

DOI: 10.16305/j.1007-1334.2018.07.022

# 没食子儿茶素促进脂肪细胞吸收葡萄糖研究

张伟云<sup>1</sup>, 王青<sup>1</sup>, 姚芳华<sup>1</sup>, 陈全成<sup>2</sup>

1.福建省厦门市中药生物工程重点实验室,福建省中药精加工与健康产品开发重点研究室,厦门医学院药理学系(福建 厦门 361023); 2.厦门大学药学院(福建 厦门 361102)

**【摘要】** 目的 探讨没食子儿茶素对脂肪细胞在高浓度葡萄糖条件下吸收葡萄糖的作用。方法 应用 3T3-L1 前脂肪细胞分化模型,测定在脂肪细胞中没食子儿茶素对葡萄糖吸收的作用和对 3T3-L1 前脂肪细胞分化的影响。结果 没食子儿茶素可促进脂肪细胞中高浓度葡萄糖(30 mmol/L)条件下由胰岛素刺激的葡萄糖吸收,加快 3T3-L1 前脂肪细胞的分化。结论 没食子儿茶素可增加脂肪细胞葡萄糖吸收并促进 3T3-L1 前脂肪细胞分化,提示没食子儿茶素可有效改变血糖浓度和改善胰岛素抵抗。

**【关键词】** 没食子儿茶素;葡萄糖吸收;3T3-L1 前脂肪细胞分化

## (-)-Gallocatechin promotes glucose uptake in adipocytes

ZHANG Weiyun<sup>1</sup>, WANG Qing<sup>1</sup>, YAO Fanghua<sup>1</sup>, CHEN Quancheng<sup>2</sup>

1.Xiamen Key Laboratory of Biotechnology of Chinese Traditional Medicine; Fujian Provincial Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Finish Processing and Health Product Development; College of Pharmacy Xiamen Medical College, Xiamen 361023, China; 2.School of Pharmaceutical Sciences, Xiamen University, Xiamen 361102, China

**Abstract: Objective** To explore the effects of (-)-Gallocatechin on the glucose uptake when the adipocytes were treated with high concentration of glucose. **Methods** The effects of (-)-Gallocatechin on glucose uptake and differentiation of 3T3-L1 preadipocytes were detected using a 3T3-L1 preadipocytes differentiation model. **Results** The (-)-Gallocatechin increased insulin-stimulated glucose uptake in adipocytes under the condition of high-concentration glucose (30 mmol/L) and accelerated the differentiation of 3T3-L1 preadipocyte. **Conclusion** The (-)-Gallocatechin increases the glucose uptake in adipocytes and promotes the differentiation of 3T3-L1 preadipocytes, which suggests that (-)-Gallocatechin may effectively improve the glycemic control and ameliorate the insulin resistance.

**Keywords:** (-)-Gallocatechin; glucose uptake; differentiation of 3T3-L1 preadipocytes

油茶(*Camellia oleifera* Abel)又名茶子树、油茶树,为山茶科 Theaceae 山茶属 *Camellia* 植物中油脂含量较高且具有栽培经济价值的植物。油茶干燥成熟种子中的脂肪油称茶油,为《中华人民共和国药典》所收载<sup>[1-2]</sup>。精制茶油的不饱和脂肪酸含量高达 91.5% 以上<sup>[3]</sup>。单不饱和脂肪酸可降低胰岛素抵抗,降低血总

胆固醇、三酰甘油和低密度脂蛋白,升高对人体健康有益的高密度脂蛋白,降低患大血管疾病的危险性,有降糖和降血脂作用<sup>[4]</sup>。茶油结合饮食运动干预可改善糖调节受损者血清脂肪酸的含量,降低饱和脂肪酸含量,升高单不饱和脂肪酸含量,从而有利于血糖的改善<sup>[5]</sup>。

前期研究结果表明,油茶醇提物能够在一定程度上降低 2 型糖尿病小鼠血糖值<sup>[6]</sup>,活性筛选研究结果提示没食子儿茶素可能促进细胞吸收葡萄糖。因此,本研究的总体目标是探索没食子儿茶素在脂肪细胞中促进葡萄糖吸收的潜能,以噻唑烷二酮类药物罗格列酮(PPAR $\gamma$  的激动剂)为阳性对照药,评估没食子儿茶素对 3T3-L1 前脂肪细胞的脂肪分化作用和高浓度葡萄糖(30 mmol/L)条件下对胰岛素刺激下葡萄糖的吸收能力。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 药品与试剂 没食子儿茶素(纯度 HPLC  $\geq$  98%),成都瑞芬思生物科技有限公司;葡萄糖荧光示

**【基金项目】** 国家自然科学基金面上项目(81773601);福建省卫生系统中青年骨干人才培养项目 2015 年资助计划基础项目、厦门市卫计委资助项目(2015-ZQN-JC-45);福建省自然科学基金计划资助项目(2015J01065);福建省教育厅 2015 年第二批高等学校优秀学科(专业)带头人赴海外访学研修资助项目[闽教人(2015)103 号];福建省厦门市科技局科技计划高校创新项目(3502Z20143026);福建省厦门市科技局科技计划项目(3502Z20144031);厦门医学院科研项目(Z2013-12 Z2013-25)

**【作者简介】** 张伟云,女,博士,副教授,主要从事中药有效成分及其作用机制研究工作

**【通信作者】** 陈全成,副教授,硕士生导师。

E-mail: chenqc@xmu.edu.cn

踪剂 [2-( N- (7-nitrobenz-2-oxa-1,3-diazol-4-yl) amino) -2-deoxy-D-glucose, 2-NBDG ],美国 Molecular Probes 公司; 罗格列酮、油红 O、葡萄糖和胰岛素 均购自美国 Sigma-Aldrich 公司; 其他化学试剂均为分析纯。

1.1.2 仪器 全波长酶标仪( Multiskan Go ) ,美国赛默飞世尔科技有限公司; CO<sub>2</sub> 恒温培养箱( IFS-110-8 ) 新加坡 ESCO; 流式细胞仪( FACS Calibur flow cytometer ) , 美国 Becton Dickinson 公司。

1.2 细胞培养 鼠源 3T3-L1 前脂肪细胞购自美国菌种保藏中心( ATCC ) ,使用含 10% 胎牛血清、内含 100 U/ml 青霉素、100 mg/L 链霉素的 DMEM 在 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 的条件下培养。

### 1.3 检测指标与方法

1.3.1 细胞活力测定 将 3T3-L1 前脂肪细胞按照 1×10<sup>4</sup> 个细胞/孔的密度种于 96 孔细胞培养板中 ,培养 24 h 后 ,分别加入无血清的 DMEM 细胞培养液、含 0.5 μmol/L 罗格列酮的 DMEM 细胞培养液、含 1 μmol/L 罗格列酮的 DMEM 细胞培养液、含 0.5 μmol/L 没食子儿茶素的 DMEM 细胞培养液、含 1 μmol/L 没食子儿茶素的 DMEM 细胞培养液处理细胞 48 h ,再将每孔加入 5 g/L MTT 溶液 20 μl 继续培养 4 h ,小心移去每孔中的培养液 ,最后将每孔加入 150 μl 二甲基亚砷振荡 10 min ,于 490 nm 处测量每孔的吸光值 ,以无血清 DMEM 培养液组为对照组 ,其吸光值设定为 100% ,进而评估罗格列酮和没食子儿茶素对 3T3-L1 前脂肪细胞生长和增殖的影响。

1.3.2 细胞吸收葡萄糖 葡萄糖吸收试验按照文献方法操作<sup>[7-10]</sup>。将分化的 3T3-L1 脂肪细胞以 1×10<sup>4</sup> 个细胞/孔的密度置于 96 孔板 ,保持在无血清的含 1 μmol/L 胰岛素的高浓度葡萄糖( 30 mmol/L ) 的 DMEM 中培养 24 h ,然后分别用 0.5 μmol/L 和 1 μmol/L 的没食子儿茶素及罗格列酮和 10 μmol/L 2-NBDG 处理 1 h ,对照组用无血清高浓度葡萄糖( 30 mmol/L ) 的 DMEM 处理 1 h。接着收集各组细胞 ,悬浮于 500 μl 预冷的新鲜无血清培养基中 ,维持在 4 °C 用于流式细胞仪分析细胞吸收葡萄糖。使用 FACS Calibur 流式细胞分析仪 FL1 通道记录各组吸收 2-NBDG 的荧光强度 ,每组收集 1 000 个单细胞数据。FCS 文件在 WinMDI 软件( 版本 2.9 ) 中被打开 ,转换为文本文件 ,然后被导入到 SPSS 13.0 软件。为了排除假阳性 ,细胞被没食子儿茶素或罗格列酮处理但未加 2-NBDG 进行处理的细胞组的荧光强度分别作为其测量背景值。相对荧光强度值减去背景值被用于后续的数据分析。

1.3.3 油红 O 染色和脂积累测定 脂肪细胞分化的实

验步骤按照文献方法进行<sup>[7-10]</sup>。3T3-L1 细胞以 4×10<sup>3</sup> 个细胞/孔的密度置于 96 孔板 ,培养 24 h。然后 ,用含 1 μmol/L 胰岛素和 0.5 μmol/L 及 1 μmol/L 的没食子儿茶素或罗格列酮的培养基培养 3 天。对照组细胞用含 1 μmol/L 胰岛素的培养液培养 3 天。12 天后 ,对细胞进行油红 O 染色和脂积累测定。用 10% 福尔马林固定细胞 1 h ,然后在室温下用油红 O 溶液染色 2 h ,再用苏木精-伊红染色 15 min。用 60% 异丙醇溶液轻柔地清洗细胞 3 次 ,以去除游离染料。使用全波长酶标仪在 510 nm 波长下测定光学吸收 ,以评估脂积累的程度。最后在光学显微镜下对细胞油红 O 染色情况进行拍摄( ×400 ) ,评估 3T3-L1 前脂肪细胞分化程度。

1.4 统计学方法 研究数据采用 SPSS 13.0 软件进行统计学分析。计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示 ,组间均数比较采用方差分析和 t 检验。以 P<0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 对 3T3-L1 前脂肪细胞活力的影响 与对照组比较 ,0.5 μmol/L 和 1 μmol/L 的没食子儿茶素及罗格列酮对 3T3-L1 前脂肪细胞的生长和增殖均无显著的作用。见图 1。

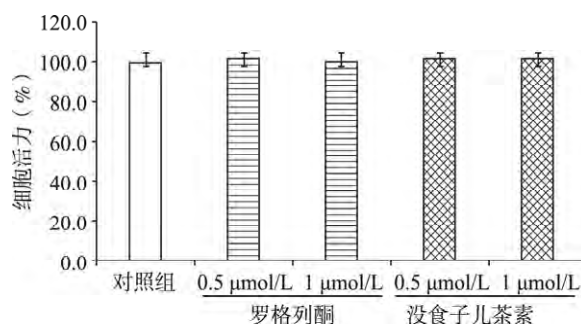
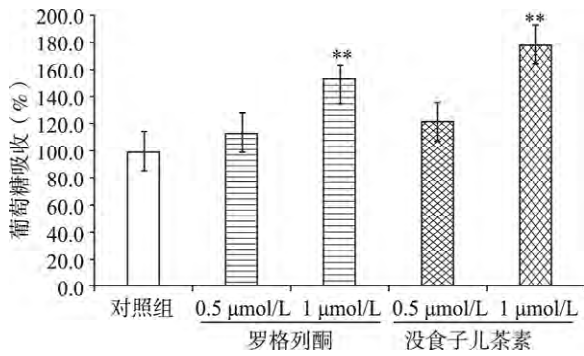


图 1 对 3T3-L1 细胞活力的影响( n=6)

2.2 对脂肪细胞吸收葡萄糖的作用 为探索没食子儿茶素在脂肪细胞中高浓度葡萄糖条件下对葡萄糖吸收的能力 ,采用了葡萄糖荧光示踪剂 2-NBDG 吸收试验。罗格列酮在浓度为 0.5 μmol/L 和 1 μmol/L 时均显著增加了在高葡萄糖条件下 3T3-L1 脂肪细胞中胰岛素刺激的葡萄糖吸收量。在 3T3-L1 脂肪细胞中 ,1 μmol/L 没食子儿茶素极大地提高了胰岛素刺激下的 2-NBDG 的吸收。见图 2。

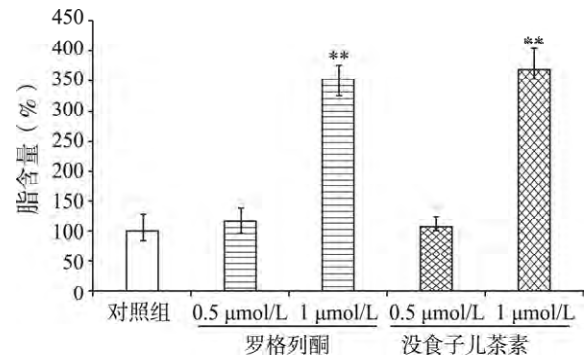
2.3 对 3T3-L1 前脂肪细胞分化的影响 没食子儿茶素和罗格列酮促进了 3T3-L1 前脂肪细胞分化为脂肪细胞。见图 3。

与对照组比较 ,罗格列酮浓度为 0.5 μmol/L 和 1 μmol/L 时 ,大大加速了新的成熟脂肪细胞生成 ,没食子儿茶素也表现出与罗格列酮相似的促进脂肪细胞分化作用。没食子儿茶素浓度分别为 0.5 μmol/L 和



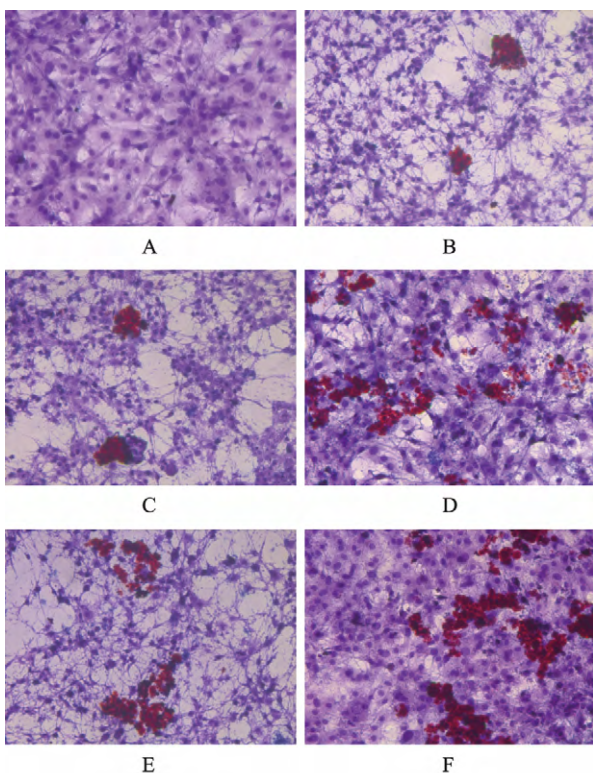
注: 与对照组比较, \*\* $P < 0.01$

图 2 没食子儿茶素在脂肪细胞中对胰岛素刺激的葡萄糖吸收的作用 ( $n = 6$ )



注: 与对照组比较, \*\* $P < 0.01$

图 4 没食子儿茶素对 3T3-L1 前脂肪细胞分化过程中脂积累的影响 ( $n = 6$ )



注: A. 前脂肪细胞; B. 对照组细胞; C. 0.5 μmol/L 罗格列酮处理组细胞; D. 1 μmol/L 罗格列酮处理组细胞; E. 0.5 μmol/L 没食子儿茶素处理组细胞; F. 1 μmol/L 没食子儿茶素处理组细胞

图 3 没食子儿茶素对 3T3-L1 前脂肪细胞分化的影响(油红染色,  $\times 400$ )

1 μmol/L 时, 也分别促进了 3T3-L1 前脂肪细胞分化过程。见图 4。

### 3 讨论

糖尿病是由胰腺 β 细胞分泌胰岛素不足和(或)组织减少对胰岛素的响应, 导致血糖偏高<sup>[11]</sup>。治疗糖尿病的关键策略是刺激肝脏、骨骼肌、脂肪细胞摄取葡萄糖, 改善胰岛素敏感性和胰岛素抵抗。2 型糖尿病占糖尿病确诊病例的 90%~95%<sup>[12]</sup>。胰岛素抵抗是 2 型糖尿病的一个主要特点, 主要器官如肌肉和肝脏对胰岛

素的作用产生抵抗, 从而增加了肝脏葡萄糖输出, 降低其他器官对葡萄糖的吸收和代谢<sup>[13]</sup>。由于胰岛素抵抗是 2 型糖尿病的主要病因之一, 因此研究治疗 2 型糖尿病的热点集中在发现胰岛素敏感剂以此用于对抗胰岛素抵抗, 从而治疗 2 型糖尿病<sup>[14]</sup>。

噻唑烷二酮类药物可调节过氧化物酶体增殖物激活受体 (PPAR $\gamma$ ) 的活性, 导致胰岛素敏感性显著提高<sup>[15-17]</sup>。PPAR $\gamma$ 2 选择性地脂肪细胞中表达, 其表达需要脂肪细胞分化<sup>[18]</sup>。因此, 能够增加 PPAR $\gamma$ 2 介导的脂肪细胞分化的化合物可能改善胰岛素敏感性和提高胰岛素刺激的葡萄糖吸收<sup>[7-10]</sup>。

本实验结果显示, 没食子儿茶素不仅促进 3T3-L1 前脂肪细胞分化, 而且显著增加了分化的 3T3-L1 脂肪细胞在高浓度葡萄糖情况下胰岛素刺激的葡萄糖吸收, 这可能是因为分化过程中, 被上调的 PPAR $\gamma$  改善了胰岛素敏感性, 从而提高胰岛素刺激的葡萄糖吸收。因此, 没食子儿茶素可能具有降低血糖和胰岛素抵抗的潜力。由于实验条件所限, 没食子儿茶素促进葡萄糖吸收的作用机制及对 2 型糖尿病小鼠血糖的影响需要将来进一步研究。

### 参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 278.
- [2] 李远发, 胡灵, 王凌晖. 油茶资源研究利用现状及其展望 [J]. 广西农业科学, 2009, 40(4): 450-454.
- [3] 唐传核, 徐建祥, 彭志英. 脂肪酸营养与功能的最新研究 [J]. 中国油脂, 2000, 25(6): 20-22.
- [4] 李宁, 贺均林, 王敏. 山茶油的药理活性及专利应用 [J]. 广州化工, 2013, 41(10): 30-33.
- [5] 尹岭, 张笑明, 李莉. 茶油对兔血脂及动脉粥样硬化的影响 [J]. 食品科学, 2011, 32(7): 289-292.
- [6] 张伟云, 洪珠凤, 陈全成, 等. 油茶醇提取物对 2 型糖尿病小鼠血糖的作用 [J]. 海峡药学, 2017, 29(1): 21-24.

[ 7 ] ZHANG W Y ,LEE J J ,KIM I S ,et al. 7-O-methylaromadendrin stimulates glucose uptake and improves insulin resistance in vitro [J]. Biol Pharm Bull 2010 ,33( 9) : 1494-1499.

[ 8 ] ZHANG W Y ,LEE J J ,KIM Y ,et al. Amelioration of insulin resistance by scopoletin in high-glucose induced ,insulin-resistant HepG2 cells [J]. Horm Metab Res 2010 ,42( 13) : 930-935.

[ 9 ] ZHANG W Y ,LEE J J ,KIM I S ,et al. Stimulation of glucose uptake and improvement of insulin resistance by aromadendrin [J]. Pharmacology , 2011 ,88( 5-6) : 266-274.

[10] ZHANG W Y ,LEE J J ,KIM Y H ,et al. Effect of eriodictyol on glucose uptake and insulin resistance in vitro [J]. J Agric Food Chem 2012 ,60 ( 31) : 7652-7658.

[11] DEAN R T ,FU S ,STOCKER R ,et al. Biochemistry and pathology of radical-mediated protein oxidation [J]. Biochem J ,1997 ,324( Part 1) : 1-18.

[12] SACKS D B ,MCDONALD J M. The pathogenesis of type II diabetes mellitus. A polygenic disease [J]. Am J Clin Pathol ,1996 ,105( 2) : 149-156.

[13] HARDIE D G. Role of AMP-activated protein kinase in the metabolic syndrome and in heart disease [J]. FEBS Lett 2008 ,582( 1) : 81-89.

[14] PRASAD C N ,ANJANA T ,BANERJI A ,et al. Gallic acid induces GLUT4 translocation and glucose uptake activity in 3T3-L1 cells [J]. FEBS Lett 2010 ,584( 3) : 531-536.

[15] SALTIEL A R ,OLEFSKY J M. Thiazolidinediones in the treatment of insulin resistance and type II diabetes [J]. Diabetes ,1996 ,45( 12) : 1661-1669.

[16] OLEFSKY J M ,SALTIEL A R. PPAR  $\gamma$  and the treatment of insulin resistance [J]. Trends Endocrinol Metab 2000 ,11( 9) : 362-368.

[17] PICARD F ,AUWERX J. PPAR(  $\gamma$ ) and glucose homeostasis [J]. Annu Rev Nutr 2002( 22) : 167-197.

[18] REN D ,COLLINGWOOD T N ,REBAR E J ,et al. PPAR $\gamma$  knockdown by engineered transcription factors: exogenous PPAR $\gamma$ 2 but not PPAR $\gamma$ 1 reactivates adipogenesis [J]. Genes Dev 2002 ,16( 1) : 27-32.

编辑: 季春来  
 收稿日期: 2017-10-17

( 上接第 79 页)

[ 5 ] WEN H L ,LIANG Z S ,ZHANG R ,et al. Anti-inflammatory effects of triptolide improve left ventricular function in a rat model of diabetic cardiomyopathy [J]. Cardiovasc Diabetol 2013 ,12( 1) : 50-59.

[ 6 ] AGRAWAL N K ,KANT S. Targeting inflammation in diabetes: newer therapeutic options [J]. World J Diabetes 2014 ,5( 5) : 697-710.

[ 7 ] FANG Q ,WANG J ,WANG L ,et al. Attenuation of inflammatory response by a novel chalcone protects kidney and heart from hyperglycemia-induced injuries in type 1 diabetic mice [J]. Toxicol Appl Pharmacol 2015 ,288( 2) : 179-191.

[ 8 ] MABUCHI S ,KURODA H ,TAKAHASHI R ,et al. The PI3K/AKT/mTOR pathway as a therapeutic target in ovarian cancer [J]. Gynecol Oncol 2015 ,137( 1) : 173-179.

[ 9 ] MARTINI M ,DE SANTIS M C ,BRACCINI L ,et al. PI3K/AKT signaling pathway and cancer: an updated review [J]. Ann Med 2014 ,46( 6) : 372-383.

[10] 常明向,吴梅梅,李瀚昱,等.姜黄素联合索拉非尼增强抑制肝癌细胞 HepG-2 的作用及其机制 [J]. 中西医结合肝病杂志 ,2016 ,26 ( 5) : 277-280.

[11] 杨堃,邓武生,李争争,等.姜黄素抑制人神经胶质瘤 U251 细胞增殖的机制 [J]. 解放军医药杂志 ,2016 ,28( 10) : 43-45.

[12] SINOR A D ,LILLIN L. Akt-1 expression level regulates CNS precursors [J]. J Neurosci 2004 ,24( 39) : 8531-8541.

[13] XU H L ,YU X F ,QU S C ,et al. Juglone ,from Juglans mandshruica Maxim inhibits growth and induces apoptosis in human leukemia cell HL-60 through a reactive oxygen species-dependent mechanism [J]. Food Chem Toxicol 2012 ,50( 3-4) : 590-596.

[14] CHETSAWING J ,SUWANJIANG W ,PIROMPUJ N ,et al. Calpastatin reduces methamphetamine-induced induction in c-Jun phosphorylation , Bax and cell death in neuroblastoma SH-SY5Y cells [J]. Neurosci Lett , 2012 ,506( 1) : 7-11.

[15] WATHARASIT P ,BIJUR G N ,ZMIJEWSKI J W ,et al. Direct , activating interaction between glycogen synthase kinase-3 $\beta$  and p53 after DNA damage [J]. Proc Natl Acad Sci USA ,2012 ,99( 12) : 7951-7955.

[16] TU X K ,YANG W Z ,CHEN J P ,et al. Repetitive ischemic preconditioning attenuates inflammatory reaction and brain damage after focal cerebral ischemia in rats: involvement of PI3K/Akt and ERK1/2 signaling pathway [J]. J Mol Neurosci 2015 ,55( 4) : 912-922.

编辑: 李一飞  
 收稿日期: 2018-03-15