

胰岛素诱导3T3-L1脂肪细胞胰岛素抵抗模型的建立

刘晓华, 江 湖, 李海星, 李超波, 曹郁生*

(南昌大学中德联合研究院, 食品科学与技术国家重点实验室, 江西 南昌 330047)

摘 要: 为建立胰岛素抵抗脂肪细胞模型, 以3T3-L1前脂肪细胞为研究材料, 通过3-异丁基-1-甲基黄嘌呤、地塞米松和胰岛素联合诱导其分化为3T3-L1脂肪细胞, 通过葡萄糖消耗实验研究胰岛素诱导3T3-L1脂肪细胞产生胰岛素抵抗的作用浓度和时间关系, 发现 10^{-7} mmol/L胰岛素诱导处理48h是3T3-L1脂肪细胞产生胰岛素抵抗的最适条件, 该细胞模型的胰岛素抵抗状态可维持48h。通过高浓度胰岛素成功诱导3T3-L1脂肪细胞产生胰岛素抵抗, 具有建模周期短、重复性好、操作简便的优点, 该细胞模型可以用于抗胰岛素抵抗天然产物的筛选研究。

关键词: 胰岛素抵抗; 3T3-L1脂肪细胞; 细胞模型; 胰岛素

Establishment of Insulin-Resistant 3T3-L1 Adipocyte Cell Model Induced by Insulin

LIU Xiao-hua, JIANG Hu, LI Hai-xing, LI Chao-bo, CAO Yu-sheng*

(State Key Laboratory of Food Science and Technology, Sino-German Joint Research Institute, Nanchang University, Nanchang 330047, China)

Abstract: 3T3-L1 preadipocytes were differentiated into 3T3-L1 adipocytes with combined 3-isobutyl-1-methylxanthine, dexamethasone and insulin for establishing an insulin-resistant adipocyte cell model. Treatment with 10^{-7} mmol/L insulin for 48 h was the best condition for induction of insulin resistance as determined by glucose consumption experiments. Insulin resistance could be kept in the developed model for 48 h. High concentration of insulin could successfully induce insulin resistance in 3T3-L1 adipocytes with the advantages of time saving, good repeatability and ease operation. This model will be also available for screening of natural products that improve insulin sensitivity.

Key words: insulin resistance; 3T3-L1 adipocyte; cell model; insulin

中图分类号: Q493.4

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2012)19-0249-05

肥胖、脂肪肝、2型糖尿病、高血压和动脉粥样硬化等疾病的发病率在我国正在逐年上升, 严重危害人们的身心健康^[1-2]。研究表明, 这些代谢疾病的发生和发展均与机体的胰岛素抵抗有着密切联系^[3-5]。胰岛素抵抗是机体对生理浓度的胰岛素的反应性低于正常的一种病理状态, 主要表现为胰岛素抑制肝脏释放葡萄糖能力以及促进外周组织(脂肪和肌肉)利用葡萄糖能力的下降, 为维持血糖在正常水平, 机体代偿性分泌过多胰岛素, 形成高胰岛素血症^[6]。胰岛素抵抗的形成与遗传和环境因素有关, 目前其发生机制尚不明确。

建立合适的胰岛素抵抗细胞模型将有助于从细胞水

平研究胰岛素抵抗的形成机制, 以及体外筛选改善胰岛素抵抗的天然产物和药物^[7-8]。胰岛素抵抗发生的主要靶器官和靶组织是肝脏、肌肉和脂肪, 尤其是脂肪组织。游离脂肪酸、地塞米松、高糖、高浓度胰岛素和炎症因子等都可诱导这些胰岛素靶细胞产生胰岛素抵抗^[9-11]。Jin Lina等^[12]通过肿瘤坏死因子诱导3T3-L1脂肪细胞产生胰岛素抵抗, 王丽静^[13]、张召锋^[14]等分别通过地塞米松诱导3T3-L1脂肪细胞和大鼠肌细胞L6产生胰岛素抵抗。脂肪组织是胰岛素抵抗发生的最主要靶组织, 体内高浓度胰岛素的刺激是脂肪细胞产生胰岛素抵抗的主要因素之一^[15]。因此, 本实验采用高浓度胰岛素诱导3T3-L1

收稿日期: 2012-06-22

基金项目: 江西省教育厅科技计划项目(GJJ12019)

作者简介: 刘晓华(1974—), 男, 副研究员, 博士, 研究方向为食品生物技术。E-mail: liuxiaohua@ncu.edu.cn

*通信作者: 曹郁生(1945—), 男, 教授, 硕士, 研究方向为食品科学。E-mail: yyssccc@hotmail.com

脂肪细胞建立脂肪细胞胰岛素抵抗模型,并检验其稳定性,用于筛选能改善胰岛素抵抗的天然产物。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

3T3-L1前脂肪细胞购自中国科学院上海细胞库。

DMEM培养液(含4.5g/L葡萄糖、5958mg/L Hepes、100U/mL青霉素和0.1mg/mL链霉素)、胰蛋白酶-EDTA消化液、油红O染料 北京Solarbio公司;小牛血清 杭州四季青公司;地塞米松(Dex)、牛胰岛素 美国Sigma公司;3-异丁基-1-甲基黄嘌呤(IBMx) 加拿大BBI公司;二甲亚砜(DMSO)、四甲基偶氮唑盐(MTT) 美国Amresco公司;葡萄糖检测试剂盒(葡萄糖氧化酶法)中生北控生物科技股份有限公司;多聚甲醛 生工生物工程(上海)股份有限公司;25cm²细胞培养瓶 美国Corning公司;48孔细胞培养板 美国Costar公司。

1.2 仪器与设备

Cell 240二氧化碳培养箱 美国Thermo Scientific公司;CKX41倒置显微镜 日本Olympus公司;RS-232C酶联免疫检测仪 芬兰Labsystem公司;超净工作台 吴江市净化设备总厂;TGL-16G离心机 上海安亭科学仪器厂;电子天平 日本A&D公司。

1.3 方法

1.3.1 3T3-L1前脂肪细胞的培养

3T3-L1前脂肪细胞用体积分数10%小牛血清的DMEM培养液,在5% CO₂、37℃饱和湿度下培养,形成单层贴壁细胞,2d更换1次培养液,当细胞汇合达80%~90%时,用胰蛋白酶-EDTA消化液消化成单细胞,接种到新培养瓶内传代,用体积分数10% DMSO和10%小牛血清的DMEM培养液重悬细胞,于液氮中保存。

1.3.2 3T3-L1前脂肪细胞的诱导分化

将3T3-L1前脂肪细胞接种至48孔培养板上,每孔 5×10^3 个细胞,用含10%小牛血清DMEM培养液培养至细胞完全汇合2d后,进行诱导分化,加含0.5mmol/L IBMx、1μmol/L地塞米松、10mg/L胰岛素和10%小牛血清的DMEM培养液培养2d,再用含10mg/L胰岛素和10%小牛血清的DMEM培养液培养2d,随后用含10%小牛血清的DMEM培养液继续培养4~6d,诱导分化至95%以上的细胞呈成熟脂肪细胞表型,细胞内可见明显脂滴。

1.3.3 成熟脂肪细胞鉴定

采用油红O染色法,以10%多聚甲醛固定细胞10min, PBS清洗后晾干,加0.5%油红O染液染色10min,用PBS清洗残留的油红O溶液,37℃干燥细胞,倒置显微镜下观察,拍摄照片。

1.3.4 胰岛素抵抗脂肪细胞模型的建立

将分化成熟的3T3-L1脂肪细胞分为两组,空白组加入DMEM完全培养液,模型组分别加入终浓度为10⁻⁸、10⁻⁷、10⁻⁶mmol/L胰岛素的DMEM完全培养液,每24h测定1次培养液上清中的葡萄糖含量,计算各组细胞的葡萄糖消耗量,同时测定脂肪细胞活性,根据空白组和模型组的葡萄糖消耗差值以及胰岛素对脂肪细胞活性的影响,确定最佳造模所需胰岛素的浓度和诱导时间。

1.3.5 脂肪细胞活性

采用MTT测定法, MTT用PBS溶液配制成分终质量浓度为5mg/mL, 弃去待测样品细胞培养板中的培养液,每孔加入20μL MTT溶液,继续培养4h后,吸除培养孔中的液体,每孔加入100μL DMSO终止反应,充分振摇,立即在酶联免疫检测仪上测定吸光度,检测波长为490nm。

1.3.6 胰岛素抵抗脂肪细胞的鉴定

将造模成功的胰岛素抵抗脂肪细胞和空白组细胞分别用终浓度为10⁻⁹、10⁻⁸、10⁻⁷mmol/L胰岛素的DMEM完全培养液温育30min, 弃去培养液,加入DMEM完全培养液培养24h,测定培养液上清中的葡萄糖含量,计算不同处理后的葡萄糖消耗量,根据空白组和模型组的葡萄糖消耗差值的变化,确定胰岛素抵抗脂肪细胞模型是否造模成功。

1.3.7 胰岛素抵抗脂肪细胞的稳定性

在最佳造模条件下获得胰岛素抵抗脂肪细胞,将空白组和模型组细胞分别置于不含胰岛素的DMEM完全培养液中继续培养,每隔24h测定培养液上清中的葡萄糖含量,计算各组细胞的葡萄糖消耗量,根据各组的葡萄糖消耗差值变化,确定胰岛素抵抗脂肪细胞的稳定时间。

1.3.8 葡萄糖含量测定

取细胞培养液上清,按操作说明书,用葡萄糖检测试剂盒测定其葡萄糖含量。

1.3.9 数据处理

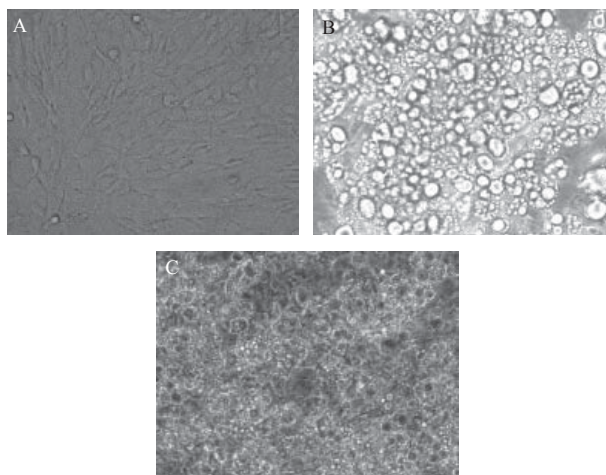
每组实验重复3次,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,用SPSS 13.0软件进行单因素方差分析与显著性检验。

2 结果与分析

2.1 3T3-L1前脂肪细胞的诱导分化及鉴定

3T3-L1前脂肪细胞是源于Swiss小鼠胚胎的成纤维细胞,贴壁生长,呈梭形或不规则三角形,胞质向外伸出2~3个长短不同的突起,胞内无脂滴(图1A)。在IBMx、地塞米松和胰岛素诱导分化时,细胞从成纤维细胞样,胞内无脂滴,逐步变圆,开始积累脂质,胞质中形成小脂滴,分化晚期小脂滴聚集成大脂滴,细胞变得更加透亮,并且在培养板底面形成肉眼可见的半透明白色膜状物,具备成熟脂肪细胞的典型形态特征,表明3T3-L1前脂肪细胞已经诱导分化为成熟脂肪细胞(图1B)。

诱导分化后的脂肪细胞经油红O染色,在倒置显微镜下观察,胞质中的脂滴被亲脂的油红O染成红色,可清楚观察脂滴的大小、数量,进一步证实为脂肪细胞(图1C)。油红O可以将脂肪特异性地染成红色,细胞诱导分化越好,其脂质含量就越高,油红O染色时着色也就越多。随机记数100个非重复视野内脂肪细胞占总细胞数的比例,发现95%以上的细胞呈成熟脂肪细胞表型,可以用于建立胰岛素抵抗脂肪细胞模型。3T3-L1前脂肪细胞能在IBMX、地塞米松和胰岛素3种诱导剂的诱导下分化成为成熟脂肪细胞,可以避免原代脂肪细胞纯度不一、生存能力差和实验结果不稳定的缺点,已被广泛应用于糖、脂代谢相关的各类研究,也是建立胰岛素抵抗细胞模型的主要细胞材料^[11-12]。



A. 3T3-L1前脂肪细胞; B. 3T3-L1脂肪细胞; C. 油红O染色的3T3-L1脂肪细胞。

图1 3T3-L1前脂肪细胞的诱导分化及鉴定($\times 200$)
Fig.1 3T3-L1 cells before and after differentiation into adipocytes($\times 200$)

2.2 胰岛素抵抗脂肪细胞模型的建立

表1 胰岛素浓度和作用时间对脂肪细胞葡萄糖消耗的影响

Table 1 Effect of insulin concentration and treatment time on glucose consumption of adipocytes

胰岛素浓度/ (mmol/L)	葡萄糖消耗量/(mmol/L)		
	24h	48h	72h
空白组	3.00 ± 0.11^{aA}	2.99 ± 0.10^{aA}	2.95 ± 0.18^{aA}
10^{-8}	2.72 ± 0.11^{aB}	2.55 ± 0.15^{abB}	2.45 ± 0.10^{bB}
10^{-7}	2.55 ± 0.09^{aBC}	2.15 ± 0.09^{bC}	2.05 ± 0.09^{bC}
10^{-6}	2.40 ± 0.10^{aC}	1.85 ± 0.08^{bD}	1.43 ± 0.09^{cD}

注:同行不同小写字母表示处理间有显著差异($P < 0.05$);同列不同大写字母表示处理间有显著差异($P < 0.05$)。下同。

机体产生胰岛素抵抗的诱导因素较多,如:游离脂肪酸、糖皮质激素、高浓度胰岛素和炎症因子等。本实

验模拟体内高浓度胰岛素来诱导3T3-L1脂肪细胞产生胰岛素抵抗,研究胰岛素的作用浓度和时间与脂肪细胞产生胰岛素抵抗之间的关系。根据胰岛素抵抗脂肪细胞不能有效利用葡萄糖的特性,通过测定葡萄糖消耗量的变化来确定胰岛素抵抗细胞的形成。由表1可知,3T3-L1脂肪细胞经超生理浓度的胰岛素处理后,随着胰岛素浓度的增加,细胞在诱导处理24h时,其对葡萄糖的消耗就开始呈现下降趋势,从空白组的 3.00 mmol/L 下降至 10^{-6} mmol/L 胰岛素处理后的 2.40 mmol/L ,且两者之间存在显著差异($P < 0.05$)。在同一浓度胰岛素处理下,随着处理时间的延长,细胞对葡萄糖的消耗也呈现下降趋势,而空白组在不同处理时间后的葡萄糖消耗没有显著变化($P > 0.05$)。这些结果表明,通过高浓度胰岛素诱导3T3-L1脂肪细胞时,胰岛素抵抗的形成与胰岛素浓度和作用时间呈正相关。

表2 胰岛素浓度和作用时间对细胞活性的影响

Table 2 Effect of insulin concentration and treatment time on cell proliferation

胰岛素浓度/ (mmol/L)	MTT值		
	24h	48h	72h
空白组	0.228 ± 0.015^{aA}	0.233 ± 0.025^{aA}	0.225 ± 0.024^{aA}
10^{-8}	0.226 ± 0.016^{aA}	0.221 ± 0.017^{aA}	0.223 ± 0.012^{aA}
10^{-7}	0.224 ± 0.017^{aA}	0.218 ± 0.017^{aA}	0.220 ± 0.020^{aA}
10^{-6}	0.221 ± 0.012^{aA}	0.184 ± 0.010^{bB}	0.157 ± 0.070^{cB}

高浓度胰岛素长时间处理3T3-L1脂肪细胞可能会影响细胞的活性,为避免由于细胞失活导致的葡萄糖消耗降低,本研究采用MTT法测定经胰岛素处理后的脂肪细胞活性。MTT法是一种被广泛应用的检测细胞生长和活力的方法,活细胞内的脱氢酶能将黄色的MTT还原成蓝紫色的甲臍,甲臍产量与活细胞数和细胞活力成正相关。由表2可知,经 10^{-6} mmol/L 胰岛素处理3T3-L1脂肪细胞后,吸光度从24h的0.221降至48h的0.184,存在显著差异($P < 0.05$)。表明经 10^{-6} mmol/L 胰岛素处理48h后,脂肪细胞的活性显著下降,其葡萄糖消耗量的下降与细胞失活有关。张汝学等^[16]在建立胰岛素抵抗细胞模型研究时也发现 10^{-6} mmol/L 胰岛素处理HepG2细胞36h后,细胞的活性开始下降。在 10^{-8} mmol/L 和 10^{-7} mmol/L 胰岛素处理脂肪细胞的72h内,吸光度均无显著差异($P > 0.05$),表明 10^{-7} mmol/L 胰岛素处理72h对脂肪细胞的活性没有显著影响,其葡萄糖消耗量的下降只与细胞胰岛素抵抗的形成有关。在 10^{-7} mmol/L 胰岛素处理脂肪细胞48h后,细胞对葡萄糖的消耗降至 2.15 mmol/L 的最低水平,并与72h后的葡萄糖消耗量没有显著差异($P > 0.05$)。因此,通过 10^{-7} mmol/L 胰岛素处理3T3-L1脂肪细胞48h是产生胰岛素抵抗脂肪细胞的最适诱导条件。李铖铖等^[17]也曾通过 10^{-7} mmol/L

L胰岛素成功诱导建立了张氏肝细胞的胰岛素抵抗模型。

2.3 胰岛素抵抗脂肪细胞的鉴定

表3 胰岛素处理胰岛素抵抗脂肪细胞对葡萄糖消耗的影响

Table 3 Effect of insulin treatment on glucose consumption of insulin-resistant adipocytes

组别	葡萄糖消耗量/(mmol/L)		
	10^{-9} mmol/L	10^{-8} mmol/L	10^{-7} mmol/L
空白组	3.31 ± 0.09^a	3.62 ± 0.14^b	3.93 ± 0.07^c
模型组	2.18 ± 0.15^a	2.30 ± 0.12^a	2.35 ± 0.09^a

胰岛素最主要的生物学效应是促进机体的葡萄糖代谢,胰岛素抵抗即机体对胰岛素的敏感性下降,提高胰岛素浓度也不能使细胞达到其相应代谢水平。为确定胰岛素抵抗脂肪细胞模型是否造模成功,将经 10^{-7} mmol/L胰岛素诱导48h后的3T3-L1脂肪细胞分别用终浓度为 10^{-9} 、 10^{-8} 、 10^{-7} mmol/L胰岛素处理,由表3可知,现其葡萄糖的消耗显著低于空白组,增加胰岛素浓度对葡萄糖的消耗没有显著影响($P>0.05$),结果表明胰岛素抵抗脂肪细胞模型造模成功。而空白组随胰岛素浓度的增加,葡萄糖的消耗有显著增加($P<0.05$),表明空白组细胞对胰岛素敏感,没有胰岛素抵抗。本研究采用高糖培养基培养3T3-L1脂肪细胞,葡萄糖浓度为22.5 mmol/L,从葡萄糖消耗量可以看出,脂肪细胞对葡萄糖的最大消耗量为3.93 mmol/L,如采用低糖培养基培养细胞,可以减少培养液中剩余葡萄糖的检测误差,提高实验的灵敏度。

胰岛素抵抗是指机体对胰岛素促进葡萄糖摄取利用的效应产生了抗性,经典方法是通过 ^3H 或 ^{14}C 标记的葡萄糖掺合(摄取)实验来检测细胞对葡萄糖的摄取利用,该方法使用到放射性同位素,需要特殊的工作环境和仪器^[18-19]。本研究通过葡萄糖氧化酶法测定葡萄糖的消耗量,与同位素标记的葡萄糖掺合实验相比,虽然灵敏度稍低,但是检测后的细胞可用于后续的研究,同时具有操作简单、经济方便、无需特殊仪器的优点。此外,在抗胰岛素抵抗活性物质和药物筛选时,如样品中含有葡萄糖氧化酶抑制剂或激动剂,则应先将样品中的活性物质分离纯化,去除葡萄糖氧化酶抑制剂和激动剂后,才能进行抗胰岛素抵抗活性研究。

2.4 胰岛素抵抗脂肪细胞的稳定性

胰岛素抵抗的稳定性是指造模成功的脂肪细胞能够维持胰岛素抵抗特性的时间,只有稳定性好的细胞模型才能用于抗胰岛素抵抗的天然产物和药物的筛选。将在最佳造模条件下获得的胰岛素抵抗脂肪细胞置于不含胰岛素的DMEM完全培养液中培养,由表4可知,模型组的葡萄糖消耗在48h内仍显著低于空白组,而72h的葡萄糖消耗量显著上升($P<0.05$),说明细胞表面的胰岛素受体数目已经上调,细胞的胰岛素敏感性提高。研究结果

表明,3T3-L1脂肪细胞胰岛素抵抗细胞模型能在48h内维持对胰岛素抗性的特征。同时说明机体产生的胰岛素抵抗应该是体内高浓度胰岛素长时间作用的结果。郭晓农等^[20]通过地塞米松诱导96h建立3T3-L1脂肪细胞胰岛素抵抗模型,其胰岛素抵抗状态可以维持216h。3T3-L1脂肪细胞由前脂肪细胞诱导分化10d左右得到,在长时间的培养和操作过程中容易出现细胞漂浮的现象,因此,为了使建立的胰岛素抵抗细胞模型能用于后续的研究,诱导建立模型的时间应越短越好。

表4 胰岛素抵抗脂肪细胞的稳定性

Table 4 Stability of insulin-resistant adipocytes

组别	葡萄糖消耗量/(mmol/L)		
	24h	48h	72h
空白组	3.10 ± 0.19^a	3.05 ± 0.16^a	3.02 ± 0.16^a
模型组	2.18 ± 0.08^a	2.25 ± 0.19^a	2.54 ± 0.07^b

3 结论

本实验通过IBMX、地塞米松和胰岛素联合诱导3T3-L1前脂肪细胞分化为成熟脂肪细胞,研究超生理浓度胰岛素诱导3T3-L1脂肪细胞产生胰岛素抵抗的作用浓度和时间关系,结果发现通过 10^{-7} mmol/L胰岛素处理3T3-L1脂肪细胞48h是产生胰岛素抵抗脂肪细胞的最适诱导条件。采用MTT法测定经胰岛素处理后的脂肪细胞活性,发现 10^{-6} mmol/L胰岛素处理3T3-L1脂肪细胞48h后,脂肪细胞的活性显著下降。通过葡萄糖消耗实验可以准确确定细胞胰岛素抵抗的形成,与同位素标记的葡萄糖摄取实验相比,具有污染小、经济、方便的优点。总之,本研究通过高浓度胰岛素成功诱导3T3-L1脂肪细胞产生胰岛素抵抗,该细胞模型的稳定期达48h,具有建模周期短、重复性好、操作简便等优点,可以用于抗胰岛素抵抗天然产物的筛选研究。

参考文献:

- [1] 陈翰卿,王旭. 2型糖尿病胰岛素抵抗中医药治疗研究概况[J]. 辽宁中医药大学学报, 2012, 14(6): 72-74.
- [2] 管石侠,张宝,马泰,等. 脂肪肝合并腹型肥胖患者抵抗素与胰岛素抵抗关系[J]. 中国公共卫生, 2012, 28(5): 687-688.
- [3] MESHKANI R, ADELI K. Hepatic insulin resistance, metabolic syndrome and cardiovascular disease[J]. Clinical Biochemistry, 2009, 42(13/14): 1331-1346.
- [4] PEREZ M R, MEDINA-GOMEZ G. Obesity, adipogenesis and insulin resistance[J]. Endocrinol Nutr, 2011, 58(7): 360-369.
- [5] 黄瑞,龙莉娟. 42例原发性高血压患者血浆网膜素-1水平及与血压、胰岛素抵抗的关系[J]. 重庆医学, 2012, 41(13): 1290-1292.
- [6] BONORA E, CAPALDO B, PERIN P C, et al. Hyperinsulinemia and insulin resistance are independently associated with plasma lipids, uric acid and blood pressure in non-diabetic subjects. The GISIR database[J]. Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases, 2008,

- 18(9): 624-631.
- [7] SALVADO J, AROLA L, PINENT M, et al. Effects of a grapeseed procyanidin extract (GSPE) on insulin resistance[J]. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 2010, 21(10): 961-967.
- [8] YAN Jingqi, ZHAO Yan, SUO Siqingaowa, et al. Green tea catechins ameliorate adipose insulin resistance by improving oxidative stress[J]. *Free Radical Biology and Medicine*, 2012, 52(9): 1648-1657.
- [9] BARMA P, BHATTACHARYA S, BHATTACHARYA A, et al. Lipid induced overexpression of NF- κ B in skeletal muscle cells is linked to insulin resistance[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*, 2009, 1792(3): 190-200.
- [10] 张静, 王秋月, 姜雅秋, 等. 游离脂肪酸诱导3T3-L1细胞胰岛素抵抗模型的建立[J]. *解剖科学进展*, 2008, 14(2): 126-129.
- [11] TSUTOMU W, MASASHI H, YUKARI K, et al. Both type I and II IFN induce insulin resistance by inducing different isoforms of SOCS expression in 3T3-L1 adipocytes[J]. *American Journal of Physiology-endocrinology and Metabolism*, 2011, 300(6): E1112-E1123.
- [12] JIN Lina, SHI Guojun, NING Guang, et al. Andrographolide attenuates tumor necrosis factor- α -induced insulin resistance in 3T3-L1 adipocytes[J]. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 2011, 332(1/2): 134-139.
- [13] 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.
- [14] 张召锋, 丁叶, 戴小倩, 等. 地塞米松诱导L6肌细胞胰岛素抵抗模型的建立及EGCG的保护作用研究[J]. *中国预防医学杂志*, 2009, 10(12): 1041-1043.
- [15] HOTAMISLIGIL G S. Molecular mechanisms of insulin resistance and the role of the adipocyte[J]. *Int J Obes Relat Metab Disord*, 2000, 24(Suppl 4): 23-27.
- [16] 张汝学, 贾正平, 李茂星, 等. 体外胰岛素抵抗细胞模型的建立及在药物筛选中的应用[J]. *中国药理学通报*, 2008, 24(7): 971-976.
- [17] 李铨铖, 王际辉, 王晗, 等. 张氏肝细胞胰岛素抵抗模型的建立及鉴定[J]. *大连工业大学学报*, 2010, 29(5): 229-332.
- [18] GAO Dan, GRIFFITHS H R, BAILEY C J. Oleate protects against palmitate-induced insulin resistance in L6 myotubes[J]. *British Journal of Nutrition*, 2009, 102(11): 1557-1563.
- [19] AYALA J E, BRACY D P, JAMES F D, et al. Glucagon-like peptide-1 receptor knockout mice are protected from high-fat diet-induced insulin resistance[J]. *Endocrinology*, 2010, 151(10): 4678-4687.
- [20] 郭晓农, 杨具田, 牛峰, 等. 胰岛素抵抗3T3L1脂肪细胞模型的建立及鉴定[J]. *中药材*, 2008, 31(2): 258-261.