Hara K, Yamauchi T, Terauchi Y, Tobe K, Nagai R. Molecular mechanism of insulin resistance and obesity [J]. *Exp Biol Med* (Maywood), 2003, 228(10):1111-1117.
- [2] Boucher J, Quilliot D, Praderes JP, Simon MF, Gres S, Guigne C, et al. Potential involvement of adipocyte insulin resistance in obesity-associated up-regulation of adipocyte lysophospholipase D/ autotaxin expression [J]. *Diabetologia*, 2005, 48(3):569-577.
- [3] Lacquemant C, Vasseur F, Lepretre F, Froguel P. Adipocytokins, obesity and development of type 2 diabetes [J]. *Med Sci (Paris)*, 2003, 19(8-9):809-817.
- [4] Tritos NA, Kokkotou EG. The physiology and potential clinical applications of ghrelin, a novel peptide hormone [J]. *Mayo Clin Proc*, 2006, 81(5):653-660.
- [5] Poykko SM, Kellokoski E, Horkko S, Kauma H, Kesaniemi YA, Ukkola O. Low plasma ghrelin is associated with insulin resistance, hypertension, and the prevalence of type 2 diabetes [J]. *Diabetes*, 2003, 52(10):2546-2553.
- [6] Lacquemant C, Vasseur F, Lepretre F, Froguel P. Adipocytokins, obesity and development of type 2 diabetes [J]. *Med Sci (Paris)*, 2005, 21:10-18.
- [7] Vita M, Henriksson M. The Myc oncoprotein as a therapeutic target for human cancer [J]. *Semin Cancer Biol*, 2006, 16(4):318-330.
- [8] 张绪森,陈同钰,王旭芬. c-myc、Rb 及细胞 G₁ 期调控蛋白在乳腺癌中的表达 [J]. *诊断病理学杂志*, 2004, 11(3):159-162.
- [9] Kang X, Xie Y, Powell HM, James Lee L, Belury MA, Lannutti JJ, et al. Adipogenesis of murine embryonic stem cells in a three-dimensional culture system using electrospun polymer scaffolds [J]. *Biomaterials*, 2007, 28(3):450-458.
- [10] Laitinen S, Fontaine C, Fruchart JC, Staels B. The role of the orphan nuclear receptor Rev-Erb alpha in adipocyte differentiation and function [J]. *Biochimie*, 2005, 87(1):21-25.
- [11] 刘静,林汉华,程佩莹,胡秀芬,卢慧玲. 生长激素促分泌素受体-1a 基因在 3T3-L1 脂肪细胞诱导分化过程中的表达 [J]. *实用儿科临床杂志*, 2008, 23(8):571-573.

(本文编辑:吉耕中)